



Boletín Latinoamericano y del Caribe de
Plantas Medicinales y Aromáticas

ISSN: 0717-7917

editor.blacpma@usach.cl

Universidad de Santiago de Chile
Chile

Avello, Marcia; Pastene, Edgar
Actividad antioxidante de infusos de UGNI MOLINAE TURCZ ("MURTILLA")
Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 4, núm. 2, marzo,
2005, pp. 33-39
Universidad de Santiago de Chile
Santiago, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85640205>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto



Chile

Artículo Original

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE INFUSOS DE *UGNI MOLINAE* TURCZ ("MURTILLA").

(Antioxidant activity of *Ugni molinae* Turcz "Murtilla" infuses)

MARCIA AVELLO, EDGAR PASTENE

Departamento de Farmacia, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción.

Correspondencia a: Prof. Marcia Avello Lorca Fax: (041)-207086; Casilla 237, Concepción-Chile

e-mail: maavello@udec.cl

Recibido 15 de Julio de 2004; Aceptado 4 de Septiembre de 2004

RESUMEN

Existen evidencias epidemiológicas que sustentan el papel patogénico de los radicales libres en procesos biológicos, los que pueden disminuir al aumentar la ingesta de antioxidantes. Estudios preliminares realizados en hojas de la planta chilena *Ugni molinae* Turcz. ("Murtilla"), mostraron la presencia de elevadas concentraciones de compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de *Ugni molinae* en el estatus antioxidante plasmático de voluntarios sanos después de la ingesta del infuso (1 %) durante un periodo de tres días. Para esto, se utilizó el método de Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC) en muestras de sangre obtenidas al comienzo y al final del estudio. La determinación de los valores ORAC en los voluntarios, permitió detectar cambios significativos en relación con sus niveles basales de antioxidantes plasmáticos hidrofílicos. Este incremento en la capacidad antioxidante expresada como ORAC plasmático (μM Trolox equiv/l) fue de un 27,3 % en relación con los niveles basales. El valor ORAC para el infuso (1 %) correspondió a 533,11 μM equivalentes Trolox®/g de hojas secas. En este estudio se demostró la capacidad antioxidante del infuso (1 %) de hojas de *Ugni molinae* y el incremento en la capacidad antioxidante plasmática asociada a su ingesta regular.

Palabras clave: *Ugni molinae*, capacidad antioxidante, plasma humano.

ABSTRACT

Free radicals have been implicated in the development of pathologic process. Increasing the serum antioxidant status has been proposed as a preventive means to reduce the development of these diseases. Preliminary studies in the leaves of *Ugni molinae* Turcz. ("Murtilla") showed high levels of polyphenols compounds with antioxidant capacity *in vitro*. The purpose of this study was to evaluate the effect of *Ugni molinae* on the serum antioxidant status as measured in healthy human subjects, after the intake of 1 % infusion during three days. The Oxygen Radical Absorption Capacity (ORAC) was applied to blood samples obtained at the beginning and at the end of the study. Determination of ORAC values in the volunteers allow detects significant changes related to its basal levels of hydrophilic plasmatic antioxidants. This increasing of the plasmatic antioxidant capacity expressed as plasmatic ORAC (μM Trolox equiv/l) was around 27.3 % related to basal levels. The ORAC value for the 1% infuses was 533.11 μM equivalents Trolox®/g of dried leaves. In this study the antioxidant capacity of 1% infuse of *Ugni molinae* leaves and the increased serum antioxidant capacity associated to its intake was demonstrated.

Key Words: *Ugni molinae*, antioxidant capacity, human plasma.

INTRODUCCIÓN

Existen evidencias epidemiológicas que sustentan el papel patogénico de los radicales libres en procesos biológicos (1). Los principales antecedentes surgen de estudios que muestran la correlación entre la incidencia de enfermedades inflamatorias y degenerativas y las bajas concentraciones de antioxidantes en sangre (2). La relación entre la presencia de algunas enfermedades, como las

cardiovasculares y cáncer entre otras, se puede establecer con la elevación de marcadores de daño oxidativo y disminución de los niveles plasmáticos de antioxidantes, los que pueden ser modificados al aumentar la ingesta de antioxidantes (3,4). En el organismo existe una variedad de defensas antioxidantes las que incluyen antioxidantes endógenos y exógenos provenientes de la dieta como las vitaminas E y C, carotenoides y polifenoles (5). Cuando éstas son sobrepasadas, se produce daño oxidativo

en lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos (6). Al respecto, el plasma puede estabilizar especies reactivas del oxígeno de vida media mayor, como el anión superóxido o el peróxido de hidrógeno, previniendo reacciones con iones metálicos catalíticos que pueden generar especies aún más nocivas (7). Debido a esto, el estatus antioxidante del plasma es el resultado concomitante de muchos compuestos e interacciones metabólicas sistémicas. La medición de esta capacidad antioxidante combinada, puede ser más relevante que la determinación individual de los antioxidantes presentes en la sangre. A lo anterior, se suma el hecho que la capacidad antioxidante celular esta principalmente determinada por sistemas enzimáticos mientras que, la plasmática está asociada a la concentración de antioxidantes de bajo peso molecular suplementados por la dieta. Estos compuestos son rápidamente consumidos y necesitan ser recambiados para mantener el balance frente a las especies oxidantes.

Los compuestos de naturaleza polifenólica, han demostrado ser eficaces antioxidantes y su estudio tiene singular importancia en sistemas biológicos sometidos a estrés oxidativo, especialmente en membranas biológicas, por su capacidad de inhibir la peroxidación lipídica (8).

Ugni molinae Turcz. es una planta nativa perteneciente a la familia de las *Mirtáceas* conocida tradicionalmente como "Murtilla", "Murta" o "Uñi". Es un arbusto de gran follaje que se distribuye ampliamente entre las provincias de Concepción, Valdivia y Chiloé, donde se utilizan los frutos en la preparación de mermeladas y licores. El empleo medicinal de la planta es de origen indígena y está basado en las propiedades aromáticas y astringentes de las hojas. Los pueblos Mapuches, Puelches y Pehuenches utilizan infusiones de las hojas en el tratamiento de diarreas y disenterías. Los frutos, conocidos por los Mapuches como "Uvas del Bosque", son comestibles y se les atribuye propiedades beneficiosas, mejorando la visión nocturna (9). La información recopilada de la tradición coincide con los resultados obtenidos de los estudios fitoquímicos preliminares, puesto que compuestos polifenólicos como los taninos y flavonoides poseen actividad astringente y potencialmente antioxidante. Estos estudios, realizados en los infusos de la planta, específicamente mostraron la presencia de compuestos polifenólicos como taninos hidrolizables, ácidos fenólicos, flavan-3-oles y flavonoides, con una equivalencia de 400 nM de ácido gálico (EAG). Tanto el infuso como extractos preparados con mezclas

hidroalcohólicas mostraron actividad antioxidante en sistemas *in vitro*. Estos ensayos consideraron técnicas como la estabilización del radical libre estable, 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) para el cual la concentración efectiva 50 (EC₅₀) del extracto metanólico liofilizado de *U. molinae* fue de 21 µM EAG. En un modelo de protección frente a la autooxidación de moléculas poliinsaturadas (sistema de liposomas β-caroteno/ácido linoleico), se observó un 95,4% de inhibición. Al estudiar la protección sobre la modificación oxidativa de lipoproteínas de baja densidad (LDL) por iones Cu⁺² durante 24 horas, se observó un 52% de disminución en la formación de dienos conjugados (lipoperoxidación) y 65% en la emisión de fluorescencia (oxidación de proteínas)(10).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto antioxidante del infuso (1%) de las hojas de *U. molinae*, como primer paso en la validación de los usos populares de la especie. Para ello se investigó su efecto en el estatus antioxidante plasmático de voluntarios sanos sometidos a la ingesta de éste, de acuerdo a recomendaciones de su uso tradicional. Para la evaluación *in vivo*, se utilizó el método de Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno (ORAC) que determina en forma directa la capacidad antioxidante hidrofílica frente a una fuente radicalaria (11). ORAC es una metodología basada en los estudios de Glazer (12), quien utilizó la proteína fluorescente *R*-ficoeritrina como sustrato oxidable y 2,2'-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) como generador de radicales peróxido o el sistema Cu²⁺ - H₂O₂ como generador de radical hidroxilo. Este es el único método que registra la acción de la especie radicalaria hasta el final y usa el área bajo la curva (ABC) de decaimiento de fluorescencia para realizar la cuantificación de la capacidad antioxidante. De esta manera, la técnica considera tanto el porcentaje de inhibición como la extensión del tiempo de ésta en un solo valor. Otros modelos recientes que cumplen con estas características son el de la Capacidad total de atrapamiento de oxi-radicales (TOSC), y la cinética de oxidación de crocina (13, 14).

ORAC ha sido empleado en el análisis de sustancias puras, mezclas de antioxidantes naturales, además de tejidos y fluidos biológicos (15-17). En experiencias hechas con voluntarios se observó un aumento significativo de los valores de ORAC plasmáticos posterior a la ingesta de frutas y verduras (18). A diferencia de otros modelos en los cuales se usan agentes oxidantes que no son pro-oxidantes, el ensayo

ORAC puede realizarse con diferentes especies reactivas del oxígeno. Comparaciones entre ORAC y otros métodos para la determinación de capacidad antioxidante plasmática como el *Ferric Reducing Ability of Plasma* (FRAP) o el *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC), han demostrado sus ventajas en términos de ser un ensayo más versátil (mide todo tipo de antioxidantes) y con posibilidad de detectar el efecto de antioxidantes a nivel fisiológico. No obstante las ventajas de ORAC, se debe precisar que aun se esta lejos de tener un modelo ideal para la investigación de antioxidantes *in vivo* y es conveniente cotejar resultados con modelos complementarios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Las hojas de *Ugni molinae* Turcz. (*Mirtaceae*) fueron colectadas en Cerro Alto, Concepción, Chile (septiembre, 1998) e identificadas por el Dr. Max Quezada, Departamento de Botánica de la Universidad de Concepción. Una muestra fue depositada en el Herbario bajo el número de CONC 146511.

Obtención del plasma. Se obtuvo sangre por venopunción de siete voluntarios normolipémicos y no diabéticos antes y después de la ingesta de infuso (1%) de hojas de *U. molinae*. Se utilizó EDTA (2,7 mM) como anticoagulante. El plasma fue separado por centrifugación a 800 x g a 4 °C durante 15 min (19). La administración del infuso se llevó a cabo 2 veces al día durante 3 días, basándose en la forma de administración utilizada en medicina popular.

Capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC). Se preparó una mezcla que contenía 1,7 ml de tampón fosfato 7 mM (pH 7,0), 100 µl de *R*-ficoeritrina (Sigma), 3,4 mg/l, 100 µl de 320 mM 2,2'-azobis-(2-aminopropano) (AAPH) (Aldrich), y 100 µl de plasma diluido. El tampón fosfato fue utilizado como blanco y 1 µM Trolox (Aldrich), análogo soluble de la vitamina E, como estándar. La *R*-ficoeritrina, el tampón fosfato y las muestras fueron incubados a 37 °C durante 15 min. La reacción comenzó con la adición de AAPH. La fluorescencia fue medida y registrada cada dos minutos a una longitud de onda de emisión de 570 nm y 540 nm de excitación utilizando un espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301 PC hasta que la fluorescencia alcanzó menos del 5 % de la primera lectura (~70 min). Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante plasmática usando las diferencias de las áreas normalizadas bajo las curvas de

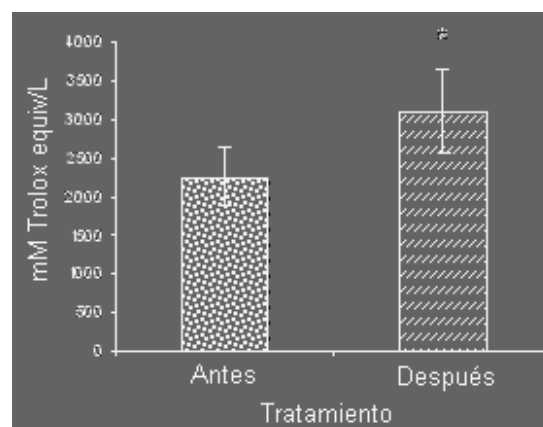
decaimiento de la fluorescencia de *R*-ficoeritrina entre el blanco y la muestra el bajo la curva de fluorescencia. Se determinó el valor ORAC del infuso expresándolo como µM de Equivalentes de Trolox (Trolox equiv) por gramo de hojas secas de *U. molinae* (20).

Ácido úrico y proteínas totales en plasma. Se realizó con reactivos (uricasa/peroxidasa y Biuret, respectivamente) y según el manual de Procedimientos Biosystems.

RESULTADOS

En las muestras plasmáticas antes y después de la ingesta de infuso (1 %) de hojas de *U. molinae* se observa diferencia significativa (*t*-test, *P* < 0,05) en la capacidad antioxidante. Al comparar las áreas corregidas bajo la curva (ABC) de decaimiento de fluorescencia, se observa un aumento en 850 unidades de área después de la ingesta del infuso. Realizando el cálculo del valor ORAC para el plasma de los voluntarios, se observa un nivel basal de 2258 ± 387 µM Trolox equiv/L, el cual aumenta a 3108 ± 532 µM Trolox equiv/l después del tratamiento continuo con los infusos al 1% (Figura 1).

Figura 1. Capacidad de absorción de radicales del oxígeno (ORAC) plasmática antes y después de la ingesta de infuso (1%) de hojas de *Ugni molinae*.



* *P* < 0.05 vs valores del blanco (tampón fosfato) y valores de las muestras antes de la ingesta de infuso. Los datos son promedio ± SD (n=7).

Este incremento corresponde a 27,3 %. Los niveles plasmáticos de ácido úrico y proteínas totales se mantienen antes y después de la ingesta de infuso dentro de los niveles normales descritos para hombres y mujeres (ácido úrico: 3,5-7,2 mg/dl, 2,6-6,0 mg/dl respectivamente) y para estado ambulatorio y recostado (proteínas

Tabla 1. Contenido de ácido úrico y proteínas plasmáticas totales en plasma de voluntarios sometidos a ingesta de infuso 1% de hojas de *Ugni molinae*.

Muestras Plasmáticas	Ácido úrico (mg/ dl)		Proteínas totales (g/l)	
	Antes	Después	Antes	Después
1 _f	2,80 ± 0,08	2,90 ± 0,07	85,00 ± 0,01	78,00 ± 0,01
2 _f	2,70 ± 0,06	2,60 ± 0,07	67,00 ± 0,07	70,00 ± 0,00
3 _f	2,80 ± 0,00	2,90 ± 0,07	50,00 ± 0,01	68,00 ± 0,00
4 _m	4,00 ± 0,07	3,90 ± 0,07	75,00 ± 0,02	76,00 ± 0,01
5 _f	4,60 ± 0,07	3,50 ± 0,07	74,00 ± 0,00	80,00 ± 0,01
6 _m	5,40 ± 0,00	5,50 ± 0,00	83,00 ± 0,00	80,00 ± 0,01
7 _m	4,20 ± 0,00	4,20 ± 0,08	64,00 ± 0,01	80,00 ± 0,00

_f sexo femenino, _m sexo masculino. Los datos son promedio ± SD (n=3).

totales: 64 - 83 g/l, 60 - 78 g/l, respectivamente). El análisis estadístico de los datos no mostró diferencias estadísticamente significativas (t-test, $\alpha = 0,05$) (Tabla 1). Al someter el infuso (1 %) a ORAC se observa actividad antioxidante superior al estándar de Trolox 1 μ M, alcanzando a los 60 min de reacción la mínima fluorescencia. El valor ORAC calculado para infuso (1%) de hojas de *U. molinae* integrando el ABC, corresponde a 533,11 μ M de Trolox Equiv /g de hojas secas (Figura 2).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

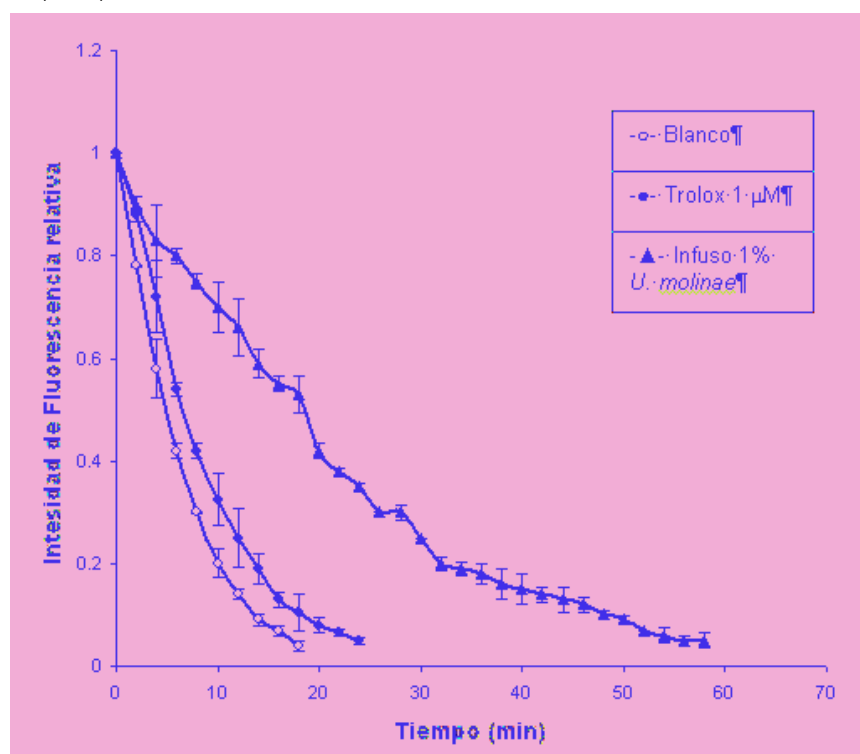
Los radicales libres, especies sumamente reactivas, provocan reacciones en cadena, pudiendo causar daño oxidativo en macromoléculas biológicas. Éstos se generan durante la respiración celular, dando origen a radicales como el hidroxilo (OH[•]) y superóxido (O[•]), entre otros (2). Las sustancias antioxidantes son la principal defensa orgánica frente a estas especies radicalarias. Son de tipo enzimático como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, y de tipo no enzimático, vitamina E, C, β -caroteno, bilirrubina, glutatión y de origen externo consumidos en la dieta o bien como suplemento. Estas últimas son capaces de reaccionar fácilmente con los radicales y/o especies oxidantes tras lo cual ambos quedan inactivados (21). Para conocer el nivel de antioxidantes circulantes es necesario contar con una batería de métodos que permitan determinar la capacidad antioxidante por atrapamiento de radicales (22, 23). La gran mayoría de estos métodos determina antioxidantes que son hidrosolubles. Entre estos destaca ORAC que permite medir tanto el tiempo como el porcentaje de daño causado por el radical libre (AAPH[•]) a una proteína fluorescente (*R*-ficoeritrina), que manifiesta su integridad en intensidad de

fluorescencia (24). Por lo tanto, el cambio en la intensidad de fluorescencia es un índice del grado de daño inducido por el azo-radical. En la presencia de un antioxidante el daño causado por el radical se retarda en el tiempo, lo que se refleja en la protección contra el cambio de intensidad de fluorescencia con un aumento del ABC.

Los niveles basales observados por el ORAC correspondiente a la condición antes de la ingesta del infuso 1%, manifiestan la participación de antioxidantes endógenos como el ácido úrico, que ha sido descrito como uno de los principales interferentes en este ensayo y en menor cuantía las proteínas plasmáticas (25). Por lo tanto, es indispensable medirlos en las muestras plasmáticas en las que se asocia la ingesta del infuso con un incremento de la capacidad antioxidante plasmática. Los resultados observados evidencian actividad antioxidante, con niveles normales de ácido úrico y proteínas plasmáticas.

La actividad antioxidante del infuso se asocia a su composición fenólica (19, 26). Entre los mecanismos de acción antioxidante de estos compuestos cuentan la donación de protones, atrapamiento de radicales libres y efecto quelante de trazas de metales de transición (27). De esta manera el radical peroxilo representado por AAPH[•] es estabilizado por donación de protones, mientras que los productos de oxidación formados en el daño a la proteína son atrapados por los polifenoles. Este resultado afirma los obtenidos en experimentos previos como la estabilización del radical DPPH por donación de protones y la protección de

Figura 2. Intensidad de fluorescencia relativa a los 60 minutos del infuso (1 %) de hojas de *Ugni molinae*. Los datos son promedio $\pm$ SD (n = 3).



moléculas poliinsaturadas sometidas a oxidación por calor y luz ultravioleta. Estos mecanismos se observan, también, en la protección sobre la oxidación de LDL por iones Cu^{+2} . El efecto quelante de trazas de metales de transición se estudió con iones Cu^{+2} y Fe^{+3} , especies que generalmente catalizan procesos oxidativos biológicos, entre ellos la peroxidación lipídica.

Cao y cols. estudiaron el incremento de la actividad antioxidante plasmática después de la ingesta de vino tinto (300 ml) y vitamina C (1250 mg), mediante el método ORAC, observando un 7 - 25 % de incremento en el ABC con respecto al control (27). En el presente estudio el incremento en el ORAC plasmático con respecto al basal fue de 27,3 %. La magnitud de la respuesta observada no se puede interpretar arbitrariamente como una disminución en el riesgo de enfermedad degenerativa crónica, sólo evidencia incremento en la capacidad antioxidante asociada a la ingesta del infuso en las condiciones de este experimento. Aunque los valores correspondientes a proteínas totales y de ácido úrico plasmáticos se encontraron dentro de lo normal, algunos investigadores recomiendan remover las proteínas antes del ensayo ORAC, puesto que

estas junto a otros antioxidantes endógenos contribuyen en un 75% a la capacidad antioxidante plasmática (28, 29). Mazza y cols. observaron incrementos de hasta un 50,6 % sobre el nivel del valor ORAC en plasma total cuatro horas después de una única ingesta de 100 g de un liofilizado de arándano gigante (*Vaccinium corymbosum*). En este mismo estudio se demostró la presencia en el plasma de las formas intactas (glicósidos y acetatos) de antocianos (28). Hasta ahora sabemos que *U. molinae* posee una mezcla compleja de polifenoles con una amplia distribución de pesos moleculares. En este conjunto, los taninos gálicos pueden hidrolizarse liberando ácido gálico, el cual asociado con los flavonoides y catequinas, una vez absorbidos, contribuyen significativamente a elevar la capacidad antioxidante del plasma. Recientemente, Lotito y Frei, estudiaron el efecto protector de los polifenoles aislados de manzana (*Malus domestica*) sobre la capacidad antioxidante ORAC *in vitro* y *ex vivo*. Sin embargo, cuando investigaron el efecto *in vivo* del consumo de cinco manzanas en ayunas en voluntarios sanos, el ORAC plasmático total, no fue diferente al de un grupo control (30). Los mismos investigadores empleando los modelos FRAP y Ferric Reducing Ability of Plasma, ascorbate oxidase (FRAP_{AO}) encontraron un aumento significativo de la capacidad antioxidante plasmática en individuos sometidos a la ingesta de manzanas. Este incremento, estaría asociado al contenido de fructosa

y azúcares que la originan. La fructosa en los alimentos aumenta los niveles de ácido úrico. Esta fructosa es rápidamente metabolizada a fructosa 1-fosfato mediante la enzima fructoquinasa. Este evento conduce a una disminución transiente en el ATP hepático y el fosfato inorgánico, ambos importantes inhibidores de la 5'-nucleotidasa y la AMP deaminasa, por lo que se favorece la degradación de AMP a urato (31). Estos hallazgos, aparentemente contradictorios, no hacen otra cosa más que confirmar lo variable de los resultados observados con otros alimentos ricos en antioxidantes, relacionados con la importancia de la matriz en la cual están insertos estos compuestos. En infusiones o extractos hidro-alcohólicos estas sustancias presentan muy buena solubilidad si se les compara con aquellos que están en un alimento, donde las proteínas y carbohidratos complejos alteran significativamente su biodisponibilidad. El valor ORAC es ampliamente utilizado como control de calidad de productos antioxidantes y en la evaluación de la capacidad antioxidante de frutas, verduras, suplementos dietarios, nutraceúticos, jugos y vinos (32, 33). Así por ejemplo, para el vino tinto el valor ORAC expresado en unidades Trolox corresponde a 2194 μM de Equivalentes Trolox/g (29) y el calculado para el infuso (1%) a 533.11 μM de Equivalentes Trolox/g. Recientemente, el ensayo ha experimentado una modificación importante, reemplazando la *R*-ficoeritrina como prueba fluorescente por fluoresceína. Esta última posee mayor fotoestabilidad, bajo costo, no interacciona con polifenoles y los productos de su reacción con AAPH están perfectamente caracterizados (34).

En conclusión, los resultados de este estudio muestran la actividad antioxidante del infuso (1%) de hojas de *Ugni molinae* y el incremento en la actividad antioxidante plasmática asociada a su ingesta. Actualmente, se están realizando estudios conducentes a caracterizar específicamente que metabolitos secundarios son responsables del efecto observado y su impacto en la capacidad antioxidante plasmática.

AGRADECIMIENTOS

Fuente de Financiamiento Proyectos Internos
Universidad de Concepción P.I 202.074.030-1.0

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Maxwell SR. (1995). Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 49: 345-361.
- (2) Sohal RS, Weindruch R. (1996). Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science* 273: 59-63.
- (3) Meydani M. (2001). Nutrition interventions in aging and age-associated disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 928: 226-235.
- (4) Laurin D, Masaki KH, Foley DJ, White LR, Launer LJ. (2004). Midlife dietary intake of antioxidants and risk of late-life incident dementia: the Honolulu-Asia aging study. *American J. Epidemiol.* 159: 959-967.
- (5) Hagfors L, Leanderson P, Sköldstam L, Anderson J, Johansson G. (2003). Antioxidant intake, plasma antioxidants and oxidative stress in a randomized, controlled, parallel, Mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. *Nutr. J.* 2:5.
- (6) Stahl W, Sies H. (1997). Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes* 46: 14-18.
- (7) Halliwell B, Gutteridge JMC. (1989). Free radicals in biology and medicine. Ed. Clarendon Press, Oxford, Reino Unido.
- (8) Ng TB, Liu NGF, Wang ZT. (2000). Antioxidative activity of natural products from plants. *Life Sci.* 66(8): 709-723.
- (9) Hoffmann JA. (1991). Flora silvestre de Chile zona araucana. Ed. Fundación Claudio Gay, (2ª ed), Santiago, Chile. 160 pp.
- (10) Avello M. (2000). Estudio fitoquímico de las hojas de *Ugni molinae* Turcz. ("Murtilla") y evaluación de las propiedades antioxidantes de sus componentes. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- (11) Prior RL, Gouhwa C. (2000). Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review. *JAOAC* 83 (4): 950-956.
- (12) Glazer AN. (1990). Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species. *Methods Enzymol.* 186:161-168.
- (13) Winston GW, Regoli F, Dugas AJ(Jr), Fong JH, Blanchard KA. (1998). A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Rad. Biol. Med.* 24: 480-493.
- (14) Tubaro F, Ghiselli A, Papuzzi P, Maiorino M, Ursini F. (1998). Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Rad. Biol. Med.* 24:1228-1234.
- (15) Lin YL, Juan IM, Chen YL, Liang YC, Lin JK. (1996). Composition of polyphenols in fresh tea leaves and associations of their oxygen-radical-absorbing capacity with antiproliferative actions in fibroblast cells. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1387-1394.

- (16) Cao G, Sofic E, Prior RL. (1996). Antioxidant and pro-oxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Rad. Biol. Med.* 22: 749-760.
- (17) Wang H, Cao G, Prior RL. (1997). The oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45:304-309.
- (18) Cao G, Booth SL, Sadowki JA, Prior RL. (1998). Increases in human plasma antioxidant capacity following consumption of controlled diets high in fruits and vegetables. *Am. J. Clin. Nutr.* 68: 1081-1087.
- (19) Gugliucci A. (1996). Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 224(2): 338-344.
- (20) Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan J, Deemer E. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays; a comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3122-3128.
- (21) Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanner J. (1993). Possible mechanism for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technology* 85-89.
- (22) Prior RL, Cao G (1999). *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic. Biol. Med.* 27(11-12): 1173-1178.
- (23) Kedziora-Kornatowska K, Bartasz M, Mussur M, Zaslonka J, Kedziora J, Bartosz G. (2003). The total antioxidant capacity of blood plasma during cardiovascular bypass surgery in patients with coronary heart disease. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 8:973-977.
- (24) Wang SY, Lin H-S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivate and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146.
- (25) Abuja PM, Albertini R. (2001). Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 306: 1-17.
- (26) Baolu Z. (2003). Antioxidant effects of green tea polyphenols. *Chin. Sci. Bull.* 48 (4): 315-319.
- (27) Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. (2002). Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 17(6): 271 – 278.
- (28) Mazza G, Kay CD, Cottrell T, Holub BJ. (2002). Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *J. Agric. Food Chem.* 50: 7731 - 7737.
- (29) Cao G, Russell R, Lischner M, Prior R. (1998). Serum antioxidant is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J. Nutr.* 128: 23283-2390.
- (30) Lotito SB, Frei B. (2004). Relevance of apple polyphenols as antioxidant in human plasma: contrasting in vitro and in vivo effects. *Free Radic. Biol. Med.* 15; 36(2): 201-211.
- (31) Lotito SB, Frei B. (2004). The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. *Free Radic Biol. Med.* 15; 37(2): 251-258.
- (32) Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L, Hampsch-Woodill M, Huang D, Ou B, Jacob R. (2003). Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *J. Agric. Food Chem.* 51(11): 3273-3279.
- (33) Wang H, Cao G, Prior R. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.
- (34) Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. (2001). Development and validation of a improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4619-4626.

Este artículo puede ser libremente distribuido y/o copiado para uso personal siempre que lo sea en su integridad. No se permite su modificación ni su uso parcial o total para fines comerciales. Si por cualquier razón Vd. desea redistribuirlo en gran cantidad le agradeceremos que nos lo informe. Todo trabajo basado en este artículo o derivado de su uso debe citar convenientemente la fuente.



<http://www.blacpma.cl>