



UNIVERSIDAD DEL AZUAY

FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGIA

ESCUELA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ACEITES ESENCIALES COMO
INHIBIDORES DEL ENRANCIAMIENTO EN ACEITES
COMESTIBLES”**

**TRABAJO DE GRADUACION PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS**

AUTOR.

Francisco José Carrasco Cantos

DIRECTORA.

Dra. María Elena Cazar.

CUENCA, ECUADOR.

2009

DEDICATORIA.

A mis padres y hermanos que confiaron
y apoyaron incondicionalmente
a lo largo de toda mi vida.

AGRADECIMIENTO.

Agradezco a mis padres, hermanos y amigos que me han dado su apoyo.

A la Dra. María Elena Cazar por brindarme sus conocimientos y asesoría científica de manera desinteresada de igual manera al personal de laboratorio de la Facultad de Ciencia y Tecnología.

RESUMEN.

En este trabajo se extrajeron aceites esenciales de las especies vegetales *Buddleja globosa* (Matico), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Luma apiculata* (Arrayán), *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Origanum vulgare* (Orégano). Con este material se cuantificó la capacidad de captura del radical libre DPPH. La capacidad inhibitoria del enranciamiento en aceites comestibles se evaluó mediante el índice de peróxido realizando un modelo de diseño experimental.

Los resultados obtenidos nos permiten señalar a los aceites esenciales de albahaca, arrayán, orégano y romero como los más promisorios en su capacidad de influenciar el índice de peróxido medido en los aceites comestibles.

ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate a group of essential oils as inhibitors of rancidity of edible oils. Essential oils were extracted of *Buddleja globosa*, *Rosmarinus officinalis*, *Luma apiculata*, *Ocimum basilicum* and *Origanum vulgare*. The capacity of scavenge the free radical DPPH was quantified. The inhibiting capacity of the rancidity in edible oils was evaluated by means of the peroxide index.

To evaluate the effect of the addition of essential oils in edible oils as inhibitors of deterioration, an experimental design was performed. The results allowed us to indicate the essential oils of *Ocimum basilicum*, *Luma apiculata*, *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* as the most promissory in their capacity to diminish the peroxide index measurement in edible oils.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la efectividad de aceites esenciales como inhibidores de la oxidación de aceites comestibles.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Obtener aceites esenciales de *Buddleja globosa* (matico), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Thymus vulgaris* (tomillo), *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Origanum vulgare* (orégano).
- Evaluar la actividad antioxidante in Vitro de aceites esenciales en bioensayos de captura de radicales libres: DPPH.
- Evaluar el efecto que tiene la adición de aceites esenciales en el enranciamiento de aceites comestibles.

ÍNDICE DE CONTENIDOS.

Contenido.	Paginas.
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	v
Objetivos.....	vi
Índice de contenidos.....	vii
Índice de cuadros.....	x
 Introducción.....	 1

CAPITULO I: OXIDACION DE GRASAS Y ANTIOXIDANTES.

1.1 Radicales libres y actividad oxidante.....	4
1.2 Antioxidantes.....	7
1.2.1 Antioxidantes de origen natural.....	8
1.3 Radicales libres y actividad oxidante.....	11
1.4 Antioxidantes en la salud.....	13
1.5 Mecanismos de actividad antioxidante.....	15
1.6 Métodos de cuantificación de actividad antioxidante.....	16

CAPITULO II: ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO.

2.1 Romero.....	18
2.1.1 Descripción botánica.....	18
2.1.2 Propiedades.....	20
2.2 Arrayán.....	21
2.2.1 Descripción botánica.....	21
2.2.2 Propiedades.....	22

2.3 Albahaca.....	24
2.3.1 Descripción botánica.....	24
2.3.2 Propiedades.....	25
2.4 Orégano.....	26
2.4.1 Descripción botánica.....	26
2.4.2 Propiedades.....	27
2.1 Matico.....	29
2.1.1 Descripción botánica.....	29
2.1.2 Propiedades.....	30
2.1 Tomillo.....	31
2.1.1 Descripción botánica.....	31
2.1.2 Propiedades.....	32

CAPITULO III: MATERIALES Y METODOS

3.1 Materiales, reactivos y equipos.....	33
3.1.1 Material de laboratorio.....	33
3.1.2 Equipos.....	33
3.1.3 Solventes y reactivos.....	33
3.1.4 Material vegetal.....	34
3.2 Métodos.....	34
3.2.1 Recolección y preparación de especies vegetales.....	34
3.2.2 Obtención de aceites esenciales; método (destilación por arrastre de vapor).....	34
3.2.3 Determinación de la actividad atrapadora de radicales libres; método (DPPH)...	35
3.2.4 Establecimiento de las concentraciones de trabajo de los aceites esenciales.....	36
3.2.5 Diseño experimental.....	37
3.2.6 Determinación del índice de peroxido en los aceites comestibles.....	38

CAPITULO IV: RESULTADOS.

4. Resultados.....	39
4.1 Rendimiento en la extracción de aceites esenciales.....	39

4.2 Evaluación de actividad antioxidante por el método de DPPH.....	40
4.3 Establecimiento de las concentraciones de trabajo de los aceites esenciales.....	42
4.4 Evaluación de la inhibición del enranciamiento de aceites comestibles por adición de aceites esenciales.....	43

CAPITULO V: DISCUSIÓN.

5 Discusión.....	52
5.1 Potencial antioxidante de aceites esenciales según el método de captura del radical libre DPPH.....	52
5.2 Evaluación de actividad antioxidante de los aceites esenciales según el método del índice de peroxido.....	53
5.2.1 Modelos calculados utilizando aceites esenciales de Albahaca, Romero y Orégano.....	53
5.2.2 Ecuaciones de los modelos calculados: mezcla de aceites esenciales de Albahaca, Matico y Arrayán.....	54

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	55
--	-----------

BIBLIOGRAFÍA.....	57
--------------------------	-----------

ANEXOS.....	61
--------------------	-----------

INDICE DE CUADROS.

Cuadros.	Paginas.
Cuadro # 1. Factores que influyen en la oxidación de lípidos.....	6
Cuadro # 2. Mecanismo de oxidación de lípidos.....	6
Cuadro # 3. Desarrollo de la oxidación de los aceites.....	7
Cuadro # 4. Principal fuente vegetal para antioxidantes en específico.....	10
Cuadro # 5. Esquema para la preparación de las muestras para la evaluación de DPPH.....	35
Cuadro # 6. Especificaciones de los aceites comestibles utilizados.....	37
Cuadro # 7. 1: Matriz de diseño experimental 2^{3-1}	37
Cuadro # 8. Rendimiento en la extracción de aceites esenciales de las especies vegetales utilizadas.....	39
Cuadro # 9. Actividad antioxidante por el método del DPPH, Aceites esenciales de <i>Buddleja globosa</i> (matico), <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero), <i>Ocimum basilicum</i> (Albahaca) y <i>Origanum vulgare</i> (orégano).....	40
Cuadro # 10. Actividad antioxidante por el método del DPPH, Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero).....	41
Cuadro # 11. Evaluación del índice de peroxido a través del tiempo.....	42
Cuadro # 12. Evaluación del índice de peroxido.....	43
Cuadro # 13. Evaluación del índice de peroxido.....	44
Cuadro # 14. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de palma “Dos Coronas”.....	45
Cuadro # 15. Coeficientes del modelo : mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de palma “Palma de Oro”.....	46
Cuadro # 16. Coeficientes del modelo : mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de soya “Soya”.....	46
Cuadro # 17. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de soya “La Favorita”.....	47
Cuadro # 18. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de maíz “Mazorca de Oro”.....	47
Cuadro # 19. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de maíz “Luigi”.....	47

Cuadro # 20. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de palma “Dos Coronas”	48
Cuadro # 21. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de palma “Palma de Oro”	48
Cuadro # 22. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de soya “Soya”	49
Cuadro # 23. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de soya “La Favorita”	49
Cuadro # 24. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de maíz “Mazorca de Oro”	50
Cuadro # 25. Coeficientes del modelo: mezcla albahaca, romero, orégano; aceite de maíz “Luigi”	50
Cuadro # 26. Resumen de los modelos calculados para los aceites esenciales de albahaca, romero y orégano.....	53
Cuadro # 27. Resumen de los modelos calculados para los aceites esenciales de albahaca, matico y arrayán.....	54

Carrasco Cantos, Francisco José.

Trabajo de Graduación.

Dra. María Elena Cazar.

Abril del 2009.

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE ACEITES ESENCIALES COMO INHIBIDORES DEL ENRANCIAMIENTO EN ACEITES COMESTIBLES”.

INTRODUCCIÓN.

En la industria alimentaria los antioxidantes cumplen un rol fundamental al evitar la degradación química de los alimentos, conservando las propiedades organolépticas y nutritivas del producto alimenticio por largos períodos.

En nuestro medio, las industrias de aceites comestibles emplean mayoritariamente antioxidantes sintéticos, siendo el BHA (terbutil hidroxi anisol) y BHT (terbutil hidroxi tolueno) los más comúnmente utilizados. Su uso ha sido parcialmente restringido en otros países debido a potenciales efectos indeseables, que actualmente son motivo de controversia. Estos compuestos pueden tener un potencial efecto carcinogénico a largo plazo. Debido a esto, en la actualidad existe una importante presión del medio consumidor que incentiva la elaboración de productos que provengan de fuentes naturales y que sean producidos por tecnologías no contaminantes. (Morales, 2006).

Los antioxidantes son sustancias capaces de retardar la oxidación de los compuestos lipídicos presentes en alimentos, disminuyendo de esta manera su deterioro durante el almacenamiento. La oxidación es causada por un conjunto de reacciones complejas, siendo particularmente importantes las reacciones de radicales libres. (Robinson *et al*; 1997).

Un radical libre puede definirse como una molécula o fragmento molecular con un electrón no apareado. Este electrón no apareado provee ciertas características al radical libre, las cuales le confiere una elevada reactividad. Los radicales libres pueden ser formados por procesos que involucran ruptura de enlaces o reacciones de transferencia

electrónica. (Slater, 1984).

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo por medio de reacciones bioquímicas de oxidación reducción con oxígeno, que tienen lugar por el metabolismo normal de las células, por fagocitos, en una reacción inflamatoria controlada y también en ocasiones, como respuesta a la exposición de radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, contaminación ambiental, humo de cigarrillo, hiperoxia y exceso de ejercicio e isquemia (Céspedes y Sánchez, 2000).

El estudio de sustancias de origen natural con potencial antioxidante se presenta como un campo de investigación promisorio, con el fin de reemplazar a sustancias químicas usadas como aditivos de alimentos. Sin embargo, hasta el momento, en nuestro medio existe escasa investigación sobre la utilización de preservantes de alimentos de origen natural.

Los extractos naturales se han utilizado mayoritariamente con fines terapéuticos. Estos extractos están constituidos por diversos compuestos de diferente naturaleza química; polifenoles, isoprenoides, compuestos tiólicos, ácido ascórbico y polisacáridos que en conjunto contribuyen, bajo diferentes mecanismos, a ejercer la capacidad antioxidante característica de un preparado natural. (Bandoni, 2000).

Un aceite esencial o esencia se define como una parte del metabolismo vegetal, compuesto generalmente por terpenos, que están asociados o no a otros componentes, la mayoría de ellos volátiles, y generan en conjunto el olor de dicho vegetal. (Bandoni, 2000). Los aceites esenciales son mezclas de compuestos volátiles, mayoritariamente terpenos, los cuales pueden llegar a constituir el 5% del peso seco de una planta. Se caracterizan por ser altamente aromáticos, y sus constituyentes tienen actividades biológicas diversas, como la actividad antioxidante (Buchanan, 2000).

Los aceites esenciales están ampliamente distribuidos: coníferas (pino, abeto), mirtáceas (eucalipto), rutáceas (citrus spp), umbelíferas (anís, hinojo), labiadas (menta), compuestas (manzanilla). Pueden estar en diferentes órganos: raíz, rizoma (jengibre), leño (alcanfor), hoja (eucalipto), fruto (anís), sumidades floridas (lavanda, tomillo, espino). Diversas investigaciones han permitido establecer su actividad antibacteriana, antimicótica, antiparasitaria, antiviral e insecticida. (Alzamora *et al*; 2001)

Los aceites esenciales son producidos por las plantas que comunican a los órganos que las contienen olor agradable. Químicamente pueden extraerse por destilación, por arrastre o por vapor de agua. En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como por ejemplo los componentes que forman parte de la fracción aromática del ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados. Los aceites pueden estar asociados formando mezclas con otros productos naturales como es el caso de las resinas y productos relacionados. El interés de su estudio radica en las aplicaciones en perfumería, cosmética, alimentación, aromaterapia. Su normalización corre a cargo de organismos como: ISO, AFNOR; los cuales normalizan tanto el contenido en aceites esenciales como los métodos de obtención. (Alzamora *et al*; 2001)

Desde el punto de vista químico, la actividad antioxidante de los productos naturales se debe a su contenido en polifenoles y terpenos, compuestos con capacidad de atrapar radicales libres, especialmente del Oxígeno. Los antioxidantes sintéticos BHA y BHT también poseen un grupo fenólico en su estructura, por lo que los mecanismos antioxidantes de estos compuestos sintéticos serían similares a los de los productos naturales (Yildirim, 2000).

El uso de aceites esenciales como ingredientes funcionales en comidas, bebidas y cosméticos es un área promisorio de investigación tanto por el interés creciente de los consumidores por productos de origen natural como por la preocupación acerca de los riesgos potenciales del uso de aditivos sintéticos. Por consiguiente, la búsqueda de sustancias con olor o sabor agradable, combinada con una acción preservante, que evite el deterioro de lípidos, oxidación y daño por microorganismos es deseable. Aunque estos fenómenos no se dan solamente en la industria de alimentos, son un riesgo común para la conservación de una sustancia lipídica y orgánica. Los procesos de degradación de lípidos conducen al desarrollo de sabores y olores indeseables, generan toxicidad y afectan la vida en estante de varios alimentos (Sachetti *et al*; 2005).

En este contexto se plantea la presente investigación, que pretende probar la efectividad del uso de aceites esenciales para prevenir la degradación de aceites comestibles, por efecto de la oxidación.

CAPITULO I.

OXIDACIÓN DE GRASAS Y ANTIOXIDANTES.

Introducción.

En este capítulo se trata información referente a; la oxidación de grasas, los radicales libres y su actividad oxidante, los antioxidantes y su papel en la salud, mecanismos de actividad antioxidante, y métodos de cuantificación de actividad antioxidante.

1.1 Oxidación de grasas.

La oxidación de las grasas, generalmente conocida como rancidez, es causada por una reacción bioquímica entre las grasas y el oxígeno. Durante este proceso, los ácidos grasos de cadena larga son degradados, formándose compuestos de cadenas cortas. (Serrano, 2006).

Este proceso además de reducir su valor nutritivo, produce compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables. Uno de los productos de esta reacción es el ácido butírico, el cual produce el característico sabor a rancio. Uno de los factores que influencia el proceso de rancidez es la temperatura. Es así que a bajas temperaturas, como en la refrigeradora, la reacción ocurre pero a muy baja velocidad. Consecuentemente, en los alimentos frescos listos para consumir mantenidos a temperatura de refrigeración, la proliferación de bacterias y por ende, el deterioro del producto ocurrirá generalmente antes que la rancidez pueda ser detectada (Badui, 2006).

Reviste gran importancia la debida conservación de los lípidos en el sentido de retardar el *enranciamiento*, que no sólo determina profundas modificaciones organolépticas como olor y sabor desagradables o repugnantes (acre, añejo, amargo, picante, jabonoso, aceitoso, a quemado, a moho, a sebo, a pescado) y alteraciones en la estructura de la masa, sino también trastornos gastrointestinales. La gran variedad de términos descriptivos para los caracteres de la rancidez ya pone en evidencia la complejidad del

proceso (196). A la vez, los peróxidos resultantes destruyen las vitaminas liposolubles A, D, E, caroteno y parte de los ácidos grasos esenciales y paralizan la biosíntesis de vitamina K. (Carreras, 2005).

El mecanismo que determina la rancidez representa un fenómeno complejo y desde el punto de vista de los causantes de esta alteración, se pueden distinguir tres clases de enranciamiento, o sea:

1. *Rancidez biológica*. El punto de partida es una lipólisis o hidrólisis de los glicéridos. Este fenómeno se observa en las grasas hidratadas como la margarina, y se debe a la acción de microorganismos vivos tales como: bacterias (*B. prodigiosus*, *B. fluorescens*, *B. liquefaciens*), hongos (*Oidium*, *Penicillium*, *Mucor*) y levaduras; mediados por diversos sistemas enzimáticos que éstos microorganismos producen. Iniciado el desdoblamiento por lipasas en ácidos grasos y glicerina, éstos se oxidan por lipo-oxidadas a cuerpos de función aldehídica y cetónica. (Carreras, 2005).

Esta reacción es catalizada por lipasas y, en ciertas condiciones, por altas temperaturas en presencia de agua; es decir, en las condiciones de freído. En esta reacción se hidroliza el enlace éster de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos, y se liberan ácidos grasos. La lipólisis no solo ocurre en las oleaginosas, sino también en los lácteos y en muchos otros alimentos, incluso en la carne y el pescado. En el caso de aceites vegetales (soya, maíz, etcétera), los ácidos libres son de más de 16 carbonos, poco volátiles, sin olor y su presencia solo se advierte mediante el índice de acidez. (Badui, 2006).

2. *Rancidez oxidativa*. Es el deterioro más común de las grasas y aceites y se trata, principalmente, de una oxidación de ácidos grasos no saturados, como el oleico, linoleico y linolénico, pero también se presenta en otros compuestos de interés biológico, como la vitamina A y los carotenoides.

La oxidación ocurre cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de la reducción. Por eso, se enrancian tanto más rápidamente cuanto mayor es el contenido en ácidos grasos no saturados, aunque es aún más importante la presencia de sustancias y factores pro oxidantes: (Badui, 2006).

<u>Promotores.</u>	<u>Inhibidores</u>
<u>Temperaturas altas.</u>	<u>Refrigeración.</u>
<u>Metales, Cu, Fe, etc.</u>	<u>Secuestradores.</u>
<u>Peróxidos de grasas oxidadas.</u>	<u>Antioxidantes.</u>
<u>Lipoxidasa.</u>	<u>Escaldado.</u>
<u>Presión de oxígeno.</u>	<u>Gas inerte o vacío.</u>
<u>Luz UV, azul.</u>	<u>Empaque opaco.</u>
<u>Poliinsaturación.</u>	<u>Hidrogenación de ácidos insaturados.</u>

Cuadro # 1. Factores que influyen en la oxidación de lípidos.

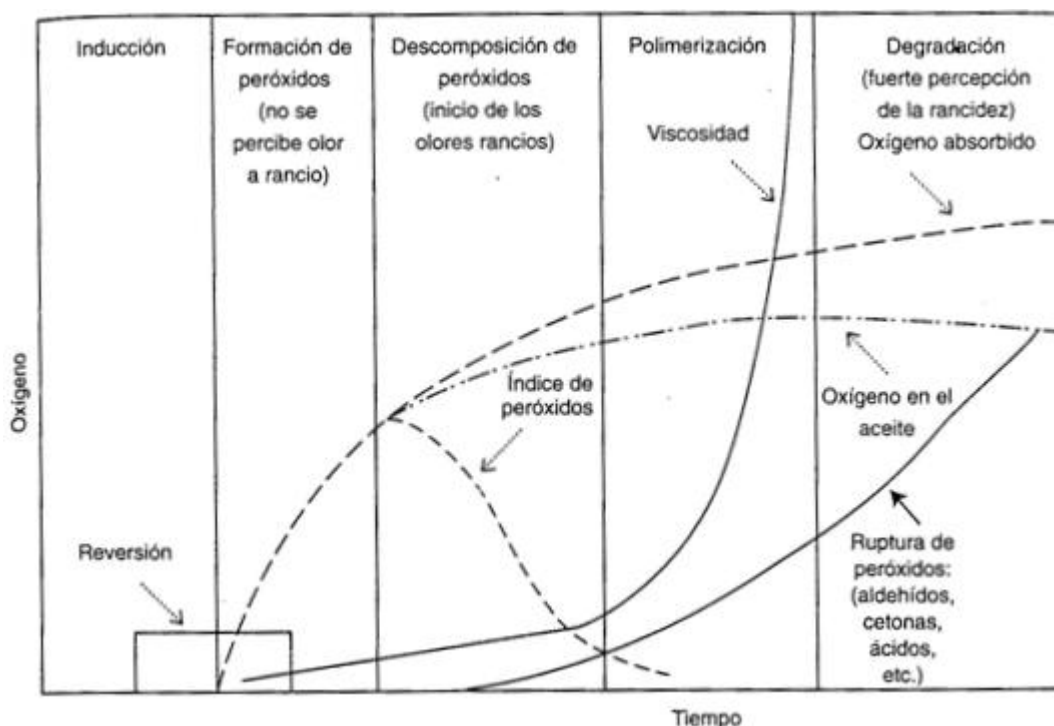
Su mecanismo de propagación es mediante radicales libres, se consideran que procede en tres etapas; iniciación, propagación y terminación. (Badui, 2006).

<u>Iniciación.</u>	$RH \longrightarrow R^{\bullet} + H^{\bullet}$	<u>Radical libre.</u>
<u>Propagación.</u>	$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$	<u>Radical hidroperóxido.</u>
	$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow R^{\bullet} + ROOH$	<u>Hidroperóxido.</u>
<u>Terminación.</u>	$R^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow RR$	<u>Compuestos muy estables.</u>
	$R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR$	
	$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O$	
	$RO^{\bullet} + R^{\bullet} \longrightarrow ROR$	
	$2RO^{\bullet} + 2ROO^{\bullet} \longrightarrow 2ROOR + O$	

Cuadro # 2. Mecanismo de oxidación de lípidos.

3. *Rancidez cetónica.* Se debe a la oxidación de ácidos grasos *saturados* de bajo peso molecular por acción de *hongos y bacterias*, con formación de *betaceto-acido* que se transforma por desprendimiento de CO_2 en una *métilcetona* de olor y sabor aromático, a frutas. En cambio, el olor y sabor a sebo ("tallowiness") se produce por la combinación de un peróxido con un doble enlace en forma de un anillo de dioxano. (Carreras, 2005). Este tipo de deterioro se presenta con menor frecuencia y en aceites refinados con ácido linolénico, como el de soya, que producen olores indeseables en el almacenamiento mediante un mecanismo que no se conoce totalmente; los olores recuerdan primero las hierbas y algunas semillas, y posteriormente, la pintura y el pescado.

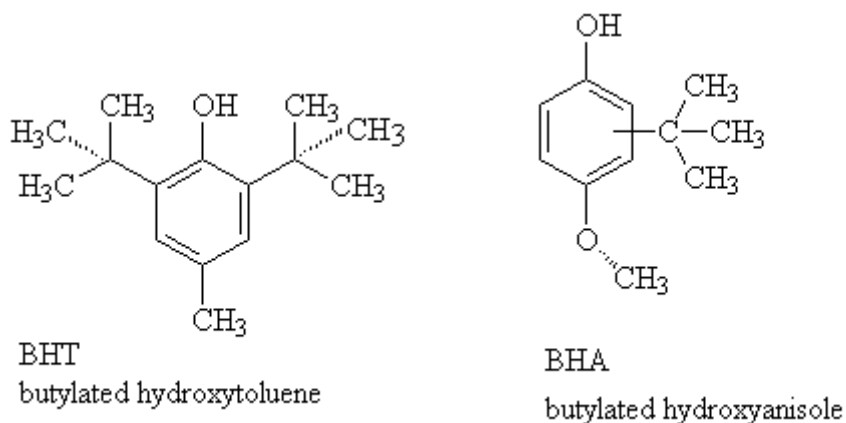
La reacción ocurre en aceites con índice de peróxido muy bajo, menores de 10meq/kg, y puede ser inicio de autooxidación. (Badui, 2006).



Cuadro # 3. Desarrollo de la oxidación de los aceites (Badui, 2006).

1.2 Antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias capaces de retardar la oxidación de los compuestos lipídicos presentes en alimentos, disminuyendo de esta manera su deterioro durante el almacenamiento. La oxidación es causada por un conjunto de reacciones complejas, siendo particularmente importantes las reacciones de radicales libres. Los antioxidantes pueden ser sintéticos o naturales. Entre los antioxidantes sintéticos que más se utilizan en alimentos se encuentran el Hidroxianisol Butilado (BHA) y el Hidroxitolueno Butilado (BHT). Estos compuestos tienen la desventaja de ser muy volátiles y se sospecha que son perjudiciales para la salud. Debido a esto, en la actualidad existe una importante presión del medio consumidor que incentiva la elaboración de productos que provengan de fuentes naturales y que sean producidos por tecnologías no contaminantes (Gormaz, 2005).



(Badui, 2006).

Los antioxidantes sintéticos son propiamente donadores de protones, no detienen la formación de los radicales, sino que reaccionan con ellos, los estabilizan y producen radicales del antioxidante menos activos. Es decir, se consumen en la reacción y, por lo tanto la estabilidad del lípido siempre va a depender de la cantidad residual.

Además de los compuestos antes mencionados, los agentes secuestradores también inhiben la oxidación, pero por una ruta distinta a la donación de protones. (Badui, 2006). Estos compuestos protegen las células contra los efectos dañinos de las especies reactivas de oxígeno. Un desbalance entre antioxidantes y ROS produce estrés oxidativo, y consiguiente daño celular (Buhler *et al*; 2007).

En forma natural, sustancias que evitan la autooxidación, como la lecitina, los tocotrienoles y los tocoferoles (vitamina E), con la peculiaridad de que el poder antioxidante de estos últimos es inverso al de su función biológica y se encuentran en distinta concentración en los aceites crudos de algunas especies vegetales. Los derivados fenólicos presentan estas propiedades. (Badui, 2006).

1.2.1 Antioxidantes de origen natural.

Las especies vegetales superiores desarrollaron su capacidad de adaptación a los ambientes terrestres mediante la biosíntesis de compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos vegetales son metabolitos aromáticos que poseen grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático fenilo. En este grupo se incluyen los flavonoides, constituidos por un esqueleto difenilpropano ($C_6-C_3-C_6$). La familia de los flavonoides

está constituida por flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanos, flavanoles, leucoantocianidinas, antocianidinas, auronas, charconas e isoflavonas. La diferencia estructural en cada flavonoide resulta de la variación y el número de grupos hidroxilo y el grado de glicosilación de estos grupos. En el metabolismo vegetal estos compuestos cumplen funciones variadas, entre ellas: defensa ante otras especies, pigmentación de flores y contribución sustancial a ciertos sabores de frutos (Buchanan, 2000).

Los compuestos fenólicos se encuentran ampliamente distribuidos en plantas comestibles y no comestibles, y se han reportado sus múltiples actividades biológicas, entre las que se incluye el efecto antioxidante. Extractos crudos de frutas, hierbas, y otros materiales vegetales ricos en fenólicos son de creciente interés en la industria de alimentos ya que pueden retardar la degradación oxidativa de lípidos, y por consiguiente mejorar la calidad y valor nutricional de los alimentos (Kähkönen *et al.*, 1999). Los compuestos fenólicos tienen un anillo aromático con uno o más hidroxilos substituyentes, o con derivados funcionales (ésteres, éter metílico y glicósidos). Los fenoles simples incluyen monofenoles como el cresol, y difenoles, como las hidroquinonas. Los ácidos fenólicos incluyen al ácido hidroxibenzoico y ácido hidroxicinámico, ácido p-cumárico, ácido caféico, ácido clorogénico y ferúlico. (Sun y Powers, 2007)

Los beneficios en la salud de los vegetales en la prevención del cáncer, enfermedades cardio y cerebro vasculares son debidos a los antioxidantes que se encuentran en los vegetales. La mayoría de los antioxidantes que contiene los vegetales son: ácido fenólico, flavonoides, alfa-tocoferol, beta-caroteno, luteína y ácido ascórbico. El contenido y composición de los antioxidantes en los vegetales de mayor consumo es muy variable. Los vegetales con mayor potencial antioxidante de mayor a menor son: ajo, espárragos, espinaca, remolacha, pimienta, champiñones, brócoli, col, maíz, cebolla, porotos, zanahoria, coliflor, camote, tomate, papa, lechuga, calabaza, apio y pepino. (Sun y Powers, 2007)

El consumo de vegetales puede estar relacionado con la prevención de ciertas enfermedades y el retardo del envejecimiento. Estos beneficios para la salud se pueden atribuir a la presencia de antioxidantes en su composición. El consumo de vegetales puede reducir los índices de incidencia y mortalidad por cáncer y enfermedades cardio y

cerebro vasculares. Varias investigaciones muestran que los fenoles en los vegetales podrían ser absorbidos por el cuerpo humano. Por ejemplo la quercetina en las cebollas y el kaempferol en el brócoli después de ser ingeridos son detectados en el plasma y en la orina respectivamente (Sun y Powers, 2007).

Los vegetales identificados como fuentes de antioxidantes se listan en el siguiente cuadro:

Antioxidante.	Vegetales.
Miricetina.	Ajo.
Quercetina.	Cebolla, espinaca, lechuga, poroto, tomate.
Quercetina glicósido.	Cebolla, espárragos, col.
Luteolina.	Brócoli, cereal.
Luteolina glicósido.	Apio.
Apigenina.	Ajo, Apio.
Apigenina glicósido.	Apio.
Kaempferol.	Col, brócoli.
Kaempferol glicósido.	Poroto, brócoli.
Ácido clorogénico.	Apio, lechuga, tomate, zanahoria, espárragos.
Ácido caféico.	Camote, zanahoria, lechuga.
Ácido cinámico.	Camote, maíz, papa.
Ácido ferúlico.	Brócoli, maíz, champiñones.
Ácido <i>p</i> -Hidroxibenzóico.	Papa.
Ácido <i>p</i> -Cumárico.	Maíz.
α -Tocoferol.	Apio, camote, pimienta.
β -Caroteno.	Calabaza, zanahoria.
Luteína.	Espinaca, col, lechuga.
Ácido ascórbico.	Pimiento, espinaca, brócoli, champiñones, col, tomate.

Cuadro # 4. Principal fuente vegetal para antioxidantes en específico.

1.3 Radicales libres y actividad oxidante.

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo intentando capturar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica.

Una vez que el radical libre ha conseguido capturar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre, por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye las células. La vida biológica media del radical libre es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a las moléculas y a las membranas celulares. Los radicales libres no son intrínsecamente malos. De hecho, el cuerpo humano los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por los sistemas biológicos. Con este fin, el organismo produce enzimas, como la catalasa o la dismutasa, que son las encargadas de neutralizarlos. Estas enzimas tienen la capacidad de inactivar los radicales libres sin desestabilizar su estado. (Del Rio *et al*; 2003).

Las reacciones químicas de los radicales libres se dan constantemente en las células son necesarias para la salud. Pero, el proceso debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en el torrente sanguíneo, los cuales son captados por los radicales libres convirtiéndose en moléculas inestables. El organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos productos de la contaminación atmosférica. El humo del cigarrillo contiene hidrocarburos aromáticos polinucleares, así como aldehídos que producen distintos tipos de radicales libres en tejidos y membranas. El consumo de aceites vegetales hidrogenados tales como la margarina y el consumo de ácidos grasos trans como los de las grasas que se encuentran en la carne y de las que se encuentran en leche también contribuye al aumento proporcional de los radicales libres. (Del Rio *et al*; 2003).

Por ejemplo, consideremos una molécula hipotética, consistente en un átomo A y un átomo B, expresada en esta forma A: B. En este caso, los puntos entre los dos átomos indican el enlace químico entre ellos, formado por un par de electrones que ambos átomos comparten. Bajo condiciones muy extremas, como una temperatura muy alta o una exposición a radiaciones, esta unión puede romperse, produciéndose así dos radicales libres separados: A• y B•, en que cada uno queda con un electrón no apareado.



Todo átomo o molécula estable tiene electrones apareados, y el número total de electrones que participan en las uniones son siempre así. Los radicales libres, por el contrario, tienen un número inusual de electrones y son inestables, en un estado de alta energía. El radical libre, en estas condiciones, busca a toda costa otro electrón para poder aparearse. Es esta intensa búsqueda la que hace a estos radicales libres extremadamente reactivos. Tan pronto como este radical choca con una molécula u otro radical, captura o comparte un electrón y desaparece rápidamente de la reacción.

Existen otros tipos de reacciones, en las cuales los radicales libres pueden combinarse entre sí y de este modo forman moléculas estables, esto sucede al combinar ambos electrones no apareados. No obstante, el poder destructivo de estas reacciones se manifiesta cuando un radical libre actúa capturando un electrón. Así, el radical se estabiliza captando un electrón o un átomo de H de una molécula estable (M), que puede tener uno o mas átomos de hidrogeno.



En esta reacción, el radical A• llega a ser un ion estable, y la molécula M pasa a ser inestable, es decir un radical iónico M• muy reactivo. Este proceso de auto perpetuación es el que hace especialmente dañinos a los radicales libres en los sistemas biológicos. (Slater, 1984).

En resumen, se puede definir un radical libre “como un átomo o una molécula que presenta uno o más electrones desapareados”. Debido a la necesidad de los radicales libres de alcanzar el apareamiento de los electrones, se considera que ellos pueden

comportarse como agentes “oxidantes” o “reductores”, ya sea que actúen substrayendo o aportando electrones a otro átomo o molécula. Este hecho es de gran importancia en un sistema biológico. (Montero, 2008).

1.4 Antioxidantes en la salud

Desde hace varios años se ha puesto de moda en Occidente el incremento del consumo de vegetales con el propósito de disminuir la incidencia de enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis. Este enfoque de la dieta preventiva se ha completado con el de un estilo de vida sano, en lo que podría conceptuarse como un regreso a "lo verde". (Piergiorgio *et al*, 1998; Hernández y González, 1999).

El desarrollo de enfermedades crónicas como el cáncer es atribuido a daño oxidativo de especies de oxígeno reactivo (ROS) al ADN. Un camino para reducir o minimizar la formación de ROS es la adición de antioxidantes en la dieta. De todas formas, esta estrategia de terapia de cáncer suplementaria con antioxidantes es un tema de candente debate por la ausencia de evidencia científica. Los primeros estudios indicaban que esto podría ser perjudicial en trabajadores que fuman o que estén expuestos a un ambiente cancerígeno. Estudios posteriores muestran que los ROS juegan un rol en las células señalando y regulando y conduciendo a la muerte celular o apoptosis. De esta manera una dieta suplementaria con antioxidantes como el ácido ascórbico podría interferir con la formación de ROS y prevenir la apoptosis. Consecuentemente los antioxidantes suplementarios como suministro para pacientes con cáncer es un tema de discusión. (Eskin y Bird, 2007)

El componente “fito-” de la palabra fitoquímica deriva de la voz griega *phyto*, que quiere decir planta. Por lo tanto, fitoquímicas son compuestos químicos vegetales que pueden definirse como compuestos bioactivos no nutritivos de las plantas en frutas, vegetales, granos y otras plantas comestibles que pueden reducir el riesgo de ciertas enfermedades. Más de 5000 fitoquímicos han sido identificadas en frutas, vegetales y granos, pero un gran porcentaje aun continua siendo desconocido y para identificarlos se requiere entender los beneficios para la salud de los fitoquímicos que están en todos los alimentos (Liu y Felice, 2007).

La creciente aceptación de la dieta como terapia preventiva y de la medicina verde como alternativa, está acompañada de muchas ideas erróneas, una de las más frecuentes es atribuirles a las vitaminas todos los beneficios de los vegetales y el desconocimiento (y en consecuencia la falta de estímulo para su estudio) de otros agentes presentes en ellas que contribuyen con un amplio espectro de propiedades a la prevención de ciertas enfermedades, un ejemplo de estos son los polifenoles. Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención (Hernández y Gonzalez 1999).

Entre las propiedades relevantes para la salud humana, se puede citar actividad antirradicalaria, antimutagénica, anticarcinogénica, retardamiento de la senescencia, antiteratogénica, antimicrobiana. La acción antirradicalaria se evidencia por los siguientes mecanismos:

- Inhiben la oxidación de b-carotenos catalizada por la mioglobina.
- Inhiben la oxidación de b-carotenos producida por el sistema Fe-ácido ascórbico.
- Son donantes de hidrógenos por vía de mecanismos de captura.
- Son agentes quelantes.

Los efectos antiteratogénicos se evidencian por las siguientes vías:

- Bloquean la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad *in vivo*.
- Inhiben la oxidación de las LDL *ex vivo* en presencia de Cu^{++} .
- Exhiben mayor capacidad protectora que el α -tocoferol en la inhibición de la oxidación de las LDL.

La actividad antimutagénica de los antioxidantes es controvertida puesto que la quercetina y los colorantes fenólicos del café y el vino tinto han sido reportados como positivos en estudios de mutagenicidad. En diversos estudios biológicos, usando líneas celulares, se ha demostrado un potente efecto supresivo del daño al ADN inducido por H_2O_2 , debido a la quercetina y compuestos relacionados. El ácido tánico, (+) catequina, rutina, fisetina, luteolina y apigenina protegen al ADN plasmidial de los daños producidos por oxígeno singulete (Hernández, y González; 1999).

En estudios clínicos no se ha obtenido pruebas consistentes de que un solo antioxidante presente efectos preventivos, por lo que es recomendable consumir 5 a 10 variedades de vegetales diarios para reducir el riesgo de enfermedades crónicas y conocer los nutrientes requeridos para una óptima salud.

1.5 Mecanismos de actividad antioxidante.

Los antioxidantes, además de su rol preservante de alimentos, pueden actuar como antioxidantes biológicos, a través de diferentes mecanismos.

a) Polifenoles (flavonoides, catequinas, antocianidinas, etc.). Estos compuestos son oxidados por radicales libres ($R\cdot$), dando lugar a un radical más estable y por lo tanto, menos reactivo.



Los flavonoides además, inhiben diversas enzimas responsables de la producción de anión superóxido; entre ellas la xantina-oxidasa, la ciclooxigenasa (COX), la succinoxidasa y la NADH oxidasa mitocondriales.

b) Ácido ascórbico. Se encuentra presente en muchas plantas, y su acción antioxidante está dada por: a) su capacidad de secuestrar especies radicalarias del oxígeno ($O_2\cdot^-$, $HO\cdot$, $ROO\cdot$) y del nitrógeno ($R\cdot NOO\cdot$) y b) por su capacidad de proteger las defensas antioxidantes celulares; regenera las especies oxidadas de los antioxidantes fisiológicos (α -tocoferol y GSH) y no fisiológicos (β -caroteno).

c) Isoprenoides. Son sustancias altamente liposolubles y por lo tanto se distribuyen en zonas de la célula con mayor lipofiliidad. Ellos actúan como antioxidantes, principalmente atrapando los radicales $ROO\cdot$. Además, algunos terpenoides de estructura semejante al ácido araquidónico inhiben la COX.

d) Polisacáridos. Estos compuestos en sus formas oligoméricas o poliméricas tienen la posibilidad de unirse a membranas biológicas a través de interacciones de puentes de hidrógeno o dipolares, provocando una protección física que evita el contacto directo de los oxidantes con los componentes de dichas membranas. Un ejemplo de este tipo de

interacciones está constituido por el efecto protector de los mucílagos de la *Opuntia sp.*

e) Sustancias quelantes. Estos compuestos son en general ácidos carboxílicos y polifenoles; ellos quelan elementos trazas, principalmente cobre y hierro en su estado iónico, los cuales están involucrados en la producción de radicales libres vía la reacción de Haber Weiss / Fenton.

f) Compuestos tiólicos. Existen algunas plantas que concentran particularmente compuestos tiólicos y muy fundamentalmente cisteína. Es reconocida la capacidad de los grupos tiólicos de atrapar radicales libres en forma similar a lo que ocurre con los compuestos fenólicos. (Gormaz, 2005).

1.6 Métodos de cuantificación de actividad antioxidante.

Existen más de 15 métodos disponibles para la determinación de la actividad antioxidante de alimentos. Las ventajas y desventajas de estos métodos ha sido discutidos en varias investigaciones. De todas formas no se han establecidos oficialmente métodos estandarizados para el análisis de la actividad antioxidante de los alimentos.

De acuerdo con las reacciones químicas cuantificadas, los ensayos antioxidantes pueden clasificarse en tres clases:

- Basados en la transferencia de átomos de hidrogeno (HAT).
- Basados en la transferencia de electrones (ET)
- Otros ensayos.

La transferencia de átomos de hidrogeno incluye la capacidad de absorber el radical oxígeno (ORAC), parámetro antioxidante total de radicales atrapados (TRAP) y inhibición de la oxidación por la inducción de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Los métodos basados en transferencia de electrones incluye [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS), poder antioxidante (hierro reductor), DPPH, en este método, la actividad antioxidante se relaciona con la capacidad de la

sustancia de estudio, para estabilizar un radical libre. La reacción radicalaria provoca un cambio de color, que puede ser medido en un espectrofotómetro, e interpretado como la capacidad de una sustancia de estabilizar radicales libres. (Fogliano *et al*; 1999).

Otros ensayos incluyen capacidad de buscar el total de oxidantes (TOSC), entre otros quimioluminiscencia y electroquimioluminiscencia. Un único método no puede cuantificar el total de la actividad antioxidante en un alimento. Esto sugiere que la actividad antioxidante de un alimento podría ser evaluada usando varios métodos de cuantificación, que evalúen el potencial del alimento como fuente de antioxidantes que exhiban diferentes mecanismos de bioactividad. (Sun y Powers, 2007)

CAPITULO II.

ESPECIES VEGETALES EN ESTUDIO.

Introducción.

En este capítulo se desarrolla la descripción botánica y propiedades de cada una de las especies vegetales que se utilizan para el estudio realizado.

2.1 Romero.



2.1.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Division: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Lamiales.

Familia: Lamiaceae.

Subfamilia: Nepetoideae.

Tribu: Mentheae.

Genero: *Rosmarinus*.

Especie: *R. officinalis*.

Nombre Binomial: *Rosmarinus officinalis*.

El romero es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificado, y puede medir hasta 2 metros de altura. Lo encontramos de color verde todo el año, con tallos jóvenes borrosos (aunque la borra se pierde al crecer) y tallos añosos de color rojizo y con la corteza resquebrajada. (Miranda, 2007). (Salvat, 1974).

Las hojas son pequeñas y muy abundantes, presentan forma linear. Son opuestas, sésiles, enteras, con los bordes hacia abajo y de un color verde oscuro, mientras que por el envés presentan un color blanquecino y están cubiertas de pelo. En la zona de unión de la hoja con el tallo nacen los ramilletes floríferos. (Miranda, 2007).

Las flores son de unos 5 mm de largo. Tienen la corola bilabiada de una sola pieza. El color es azul violeta pálido, rosa o blanco, con cáliz verde o algo rojizo, también bilabiado y acampanado. Son flores axilares, muy aromáticas y melíferas (contienen miel), se localizan en la cima de las ramas, tienen dos estambres encorvados que están soldados a la corola y tienen un pequeño diente. (Miranda, 2007).

El fruto, encerrado en el fondo del cáliz, está formado por cuatro pequeñas nuececitas trasovadas, en tetraquenio, de color parduzco. (Salvat, 1974).

Las hojas y sumidades de romero contienen taninos, un principio amargo, 0.15% de saponina ácida y pequeñas cantidades de un glucósido. Pero el más importante de sus componentes aparte de una pequeña cantidad de resina, es la esencia de romero, que se obtiene de las hojas y sumidades floridas en cantidades variables, según las localidades en que se cría y la época en que se recolecta. (Bandoni, 2000)

Su composición química es:

- Ácidos fenólicos (caefeico, clorogénico, rosmarínico)
 - Flavonoides (derivados del luteol y del epigenol)
 - Aceite esencial (pineno, canfeno, borneol, cineol, alcanfor, limoneno) 1,2 a 2%
 - Diterpenos (carnosol, rosmanol, rosmadial)
 - Ácidos triterpénicos (ácido ursólico) 2 a 4%
 - Alcoholes triterpénicos (alfa y beta-amirina, betulósido).
- (Bandoni, 2000).

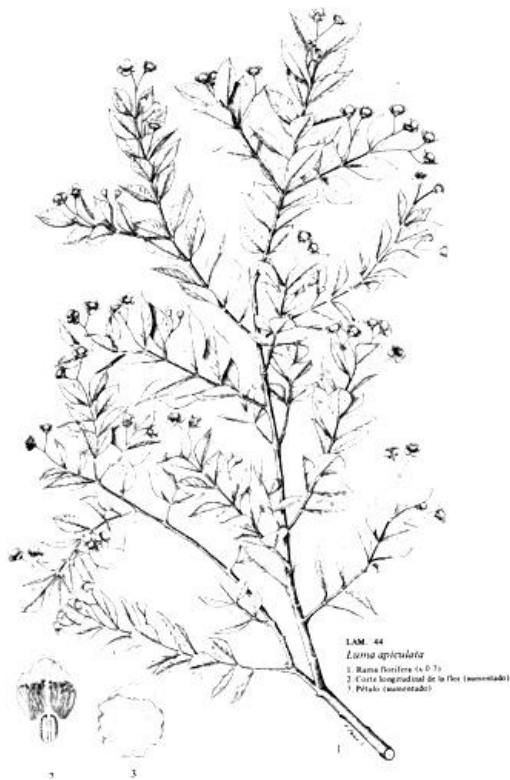
2.1.2 Propiedades.

Del romero se utilizan sobre todo las hojas, y a veces, las flores. Es una planta rica en principios activos. Con el aceite esencial que se extrae directamente de las hojas, se prepara alcohol de romero, que se utiliza para prevenir las úlceras. También se emplea para tratar dolores reumáticos y lumbalgias. Se utiliza en fricciones como estimulante del cuero cabelludo (alopecia). La infusión de hojas de romero alivia la tos y es buena para el hígado y para atajar los espasmos intestinales. El humo de romero sirve como tratamiento para el asma. El alcanfor de romero tiene efecto hipertensor (sube la tensión) y tonifica la circulación sanguínea. (Salvat, 1974).

Por sus propiedades antisépticas, se puede aplicar por decocción sobre llagas y heridas como cicatrizante.

Además es una excelente planta de interior debido al agradable aroma que desprende. (Morton, 1987),

2.2 Arrayán.



2.2.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Division: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Myrtales.

Familia: Myrtaceae.

Subfamilia: Nepetoideae.

Tribu: Mentheae.

Genero: *Luma*.

Especie: *L. apiculata*.

Nombre Binomial: *Luma apiculata*.

La familia Mirtaceae, es muy amplia en cuanto a plantas leñosas, desde arbustos a grandes árboles, principalmente de distribución tropical y subtropical, que comprende unos 140 géneros con alrededor de 3.000 especies, encontrándose en Chile a tres representantes. (Miranda, 2007).

Es siempreverde, de troncos retorcidos. La característica que mejor lo define es la corteza, muy lisa y sedosa, de color rojo ladrillo con manchas blancas. Hojas opuestas, aromáticas, de 1 a 2 cm de largo, con un pequeño mucrón en el ápice, verde oscuras y brillantes en la cara superior, claras y opacas en el envés. Flores axilares, reunidas en grupos de 3 a 5 unidades, blancas y perfumadas, corola de 4 pétalos grandes; numerosos estambres también blancos que rodean al pistilo de color rojizo. Floración primaveral. (Carhuapoma, *et al*; 2005).

Los frutos son comestibles y consisten en una baya redonda, negra, que contienen 3 semillas. La madera del arrayán, muy dura y compacta, es usada para hacer mangos de herramientas. (Carhuapoma, *et al*; 2005).

La reproducción del arrayán se hace por semillas y almácigo, transplantando los arbolitos a bolsas plásticas cuando estos tienen unos 5 a 6 cm de alto, y donde se les mantiene durante uno o dos años antes de plantarlos en su lugar definitivo. Este deberá tener un suelo rico, sombreado y muy húmedo. Su crecimiento es lento. (Carhuapoma, *et al*; 2005).

Sus principios activos más importantes son: Taninos, resinas y aceite esencial. La esencia se compone de a-b pineno, cineol y mirtol. También se han encontrado flavonoides, quercitina, kaempferol, mircetina y dos glúcidos de miricetina. (Bandoni, 2000).

2.2.2 Propiedades.

El término arrayán designa varias especies de plantas (Hoffmann et al, 1992). Las propiedades medicinales pueden ser atribuidas fundamentalmente a la presencia de los taninos y aceites esenciales. Actualmente se sabe que el arrayán es usado como astringente en disenterías y diarreas. En Chiloé, se le considera astringente, usándose para detener hemorragias y en infusión, cura las heridas internas. El fruto se utiliza para hacer un tónico fortificante; dos hojas sirven para tomar mate. (Carhuapoma, *et al*; 2005).; en Bonilla, 2005 se cita autores que señalan: “Las raíces astringentes se usan contra la disentería. La decocción de la corteza se usa en lavatorios contra herpes y para curar úlceras” y “Sus hojas aromáticas y corteza, ligeramente astringentes, son

estimulantes, balsámicas vulneraria y modificadora de mucosas”, siendo estos los usos que la medicina tradicional le ha descubierto. (Carhuapoma, *et al*; 2005). El arrayán corresponde a una especie que ha sido usada medicinalmente desde tiempos muy remotos.

Sugerencias para usos del Arrayán:

Uso interno: Balsámico y vulnerario; astringente y estimulante. Uso externo: Para lavar heridas.

Infusión: Se prepara con dos cucharadas bien llenas de hojas secas y molidas para un litro de agua hervida. Beber tres tazas al día. Como tónico estomacal, antidiarréico y anticatarral.

Gargarismos: Se prepara un cocimiento con un puñado de hojas y un litro de agua. Se hierve durante quince minutos y se cuela. Hacer gárgaras dos o tres veces al día. Para tratar lesiones de las encías y la garganta.

Lavados: Se prepara con el mismo cocimiento señalado más arriba y se usa para el lavado de heridas. Para curar heridas y úlceras infectadas.

A menudo se cultiva como ornamental. Las hojas, flores y frutos son ricos en aceite aromático empleado en perfumería. Planta muy famosa en la antigüedad, cuando se consideraba símbolo del amor y la belleza. Con coronas de mirto se honraba a los campeones olímpicos. (Salvat, 1974).

2.3. Albahaca.



2.3.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Familia: Lamiaceae.

Subreino: Tracheobionta.

Subfamilia: Nepetoideae.

Division: Magnoliophyta.

Tribu: Ocimeae.

Clase: Magnoliopsida.

Genero: *Ocimum*.

Subclase: Asteridae.

Especie: *O. basilicum*.

Orden: Lamiales.

Nombre Binomial: *Ocimum Basilicum*.

Se trata de una planta herbácea, tiene un tronco erecto, alcanza una altura de 30-60 cm. Con hojas opuestas, de color verde intenso en el lado superior y verde-gris en el inferior. Las flores son pequeñas, de color blanco se disponen en largos ramilletes terminales. Es una planta anual, las hojas nuevas son las más perfumadas y sus hojas deberían ser usadas cuando la planta tiene una altura de 20 cm. La albahaca crece bien en terrenos simples, bien soleados y bien regados. (Morton, 1987),

Florece en verano, aunque puede variar en función de cómo y dónde se haya cultivado. Las hojas se utilizan tanto frescas como desecadas, pues no pierden el aroma tras el

proceso de secado. Lo principal de esta aromática hierba es la esencia, cuya cantidad y calidad varía dependiendo de su procedencia. Por regla general se encuentra en mayor cantidad en las sumidades floridas, aunque siempre hay excepciones. Esta esencia es rica en metilcavicol, linalol, cineol y eugenol; además de estos compuestos, también encontramos saponinas en su composición. El componente mayoritario del *O. basilicum* es el linalol, cinamato de metilo, el timol y, el *O. tenuiflorum* L, el 4-alil anisol. (Miranda, 2007).

2.3.2 Propiedades.

Esta esencia confiere a la planta propiedades aperitivas, digestivas, espasmolíticas, carminativas, ligeramente sedantes y, en uso externo, analgésicas, vulnerarias y antisépticas. Por todo ello, está especialmente indicada en desnutrición, digestiones lentas y pesadas, espasmos del aparato digestivo, jaquecas y tos convulsiva. Externamente se puede utilizar con buenos resultados en heridas, eczemas y mialgias (Bandoni, 2000)

2.4 Oregano.



2.4.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Division: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Lamiales.

Familia: Lamiaceae.

Subfamilia: Nepetoideae.

Tribu: Mentheae.

Genero: *Origanum*.

Especie: *O. vulgare*.

Nombre binomial: *Origanum vulgare*.

El orégano, (*Origanum vulgare*), es una herbácea perenne aromática del género *Origanum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Son las hojas de esta planta las que se utilizan como condimento tanto secas como frescas, aunque secas poseen mucho más sabor y aroma.

La planta forma un pequeño arbusto achaparrado de unos 45 cm de alto, los tallos, que a menudo adquieren una tonalidad rojiza, se ramifican en la parte superior y tienden a deshojarse en las partes más inferiores. Las hojas surgen opuestas, ovales y anchas de

entre 2-5 cm, con bordes enteros o ligeramente dentados y con vellosidad en el envés. Las diminutas flores, de color blanco o rosa, que nacen en apretadas inflorescencias terminales muy ramificadas están protegidas por diminutas hojillas de color rojizo.

Toda la planta posee unas pequeñas glándulas donde está contenida la esencia aromática, de color amarillo limón, compuesta por un estearopteno y dos tipos de fenoles, como mayoritario el carvacrol y en menor proporción el timol. Las raíces contienen estaquiosa y los tallos sustancias tánicas. (Salvat, 1974).

Varias especies del género *Origanum* son nativas de la zona mediterránea y todas ellas son tratadas como especia. La influencia del clima, la estación y el suelo afectan en mayor medida la composición del aceite esencial que contiene que la diferencia entre especies.

Las especies más importantes son:

- *Origanum vulgare*, Europa.
- *Origanum heracleoticum*, Italia, Península Balcánica y Asia occidental.

Una especie estrechamente emparentada es la Mejorana procedente de Asia Menor, que sin embargo, difiere significativamente en sabor debido a que su aceite esencial carece de compuestos fenólicos (Salvat, 1974).

Sus componentes activos son: ácidos; rosmarinico (planta y hojas), palmítico, esteárico, oleico, ursólico, cafeico, capricho (planta). Aceite esencial rico en timol, cíñelo, carvacrol, borneol, beta-bisolobeno, limoneno, alfa pineno, beta pineno, mirceno, camfeno, alfa terpineno (planta). Minerales; potasio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, hierro (planta). Taninos (planta). Vitaminas; niacina, beta-caroteno (planta). (Morton, 1987).

2.4.2 Propiedades.

Sus propiedades han sido ampliamente estudiadas, siendo las más importantes su actividad antioxidante. Contiene más de 30 compuestos con estas propiedades, entre ellos el timol, muy abundante también en el tomillo, el ácido rosmarínico o el carvacrol, antimicrobiana y, en estudios bastante primarios, antitumoral, antiséptica y también se

la considera tónica y digestiva. Estas propiedades pueden ser muy útiles en el tratamiento de enfermedades. (Miranda, 2007).

Es el ingrediente imprescindible de la cocina italiana, donde es utilizado para la salsa de tomate, las verduras fritas y la carne a la brasa y, por supuesto, la pizza. Combina eficazmente con las aceitunas encurtidas y alcaparras; armoniza incluso con los platos picantes, populares de la cocina italiana meridional. Junto con la albahaca da el carácter a la gastronomía italiana. Las cocinas de otros países mediterráneos utilizan esta especia en menor medida, aunque es de relativa importancia en la española, francesa y griega. En México se utiliza para condimentar platillos como el pozole. En otros lugares existe el conocido orégano "rojo", o bien rubores. Este condimento resulta agradable en cualquier comida típica en el noroeste de la Argentina (Bandoni, 2000).

2.5 Matico.



2.5.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Division: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Lamiales.

Familia: Buddlejaceae.

Subfamilia: Nepetoideae.

Tribu: Mentheae.

Genero: *Buddleja*.

Especie: *B. globosa*.

Nombre binomial: *Buddleja globosa*.

El matico, palguín, pañil o paiquil (*Buddleja globosa* Hope) es una planta medicinal originaria de Argentina, Bolivia, Chile y el Perú. En Chile crece en el bosque laurifolio y en el bosque siempreverde. Crece como un arbusto de unos 4 metros de altura. Tiene hojas lanceoladas de unos 15 cm de longitud, de color verde oscuro por el haz y verde blanquecino por el envés. Sus flores crecen en inflorescencias globosas de color amarillo. Su fruto es una cápsula. La *Buddleja globosa* o matico es una planta rica en compuestos polifenólicos de reconocida capacidad antioxidante, cuyo uso es muy común en la medicina popular. (Salvat, 1974).

Es una planta dicotiledónea semiarbustiva arbórea que presenta un tallo cilíndrico, ramificado leñoso que a su vez presenta nudos prominentes y abultados, también presenta hojas simples sésiles, estipuladas enteras alternas, penninervias de apariencia muy rugosa por el haz y con las nervaduras sobresalientes en forma de malla por el lado del envés. Presenta inflorescencia en espiga simple densa o compuesta con flores pequeñas hermafroditas aclamídeas desnudas acompañadas de una bráctea que va a tener un ovario supero con dos estambres. Su fruto va a ser una drupa y su semilla va a ser una semilla inseminal .no presenta cáliz y corola. (Morton, 1987),

El componente más importante, desde el punto de vista cuantitativo, y al que se atribuye en parte sus virtudes cicatrizantes, es el tanino. Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5,7%. Otros constituyentes importantes son varios tipos de alcaloides, a los que se les atribuye un efecto relajador de la musculatura lisa Por último, se señala la presencia de numerosos glucósidos, especialmente de tipo flavonoides. El aceite esencial contiene 5-metoxi-6 (2'-propen) - benzodioxole, dillapiol, etoxidillapiol, mirisicina y piperitona. Por otra parte, se ha demostrado que el matico posee actividad antibacteriana la cual es atribuible a los glicósidos presentes en las hojas de la planta. (Morton, 1987),

2.5.2 Propiedades.

La medicina popular le atribuye a *B. globosa*, propiedades cicatrizantes, es así como la infusión de las hojas es usado en forma tópica para el tratamiento de heridas, de quemaduras y de úlceras externas e internas.

La evaluación farmacológica de extractos seriados obtenidos a partir de hojas de *Buddleja globosa* ha permitido demostrar las propiedades antiinflamatoria, analgésica, cicatrizante y antioxidante de los extractos hexánico, de diclorometano y metanólico, resultando más activos los dos últimos. Del extracto hexánico se ha aislado una mezcla de α y β amirinas como sus componentes mayoritarios. Del extracto bioactivo de diclorometano se han aislado una mezcla de esteroides siendo el glucósido de β -sitosterol el más abundante, junto con stigmasterol, stigmastenol, stigmastanol, campesterol y β -sitosterol (Gormaz, 2007).

2.6 Tomillo.



2.6.1 Descripción Botánica.

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Division: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Lamiales.

Familia: Lamiaceae.

Subfamilia: Nepetoideae.

Tribu: Mentheae.

Genero: *Thymus*.

Especie: *T. vulgaris*.

Nombre binomial: *Thymus vulgaris*.

Los tomillos son plantas perennes, de tallo leñoso, de escasa altura, que viven en suelos pobres y pedregosos de regiones secas. Sus hojas son diminutas y poseen esencias aromáticas. De hasta 30cm de altura. Tallos leñosos y grisáceos. Hojas lanceoladas u ovadas, enteras, pecioladas, con el envés cubierto de vellosidad blanquecina y con el contorno girado hacia adentro. Flores rosadas y blancas, con la corola de labio superior escotada y el inferior dividido en tres lóbulos. Cáliz rojizo y aterciopelado. (Salvat, 1974).

Sus componentes activos son: ácidos; oleico, palmitico, nicotínico y linoleico (planta), ascórbico (hojas); aminoácidos; cistina, valina, glicina, isoleucina (planta); aceites esenciales; timol, anetol y borneol (hojas), carvacrol y cineol (toda la planta); minerales y metales; hierro (planta), aluminio, calcio, cobalto y magnesio (hojas). (Morton, 1987),

2.6.2 Propiedades.

El tomillo se usa frecuentemente para dar sabor a las carnes, sopas y guisos. Se utiliza en la cocinas de la cuenca mediterránea, como en la cocina catalana para elaborar la Sopa de "Farigola" y también en la cocina francesa, siendo un componente importante en el bouquet garni, además de en las *Hierbas de Provence*. También se utiliza ampliamente en las cocinas del Caribe. En Jordania el condimento *zahtar* contiene tomillo como su ingrediente fundamental. El tomillo debe de añadirse al guisado en sus inicios para que sus aceites tengan tiempo de impregnarse. De esta especie se puede extraer para industrial productos como el acetol, utilizado en la fabricación de perfumes o el carvacrol. (Bandoni, 2000).

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Materiales, reactivos y equipos.

3.1.1 Material de laboratorio.

- Vasos de precipitación.
- Embudos.
- Probetas.
- Tubos de ensayo
- Balones.
- Celdas de cuarzo de 1mL de capacidad.
- Probeta.
- Erlenmeyer.
- Capsulas.
- Pipetas, pipetas automáticas.

3.1.2 Equipos.

- Equipo extractor de aceites esenciales.
- Fuente de calor; cocina a gas.
- Espectrofotómetro monohaz.
- Balanza analítica.
- VORTEX (agitador).
- Estufa.

3.1.3 Solventes y reactivos.

- Metanol técnico destilado.
- Reactivo DPPH.
- Solución de almidón (1%).
- Solución acido acético-cloroformo (3:2).
- Solución tiosulfato de sodio (0.01N).
- Solución saturada de KI.

3.1.4 Material vegetal.

Se utilizaron partes aéreas frescas de las siguientes especies vegetales:

- Romero (*Rosmarinus officinalis*).
- Albahaca (*Ocimum basilicum*).
- Arrayán (*Luma apiculata*).
- Matico (*Buddleja globosa*).
- Orégano (*Origanum vulgare*).

3.2 Métodos.

3.2.1 Recolección y preparación de especies vegetales:

Las especies vegetales evaluadas en la capacidad antioxidante de sus aceites esenciales se adquirieron en mercados locales en gran cantidad. Todas las especies se procesaron en fresco. Se separaron las hojas y tallos verdes del material vegetal y se lo redujo a pequeños pedazos para facilitar la extracción. Finalmente se pesó la materia prima para obtener su rendimiento. Por la dificultad de conseguir la planta de Tomillo en estado fresco se procedió a remplazar con la del *Luma apiculata* (arrayán) y se trabajó con esta.

3.2.2 Obtención de aceites esenciales; método (destilación por arrastre de vapor).

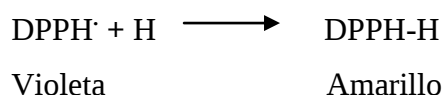
El procesamiento del material vegetal para obtener aceites esenciales se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la UDA. El equipo utilizado extrae aceites esenciales por el método de arrastre de vapor.

Para el procesamiento se colocaron 4 litros de agua en un contenedor de acero inoxidable. Se procesaron alrededor 1kg de material vegetal previamente seleccionado. El equipo de extracción tiene un sistema de reflujo para condensar el aceite esencial. Los productos de la destilación fueron separados por densidad en una columna de vidrio. El proceso de extracción inicia cuando el sistema alcanza la temperatura de ebullición del agua (92°C a 2500 msnm). El aceite esencial obtenido fue colectado en frascos ámbar para protegerlo de la degradación por la luz solar.

3.2.3 Determinación de la actividad atrapadora de radicales libres; método (DPPH).

Este método está basado en la capacidad de las moléculas presentes en el extracto en estudio para decolorar el radical libre estable DPPH (difeníl picril hidrazil). Se preparó un gradiente de concentración de soluciones metanólicas de aceites esenciales, en un rango de 25 a 250 µL/mL. Adicionalmente, este rango se amplió hasta 750 µL/mL. Las soluciones fueron preparadas en tubos eppendorf y se homogeneizaron con la ayuda de un agitador mecánico (Vortex). La solución del radical libre DPPH se preparó a una concentración de 0.002% en metanol. Esta solución fue conservada en un frasco ámbar, preservada de la luz solar.

La capacidad de atrapar el radical libre DPPH se verifica por el cambio de color de la solución, de violeta a amarillo al mezclar una solución del radical libre (DPPH) con la solución metanólica del aceite esencial en estudio.



Las muestras de cada concentración de cada uno de las soluciones de los distintos aceites, además del blanco y el control se prepararon en tubos de ensayo según el siguiente esquema:

	Control.	Blanco.	Muestra.
Extracto.	-	50µL	50 µL
DPPH (0.002%)	2.5mL	-	2.5mL
Metanol.	50 µL	2.5mL	-

Cuadro # 5. Esquema para la preparación de las muestras para la evaluación de DPPH.

Luego de dejar incubar por 30 minutos en la oscuridad las muestras, se cuantificó la absorbancia en un espectrofotómetro a 517 nm. El porcentaje de decoloración se calcula con la siguiente formula:

$$\%_{\text{decoloración}} = \frac{\text{Absorbancia}_{\text{muestra}}}{\text{Absorbancia}_{\text{control}}} * 100$$

Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

3.2.4 Establecimiento de las concentraciones de trabajo de los aceites esenciales para el ensayo de índice de peróxido.

Para definir las concentraciones máximas y mínimas que presenten efecto antioxidante se realizaron ensayos de índice de peróxido adicionando aceite esencial de albahaca a los aceites comestibles, y midiendo el índice de peróxido a diferentes tiempos.

Se prepararon mezclas de aceite comestible con diferentes concentraciones de aceite esencial: 0.03, 0.1 y 0.2 % (% p/v).

Las muestras se incubaron a 65°C y se determinó periódicamente en tiempos de 1, 7, 14 y 21 días el índice de peróxido mediante el método descrito a continuación:

- Pesar 5 g de muestra homogeneizada en un Erlenmeyer de 250 cc.
- Añadir 30 cc de una solución de ácido acético: cloroformo (3:2). Agitar hasta que se disuelva.
- Añadir 0.5 cc de solución saturada de KI (o bien 2 g).
- Agitar durante 1 minuto en oscuridad.
- Añadir 30 cc de agua destilada.
- Valorar con tiosulfato de sodio 0.01 N, hasta desaparición de color amarillo.
- Añadir 30 cc de agua destilada. Adicionar 0.5 cc de sol. de almidón al 1%. Continuar valoración hasta desaparición del color azul. Agitar vigorosamente el matraz cerca del punto final y observar.

Hacer un blanco con los reactivos utilizados.

$$\text{Índice de peróxido (meq/kg materia grasa)} = \frac{Na_2S_2O_{3(mL)} * N * 1000}{g.muestra}$$

g.muestra: peso de la muestra en gramos

Todos los ensayos fueron realizados por triplicado. Luego de este análisis se estableció trabajar con las concentraciones de 0.1% y 0.2% como concentraciones mínimas y máximas respectivamente.

3.2.5 Diseño experimental

Para la evaluación del efecto de los aceites esenciales sobre el enranciamiento de los aceites vegetales comestibles, se seleccionaron dos marcas comerciales diferentes de aceites de palma, maíz y girasol; en las cuales se evaluó el efecto de los aceites esenciales. Los detalles acerca de los productos utilizados en este ensayo se presentan en el siguiente cuadro.

Tipo.	Marca.	Lote.	Antioxidante.
<u>Soya.</u>	“Soya”.	0808/maq1 07:16	TBHQ
<u>Soya</u>	“La Favorita”.	2622728 (S) ENV.02 M. F	-
<u>Maíz.</u>	“Mazorca de Oro”.	3713050	TBHQ
<u>Maíz.</u>	“Luigi”.	520716422 13:50	TBQH
<u>Palma.</u>	“Dos Coronas”.	8046476105	TBHQ 0.2%
<u>Palma.</u>	“Palma de Oro”.	5620	BHT 0.01%

Cuadro # 6. Especificaciones de los aceites comestibles utilizados.

La selección de las condiciones en las cuales los aceites esenciales ejercieron el mejor efecto antioxidante en mezcla con los aceites comestibles en estudio fue evaluada mediante un diseño experimental fraccionario 2^{3-1} . Esta matriz se aplicó para cada tipo de aceite con tres repeticiones, con los aceites esenciales de romero, albahaca y orégano. El mejor aceite seleccionado en este modelo se probó frente a los aceites de arrayán y matico. Aplicando este diseño se desarrollaron 4 pruebas por cada tipo de aceite, según la matriz que se presenta a continuación: (Lundstedt, *et al*; 1998).

Exp No	$x_1x_2x_3$	x_2x_3	x_1x_3	x_1x_2
	I	x_1	x_2	x_3
1	1	-1	-1	1
2	1	1	-1	-1
3	1	-1	1	-1
4	1	1	1	1

Cuadro # 7. 1: Matriz de diseño experimental 2^{3-1} (-1: concentración mínima de aceite esencial; 1: concentración máxima de aceite esencial).

3.2.6 Determinación del índice de peroxido en los aceites comestibles.

Este método se basa en la capacidad de los peróxidos de oxidar el ión yoduro del KI y producir yodo que se valora con tiosulfato. Como los peróxidos se degradan, el método está limitado a las primeras etapas de la oxidación cuando estos alcanzan una concentración máxima (Cuadro # 3); por esto, es probable que una grasa demasiado oxidada tenga un índice bajo, a pesar de que el olor sea característico de reacciones avanzadas. El método es inexacto en productos deshidratados y en aquellos con poco contenido de lípidos; existen diversas versiones del mismo principio, lo que ocasiona dificultad en interpretar y comparar resultados. (Badui, 2006).

El índice de peróxidos es una estimación del contenido de sustancias que oxidan el yoduro potásico y se expresa en términos de miliequivalentes de oxígeno activo por Kg. de grasa. Se asocia con la presencia de peróxidos derivados de los ácidos grasos presentes en la muestra. La legislación alimentaria permite hasta 20 meq/Kg. Para conseguir que este índice sea bajo la pasta del aceite debe ser trabajada en frío. La metodología empleada es descrita en 3.2.4.

CAPITULO IV.

RESULTADOS

4.1 Introducción.

En este capítulo se describe los resultados obtenidos en los distintos ensayos realizados en este trabajo, que incluyen: rendimiento obtenido en la extracción de los aceites esenciales de las distintas especies vegetales, evaluación de la actividad antioxidante de los aceites esenciales por el método de DPPH, establecimiento de las concentraciones de trabajo para evaluar los aceites esenciales como inhibidores del enranciamiento, y aplicación del diseño experimental para establecer las condiciones óptimas de los aceites esenciales estudiados como inhibidores de la oxidación de aceites comestibles.

4.2 Rendimiento en la extracción de aceites esenciales.

En el cuadro que se muestra a continuación se detalla la cantidad de material utilizado, la de aceite esencial obtenido y el rendimiento de cada especie vegetal expresado en porcentaje según lo descrito en la sección de Materiales y Métodos (ver 3.2.2).

	Material vegetal (gr)	Aceite esencial (mL)	Rendimiento (% p/v)
<u>Romero</u>	1300	12	0.92
<u>Orégano</u>	4400	5	0.11
<u>Albahaca</u>	13600	8.5	0.06
<u>Matico</u>	16100	5	0.03
<u>Arrayán</u>	1000	6	0.6

Cuadro # 8. Rendimiento en la extracción de aceites esenciales de las especies vegetales utilizadas.

4.3 Evaluación de actividad antioxidante por el método de DPPH.

Los aceites esenciales obtenidos de las especies vegetales en estudio, según lo descrito en la sección Materiales y Métodos (ver 3.2.3); se evaluaron en la capacidad de atrapar el radical libre DPPH.

Los resultados obtenidos se presentan a continuación son de las especies vegetales de *Buddleja globosa* (matico), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Ocimum basilicum* (albahaca) y *Origanum vulgare* (orégano). *Luma apiculata* (arrayán).

Extracto	Concentración [μL/mL]	Absorbancia media	% decoloración	IC ₅₀
Orégano	250	0,0487	18,36	
	125	0,2013	75,97	ND
	75	0,5840	220,38	
	25	0,1453	54,84	
Romero	250	0,2587	97,61	
	125	0,2977	112,33	ND
	75	0,2817	106,29	
	25	0,2800	105,66	
Albahaca	250	0,2583	97,48	
	125	0,2417	91,19	28.08
	75	0,1910	72,08	
	25	0,1287	48,55	
Matico	250	0,2730	103,02	
	125	0,2533	95,60	ND
	75	0,2627	99,12	
	25	0,2700	101,89	
Arrayán	250	0,4887	77,69	
	125	0,5720	90,94	ND
	75	0,5510	87,60	
	25	0,5893	93,69	
Control		0,4425		

Cuadro # 9. Actividad antioxidante por el método del DPPH, Aceites esenciales de *Buddleja globosa* (matico), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Ocimum basilicum* (Albahaca), *Origanum vulgare* (orégano) y *Luma apiculata* (arrayán). ND: no determinado

En este cuadro podemos observar que el aceite esencial de albahaca presenta una IC₅₀ de 28.08 μL/mL. Los aceites de las demás especies en estudio no fueron reactivos a las condiciones del ensayo.

El aceite de romero fue evaluado a un rango de concentraciones de 750 a 150 $\mu\text{L/mL}$. Los resultados obtenidos en este ensayo se describen a continuación.

Extracto	Concentración [$\mu\text{L/mL}$]	Absorbancia media	% decoloración	
Romero	750	0,0983	37,11	
	500	0,1567	59,12	ND
	250	0,2097	79,12	
	150	0,2503	94,47	
Control		0,2610		
Romero	500	0,4513	83,58	
	400	0,4783	88,58	ND
	200	0,5150	95,37	
	100	0,4897	90,68	
Control		0,5400		

Cuadro # 10. Actividad antioxidante por el método del DPPH, Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero). ND: No determinado.

Los resultados obtenidos muestran que, a pesar del incremento de concentración de las soluciones para el ensayo, el aceite de romero no presentó actividad antioxidante.

4.3 Establecimiento de las concentraciones de trabajo de los aceites esenciales.

En el siguiente cuadro se muestran los resultados obtenidos en la evaluación del índice de peróxido a diferentes concentraciones de aceite esencial de albahaca combinado con los distintos tipos de aceite comestible y distintas marcas. Esta evaluación se llevó a cabo en diferentes períodos de tiempo, según lo descrito en la sección de Materiales y Métodos (ver 3.2.4).

Promedio [meq/kg] en distintos tiempos					
Tipo de aceite	Concentración [μL/mL]	1 día	7 días	14 días	21 días
Soya: “Soya”.	50	2,9772	1,9352	2,0840	1,6871
	100	2,8283	1,5878	0,7939	0,0000
	Control	1,6375	2,4314	0,0000	0,0000
Soya: “La Favorita”.	50	3,4734	2,2825	2,3818	0,0000
	100	2,9772	1,1909	2,1833	0,0000
	Control	3,2253	0,0000	2,4810	0,0000
Palma: “Dos Coronas”.	50	2,9772	0,0000	0,0000	0,0000
	100	3,7380	2,0840	0,0000	0,0000
	Control	3,9696	1,1909	1,4886	0,0000
Palma: “Palma de Oro”.	50	2,2329	0,0000	0,0000	0,0000
	100	2,8780	0,0000	0,0000	0,0000
	Control	2,9772	0,0000	0,0000	0,0000
Maíz: “Mazorca de Oro”.	50	3,9696	1,9848	0,0000	0,0000
	100	2,9772	1,6375	0,0000	0,0000
	Control	3,8704	1,1909	1,1909	0,0000
Maíz: “Luigi”.	50	3,3742	2,0840	0,0000	0,0000
	100	1,9848	0,0000	0,0000	0,0000
	Control	3,6719	0,0000	0,0000	0,0000

Cuadro # 11. Evaluación del índice de peroxido a través del tiempo (aceite esencial de albahaca + aceite comestible):

La evaluación de los resultados obtenidos nos permitió establecer a las concentraciones de 50 y 100 μL/mL como las concentraciones de trabajo a utilizar para el desarrollo del diseño experimental.

4.4 Evaluación de la inhibición del enranciamiento de aceites comestibles por adición de mezclas de aceites esenciales.

El trabajo experimental desarrollado para evaluar a los aceites esenciales en estudio como inhibidores del enranciamiento de aceites comestibles incluyó la medición del índice de peróxido de los aceites obtenidos a diferentes concentraciones de las mezclas. Los datos obtenidos se aplicaron posteriormente en el diseño experimental utilizado en este trabajo. En el primer cuadro se muestra los resultados de la mezcla albahaca, romero y orégano.

ALBAHACA/ROMERO/OREGANO			
Tipo de Aceite.	# de ensayo	Volumen titulante[mL]	Índice de peroxido. [meq/kg.]
Palma: “Dos Coronas”.	1	3,4	1,1909
	2	2,6	0,7939
	3	3,4	1,1909
	4	3	0,9924
Palma: “Palma de Oro”.	1	3,6	1,2901
	2	3,2	1,0916
	3	3,6	1,2901
	4	3,6	1,2901
Soya: “Soya”.	1	4,6	1,7863
	2	5,2	2,0840
	3	1,2	0,0992
	4	3,2	1,0916
Soya: “La Favorita”.	1	2,4	0,6947
	2	4,8	1,8856
	3	3,6	1,2901
	4	3,2	1,0916
Maíz: “Mazorca de Oro”.	1	3,4	1,1909
	2	3,4	1,1909
	3	5	1,9848
	4	2	0,4962
Maíz: “Luigi”.	1	4	1,4886
	2	3	0,9924
	3	3,6	1,2901
	4	3,2	1,0916

Cuadro # 12. Evaluación del índice de peroxido (mezcla de aceites esenciales + aceite comestible)

El trabajo desarrollado y presentado en el cuadro siguiente se desarrolló con la mezcla albahaca, matico, arrayán, según lo descrito anteriormente. Los resultados se presentan a continuación.

ALBAHACA/MATICO/ARRAYAN			
Tipo de Aceite.	# de ensayo	Volumen titulante[mL]	Índice de peroxido. [meq/kg.]
Palma: “Dos Coronas”.	1	2,2	0,5954
	2	2,2	0,5954
	3	2,8	0,8932
	4	3,6	1,2901
Palma: “Palma de Oro”.	1	4,4	1,6871
	2	3,6	1,2901
	3	2,2	0,5954
	4	3,4	1,1909
Soya: “Soya”.	1	1,8	0,3970
	2	1,8	0,3970
	3	1,4	0,1985
	4	1,8	0,3970
Soya: “La Favorita”.	1	2,2	0,5954
	2	8,4	3,6719
	3	2,4	0,6947
	4	3	0,9924
Maíz: “Mazorca de Oro”.	1	2,2	0,5954
	2	2,2	0,5954
	3	3,6	1,2901
	4	2,2	0,5954
Maíz: “Luigi”.	1	3	0,9924
	2	2,2	0,5954
	3	2,2	0,5954
	4	2,2	0,5954

Cuadro # 13. Evaluación del índice de peroxido (mezcla de aceites esenciales + aceite comestible):

La determinación del índice de peróxido con las diferentes mezclas de aceites esenciales aplicadas a los aceites comestibles se utilizó como respuesta experimental para plantear modelos que permitan, mediante técnicas de diseño experimental, establecer los efectos que tienen los aceites esenciales en el enranciamiento de aceites comestibles. A continuación se presentan los modelos calculados, con los coeficientes establecidos.

Aceite de Palma “Dos Coronas”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,1909
2	1	1	-1	-1	0,7939
3	1	-1	1	-1	1,1909
4	1	1	1	1	0,9924
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,1909	-1,1909	-1,1909	1,1909	
	0,7939	0,7939	-0,7939	-0,7939	
	1,1909	-1,1909	1,1909	-1,1909	
	0,9924	0,9924	0,9924	0,9924	
R	4,1681	-0,5954	0,1985	0,1985	

Cuadro # 14. Coeficientes del modelo.

Índice de peróxido = 4.1681ARO - 0.5954RO + 0.1985AO + 0.1985AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Palma “Palma de Oro”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	x1	X2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,2901
2	1	1	-1	-1	1,0916
3	1	-1	1	-1	1,2901
4	1	1	1	1	1,2901
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,2901	-1,2901	-1,2901	1,2901	
	1,0916	1,0916	-1,0916	-1,0916	
	1,2901	-1,2901	1,2901	-1,2901	
	1,2901	1,2901	1,2901	1,2901	
R	4,9620	-0,1985	0,1985	0,1985	

Cuadro # 15. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 4.9620 ARO - 0.1985 RO + 0.1985 AO + 0.1985 AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Soya “Soya”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	X1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,7863
2	1	1	-1	-1	2,0840
3	1	-1	1	-1	0,0992
4	1	1	1	1	1,0916
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,7863	-1,7863	-1,7863	1,7863	
	2,0840	2,0840	-2,0840	-2,0840	
	0,0992	-0,0992	0,0992	-0,0992	
	1,0916	1,0916	1,0916	1,0916	
R	5,0612	1,2901	-2,6795	0,6947	

Cuadro # 16. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 5.0612 ARO + 1.2901RO - 2.6795 AO + 0.6947 AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Soya “La Favorita”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	X1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,6947
2	1	1	-1	-1	1,8856
3	1	-1	1	-1	1,2901
4	1	1	1	1	1,0916
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,6947	-0,6947	-0,6947	0,6947	
	1,8856	1,8856	-1,8856	-1,8856	
	1,2901	-1,2901	1,2901	-1,2901	
	1,0916	1,0916	1,0916	1,0916	
R	4,9620	0,9924	-0,1985	-1,3894	

Cuadro # 17. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 4.9620 ARO + 0.9924 RO - 0.1985 AO - 1.3894 AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Maíz “Mazorca de Oro”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,1909
2	1	1	-1	-1	1,1909
3	1	-1	1	-1	1,9848
4	1	1	1	1	0,4962
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,1909	-1,1909	-1,1909	1,1909	
	1,1909	1,1909	-1,1909	-1,1909	
	1,9848	-1,9848	1,9848	-1,9848	
	0,4962	0,4962	0,4962	0,4962	
R	4,8628	-1,4886	0,0992	-1,4886	

Cuadro # 18. Coeficientes del modelo.

Índice de peróxido = 4.8628 ARO - 1.4886 RO + 0.0992 AO - 1.4886 AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Maíz “Luigi”					
	A/R/O	R/O	A/O	A/R	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,4886
2	1	1	-1	-1	0,9924
3	1	-1	1	-1	1,2901
4	1	1	1	1	1,0916
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,4886	-1,4886	-1,4886	1,4886	
	0,9924	0,9924	-0,9924	-0,9924	
	1,2901	-1,2901	1,2901	-1,2901	
	1,0916	1,0916	1,0916	1,0916	
R	4,8628	-0,6947	-0,0992	0,2977	

Cuadro # 19. Coeficientes del modelo.

Índice de peróxido = 4.8628 ARO - 0.6947 RO - 0.0992 AO + 0.2977 AR

A = Albahaca. R = Romero. O = Orégano.

Aceite de Palma “Dos Coronas”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,5954
2	1	1	-1	-1	0,5954
3	1	-1	1	-1	0,8932
4	1	1	1	1	1,2901
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,5954	-0,5954	-0,5954	0,5954	
	0,5954	0,5954	-0,5954	-0,5954	
	0,8932	-0,8932	0,8932	-0,8932	
	1,2901	1,2901	1,2901	1,2901	
R	3,3742	0,3970	0,9924	0,3970	

Cuadro # 20. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 3.3742 AMAr + 0.397 MAr + 0.9924 AAr + 0.397 AM

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

Aceite de Palma “Palma de Oro”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	1,6871
2	1	1	-1	-1	1,2901
3	1	-1	1	-1	0,5954
4	1	1	1	1	1,1909
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	1,6871	-1,6871	-1,6871	1,6871	
	1,2901	1,2901	-1,2901	-1,2901	
	0,5954	-0,5954	0,5954	-0,5954	
	1,1909	1,1909	1,1909	1,1909	
R	4,7635	0,1985	-1,1909	0,9924	

Cuadro # 21. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 4.7635 AMAr + 0.1985 MAr - 1.1909 AAr + 0.9924 AM

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

Aceite de Soya “Soya”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,3970
2	1	1	-1	-1	0,3970
3	1	-1	1	-1	0,1985
4	1	1	1	1	0,3970
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,3970	-0,3970	-0,3970	0,3970	
	0,3970	0,3970	-0,3970	-0,3970	
	0,1985	-0,1985	0,1985	-0,1985	
	0,3970	0,3970	0,3970	0,3970	
R	1,3894	0,1985	-0,1985	0,1985	

Cuadro # 22. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 1.3894 AMAr + 0.1985 MAr - 0.1985 AAr + 0.1985 AM

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

Aceite de Soya “La Favorita”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,5954
2	1	1	-1	-1	3,6719
3	1	-1	1	-1	0,6947
4	1	1	1	1	0,9924
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,5954	-0,5954	-0,5954	0,5954	
	3,6719	3,6719	-3,6719	-3,6719	
	0,6947	-0,6947	0,6947	-0,6947	
	0,9924	0,9924	0,9924	0,9924	
R	5,9544	3,3742	-2,5802	-2,7787	

Cuadro # 23. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 5.9544 AMAr + 3.3742 MAr -2.5802 AAr - 2.7787 AM.

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

Aceite de Maíz “Mazorca de Oro”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,5954
2	1	1	-1	-1	0,5954
3	1	-1	1	-1	1,2901
4	1	1	1	1	0,5954
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,5954	-0,5954	-0,5954	0,5954	
	0,5954	0,5954	-0,5954	-0,5954	
	1,2901	-1,2901	1,2901	-1,2901	
	0,5954	0,5954	0,5954	0,5954	
R	3,0764	-0,6947	0,6947	-0,6947	

Cuadro # 24. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 3.0764 AMAr - 0.6947 MAr + 0.6947 MAr - 0.6947 AM.

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

Aceite de Maíz “Luigi”					
	A/M/Ar	M/Ar	A/Ar	A/M	
Exp. No	I	x1	x2	x3	Índice de peróxido
1	1	-1	-1	1	0,9924
2	1	1	-1	-1	0,5954
3	1	-1	1	-1	0,5954
4	1	1	1	1	0,5954
	B ₀	B ₁	B ₂	B ₃	
	0,9924	-0,9924	-0,9924	0,9924	
	0,5954	0,5954	-0,5954	-0,5954	
	0,5954	-0,5954	0,5954	-0,5954	
	0,5954	0,5954	0,5954	0,5954	
R	2,7787	-0,3970	-0,3970	0,3970	

Cuadro # 25. Coeficientes del modelo.

Índice de Peróxido = 2.7787 AMAr - 0.3970 MAr - 0.3970 AAr + 0.3970 AM

A = Albahaca. M = Matico. Ar = Arrayán.

CAPITULO V

DISCUSIÓN.

5.1 Potencial antioxidante de aceites esenciales según el método de captura del radical libre DPPH.

La evaluación de los resultados obtenidos en el ensayo de captura del radical libre DPPH con los aceites esenciales en estudio señala al aceite esencial de albahaca como la especie que presenta actividad antioxidante detectable en las condiciones experimentales ($IC_{50} = 28.08 \mu\text{L/mL}$). En estudios reportados previamente, se informan los componentes volátiles del aceite esencial de albahaca relacionados con su actividad antioxidante (Lee *et al.*, 2005). En ensayos desarrollados con aceites esenciales de diferentes cultivares de albahaca, su actividad antioxidante ha sido evaluada, en sistemas diferentes al utilizado en nuestro estudio (ensayo Trolox) (Juliani y Simon, 2002). Los resultados presentados muestran a esta especie con interesante actividad antioxidante.

Los aceites esenciales de las especies en estudio restantes no fueron reactivos en el ensayo del DPPH. La revisión bibliográfica señala al aceite esencial de romero (*Rosmarinum officinalis*) por su interesante actividad antimicrobiana. Existen escasos trabajos que evalúan su actividad antioxidante. Sacchetti *et al.*, (2005), reportan la actividad antioxidante del aceite esencial de romero obtenido de cultivares originarios del sur de Italia. En esta especie se reporta actividad atrapadora de radicales libres, a diferencia de reportes anteriores. Por consiguiente, la actividad observada en el aceite esencial de romero evaluado en nuestro estudio puede deberse al cultivar, su composición química y condiciones de crecimiento. Es recomendable evaluar diferentes cultivares de romero en ensayos de actividad antioxidante por diversos sistemas, con el fin de ensayar el potencial de los ecotipos de esta especie disponibles en nuestro medio.

5.2 Evaluación del efecto de los aceites esenciales en estudio sobre el enranciamiento de aceites comestibles.

5.2.1 Modelos calculados utilizando aceites esenciales de Albahaca, Romero y Orégano.

En la siguiente tabla se resumen los modelos calculados para los ensayos realizados con los aceites de albahaca, romero y orégano.

Tipo de Aceite	Marca	Modelo calculado
Palma	Dos Coronas	Índice de peróxido = $4.1681ARO - 0.5954RO + 0.1985AO + 0.1985AR$
	Palma de Oro	Índice de Peróxido = $4.9620 ARO - 0.1985 RO + 0.1985 AO + 0.1985 AR$
Soya	Soya	Índice de Peróxido = $5.0612 ARO + 1.2901RO - 2.6795 AO + 0.6947 AR$
	La Favorita	Índice de Peróxido = $4.9620 ARO + 0.9924 RO - 0.1985 AO - 1.3894 AR$
Maíz	Mazorca de Oro	Índice de peróxido = $4.8628 ARO - 1.4886 RO + 0.0992 AO - 1.4886 AR$
	Luigi	Índice de peróxido = $4.8628 ARO - 0.6947 RO - 0.0992 AO + 0.2977 AR$

Cuadro # 26: Resumen de los modelos calculados para los aceites esenciales de albahaca, romero y orégano.

De los modelos calculados se observa que el efecto más influyente sobre el índice de peróxido se debe a la interacción de los tres aceites en estudio: albahaca, romero y orégano.

Para los aceites de soya evaluados, la interacción albahaca – orégano evidencia un efecto negativo sobre la variable respuesta. En los aceites de palma y maíz, la interacción de los aceites de romero y orégano ejerce un efecto negativo sobre la variable respuesta.

5.2.2 Ecuaciones de los modelos calculados: mezcla de aceites esenciales de Albahaca, Matico y Arrayán.

En la siguiente tabla se resumen los modelos calculados para evaluar las interacciones de los aceites de albahaca, matico y arrayán como inhibidores del enranciamiento oxidativo de aceites comestibles.

Tipo de Aceite	Marca	Modelo calculado
Palma	Dos Coronas	Índice de Peróxido = $3.3742 \text{ AMAr} + 0.397 \text{ MAr} + 0.9924 \text{ AAr} + 0.397 \text{ AM}$
	Palma de Oro	Índice de Peróxido = $4.7635 \text{ AMAr} + 0.1985 \text{ MAr} - 1.1909 \text{ AAr} + 0.9924 \text{ AM}$
Soya	Soya	Índice de Peróxido = $5.9544 \text{ AMAr} + 3.3742 \text{ MAr} - 2.5802 \text{ AAr} - 2.7787 \text{ AM}$
	La Favorita	Índice de Peróxido = $5.9544 \text{ AMAr} + 3.3742 \text{ MAr} - 2.5802 \text{ AAr} - 2.7787 \text{ AM}$
Maíz	Mazorca de Oro	Índice de Peróxido = $3.0764 \text{ AMAr} - 0.6947 \text{ MAr} + 0.6947 \text{ MAr} - 0.6947 \text{ AM}$
	Luigi	Índice de Peróxido = $2.7787 \text{ AMAr} - 0.3970 \text{ MAr} - 0.3970 \text{ AAr} + 0.3970 \text{ AM}$

Cuadro # 27. Resumen de los modelos calculados para los aceites esenciales de albahaca, matico y arrayán.

El análisis de los coeficientes de los modelos obtenidos nos permite establecer que el efecto combinado de los tres aceites esenciales en estudio tiene la mayor influencia sobre la variable respuesta.

En la marca comercial “Palma de Oro” la interacción de los aceites de albahaca y arrayán es negativa, por consiguiente ejerce un efecto de disminución en la variable respuesta. Para los aceites de soya la interacción de los aceites de albahaca y arrayán presenta una respuesta negativa, por lo que ejerce un efecto de disminución en la variable respuesta. En los aceites de de maíz el efecto combinado de los aceites de matico y arrayán es negativa. Adicionalmente en la marca “Luigi” la interacción de albahaca arrayán también es negativa lo que evidencia una disminución sobre la variable respuesta.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

El desarrollo del presente trabajo nos ha permitido establecer las siguientes conclusiones:

- 1 Mediante el método de destilación por arrastre de vapor se obtuvieron aceites esenciales de las especies vegetales de *Buddleja globosa* (matico), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Luma apiculata* (arrayán), *Ocimum basilicum* (Albahaca) y *Origanum vulgare* (orégano).
- 2 En las condiciones experimentales utilizadas para este trabajo, el aceite esencial de albahaca (*O. basilicum*) presentó la mejor actividad antioxidante, evaluada en el ensayo de captura del radical libre DPPH. Las demás especies estudiadas no son activas a las condiciones del presente estudio.
- 3 Mediante la exploración de las variables en estudio se establecieron los rangos de concentración y tiempo de enranciamiento utilizados para desarrollar el diseño del experimento en el cual se evaluó la eficiencia de los aceites esenciales y su influencia en el índice de peróxido, indicador del enranciamiento oxidativo de las grasas comestibles.
- 4 De los modelos calculados para evaluar el efecto de los aceites de albahaca, romero y matico, se reporta a la interacción de los aceites de albahaca y orégano como aquella que ejerce un efecto negativo sobre el índice de peróxido, variable respuesta del modelo, medida sobre aceite de soya. Se sugiere que la mezcla de estos dos aceites podría incidir en una mejor conservación de este aceite en el tiempo.
- 5 El estudio de las interacciones de los aceites de albahaca, matico y arrayán muestra a la interacción albahaca – arrayán como la que tiene un efecto negativo sobre la variable respuesta en el caso del aceite “Palma de Oro”. Este efecto se evidencia en los aceites de soya y el el aceite de maíz “Luigi”.

- 6 Los resultados obtenidos en los diseños experimentales señalados nos permiten señalar a los aceites esenciales de albahaca, arrayán, orégano y romero como los más promisorios en su capacidad de influenciar el índice de peróxido medido en los aceites comestibles. A pesar de que de este grupo de aceites esenciales sólo el aceite de albahaca fue reportado como antioxidante en el ensayo de DPPH, se recomienda ampliar estudios con otros sistemas de medición de capacidad antioxidante que nos permitan valorar el efecto de estos aceites esenciales y aproximarlos a sistemas biológicos liposolubles; con el fin de justificar su aplicación como aditivos de alimentos.
- 7 En base a los resultados obtenidos se recomienda realizar estudios complementarios con aceites comestibles sin aditivos, con el fin de establecer un efecto antioxidante de aceites esenciales comparable con los aditivos químicos usados en la industria de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA.

- ALZAMORA, L., Morales, L., Armas, L., Fernández, G., Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas, Instituto de Investigación de Ciencias Biológicas, Universidad Peruana Cayetano Heredia, http://sisbib.unmsm.edu.pe/bVrevistas/Anales/v62_n2/pdf/a08v62n2.pdf (Visitada Abril 2008).
- BANDONI, Arnaldo (2000). Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica, Argentina, Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- BADUI Dergal, Salvador, (1993). Química de los Alimentos, México, Editorial Alhambra Mexicana S.A.
- BADUI, S. (2006). Química de los Alimentos. 4ta Edición. Editorial Pearson Addison Wesley, pp. 282-295
- BUCHANAN, B. Gruissem, Jones, R, (2000). Natural products, Biochemistry and Molecular Biology of plants physiologist (American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD,).
- BUHLER, D., Miranda, C. Antioxidant activities of flavonoids, en: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html> (Visitada en Octubre 2007)
- CÉSPEDES, T., Sánchez, D. (2000) Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, en el estado antioxidante y la terapia de suplementación. Revista Cubana de Cardiología, **14 (1)**; 55-60.

- CARHUAPOMA, M., Bonilla, P., Suárez, S., Vila, R., Lopez, S. (2005). Estudio de la Composición Química y Actividad Antioxidante del Aceite Esencial de *Luma Chequen* (Molina) A. Gray “arrayán”. Ciencia e Investigación. Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. **8 (2)**, pp. 73 – 79
- CARRERAS, I., (2005) Influencia de la Suplementación de Antioxidantes y de la Administración de Enrofloxacin en la Calidad y Seguridad de la Carne de Ave. Universidad de Girona. ISBN: 84-689-30903
- DEL RIO, L., Corpas, J., Sandalio, L., Palma, J., Gómez, M., Barroso, J. (2002) Reactive Oxygen Species, Antioxidant Systems and Nitric oxide in Peroxisomes. Journal of Experimental Botany **53 (372)**, pp. 1255 – 1272.
- SALVAT (1974) Diccionario Enciclopedico Popular Ilustrado. <http://es.wikipedia.org/wiki/> (Visitada Septiembre 2008).
- ESKIN, N., Bird, R. (2007). Antioxidants and Cancer Therapy: To take or not to take: That is the question; en: Antioxidant Measurements and Applications. Sharidi, F., y Ho, C., Editores. ACS Symposium Series **956**; pp. 8 – 13.
- FOGLIANO, V., Verde, V., Randazzo, G., Ritieni, A. (1999). Method for Measuring Antioxidant Activity and its Application to Monitoring the Antioxidant Capacity of Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **47**, 1035-1040.
- GORMAZ, J., (2005). Extracto Hidroalcohólico de *Bluddleja globosa* y Extracto Seco de *Rosmarinus officinalis* como Preservantes de Filetes de *oncorhynchus mykiss*. Memoria para optar al título de Bioquímico. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas,

Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica, Laboratorio de Farmacología. Santiago, Chile.

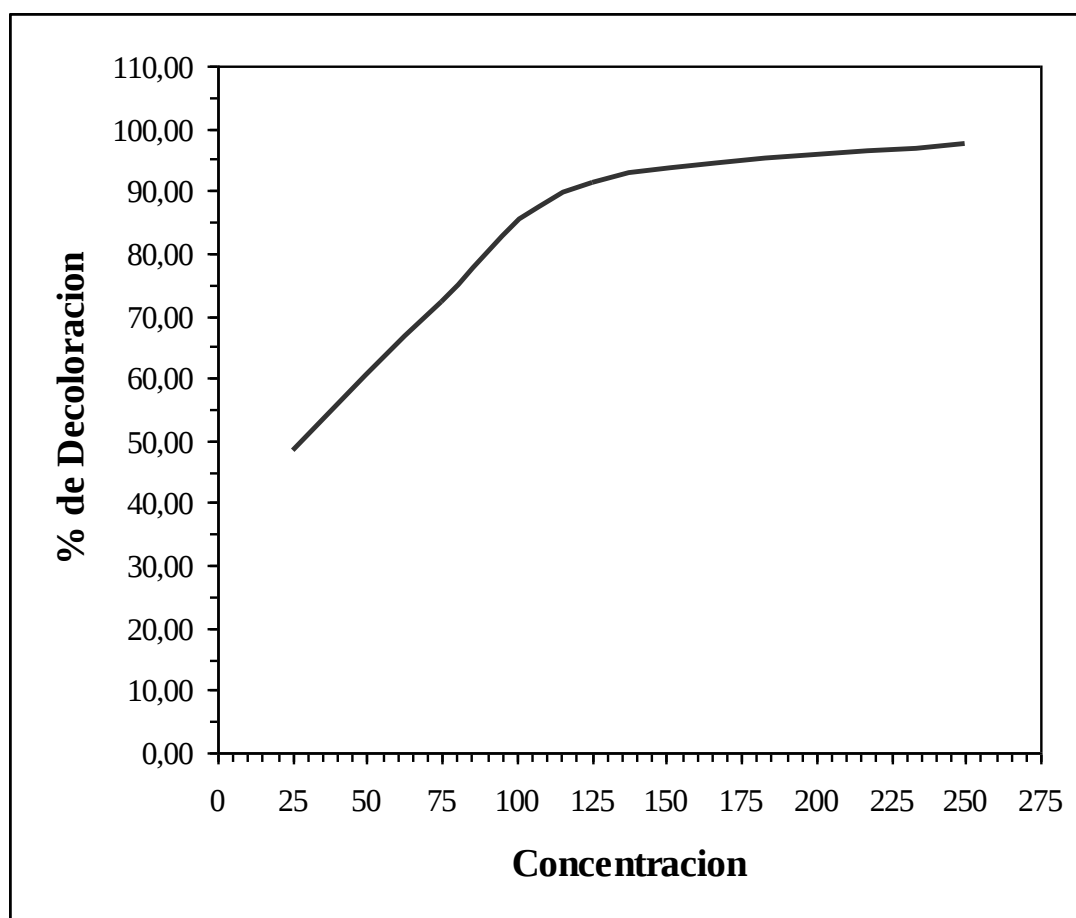
- HERNÁNDEZ, M., Prieto, E., (1999). Plantas que contienen polifenoles. antioxidantes dentro del estilo de vida. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas; **18(1)**:12-4
- JULIANI, H., Simon, J. (2002). Antioxidant activity of Basil; en: Trends in new crops and new uses. Janick and Whipkey Editores. ASHS Press, Alejandria, VA.
- KÄHNKÖNEN, M., Hopia, A., Vuorela, H., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T., Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **47**, pp. 3954 – 3962.
- LEE, S., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry **91**, 131 – 137
- LIU, R., Felice, D. (2007). Antioxidants and Whole Food Phytochemicals for Cancer Prevention; en: Antioxidant Measurements and Applications. Sharidi, F., y Ho, C., Editores. ACS Symposium Series **956**; pp. 15 – 33.
- LUNDSTEDT, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nystrom, A., Pettersen, J., Bergman, R. (1998). Experimental design and optimization. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, **42**, pp. 3–40.
- MIRANDA, C. (2007). Antioxidant Activities of Flavonoids, en: <http://lpi.oregonstate.edu/f-w00/flavonoid.html> (Visitada Mayo 2008).

- MORALES, J. (2006). Los Recursos Genéticos. Aplicaciones. Seminario Taller “La Biotecnología en Ecuador, estado actual y perspectivas futuras”. REDBIO-Ecuador. Quito.
- MORTON, J. (1987), Fruits of warm climates. Creative Resource Systems Inc. ISBN 0-9610184-1-0
- PAREJO, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M., Jiménez, A., Codina, C. (2003). Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, **73**, 1667-1681.
- PIERGIORGIO P., Simonetti P., Pierluigi M. (1998). Antioxidant Activity of Selected Medicinal plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 4487-4490.
- ROBINSON, E., Maxwell, S., Thorpe, G. (1997) An investigation of the antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminiscence. *Free Radical Research* **26**, pp. 291 – 302.
- SACCHETTI, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredi, S., Radice, M., Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidantes, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, **91**, 621- 632.
- SLATER, T. (1984). Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochemistry Journal*. **222**, pp. 1-15
- SUN, T., Powers, J. (2007). Antioxidants and Antioxidant Activities of Vegetables; en: *Antioxidant Measurements and Applications*. Sharidi, F., y Ho, C., Editores. ACS Symposium Series **956**; pp. 8 – 13.
- YILDIRIM, A., Oktay, M., Bilaloglu, V. (2000). The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*. *Turk. J. Med. Sci*, **31**, pp. 26 – 28.

ANEXOS.

ANEXO 1

- **Grafico de la Evaluación de Actividad Antioxidante para la Especie Vegetal *Ocimum basilicum* (Albahaca).**

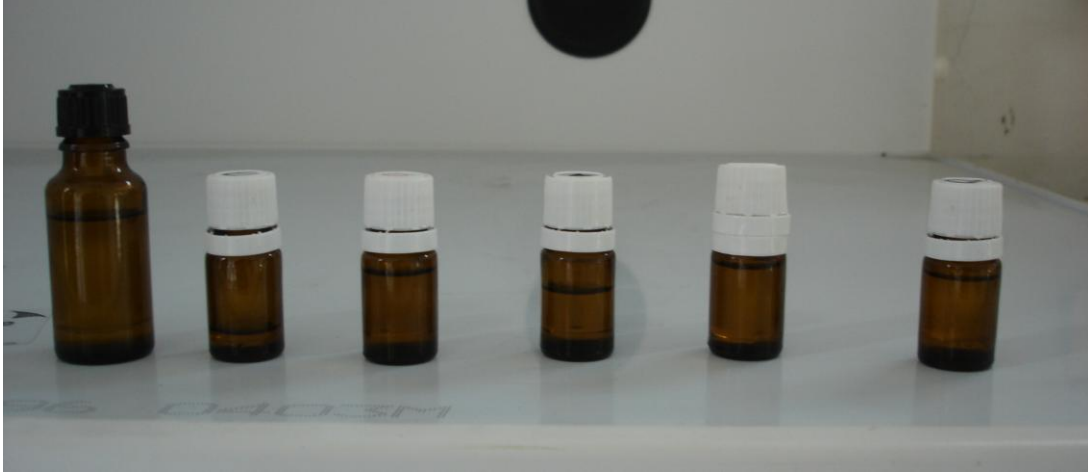


ANEXO 2.

- Equipo extractor de aceites esenciales.



- Aceites esenciales extraídos de las especies vegetales en estudio.



- Soluciones metanolicas de aceites esenciales para la evaluación de DPPH.

