



Nova Scientia

E-ISSN: 2007-0705

nova_scientia@delasalle.edu.mx

Universidad De La Salle Bajío

México

López Martínez, Leticia Xochitl; García-Galindo, H. Sergio
Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano
Nova Scientia, vol. 2-1, núm. 3, noviembre-abril, 2009, pp. 51-65
Universidad De La Salle Bajío
León, Guanajuato, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=203314886004>

- ▶ 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

Actividad antioxidante de extractos metanólicos
y acuosos de distintas variedades de maíz
mexicano

Antioxidant activity of methanolic and aqueous
extracts of different varieties of mexican maize

L. Xóchitl López-Martínez¹ y H. Sergio García-Galindo²

¹Universidad del Papaloapan, Loma Bonita, Oaxaca.

²UNIDA, Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz.

México

Resumen

En este estudio se determinó la actividad antioxidante y capacidad de inhibir la formación de radicales libres, y contenido de compuestos fenólicos totales y antocianinas de extractos acuosos y metanólicos de distintas variedades de maíz mexicano. El contenido de compuestos fenólicos varió de entre 65.75 a 3400 mg/100 g y las antocianinas entre 1.5 a 2052.75 mg/100 g de harina de maíz. Las variedades “REQ516540TL” y “Veracruz 42” fueron las que mostraron la mayor capacidad de inhibir la oxidación de ABTS⁺ (2-2’azino-bis-etilbenzotiazoline-6-acido sulfónico) mediada por persulfato de sodio y la inhibición del blanqueamiento del β-caroteno acoplado a ácido linoléico, los mismos extractos fueron los más eficientes para reducir el radical catión DDPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).

Palabras clave: Antioxidante, compuestos fenólicos, antocianinas, maíz pigmentado.

Recepción: 09-08-09

Aceptación: 12-10-09

Abstract

Free-radical scavenging, reducing activities, total phenolics and total anthocyanins of aqueous, methanolic and ethanolic of eighteen varieties of Mexican maize were determinated. The total phenolic content varied from 65.75 to 3400 mg/100 g and the total anthocyanin from 1.5 to 2052.75 mg/100 g of fresh corn kernels. Methanolic and ethanolic extract of varieties “REQ516540TL” and “Veracruz 42” were the most capable of inhibiting sodium persulfate/O₂ mediated oxidation of ABTS⁺ (2-2’azino-bis-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and inhibition of the β-carotene bleaching coupled to linoleic acid. These same extracts were also most efficient to reducing DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) radical cation.

Keywords: Antioxidant, phenolic compounds, anthocyanins, pigmented corn

Introducción:

El maíz (*Zea mays L.*) es un cereal ampliamente consumido en México y Centro América principalmente en forma de productos tales como tortillas, tamales, y totopos,(1) así como en forma de bebidas como chicha morada la cual ha sido relacionada con beneficios a la salud en Perú (2). Los maíces pigmentados contienen compuestos fenólicos, los cuales han despertado interés por sus propiedades antioxidantes y bioactivas (1). Diversos estudios han reportado actividades antioxidantes y anticarcinogénicas de compuestos fenólicos como ácido ferúlico y cumárico y sus derivativos (3). También se ha encontrado que los extractos etanólicos de maíz morado y azul poseen actividades antimutagénicas, anticarcinogénicas y actividades contra los radicales libres; estas actividades fueron asociadas con las antocianinas presentes en los granos de maíz.

La actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales de algunas variedades de maíz mexicano han sido reportados (1), sin embargo, no ha sido estudiada extensivamente la capacidad antioxidante presente en la diversidad del germoplasma del maíz mexicano.

Métodos

Preparación de las muestras

El origen de las variedades y la pigmentación de las mismas utilizadas en este estudio se encuentran en la Tabla 1. Las muestras fueron propagadas utilizando los métodos convencionales de cultivo en México. Los granos obtenidos fueron secados al sol hasta un contenido de agua de aproximadamente 20%. Las muestras fueron molidas, mezcladas y almacenadas a -20 °C hasta el momento del análisis.

Preparación de los extractos acuosos

Cinco gramos de harina de maíz fueron mezclados con 25 ml de agua destilada y homogenizados con agitación constante en un agitador orbital (Lab-Line Orbiton Enviro Modelo 3527, Melrose Plaza, IL) a 50 °C durante 10 min. Los homogenizados fueron filtrados a través de papel filtro Whatman No. 4 y el residuo fue reextraído con 15 ml de agua destilada por 10 min más. Los filtrados fueron congelados a -18 °C y posteriormente lyofilizados (12-L Free

Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano

zone Freeze drier, Labcono, Kansas City, MO) por 72 h a 13.3 Pa. Los liofilizados fueron almacenados en frascos de color ámbar a 4 °C, hasta el momento de ser analizados.

Tabla 1. Origen y pigmentación de las 17 diferentes variedades de maíz utilizadas en el estudio de la actividad antioxidante

Variedad	Abreviación	Origen	Pigmentación
Veracruz 42 Maíz negro 04 PV	Ver 42	Campo Cotaxtla, Veracruz	Morado
Rojo ancho Olinala Oli 04 PV	RaO04PV	Colegio de Posgraduados, Campus Iguala	Rojo
Negro Olinala Oli 04 compuesto 2	NO04c2	Colegio de Postgraduados, Campus Iguala	Negro
Oaxaca 337 IG-04-PV Compuesto	O337	CIMMYT (Texcoco)	Morado
Negro Normal oli 04 PV compuesto 1	Nn04c1	Colegio de Posgraduados, Campus Iguala	Negro
Rojo Olinala ACATL-04/PV Compuesto 3	RO	CIMMYT (Texcoco)	Rojo
Manuel 5-IGO4 PV Compuesto II	M5IG04	Colegio de Posgraduados, Campus Iguala	Rojo
Mazorca rojo-morada ACATL 04 PV	Mr-m	Colegio de Posgraduados, Campus Iguala	Rojo
AREQ516540TL	AREQTL	Campo Cotaxtla, Veracruz	Morado
Blanco	Blanco	Mercado local, Veracruz	Blanco
Amarillo	Amarillo	Mercado local, Veracruz	Amarillo
Naranja	Naranja	Mercado local, Oaxaca	Naranja
Azul	Azul	Mercado local, México, D.F.	Azul
Negro	Negro	Mercado local, México, D.F.	Negro
Morado	Morado	Mercado local, México, D.F.	Morado
Pinto	Pinto	Mercado local, Cholula, Puebla	Rojo
Rojo	Rojo	Mercado local, Cholula, Puebla	Rojo

Preparación de los extractos metanólicos

Cinco gramos de harina de maíz fueron molidos con 25 ml de metanol acuoso (20:80 v/v agua: metanol) en matraces de 50 ml, en ausencia de luz a 50 °C por 2 h con agitación constante en un agitador orbital. La mezcla resultante fue filtrada a través de papel filtro Whatman No. 4. Los filtrados fueron sujetos a evaporación (Rotavapor model R110, Büchi Flawil, Suiza) a 40 °C para remover el metanol y posteriormente fueron liofilizados por 72 h a 13.3 Pa. El concentrado metanólico fue almacenado a -20 °C hasta el momento de ser analizado.

Determinación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos totales en los extractos se determinaron utilizando el método de Folin-ciocalteu (1) determinaron en base a una curva estándar a una absorbancia a 765 nm. 100 µl de los extractos fueron diluidos con 500 µl de agua, posteriormente se agregaron 700 µl de una solución 0.2N del reactivo de Folin-ciocalteu, se agitó manualmente la muestra y se le permitió reposar por 3 min a temperatura ambiente antes de agregar 900 µl de una solución de Na₂CO₃ 1M y se dejó en reposo por 90 min a 25 °C en ausencia de luz, después de los cuales se determinó la absorbancia a 765 nm. Los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico por cada 100 gr de harina de maíz.

Para el análisis de las antocianinas totales se adaptó la técnica espectrofotométrica de Abdel-Aal y Hucl (6) por la medición de absorbancia de los extractos del maíz a pH 1.0. Un gramo de harina de maíz fue homogenizado con 5.0 ml de una solución (HCl 0.225N en etanol acuoso al 95%), colocados en viales color ámbar con agitación constante por 24 h a 4 °C. Posteriormente, los extractos fueron centrifugados a 3000 xg durante 5 min y se colectó el sobrenadante. Se determinaron absorbancias a 535 nm y 700 nm. Los resultados fueron expresados como mg de cianidina 3-glucósido por cada 100 g de harina de maíz.

Actividad antiradical

La medición de la actividad antiradical de los extractos fue adaptada de Brand-Williams *et al.*, (7). La reacción anti-radical se llevó al cabo en tubos de propileno de 15 ml a 25 °C, donde se adicionaron los extractos los cuales fueron probados a una concentración de 0.1 mM de compuestos fenólicos, se adicionaron 2.8 ml de DDPH 98.8 µM y se agitaron manualmente por 15 s. Se midió el decremento en la absorbancia a 515 nm cada 10 minutos hasta que no se

presentaran cambios en la misma. Se utilizó Trolox 0.20 mM como control antioxidante y DPPH en metanol como testigo. La actividad antiradical fue expresada como porcentaje de cambio de absorbancia.

Potencia total de reducción

El ensayo de la potencia total de reducción fue adaptado de Pellegrini *et al.*, (8) y se encuentra basado en la generación de una cromóforo del radical ABTS⁺ y la capacidad de un antioxidante para blanquear este radical. La actividad antioxidante se definió como la concentración de trolox con actividad antioxidante equivalente a 1 mM. Se preparó el radical ABTS⁺ mezclando 5 ml de una solución ABTS 7 mM y 88 μ l de una solución de persulfato de potasio 140 mM, esta mezcla reposó por 12 h en ausencia de luz o hasta que se desarrolle un color verde oscuro. Los extractos fueron probados a una concentración de 0.1 mM de compuestos fenólicos. Se transfirieron 190 μ l de metanol a una celda de cuarzo y el ensayo se inició cuando se le adicionó a la celda 1 ml de la solución de ABTS preformado y se determinó la absorbancia a 734 nm después de 10 min de reacción. El porcentaje de inhibición se calculó como:

% Inhibición: (Absorbancia_{testigo}-Absorbancia_{muestra}/Absorbancia_{testigo}) x 100

Blanqueamiento de la solución de β -caroteno

Este ensayo se basa en el blanqueamiento de la solución de β -caroteno y de la habilidad de los antioxidantes para inhibir la decoloración de la solución propiciada por la oxidación del ácido linoléico. Se adaptó del método de Miller *et al.*, (9). 1 ml de una solución de β -caroteno (0.2 mg/ml en cloroformo) fue adicionada a un matraz de fondo plano de 50 ml que contenía una solución de 0.2 ml de Tween 20 y 0.02 ml de ácido linoléico, se agitó la mezcla y se le agregaron los extractos en una concentración de 0.1 mM de compuestos fenólicos. La mezcla se agitó manualmente y se evaporó hasta sequedad bajo vacío a 25 °C, posteriormente se le agregaron 5 ml de una solución de H₂O₂ al 3% y se agitó vigorosamente por 45 s hasta formar un liposoma. Las muestras fueron incubadas a 50 °C, se tomaron lecturas de absorbancia a 470 nm cada 10 min hasta 2 h a partir del momento de la adición del H₂O₂. Los extractos fueron probados a una concentración de 0.1 mM de compuestos fenólicos. La actividad antioxidante fue expresada como

porcentaje de retención de β -caroteno relacionado al testigo. Se utilizó tocoferol a una concentración de 0.20 Mm como testigo.

Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

Análisis estadístico

En todos los experimentos se utilizó un diseño de bloques totalmente al azar y una significancia de 0.05 ($P < 0.05$) de las diferencias entre los tratamientos y será establecida usando ANOVA de un factor de diseño completamente aleatorizado vía utilizando el software MINITAB v.10.

Resultados y discusión

Las concentraciones de compuestos fenólicos totales y antocianinas de las variedades de maíz utilizadas en este estudio se muestran en la Tabla 2. Como puede observarse las concentraciones estuvieron comprendidas entre 170-3400 mg de ácido gálico/ 100 g para el extracto metanólico y 65.8-786 mg de ácido gálico/ 100 g para el extracto acuoso. Las diferencias entre los compuestos fenólicos extraíbles en medio acuoso y medio metanólico refleja la polaridad de los mismos y el grado en el cual puedan estar esterificados y/o glicosilados. Muchas de las variedades examinadas contuvieron niveles de compuestos fenólicos extraíbles en agua del 12-44% referidos a los compuestos extraíbles por metanol. Sin embargo las variedades “rojo”, “naranja”, “azul” y “RO”, contuvieron del 50-82% de compuestos fenólicos extraíbles con agua relativo al metanol. La variedad “blanco” exhibió la mayor cantidad de compuestos fenólicos extraíbles por agua. Estos resultados pueden indicar que el perfil de compuestos fenólicos varía considerablemente entre diferentes tipos de maíz aunque posean la misma pigmentación. Entre los grupos pigmentados se examinaron muestras de la misma coloración y los rangos de contenido de compuestos fenólicos extraíbles por metanol y agua fueron respectivamente por 100 g de harina de maíz: morado (n=5): 465-3400 mg y 145-786 mg; negro (n=4) 475-565 mg y 66-197 mg, rojo (n=4) 406-617 mg y 82-266 mg. Entre las variedades de coloración morada, “AREQ516540TL” presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos, mientras que “Pinto” y “Nn04c1” mostraron la mayor concentración de compuestos fenólicos entre los rojos y negros respectivamente.

El contenido de antocianinas se encontró entre 1.50 a 2050 mg de cianidina 3-glucósido/ 100 g de harina de maíz, para todos los examinados (Tabla 2). Las variedades “blanco”, “amarillo” y

y “naranja” contuvieron el menor contenido de antocianinas, lo cual es esperado en esas coloraciones ya que los carotenoides principalmente en forma de luteína y zeaxantina, son los pigmentos más abundantes en ese tipo de muestras (10). Para las diferentes variedades examinadas se encontró que el contenido de antocianinas fue: morado: 261-2050, negro, 237-529; rojo 127-431. “AREQ516540TL” y “Veracruz 42” mostraron la mayor cantidad de antocianinas entre los fenotipos color morado y “Pinto” y “Nc04c1” mostraron la mayor cantidad de antocianinas entre los rojos y negros examinados respectivamente. Así, para las variedades examinadas, aquellas que mostraron la mayor cantidad de compuestos fenólicos, también tuvieron la mayor concentración de antocianinas (las cuales contribuyen a los niveles de compuestos fenólicos totales). En estudios realizados por De la Parra *et al.*, (1), se determinó el contenido de antocianinas totales en variedades de maíz de coloraciones blanco, amarillo, rojo y azul, encontrando concentraciones de estos compuestos de 1.33, 0.56, 9.57 y 38.8 mg/ 100g de harina de maíz, los autores utilizaron la misma técnica de extracción que la utilizada en el presente estudio, por lo que las diferencias en los resultados pueden deberse a la variabilidad genética y el origen de cada una de las variedades utilizadas en los diferentes estudios, al igual que en el caso de los compuestos fenólicos totales (las antocianinas son parte de estos).

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos totales y antocianinas en las 17 variedades mexicanas de maíz.

Muestra	^p Extracto metanólico	^p Extracto acuoso	^q Antocianinas
Ver 42	1760 ^b ± 10.22	786 ^a ± 8.35	1050 ^b ± 10.11
RaO04PV	456 ^g ± 4.36	81.8 ^k ± 10.2	385 ^f ± 4.22
NO04c2	565 ^d ± 9.9	65.8 ^l ± 3.2	431 ^e ± 3.45
O337	539 ^e ± 5.12	126 ^h ± 3.2	478 ^d ± 4.11
Nn04c1	544 ^{de} ± 7.09	120 ^l ± 2.56	529 ^c ± 7.12
RO	283 ^k ± 3.22	226 ^d ± 2.45	127 ^l ± 2.13
M5IG04	406 ^h ± 3.67	136 ^h ± 1.35	159 ^k ± 1.22
Mr-m	396 ^h ± 3.22	82.7 ^k ± 1.7	141 ^k ± 1.56
AREQTL	3400 ^a ± 10.12	570 ^b ± 3.3	2050 ^a ± 10.15
Blanco	170 ^l ± 4.35	177 ^g ± 2.5	1.54 ⁿ ± 0.11

Amarillo	551 ^d ± 3.33	216 ^e ± 3.2	3.33 ⁿ ± 0.37
Naranja	215 ^j ± 2.67	113 ⁱ ± 1.4	21.5 ^m ± 1.1
Azul	343 ⁱ ± 4.76	235 ^d ± 1.5	274 ⁱ ± 4.31
Morado	465 ^f ± 6.78	145 ^h ± 1.22	261 ⁱ ± 2.16
Negro	457 ^d ± 7.22	197 ^f ± 2.65	324 ^h ± 3.45
Rojo	465 ^f ± 5.90	266 ^c ± 2.76	366 ^g ± 3.22
Pinto	617 ^c ± 10.23	233 ^d ± 3.22	431 ^c ± 3.89

T^{a-n} Las medias con letras iguales en una misma columna no difieren significativamente ($p>0.05$).

^p Concentración expresada en mg de ácido gálico /100 g de harina de maíz

^q Concentración expresada en mg de cianidina 3-glucósido/100 g de harina de maíz

Capacidad anti-radical

En general lo compuestos fenólicos derivados de los extractos metanólicos fueron más efectivos para inhibir la formación de los radicales DPPH[·] que sus equivalentes derivados de extracto acuoso (Figura 1 A, B). Los compuestos fenólicos libres más abundantes en el maíz son el ácido benzóico, el ácido ferúlico, el ácido cumárico y sus derivativos (3) y la actividad inhibidora de la formación de radicales de los extractos acuosos y metanólicos puede ser debida a esa porción de compuestos, así como a las antocianinas presentes en los extractos. Aunque no existe una relación significativa entre la actividad anti-radical y el contenido de compuestos fenólicos en los extractos, las variedades “ARQTL516540TL” y “Veracruz 42” fueron las más efectivas en la capacidad antiradical de las variedades examinadas. Las variedades “NO04c2” y “Nn04c1” de coloración negra también poseen actividades inhibidoras altas comparadas con las demás variedades examinadas. Así, aquellas variedades que exhiben alta actividad inhibidora son aquellas que poseen las más altas concentraciones de compuestos fenólicos y antocianinas. Se ha encontrado que en pruebas como ORAC las antocianinas han demostrado tener mayor capacidad antiradical que los ácidos fenólicos (11).

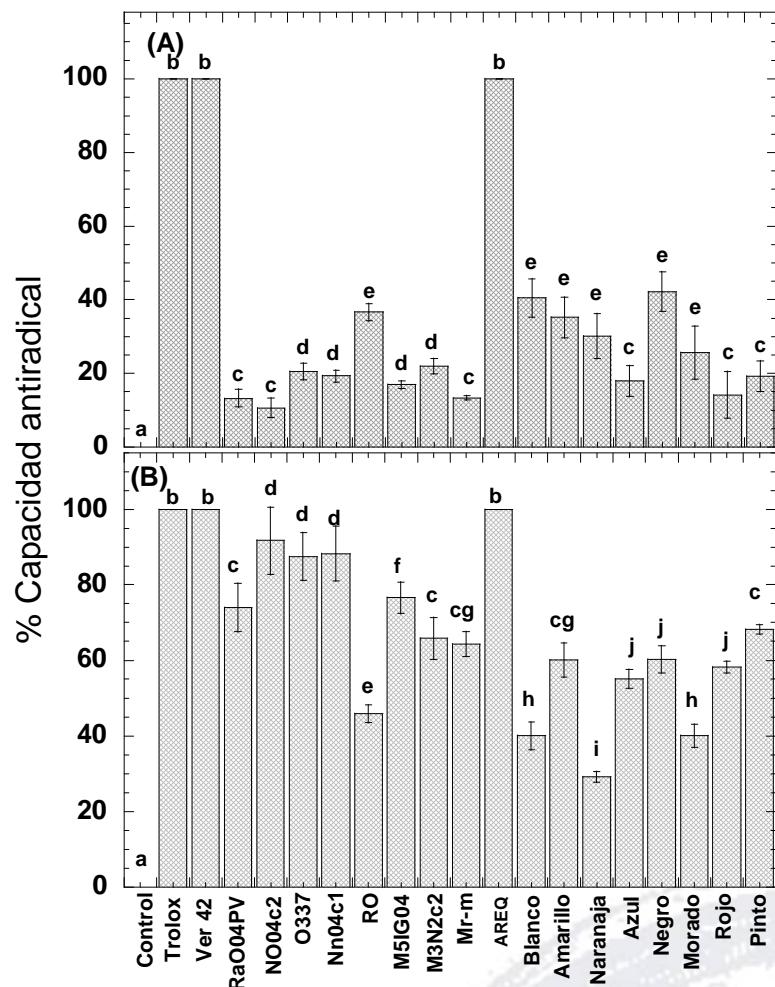


Figura 1. Capacidad anti-radical de los extractos metanólico (A) y acuoso (B) de las distintas variedades de maíz. Barras que comparten la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Potencia reductora

Los resultados del ensayo de la reducción del radical ABTS⁺ preformado, mostraron que los extractos metanólicos fueron más efectivos como agentes anti-radicales que los extractos acuosos. (Figura 2 A, B), un comportamiento similar al presentado en la actividad inhibidora (Figura 1 A, B) de los mismos extractos. Los extractos que muestran grandes actividades para inhibir la formación del radical DPPH fueron también aquellas con mayor actividad reductora del radical ABTS⁺, los extractos de las variedades moradas “AREQ5165OTL”, “Veracruz 42” y las variedades negras “NO04c2” y “Nn04c1”, además de los extractos de la variedad amarilla

(especialmente el metanólico) y la variedad roja llamada “Pinto” fueron las preparaciones más efectivas para reducir ABTS⁺. Así, las variedades con mayor concentración de antocianinas están nuevamente asociadas con altas propiedades anti-radicales, con la única excepción de la variedad “Amarillo”. En un estudio previo donde se analizaron las propiedades reductoras de extractos acuosos de maíz, se encontró que a una concentración de 0.1 mM de compuestos fenólicos puede reducir aproximadamente 0.3 equivalentes Trolox (12). En el presente estudio el extracto acuoso de la variedad “Amarillo” tuvo una efectividad de reducción del radical ABTS equivalente a aproximadamente 0.35 equivalentes Trolox, este efecto puede ser explicado como que el maíz utilizado en cada estudio procede de distintos orígenes además de la variabilidad genética de los mismos.

Inhibición del blanqueamiento de β -caroteno

La inhibición de las cadenas de reacción por los radicales libres en una emulsión de aceite linoléico catalizada por H₂O₂ es comúnmente derivado del efecto barredor de los oxy-radicales. En este sistema los extractos acuosos exhibieron mayor actividad antiradical que los extractos metanólicos al mismo nivel de compuestos fenólicos (Figura 3 A, B). Este efecto puede ser explicado por la polaridad de los extractos que tienen mayor capacidad de reducir los radicales oxy formados. Los extractos de las variedades moradas “AREQ5165OTL” y “Veracruz 42” y la variedad negra “N0O4c2” fueron los más efectivos para prevenir la co-oxidación de β -caroteno en este sistema. Sin embargo, también existe menor habilidad para distinguir entre la actividad antiradical de los extractos acuosos y metanólicos. La actividad anti-radical en este ensayo, entre las variedades utilizadas no se encuentra relacionada con la cantidad de compuestos fenólicos o antocianinas presentes en el extracto. Por ejemplo, altos niveles de retención de β -caroteno fueron observados por los extractos de la variedad negra “M3n2c2” y roja “M5IG04”, aunque las concentraciones de antocianinas se encuentren entre las más bajas de los fenotipos estudiados.

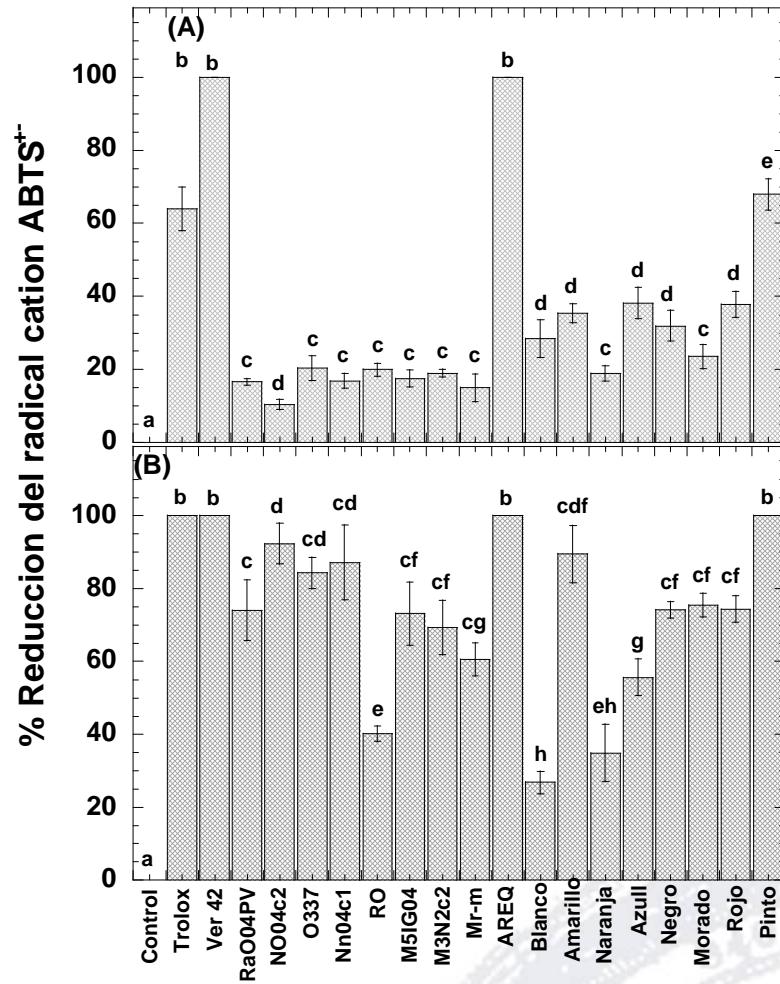


Figura 2. Potencia total de reducción de los extractos metanólico (A) y acuoso (B) de las distintas variedades de maíz. Barras que comparten la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

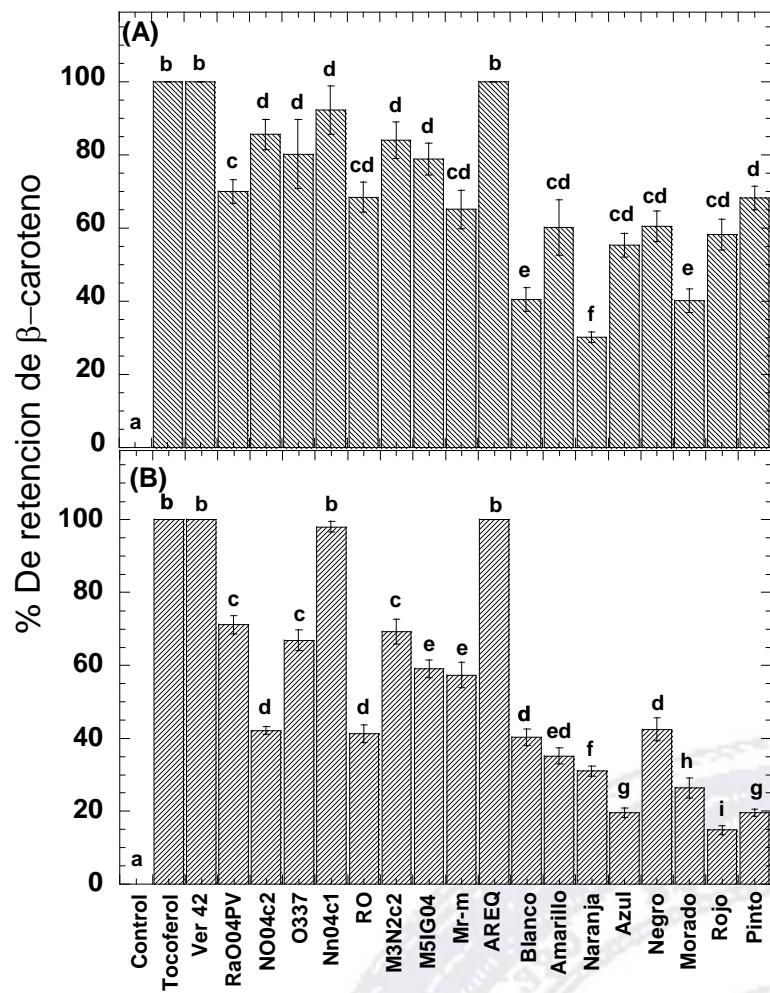


Figura 3. Inhibición del blanqueamiento de β -caroteno de los extractos metanólico (A) y acuoso (B) de las distintas variedades de maíz. Barras que comparten la misma letra no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Conclusiones

Se analizaron diversas variedades de maíz mexicano y las actividades antioxidantes de sus extractos. Aunque el perfil específico de compuestos fenólicos y antocianinas en las muestras se encuentran relacionadas a las actividades antioxidantes observadas, existe una relación general entre el contenido de antocianinas y el nivel de actividad antioxidante relativa. Los fenotipos morados que mostraron mayor cantidad de antocianinas totales fueron AREQ51654TL y Veracruz 42 las cuales consistentemente exhiben la mayor capacidad antioxidante. Estas variedades son objeto de estudios más profundos sobre su efecto potencial como promotores de la salud, así como de la identificación de cuáles de los compuestos fenólicos son responsables de las actividades antioxidantes.

Referencias

- 1.-Abdel-Aal, E.E. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry* 76(13), 350-354. (6).
- 2.-Brack-Egg, A. (1999). *Zea mays* L. In Diccionario enciclopedico de plantas utiles en Peru (p537-538). Cuzco, Perú: Imprenta del Centro Bartolomé de las Casas. (2).
- 3.-Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. (7).
- 4.-De la Parra C., Serna-Saldivar S.O. and Lui L. 2007. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas and tortilla Chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10): 4177-4183. (1).
- 5.-Kroon, P.A.,& Williamson, G. (1999). Hydroxycinamates in plants and food: Current and future perspectives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10):4177-4183. (3).
- 6.-Kurilich, A. C.,& Juvik, J. A. (1999). Quantification of carotenoids and tocopherols as antioxidants in *Zea Mays*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47, 1948-1955. (10).
- 7.-Miller H.E. 1971. A simplified method for evaluation of antioxidants. *Journal of American Oil Chemists Society*, 1:48-91. (9).
- 8.-Pellegrini G., Miller N. and Rice-Evans C. A. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2, 2''-azinobis (3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation) decolorization assay. In: Packer L. editor.

Methods in Enzymology, Vol. 299, Oxidants and antioxidants. Part A, New York. Academic Press pp. 379-389. (8).

9.-Vinson J.A., Hao Y., Su X. and Zubik L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**: 3630-3634. (5).

10.-Wettasinghe M., Bolling B. and Plahk L. 2002. Screening for Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of common vegetables. *Journal of Food Science*, **67**: 2583-2588 (12).

11.-Zheng W. and Wang S.Y. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**:502-509. (11).