



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD. ICSa

ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN

**“Estudio del efecto de la actividad antioxidante
de un extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera*
sobre la inhibición de la formación de
compuestos fluorescentes y pardos en dos modelos de
glicación de proteínas, a diferentes temperaturas.”**

T E S I S

**Que para obtener el título de
Licenciada en Nutrición**

P R E S E N T A

Berenice Betelgeuse Negrete Parra

Bajo la Dirección de:

Dra. María Teresa Sumaya Martínez



Pachuca de Soto, Hgo. Junio 2009.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS	IV
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	V
RESUMEN	1
SUMMARY	2
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1 El empleo de las flores como alimentos	3
1.2 <i>Yucca filifera</i>	3
1.3 Distribución geográfica	5
1.4 Usos	5
1.5 Valor nutrimental de la flor de <i>Yucca filifera</i>	7
1.6 Factores antinutrimientales en la <i>Yucca filifera</i>	7
1.7 Reacción de Maillard	8
1.7.1 Algunos efectos benéficos y tóxicos de los productos de la reacción de Maillard	11
1.8 Inhibición de la formación de los productos de la reacción de Maillard	13
1.9 Actividad antioxidante	14
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	17
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. OBJETIVO GENERAL	19
4.1 Objetivos específicos	19
5. HIPÓTESIS	20
6. METODOLOGÍA	21
6.1 Diseño metodológico	21
6.2 Reactivos y equipos	22
6.3 Recepción de la materia prima y preparación de la muestra	23
6.4 Preparación del extracto acuoso de la flor de <i>Yucca filifera</i> (EAY)	24
6.5 Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)	24

6.6 Determinación de la actividad antirradical por el método 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH*)	25
6.7 Determinación de la actividad antioxidante por el método de una emulsión de β -caroteno – ácido linoléico	27
6.8 Evaluación de la actividad quelante del extracto acuoso de la flor de <i>Yucca filifera</i> (EAY)	28
6.9 Inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del sistema peptona-ribosa (SPR)	29
6.10 Determinación de la cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes y pardos en dos modelos de glicación	29
6.10.1 Modelo de glicación 1	29
6.10.2 Modelo de glicación 2	29
6.11 Análisis estadístico	30
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
7.1 Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad antirradical del EAY	31
7.2 Efecto de la concentración del EAY sobre el porcentaje de protección de color de una emulsión de β -caroteno y ácido linoléico	32
7.3 Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad quelante del EAY	33
7.4 Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR	34
7.5 Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY	36
7.6 Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SPR en presencia del EAY	38
7.7 Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY	39
7.8 Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SAR en presencia del EAY	40
8. CONCLUSIONES	41
9. PERSPECTIVAS O RECOMENDACIONES	42
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen donde se observa la flor de <i>Yucca filifera</i>	4
Figura 2. Concentración de reactantes y productos de la reacción de Maillard en función al tiempo de calentamiento.	9
Figura 3. Esquema de la Reacción de Maillard	10
Figura 4. Diagrama de flujo sobre el diseño metodológico de la investigación	21
Figura 5. Curva estándar de ácido gálico utilizada durante el método de CFT	25
Figura 6. Curva estándar de Trolox utilizada durante el método de DPPH*	26
Figura 7. Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad antirradical del EAY	31
Figura 8. Efecto de la concentración del EAY sobre el porcentaje de protección de color de una emulsión de β -caroteno y ácido linoléico	32
Figura 9. Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad quelante del EAY	33
Figura 10. Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes del SPR	34
Figura 11. Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR y sobre la actividad antirradical	35
Figura 12. Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY	36
Figura 13. Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SPR en presencia del EAY	38
Figura 14. Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY	39
Figura 15. Cinética de Inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SAR en presencia del EAY	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución geográfica de la <i>Yucca filifera</i> .	6
Tabla 2. Valor nutrimental de la flor de <i>Yucca filifera</i> por cada 100 g de alimento crudo en peso neto.	7

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.

AGEs (por sus siglas en inglés).	Productos finales de la glicación avanzada.
BHA	Butilhidroxianisol.
BHT	Butilhidroxitolueno.
BHQT	Butilhidroxiquinona.
CFT	Compuestos fenólicos totales.
DPPH•	1,1-difenil-2-picrihidracil.
EAY	Extracto acuoso de la flor de <i>Yucca filifera</i> .
EAG	Equivalentes de ácido gálico.
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético.
G	Inmunoglobulinas.
LDL	Lipoproteína de baja densidad.
μmol ET	Micromoles equivalentes de Trolox.
PRM	Productos de la reacción de Maillard.
PVDF	Fluoruro de polivinilideno.
SPR	Sistema peptona de gelatina-ribosa.
SAR	Sistema albúmina sérica bovina-ribosa.
Trolox	Carboxílico 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo.

ABSTRACT

The Maillard reaction is considered a non-enzymatic browning reaction, which could be done under various conditions and is influenced by pH, temperature, water activity and the presence of metals like copper and iron. The use of high temperatures during cooking of food has been associated with the formation of various products of the Maillard reaction or glycation of proteins with toxic effects, which may have an impact on the prevalence of diabetic complications. However, it appears that a high intake of fruits and vegetables cause a lower risk of chronic degenerative diseases, in addition, in vitro studies have used extracts from plants with antioxidant properties to achieve the inhibition of the reaction products of Maillard. This study assessed how the total concentration of phenolic compounds of an aqueous extract of flowers of *Yucca filifera* on antioxidant activity, chelating activity and inhibition of the formation of fluorescent compounds during glycation of two systems, a peptone gelatin-ribose (SPR) and the bovine serum albumin-ribose (SAR), at different temperatures. Methods for evaluation of the antiradical and antioxidant activity used were trapped free radical 1, 1-diphenyl-2-picrihidracil (DPPH •) and protection against oxidation in an β -carotene-linoleic acid. As to the results found that with β emulsion of increasing concentration of aqueous extract of flowers of *Yucca filifera* greater inhibition of the formation of fluorescent compounds during glycation in both systems. Likewise, the aqueous extract of *Yucca filifera* an inhibition of the formation of fluorescent compounds at 37 ° C similar to aminoguanidina. In conclusion, the aqueous extract of the flower contains *Yucca filifera* antiradical activity, antioxidant and chelating agent.

Keywords: Maillard reaction, glycation of proteins, antioxidants, plant aminoguanidina.

RESUMEN

La reacción de Maillard es considerada una reacción de oscurecimiento no enzimático, la cual puede efectuarse en diversas condiciones y está influenciada por el pH, temperatura, actividad acuosa y la presencia de metales como el cobre y el hierro. El empleo de altas temperaturas durante la cocción de los alimentos se ha asociado a la formación de diversos productos de la reacción de Maillard o glicación de proteínas con efecto tóxico, los cuales pueden tener una incidencia en la prevalencia de las complicaciones diabéticas. Sin embargo, se ha comprobado que un alto consumo de frutas y verduras causa un menor riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas, además, en estudios *in vitro* han utilizado extractos de algunas plantas con propiedades antioxidantes para lograr la inhibición de los productos de la reacción de Maillard. En este estudio se evaluó cómo afecta la concentración de compuestos fenólicos totales de un extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* sobre la actividad antioxidante, la actividad quelante y la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación de dos sistemas, uno de peptona de gelatina-ribosa (SPR) y el otro de albúmina sérica bovina-ribosa (SAR), a diferentes temperaturas. Los métodos para la evaluación de la actividad antirradical y antioxidante utilizados fueron el atrapamiento del radical libre 1,1-difenil-2-picrihidracil (DPPH*) y la protección contra la oxidación de una emulsión de β -caroteno-ácido linoléico. En cuanto a los resultados se encontró que conforme aumenta la concentración del extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* existe una mayor inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación en ambos sistemas. Así mismo, el extracto acuoso de *Yucca filifera* presenta una inhibición de la formación de compuestos fluorescentes a 37°C semejante a la aminoguanidina. En conclusión, el extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* contiene actividad antirradical, antioxidante y quelante.

Palabras clave: reacción de Maillard, glicación de proteínas, antioxidantes vegetales, aminoguanidina.

SUMMARY.

The Maillard reaction is considered a non-enzymatic browning reaction, which could be done under various conditions and is influenced by the pH, temperature, water activity, presence of metals like copper and iron. The use of high temperatures during cooking has been associated with the formation of various products of the Maillard reaction or glycation of proteins with toxic effects, which may have an impact on the prevalence of diabetic complications. However it has been found that high intake of fruits and vegetables causes a lower risk of chronic degenerative diseases, in addition, *in vitro* studies have used some plants extracts with antioxidant properties to achieve inhibition of the products of the Maillard reaction. This study evaluates how it affects the concentration of total phenolic compounds of an aqueous extract of flowers of *Yucca filifera* on antioxidant activity, chelating activity and inhibition of the formation of fluorescent compounds during glycation of two systems, a peptone gelatin-ribose (PRS) and the other of bovine serum albumin-ribose (ARS), at different temperatures. Methods for evaluation of the antiradical and antioxidant activity used were trapped free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH*) and protection against oxidation in an emulsion of β -carotene/linoleic acid. In the results with increasing concentration of aqueous extract of flowers of *Yucca filifera* greater inhibition of the formation of fluorescent compounds during glycation of both systems. Likewise, the aqueous extract of *Yucca filifera* an inhibition of the formation of fluorescent compounds at 37°C similar to aminoguanidine. In conclusion the aqueous extract of flowers of *Yucca filifera* contains antiradical, antioxidant and chelating agent.

Palabras clave: Maillard reaction, protein glycation, antioxidant plant, aminoguanidine.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 El empleo de las flores como alimentos.

Las flores representan una parte importante de la cocina tradicional mexicana, el modo particular de su aprovechamiento y uso ha variado sustancialmente desde la época prehispánica hasta nuestros días, sin embargo, todavía en la actualidad muestran un amplio consumo en México (Delgado, 2000). Algunos ejemplos de uso común en la cocina mexicana son: la flor de calabaza, flor de colorín, flor de garambullo, flor de maguey, flor de nabo, flor de yucca (Muñoz y col., 1996; Ortiz, 1997), flor de biznaga de dulce, flor de biznaga colorada, flor de palma samandoca y flor de palma loca (Alanis, 2001).

1.2 *Yucca filifera*.

El género *Yucca* cuenta con 47 especies, de las cuales 29 crecen en México. La *Yucca filifera* es una planta nativa de México, de la familia de las Liliáceas, con tallo arborescente, cilíndrico, de 10 m de altura y con un diámetro de hasta 90 cm, coronado por un penacho de hojas largas, gruesas, rígidas y ensiformes. Tiene flores blancas, casi globosas, colgantes de un escapo largo y central, con una raíz gruesa, llega a producir más de 100 flores por racimo (Matuda y Piña, 1980). Su floración no es uniforme en una misma planta, ya que mientras unas ramas están en plena floración, otras apenas la inician y otras más empiezan ya a fructificar. Es por esto que la época de floración de cada especie en una misma localidad puede durar hasta más de un mes (Ramírez y col., 2005). Esta especie es polinizada por la palomilla *T. yuccasella*, siendo a su vez, las semillas de esta planta un medio insustituible para el desarrollo de la progenie del insecto (Rentería y Cantú, 2003).

Gran parte de la superficie de las zonas áridas y semiáridas del norte y centro de México se encuentran ocupadas por *Yucca filifera* (Figura 1). Es una especie que sólo crece en nuestro país. Su periodo reproductivo inicia en el mes de febrero y concluye en mayo; la producción de frutos se presenta de marzo a mayo, siendo en mayo cuando los frutos maduros alcanzan su máximo desarrollo, permaneciendo en la planta hasta el mes de agosto; florece de fines de abril a fines de mayo, mes en el que se registra la máxima producción de flores maduras (Rentería y Cantú, 2003).

Su nombre científico es *Yucca filifera*; como sinonimia encontramos *Yucca australis*, *Yucca bacata australis* y *Yucca traculeana*. Sus nombres comunes son: Izote (Valle de México), Flor de palma o cuaresma (Hidalgo), Palma corriente o Izote (Querétaro), Palma Grande, Palma corriente o del aparejo (Coahuila) y Palma China (San Luis Potosí); Bajío o Bají (lengua otomí: Ixmiquilpan, Hidalgo) y Tambasi (lengua tarasca: Michoacán) (Chabaud, 1976; Matuda y Piña, 1980; Ramírez y col., 2005).

Su empleo como alimento, se extiende a muchas regiones de la República Mexicana, sin embargo, estudios preliminares de aplicación de encuestas indican acerca del poco conocimiento de la población sobre el consumo de estas flores y las propiedades nutrimentales reales de las mismas (Delgado, 2000).



Figura 1. Imagen donde se observa la flor de *Yucca filifera* (Alanis, 2001).

1.3 Distribución geográfica.

La *Yucca filifera* crece en zonas áridas y semiáridas con suelos de origen calcáreo (Chabaud, 1976). La mayor densidad de esta planta se ubica en el estado de Coahuila; y en los municipios de Salinas Victoria, Nuevo León y Guadarcázar, San Luis Potosí (hasta más de 300 plantas por habitante). La Tabla 1 muestra las áreas de distribución de la *Yucca filifera* en México (Matuda y Piña, 1980).

1.4 Usos.

Cada vez es mayor la diversidad de usos que se encuentran con la finalidad de explotar todas las partes de la *Yucca filifera*; principalmente se utiliza la flor como alimento para el hombre (Arraguin y col., 1997) pero también es usada como alimento para el ganado (Matuda y Piña, 1980; Guerrero y col., 1985); su semilla contiene un 20% de aceite, el cual se puede procesar para obtención de aceite de tipo industrial o para consumo humano (Guerrero y col., 1985); se utiliza para la industria de la celulosa en la fabricación del papel kraft, papel resistente a la ruptura y al desgaste (Chabaud, 1976); los estados de Zacatecas y San Luis Potosí tienen una alta producción de las fibras extraídas de las hojas tiernas o cogollos de *Yucca filifera* (Matuda y Piña, 1980).

Por otra parte, esta planta es empleada para la elaboración de las paredes de las habitaciones de los pobladores de la zona en donde abundan, las cuales están hechas con troncos de las plantas y techadas con las hojas; las fibras extraídas de las hojas de estas plantas fueron muy empleadas para confeccionar cuerdas, sandalias, ropa y bolsas; y además tiene usos medicinales entre los campesinos mexicanos (Matuda y Piña, 1980). Es importante señalar, además, que la carnaza o mesocarpio del fruto se puede aprovechar en la elaboración de dulces, o bien como complemento alimenticio para el ganado, debido a que es rico en proteínas (Guerrero y col., 1985).

Tabla 1. Distribución Geográfica de la <i>Yucca filifera</i> .			
ESTADOS	MUNICIPIOS		
Coahuila	Arizpe	General Cepeda	Saltillo
	Candela	Parras	
	Castaños	Ramos	
Guanajuato	Acámbaro	San José Iturbide	San Luis de la Paz
Hidalgo	Actopan	Epazoyucan	Pachuca de Soto
	Alfajayucan	Huichapan	Tepeji del Río
	Apan	Ixmiquilpan	Tizayuca
	Atotonilco	Mezquititlán	Tula
	Atotonilco el Grande	Meztlán	Zacualtipán
	Cardonal	Nopala	
México	En las porciones menos húmedas del estado, que conservan su vegetación original.		
Michoacán	Morelia	Quiroga	Zitácuaro
Nuevo León	Atamberry	Higueras	Sabinos Hidalgo
	Cadereyta	Juárez	Salinas Victoria
	Ciénaga de Flores	Mina	Santa Catarina
	Doctor Arroyo	Mier y Noriega	Villaldama
	Galeana	Monterrey	Zaragoza
	García	Rayones	Zauzua
Querétaro	Amealco	El Marquez	Pinal de Amoles
	Arroyo Seco	Ezequiel Montes	San Joaquín
	Cadereyta	Huimilpan	San Juan del Río
	Centro	Pedro Escobedo	Tequisquiapan
San Luis Potosí	Aloquines	Guadalupe	Santa María del Río
	Catorce	Guadalcázar	Santo Domingo
	Cárdenas	La Paz	Venados
	Cedral	Matehuala	Villa Hidalgo
	Cerritos	Moctezuma	Venegas
	Charcas	San Luis Potosí	
Tamaulipas	Tula		
Zacatecas	Concepción de Oro	Mazapil	

Fuente: Matuda y Piña, 1980.

1.5 Valor nutrimental de la flor de *Yucca filifera*.

El valor de la *Yucca filifera* como alimento está centrado en su flor, porque representa una alternativa importante de nutrientes (Tabla 2) en épocas de escasez que son los periodos más críticos desde el punto de vista de la seguridad alimentaria familiar.

Grasas Totales	0.40 g	Calcio	95.00 mg
Hidratos de Carbono	6.00 g	Fósforo	73.00 mg
Proteínas	2.60 g	Hierro	0.60 mg
Fibra	0.60 g	Retinol	2.00 mcg
Humedad	90.00 %	Ácido Ascórbico	273 mg
Energía	31.00 Kcal	Tiamina	0.16 mg
Porción Comestible	100.00 %	Riboflavina	0.18 mg
		Niacina	1.60 mg

Fuente: Muñoz y colaboradores, 1996.

La presencia de la *Yucca filifera* en la cocina de campesinos que viven en zonas áridas y semiáridas es un elemento importante a destacar, algunos la utilizan cocinándola como si fuera verdura (Delgado, 2000).

1.6 Factores antinutrimientales en la *Yucca filifera*.

Es indudable el beneficio que el consumo de vegetales puede aportar al cuidado de la salud. Recomendaciones generales sugieren que el consumo de vegetales ayuda a mejorar el manejo y prevención de algunas enfermedades crónicas debido a su contenido de fibra, vitaminas y antioxidantes. Sin embargo, se sabe también que un alto consumo de estos alimentos pueden incrementar el consumo de factores antinutrimientales, como son el ácido fítico, taninos, glucósidos cianogénicos, saponinas, entre otros; los cuales están comúnmente presentes en los vegetales y que pueden tener efectos adversos a la salud. Estos antinutrientes pueden actuar reduciendo la biodisponibilidad de los nutrientes al inhibir su absorción (Thompson, 1993).

En un análisis toxicológico realizado por Delgado (2000) reportó haber identificado la presencia de taninos hidrolizables, glucósidos cianogénicos y saponinas en la flor de *Yucca filifera*. Mientras que Ávila y Castro (1997) (citado por González y col. (2001)) reportaron que un extracto de *Yucca filifera* tiene una buena capacidad antioxidante gracias a su estructura química semejante a la de los compuestos fenólicos.

1.7 Reacción de Maillard.

La reacción de Maillard comienza con la reacción de los grupos amino, particularmente los grupos amino de proteínas, péptidos o aminoácidos libres (especialmente residuos amino de la cadena lateral de lisina, arginina e histidina) y con los grupos carbonilo de los azúcares reductores (cetosas o aldosas) (Friedman, 1996).

La reacción de Maillard es un grupo muy complejo de transformaciones, se considera como una reacción de pardeamiento no enzimática, que presenta efectos en los alimentos, como la generación de compuestos que les dan sabor y color; sin embargo, existen diversos productos de la glicación de proteínas con efecto tóxico, que se producen debido al empleo de altas temperaturas durante la cocción de los alimentos (Mottran y col., 2002; Goldberg y col., 2004).

Dicha reacción se presenta en tres etapas (Figura 2):

- a) En la etapa temprana, los grupos amino libres de proteínas (p.e. ϵ -NH₂ de la lisina), péptidos y aminoácidos, reaccionan con el grupo carbonilo del azúcar reductor formando una base reversible de Schiff, posteriormente, por medio de rearreglos moleculares se convierte a un compuesto de Amadori con enlaces covalentes (Jing y Kitts, 2002).
- b) En la etapa intermedia de la reacción, se forman compuestos no coloridos que absorben la luz UV, así como compuestos fluorescentes (Ames, 1990). Algunos compuestos fluorescentes son precursores de la formación de los pigmentos pardos. Delgado-Andrade y colaboradores (2005) identificaron algunos compuestos fluorescentes productos de la reacción de Maillard, durante el procesamiento de cereales tales como: hidroximetilfurfural, furfural, glucosilisomaltol y furosina.

- c) En la etapa avanzada, se forman compuestos volátiles (aldehídos) y polímeros pardos de alto peso molecular (>1200 Daltons) denominados melanoidinas (Davies y Labuza, 1997). El color ocurre debido a la formación de grupos cromóforos de componentes poliméricos de alto peso molecular, conocidos como melanoidinas (Borrelli y col., 2002).

En la reacción de Maillard pueden influir diferentes factores, entre los que destacan: el pH, la temperatura, la actividad acuosa, el tipo de aminoácido, la naturaleza de los reactivos que intervienen, el tipo de azúcar reductor, el tipo y la concentración de sales, la presencia de iones metálicos como el hierro y el cobre (Ames, 1990; Ledl y Schleicher, 1999). Por lo que la variación de cualquiera de estos parámetros puede alterar y cambiar la velocidad, la ruta y los productos finales de la reacción (Davies y Labuza, 1997).

En la figura 3 se muestra la concentración relativa de reactantes y productos de la reacción de Maillard con relación al tiempo de calentamiento. Se observa que la concentración de grupos aminos y carbonilos disminuye, la formación de compuestos fluorescentes aumenta y en la etapa final, se observa el aumento de la concentración de pigmentos pardos o melanoidinas (Davies y Labuza, 1997).

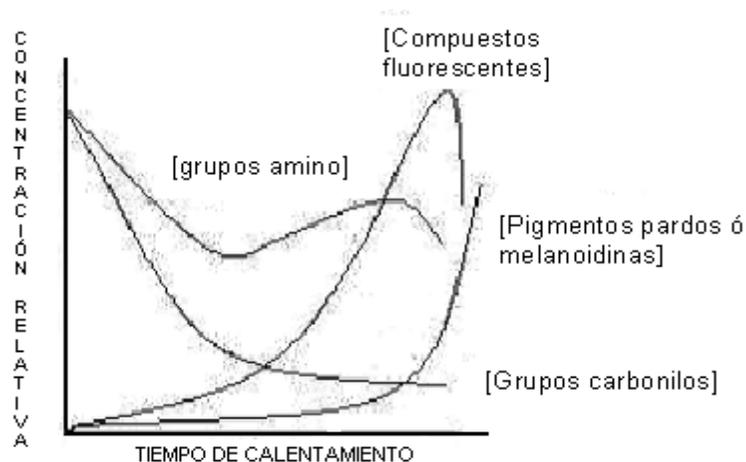


Figura 3. Concentración de reacciones y productos de la reacción de Maillard en función al tiempo de calentamiento (Davies y Labuza, 1997).

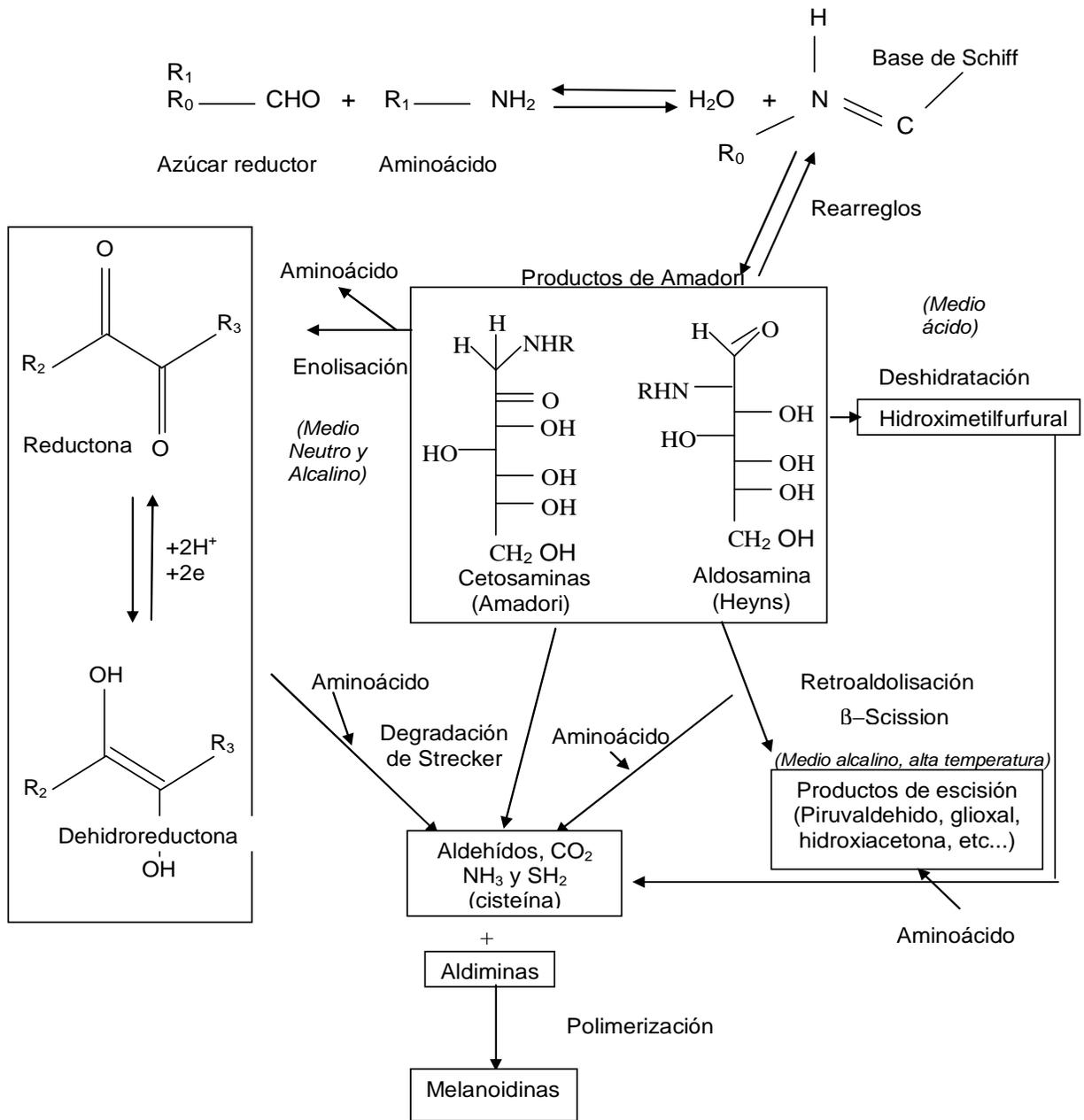


Figura 2. Esquema de la reacción de Maillard (Hodge, 1953).

1.7.1 Algunos efectos benéficos y tóxicos de los productos de la reacción de Maillard (PRM).

Los productos finales de la reacción de Maillard (PRM) son de diversa naturaleza química y presentan propiedades benéficas o tóxicas. La reacción de Maillard confiere a los alimentos características sensoriales agradables a los alimentos, dado que propicia la formación de compuestos, sabor y color que los hacen atractivos y aceptables (Ericsson, 1981; Friedman, 1996). Se ha demostrado que la utilización de temperaturas menores a los 95°C en la glicación de un hidrolizado de proteínas, disminuye la formación de compuestos citotóxicos y aumenta la producción de compuestos con propiedades antioxidantes (Sumaya-Martínez y col., 2005).

Sin embargo, el empleo de altas temperaturas (mayor a 120°C) durante la cocción de alimentos, se ha asociado a la formación de diversos productos finales de la glicación de naturaleza tóxica (Vlassara, 2001). Éstas han sido implicadas en numerosos estudios científicos de vanguardia en la patogénesis y complicaciones de la diabetes y neuropatías diabética, micro y macro angiopatías, arteriosclerosis, infartos, hipertensión arterial, retinopatía, nefropatía, degeneración de las articulaciones, depósitos de calcio, formación de coágulos, etc. (Golberg y col., 2004).

El empleo de altas temperaturas de cocción en alimentos se ha relacionado con la formación de compuestos con actividad cancerígena y/o mutagénica, por mencionar encontramos a las aminas heterocíclicas, producidas durante el freído o rostizado de la carne o pescado a temperaturas de 150°C, debido a la reacción de Maillard entre aminoácidos, azúcares y creatinina (Monti y col., 2001). Diversos autores encontraron relación entre el consumo de aminas heterocíclicas y la incidencia de cáncer de estómago y colón en humanos y modelos animales (Skog y col., 1998; Sugimura y col., 2004).

Otro ejemplo es la acrilamida, compuesto neurotóxico formado durante la reacción de Maillard, por la reacción del aminoácido asparagina y grupos carbonilo reactivos a temperaturas superiores de los 120°C (Amrein y col., 2005). La εN-Carboximetil-lisina (CML) ha sido reportada como un marcador de la formación de compuestos fluorescentes en alimentos (Golberg y col., 2004).

La glicación de proteínas se lleva a cabo en el organismo a menor velocidad, produciendo una gama heterogénea de compuestos llamados AGEs (Advanced Glycoxidation End-Products). Los AGEs se forman por la glicación no enzimática de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos en la circulación sanguínea (Vlassara y Palace, 2002). Los efectos patológicos de los AGEs están relacionados con su capacidad de formar enlaces covalentes de entrecruzamiento con proteínas, modificando su función biológica (Gugliucci, 2000).

Durante la glicación de proteínas se forman otras moléculas como compuestos dicarbonilos y radicales libres de oxígeno altamente reactivos. Ambos fenómenos (la glicación de proteínas y el estrés oxidativo) activan la respuesta inflamatoria celular e inician la respuesta del sistema inmune (Vitek y col., 1994; Sakata y col., 1999; Vlassara, 2001).

En personas diabéticas la hiperglucemia provoca altos niveles circulantes de AGEs, lo que promueve las complicaciones ligadas a la diabetes tales como neuropatías, retinopatías, insuficiencia renal, etc (Uribarri y col., 2003).

El daño principal por AGEs en pacientes diabéticos ocurre en tejidos y órganos ricos en colágena, donde la entrada de glucosa no está regulada por insulina: riñón, retina y endotelio vascular. Por ejemplo: el estrechamiento en los vasos sanguíneos en diabéticos puede deberse en parte a la acumulación de proteínas del plasma (albúmina, lipoproteína de baja densidad (LDL) e inmunoglobulinas (G) en el subendotelio, estas proteínas son secuestradas por entrecruzamientos covalentes proteína-AGE en el colágeno de las membranas basales (Gugliucci, 2000).

Recientemente, se ha demostrado que los AGEs pueden ser introducidos al organismo a través de la dieta en forma de PRM tóxicos y en cantidades que puede exceder a los producidos por la hiperglucemia. Del contenido total de PRM en los alimentos un 10% es absorbido por el organismo lo que aumenta significativamente los niveles de AGEs en la sangre y en los tejidos (Koschinsky y col., 1997).

1.8 Inhibición de la formación de los productos de la reacción de Maillard.

La inhibición de la formación de los productos de la reacción de Maillard puede seguir tres mecanismos hasta ahora reportados (He y col., 1999; Price y col., 2001; Miyata y col., 2002; Stitt y col., 2004):

1. Por atrapamiento de grupos carbonilo.
2. Por atrapamiento de radicales libres.
3. Por quelación de metales.

Varios estudios refieren que al utilizar antioxidantes y agentes quelantes, estos son capaces de reducir la formación de compuestos fluorescentes y disminuir sus efectos tóxicos (Wada y Ou, 2002; Stitt y col., 2004).

Se ha reportado el efecto inhibitorio de extractos antioxidantes de plantas y flavonoides sobre la formación de los productos de la glicación a 37°C en sistemas modelo utilizando albúmina sérica bovina-fructuosa y hemoglobina-gluco lactona, respectivamente (Kim y Kim, 2003; Wu y Yen, 2005). También, se ha mostrado el efecto inhibitorio de la epicatequina (un flavonoide de origen vegetal) en la formación de algunos compuestos volátiles productos de la reacción de Maillard en el modelo glicina-glucosa (Totlani y Peterson, 2005). Además, estudios demostraron que en un sistema modelo de creatinina-glicina-glucosa el aceite de oliva (el cual contiene compuestos fenólicos con actividad antioxidante), inhibió la formación de aminas heterocíclicas cancerígenas a una temperatura de 180°C durante 30 minutos (Monti y col., 2001).

La aminoguanidina es un fármaco que a partir de 1986 se reporta su efecto inhibitorio sobre algunos productos de la glicación de proteínas, siendo su método de inhibición por medio del atrapamiento de grupos carbonilo (Singh y col., 2001). Presenta un grupo amino terminal que reacciona con los compuestos intermediarios de la reacción de Maillard, siendo capaz de inhibir el entrecruzamiento entre las proteínas del plasma y el colágeno, así como, el entrecruzamiento de las cadenas polipeptídicas entre sí. Estudios recientes han demostrado la eficacia de esta molécula en la prevención de los efectos de algunos productos de la glicación de proteínas *in vivo* en modelos animales, ya que previene la nefropatía diabética, inhibe la peroxidación de los lípidos, reduce el desarrollo de placas ateroscleróticas y es

capaz de bloquear la acción de la enzima aminooxidasa semicarbazida sensible (Misur y Turk, 2001; Kim y Kim, 2003).

1.9 Actividad antioxidante.

Los antioxidantes son toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de una molécula oxidable, retarda o previene la oxidación de éste sustrato (García y col., 2001) y de acuerdo a su modo de acción, pueden clasificarse como agentes reductores (donadores de hidrógenos), agentes quelantes de los metales que catalizan la oxidación lipídica, o como inhibidores de las especies reactivas de oxígeno (sustancias químicamente inestables que se producen en el envejecimiento normal) en el cuerpo humano (Shahidi y col., 1992; Katleen y Escole-Stump, 1998).

El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, se debilita su acción y en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. No todos los antioxidantes actúan de ésta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan a su vez reacciones con los radicales libres (García y col., 2001; Vallejo, 2005).

Naturalmente existe un equilibrio entre la concentración de radicales libres producidos por la célula y los antioxidantes de defensa. Pero cuando disminuyen estos antioxidantes o aumenta la concentración de radicales libres, se pierde ese equilibrio y dichos radicales libres comienzan a reaccionar directamente con los lípidos, proteínas y ADN de la célula, oxidándolos, causando daño celular irreversible, o hasta muerte celular. Cuando la célula se encuentra en esta situación se dice que está bajo Estrés Oxidativo (Vallejo, 2005).

Los compuestos fenólicos, debido a sus propiedades y estructura, presentan una fuerte actividad antioxidante (AAO); como ejemplo encontramos los polifenoles, flavonoides, derivados ácidos, cumarinas y antocianinas (Shahidi y col., 1992; Chihuailaf y col., 2002).

Los antioxidantes fenólicos pueden inhibir la oxidación lipídica, atrapando los radicales peroxilo. Los flavonoides, que incluyen a las flavonas, flavonoles, isoflavonas, catequinas, flavononas y chalconas, pueden actuar como antioxidantes por su capacidad para donar hidrógenos y para quelar metales (Pratt y Watts, 1964; Pratt, 1965 y 1972). Pueden

presentarse glicosilados en las hojas y pétalos de las plantas; durante su hidrólisis con ácidos y calor dan lugar a un azúcar y a un compuesto fenólico que muestra fuertes propiedades antioxidantes (White y Xing, 1997).

Las antocianinas son compuestos fenólicos coloridos, derivados de los flavonoides. Contribuyen a incrementar las propiedades antioxidantes de muchas frutas y vegetales, a las cuales les deben su color. Al igual que otros polifenoles, las antocianinas pueden actuar como atraparoras de radicales libres y como agentes quelantes, presentando una alta AAO que puede cambiar dependiendo del número de sustituyentes en los anillos fenólicos y de su posición (Satué-Gracia y col., 1997)

Los antioxidantes dietarios disminuyen los efectos adversos de las especies reactivas de oxígeno (sustancias químicamente inestables que se producen en el envejecimiento normal) en el cuerpo humano; como el ácido ascórbico también llamado vitamina C, que es un compuesto hidrosoluble que actualmente es considerado como un nutriente antioxidante (Kathleen y Escole-Stump, 1998). También existen antioxidantes sintéticos como butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxiquinona (BHQT), que se adicionan a los alimentos susceptibles a la oxidación lipídica, sin embargo, algunos estudios han demostrado que éstos antioxidantes sintéticos poseen efectos citotóxicos en concentraciones de 890 mg/Kg, 184 g/Kg y 700 mg/Kg de peso en ratas, aprobado por el Departamento de Alimentos y Medicamentos de EUA (FDA, por sus siglas en inglés) (Lewis, 1989). Por lo que los antioxidantes naturales han despertado interés para emplearlos como sustitutos de los antioxidantes sintéticos (Tomás-Barberán y col., 2004).

La actividad antioxidante se puede evaluar por diferentes métodos y cada procedimiento evalúa un fenómeno y/o mecanismo diferente, algunos métodos ampliamente utilizados son: actividad antirradical 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH*), método de una emulsión de β -caroteno-ácido linoléico, ensayos de tiocianato, ensayo de desoxirribosa, ensayo de peroxidación de lípidos biológicos y protección de liposomas de la peroxidación inducida por radicales (Morales y Jimenez-Pérez, 2001; Pérez y col., 2003; Sumaya-Martínez y col., 2005). El analizar por dos o más métodos la actividad antioxidante de un extracto, es muy común en los reportes científicos, ya que proporciona información complementaria. La actividad antioxidante de un extracto complejo estará dada por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, de la interacción entre ellos y del ambiente

en que están inmersos, ya que puede producirse eventualmente efectos potencializadores o inhibidores (Frankel y Meyer, 2000).

Los compuestos antioxidantes de frutas y vegetales pueden prevenir el daño oxidativo celular, con lo cual se reduce el riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, diabetes, etc (Stintzing y col., 2001; Lee y Shibamoto, 2002; Prior, 2003).

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Es importante destacar, que hay muy poca divulgación sobre las propiedades de la flor de *Yucca filifera* que nos permita recomendar su consumo en aquellas zonas donde está presente de forma abundante. Además de que no se ha reportado el efecto de su actividad antioxidante sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación de proteínas.

Diversos trabajos *in vitro* han reportado que los extractos de algunas plantas con propiedades antioxidantes pueden reducir la formación de los productos finales de la reacción de Maillard (PRM), sin embargo, dichos estudios se han realizado a temperaturas de 37°C; por lo que resultaría importante verificar este efecto inhibitorio de la formación de PRM a temperaturas más elevadas.

En la actualidad, estudios *in vivo* han demostrado la eficacia de la aminoguanidina en la inhibición de algunos productos de la glicación de proteínas, por lo que nos interesaría conocer si el extracto de la flor de *Yucca filifera* tiene un efecto inhibitorio semejante al de este fármaco sobre la formación de compuestos fluorescentes y pardos en un sistema de albúmina sérica bovina-ribosa a 37°C.

3. JUSTIFICACIÓN

Investigaciones actuales han demostrado que el empleo de altas temperaturas durante la cocción de alimentos, se ha asociado a la formación de diversos PRM de naturaleza tóxica, los cuales han sido implicados en numerosos estudios científicos de vanguardia en la patogénesis y complicaciones de la diabetes y neuropatías diabética, micro y macro angiopatías, arteriosclerosis, infartos, hipertensión arterial, retinopatía, nefropatía, articulaciones, depósitos de calcio, coágulos, etc.

La flor de *Yucca filifera* constituye una importante fuente de nutrientes esenciales para el hombre y los animales, y se encuentra con fácil disponibilidad en el estado de Hidalgo. Este trabajo proporcionará información sobre el efecto de un extracto antioxidante de dicha flor sobre la inhibición de la formación de PRM fluorescentes y pardos en dos modelos de glicación de proteínas a diferentes temperaturas.

4. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la actividad antioxidante de un extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* sobre la inhibición de compuestos fluorescentes y pardos durante la glicación de dos sistemas modelo, uno de peptona de gelatina-ribosa a 92°C y el otro de albúmina sérica bovina-ribosa a 37°C.

4.1 Objetivos específicos.

1. Preparar un extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* (EAY) y determinar la concentración de compuestos fenólicos totales (CFT).
2. Determinar la actividad antioxidante del EAY por dos metodologías: con base en el atrapamiento del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH*) y por la protección contra la oxidación de una emulsión de β -caroteno-ácido linoléico.
3. Estudiar el efecto de la concentración de CFT en el EAY, sobre la actividad antioxidante, la actividad quelante y la inhibición de la formación de los compuestos fluorescentes durante la glicación de peptona de gelatina-ribosa a 92°C.
4. Realizar la cinética de la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes y pardos durante la glicación del sistema peptona de gelatina-ribosa (SPR) a 92°C y del sistema albúmina sérica bovina-ribosa (SAR) a 37°C, en presencia del EAY a una concentración de 250 mg EAG/L de CFT.
5. Comparar el efecto de la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes y pardos entre el EAY y la aminoguanidina, durante la glicación del SAR a 37°C.

5. HIPÓTESIS.

La actividad antioxidante y quelante de un extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* inhibirá la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación de dos sistemas modelo, uno de peptona de gelatina-ribosa a 92°C y el otro de albúmina sérica bovina-ribosa a 37°C, en el último sistema la inhibición será similar a la presentada por la aminoguanidina.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño metodológico.

En la Figura 4 se muestra el diagrama de flujo del diseño metodológico de esta investigación. La recolección, liofilización y almacenamiento de la flor de *Yucca filifera* se realizó previamente por investigadores pertenecientes al Área Académica de Nutrición de la UAEH.

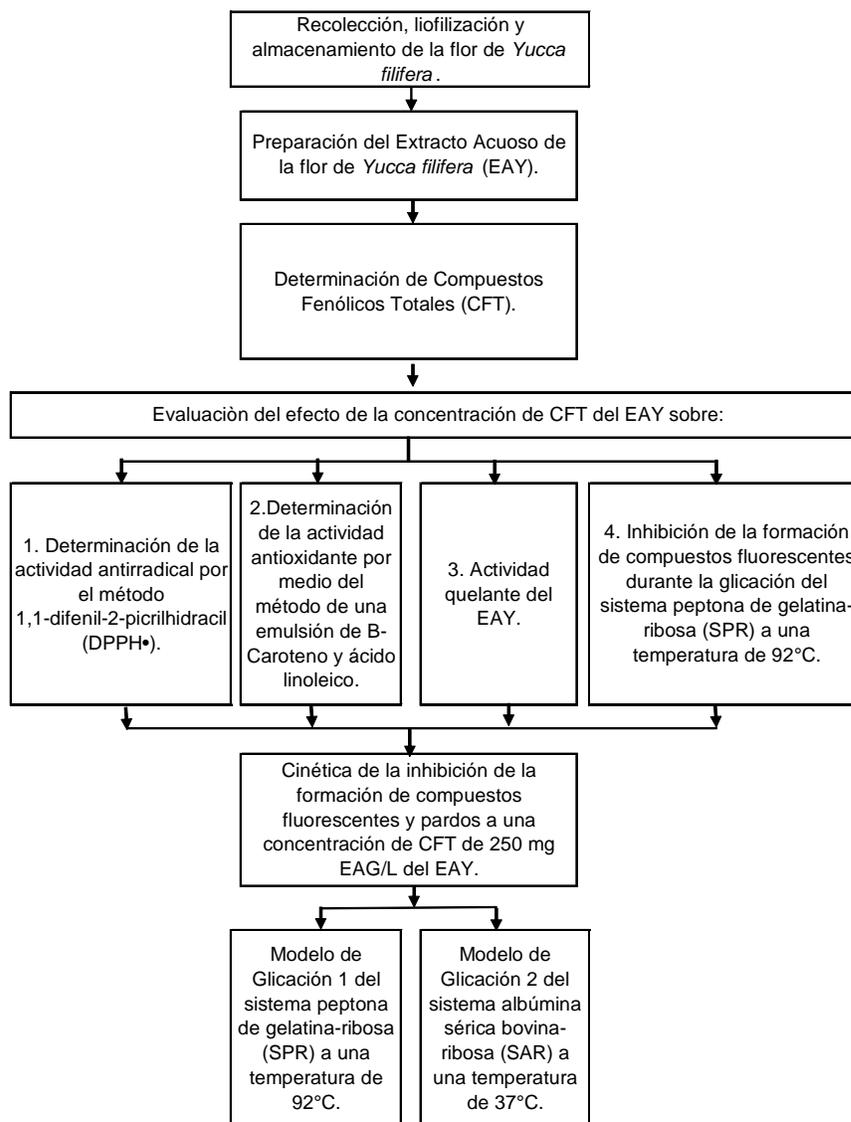


Figura 4. Diagrama de flujo sobre el diseño metodológico de la investigación.

6.2 Reactivos y equipos.

Reactivos.

- 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH*).
- Ferrozina sal ácida de sodio disulfónico 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina-4',4''.
- Carboxílico 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo (TROLOX).
- Ácido etilendiaminotetracético (EDTA).
- Ácido gálico.
- Ácido linoléico.
- Albúmina sérica bovina.
- Aminoguanidina.
- Azida de sodio.
- β -caroteno.
- Carbonato de sodio.
- Butilhidroxitolueno (BHT).
- Cloruro férrico II tetrahidratado.
- D-Ribosa.
- Etanol.
- Folin-Ciocalteu.
- Metanol.
- Monofosfato de sodio dodecahidratado.
- Monofosfato de sodio monohidratado.
- Peptona de gelatina.
- Tween 20.

Equipos.

- Balanza semianalítica modelo Adventure (OHAUS, China).
- Baño Cole Parmer (Polystat temperature controller, USA).
- Baño modelo B-490 (BÜCHI, Suiza).
- Baño termostático modelo WBS (Fried Electric, Israel).
- Centrífuga modelo MIKRO 22R (Hettich, Alemania).
- Centrífuga modelo MR18 22 (Jouan, USA).
- Espectrofotómetro modelo UV-1601 (SHIMADZU, Japón).
- Lector de microplacas espectrofluorómetro modelo Flx 800 (Bio-Tek, USA).
- Lector de microplacas espectrofotométrico modelo Power Wave XS (UV-BioTek) software KCjunior (USA).
- Liofilizadora Free Zone LABCONCO (USA).
- Microcentrifuga modelo Mikro 22R (Hettich, Alemania).
- Potenciómetro marca Hanna pH 211 (Instruments,).
- Rotavapor modelo R-200 (BÜCHI, Suiza).
- Ultra congelador marca ThermoForma -75 °C.
- Vortex modelo Genie 2 (Scientific Industries, USA).

6.3 Recepción de la materia prima y preparación de la muestra.

La recolección de las flores de *Yucca filifera* se llevó a cabo en la ciudad de Pachuca de Soto, Hidalgo. Se obtuvieron diferentes plantas de la misma especie tomándose como muestras racimos completos, se les quitaron los sépalos y se colocaron en jarras, éstas se sumergieron en nitrógeno líquido hasta su completa congelación para después someterlas a liofilización a 0.133 mBar de vacío a -42°C. Una vez deshidratadas se pulverizaron y el polvo obtenido se mantuvo en bolsas de polietileno en el ultra congelador a -75°C hasta el momento de su utilización.

6.4 Preparación del extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* (EAY).

Se pesó 1.1 g de *Yucca filifera* liofilizada en tubos de poliestireno de 14 mL y se le agregó 11 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4; se pusieron a baño María durante 15 min y después se centrifugaron a 10000 rpm durante 20 min; por último, se filtró el sobrenadante del extracto utilizando filtros de fluoruro de polivinilideno (PVDF) con un poro de 0.45 µm (Millex-HV Hydrophilic).

6.5 Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT).

Se determinaron utilizando el procedimiento reportado por George y colaboradores (2005). El reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico), es reducido a óxidos azules de tungsteno y molibdeno durante la oxidación fenólica. Esta reducción ocurre bajo condiciones alcalinas mediante la presencia de carbonato de sodio. La coloración azul es monitoreada a una longitud de onda de 765 nm y refleja la cantidad total de polifenoles expresado en equivalentes de ácido gálico (EAG).

Se tomó una alícuota de 100 µL de muestra en viales tipo éppendorf por triplicado, se agregó 500 µL de solución de Folin-Ciocalteu (1:10 en agua desionizada) y 400 µL de solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7.5%, inmediatamente después las muestras se agitaron en vortex y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. Posteriormente se tomaron 200 µL de cada muestra y se midió la absorbencia en el lector de microplacas a una longitud de onda de 765 nm utilizando como muestra control agua.

Curva estándar de ácido gálico:

La concentración de CFT se determinaron de acuerdo al procedimiento reportado por George y colaboradores (2005), en el cual se obtuvieron a partir de una curva estándar de ácido gálico y se expresaron en EAG/L (Figura 5). Para la elaboración de la curva se preparó una solución de ácido gálico a 400 mg/L, a partir de esta solución se realizaron las siguientes concentraciones con agua desionizada: 0, 50, 100, 200, 300 mg de ácido gálico/L. Enseguida se tomaron 100 µL de cada concentración y se colocaron en viales aplicando el método de CFT.

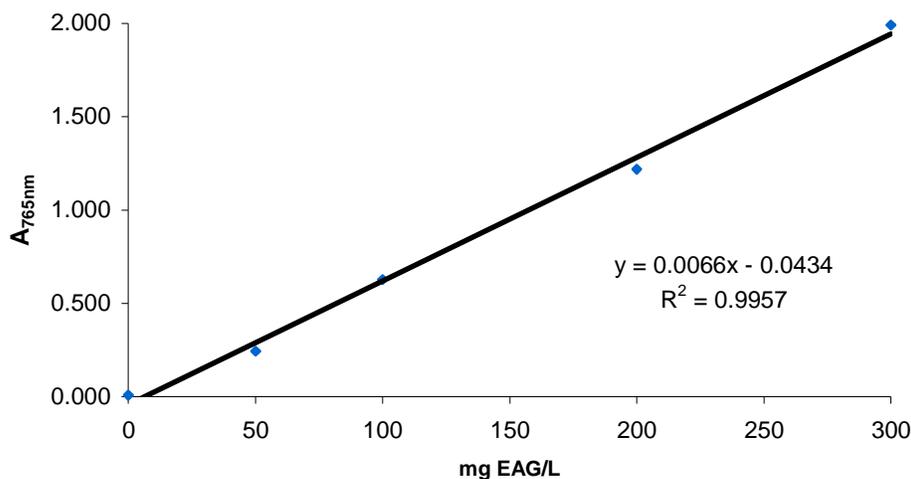


Figura 5. Curva estándar de ácido gálico utilizada durante el método de CFT.

6.6 Determinación de la actividad antirradical por el método 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH^{*}).

La actividad antirradical fue evaluada de acuerdo al procedimiento reportado por Morales y Jiménez-Pérez (2001). El reactivo DPPH^{*} es un radical libre estable, que en solución etanólica presenta una coloración violeta fuerte y su máxima absorbencia se obtiene a una longitud de onda de 520 nm. Si se adiciona a este medio una sustancia susceptible de atrapar radicales libres, el electrón no apareado del DPPH^{*} se aparea e inmediatamente presenta una decoloración de la solución que puede ir hasta amarillo en razón del número de electrones apareados.

El procedimiento se inició preparando una solución de DPPH^{*} a una concentración de 7.4 mg/100 mL en etanol, se disolvió con 100 mL de etanol y se agitó por 10 min.

Posteriormente se colocaron 100 μL de las diluciones a diferentes concentraciones (800, 600, 400, 250, 50 mg EAG/L) en viales tipo éppendorf por triplicado y 500 μL de la solución de DPPH $^{\bullet}$ se agitaron en vortex y se dejaron reposar durante 1 hr a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron a 10000 rpm durante 5 min a 4°C y se midió la absorbencia del sobrenadante a una longitud de onda de 520 nm en un lector de microplacas UV, utilizando como muestra control etanol.

Curva estándar de Trolox:

Fue realizada de acuerdo al procedimiento reportado por Morales y Jiménez–Pérez (2001). La actividad antioxidante se expresó en $\mu\text{mol ET/L}$ (Equivalentes de Trolox). El Trolox es una molécula que presenta una fuerte actividad antirradical. Para la elaboración de la curva se prepararon las siguientes concentraciones de Trolox en etanol: 0, 50, 100 y 200 $\mu\text{mol Trolox/L}$. En seguida en viales tipo éppendorf se tomaron 200 μL de cada concentración y 1 mL de la solución de DPPH $^{\bullet}$, sometiéndolas al mismo procedimiento que las muestras (Figura 6).

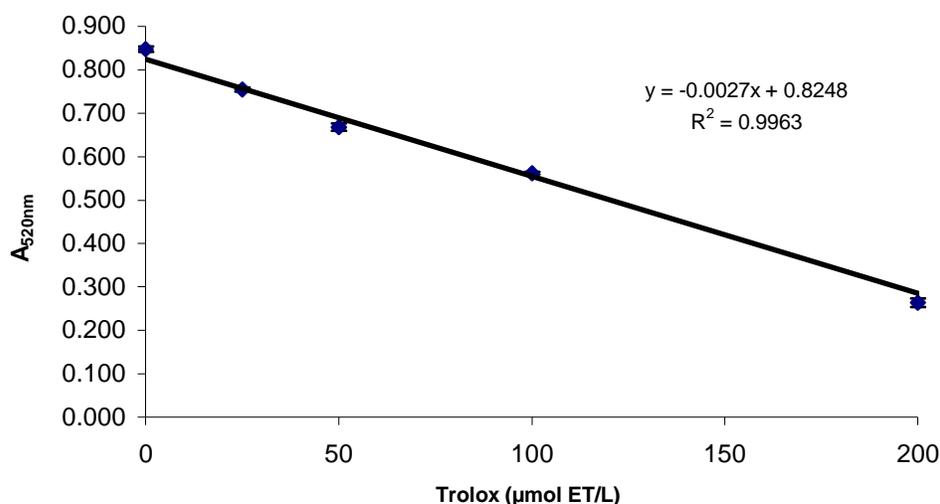


Figura 6. Curva estándar de Trolox utilizada durante el método del DPPH $^{\bullet}$.

6.7 Determinación de la actividad antioxidante por el método de una emulsión de β -caroteno – ácido linoléico.

La actividad antioxidante fue evaluada de acuerdo al procedimiento reportado por Breska y Manners (2006). Se basa en el efecto protector contra la oxidación de una emulsión β -caroteno y ácido linoléico expuesta a la luz, oxígeno y calor. Ya que en presencia de una sustancia antioxidante la emulsión se estabiliza o su decoloración es lenta, sin embargo, en ausencia de un antioxidante la decoloración es muy rápida.

Se colocaron por triplicado 200 μ L de cada muestra (1000, 750, 500, 250, 200, 150, 100 y 50 mg EAG/L de extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* en agua) en tubos de ensaye sin tapón y se agregaron 5 mL de una emulsión de β -caroteno (preparada con 4 mL de la solución de β -caroteno en cloroformo, 80 μ L de ácido linoléico, 800 μ L de tween 20 y 200 mL de agua desionizada) se agitaron en vortex y se pusieron a incubar a 50°C en un baño termostático. En el tiempo 0, 15, 30, 60 y 90 min se realizó la lectura de las absorbencias a una longitud de onda de 470 nm en un lector de microplacas. Como sustancia antioxidante de referencia se empleó BHT al 0.1% y como muestra control se utilizó agua desionizada, bajo las mismas condiciones.

La actividad antioxidante de las muestras se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Protección contra la decoloración} = \frac{A}{A_0} \times 100$$

Donde:

A = Absorbencia de la muestra.

A₀ = Absorbencia de la misma muestra en el tiempo 0.

6.8 Evaluación de la actividad quelante del extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* (EAY).

Para la determinación de la actividad quelante se utilizó el método reportado por Guicin y colaboradores (2003), el cual se basa en la reacción de la molécula quelante de referencia con el ion ferroso (Fe^{2+}). Posteriormente el ion ferroso que no fue quelado o secuestrado reaccionará con la ferrozina generando color, el cual es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda 562 nm.

Se colocaron 100 μL de muestra en viales tipo éppendorf, se agregaron 50 μL de cloruro férrico $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ y 450 μL de metanol, se agitaron en vortex y se dejaron en reposo por 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionaron 400 μL de ferrozina 5 mM, se agitaron en vortex y se dejaron nuevamente en reposo por 10 min a temperatura ambiente, se realizó la lectura de absorbencias a una longitud de onda de 562 nm en un lector de microplacas. Como agente quelante de referencia se empleó EDTA a 0.1 M y como muestra control se utilizó agua desionizada.

La actividad quelante del EAY fue calculada usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{A_C - A_M}{A_C} \times 100$$

Donde:

A_C = Absorbencia del control.

A_M = Absorbencia de la muestra.

6.9 Inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del sistema peptona-ribosa (SPR).

Se realizó de acuerdo al procedimiento reportado por Birlouez-Aragón y colaboradores (1998) igual que en Sumaya-Martínez y colaboradores (2005). Se preparó peptona de gelatina (2 g por 100 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.1M pH 7.4) y ribosa (2 g por cada 100 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.1M pH 7.4), en presencia de diferentes concentraciones de EAY (50, 250, 500, 750 y 1000 mg EAG/L) preparadas en la solución amortiguadora de fosfatos 0.1M pH 7.4. Se calentó a una temperatura de 92°C durante 180 min. Se determinó la formación de compuestos fluorescentes de cada muestra a una longitud de onda de excitación 360 nm y de emisión a 420 nm.

6.10 Determinación de la cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes y pardos en dos modelos de glicación.

6.10.1 Modelo de glicación 1.

El modelo se realizó de acuerdo al procedimiento reportado por Sumaya-Martínez y colaboradores (2005). Se midió 40 mL de EAY a 250 mg EAG/L, se agregó 800 mg de peptona de gelatina más 800 mg de ribosa (a este sistema se llamó SPR con EAY) y se colocó en tres tubos de ensaye de 12 mL cada uno. Posteriormente, se preparó el blanco adicionando a 40 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.1M pH 7.4, 800 mg de peptona de gelatina y 800 mg de ribosa (a este sistema se le llamó SPR) los cuales, fueron colocados en tres tubos de ensaye de 12 mL cada uno. Los tubos se pusieron a calentar a 92°C durante 180 min. Se tomaron alícuotas de 1 mL en los tiempos: 15, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos, se colocaron en viales tipo éppendorf y se dejaron enfriar.

6.10.2 Modelo de glicación 2.

El modelo se realizó de acuerdo al procedimiento reportado por Sumaya-Martínez y colaboradores (2005). Se midió 20 mL de EAY a 250 mg EAG/L, se agregó 200 mg de albúmina sérica bovina más 150 mg de ribosa (a este sistema se le llamó SAR con EAY).

Posteriormente a 20 mL de solución amortiguadora de fosfatos 0.1M pH 7.4, se le agregó 200 mg de albúmina sérica bovina y 150 mg de ribosa (a este sistema se le llamo SAR). Por último, se volvió a preparar la mezcla anterior y se le añadió 110 mg de aminoguanidina (a este sistema se le llamo SAR con aminoguanidina).

Las tres soluciones se colocaron por separado en tubos de ensaye por triplicado con 6 mL en cada uno y se pusieron a calentar a 37°C. Después se tomaron alícuotas de 1 mL en los siguientes tiempos: 21, 45, 70, 95 y 191 hrs. Se colocaron en viales tipo éppendorf y se dejaron enfriar.

En ambos modelos de glicación se determinó la formación de compuestos fluorescentes de cada muestra a una longitud de onda de excitación 360 nm y de emisión a 420 nm (Birlouez-Aragón y col., 1998). Finalmente, se determinó la formación de compuestos pardos por medio de la medición de la absorbencia a 420 nm (Sumaya-Martínez y col., 2005).

6.11 Análisis estadístico.

Los datos de los diferentes experimentos fueron analizados por pruebas ANOVA mediante la prueba Duncan a un nivel de significancia de $p < 0.05$, así como también análisis de correlación, para la cual se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 12. La recopilación de datos se llevó a cabo por medio de Excel versión Windows vista.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad antirradical del EAY.

En la Figura 7 se presenta el efecto de la concentración de CFT expresados en mg EAG/L, sobre la actividad antirradical del EAY ($\mu\text{mol ET/L}$). En la figura se observa que a una mayor concentración en CFT se presenta una mayor actividad antirradical. Esto puede ser debido a que el EAY es susceptible de atrapar radicales libres por lo que el electrón del DPPH* se aparea presentando una decoloración amarilla.

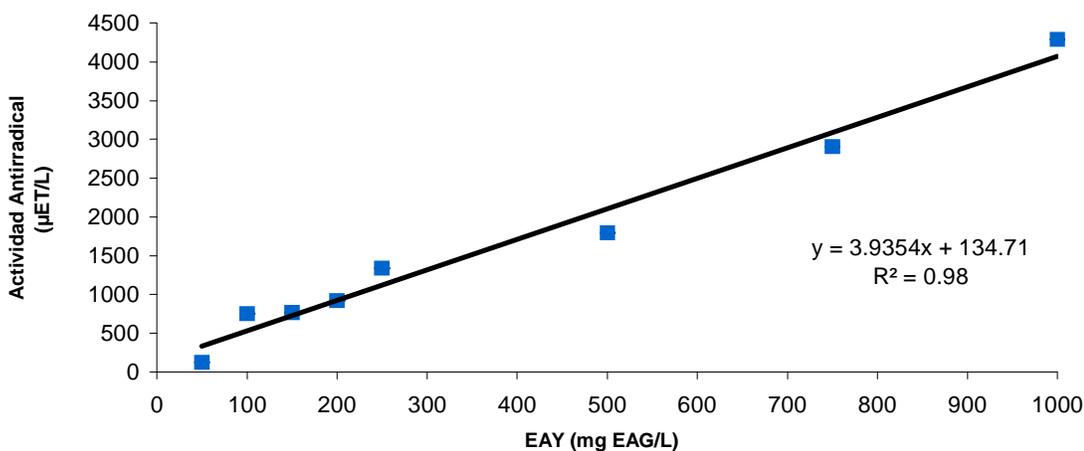


Figura 7. Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad antirradical del EAY.

En estudios con un extracto de la flor *Allium cepa* perteneciente a la familia de las Liliáceas (a la cual también pertenece la flor de *Yucca filifera*), mostraron que a una mayor concentración en CFT se presenta una mayor actividad antirradical (Kim y Kim, 2003).

7.2 Efecto de la concentración del EAY sobre el porcentaje de protección de color de una emulsión de β -caroteno y ácido linoléico.

Se aprecia en la Figura 8 el efecto de la concentración del EAY en mg EAG/L de CFT, sobre el porcentaje de protección de color de una emulsión de β -caroteno y ácido linoléico. Se observa que la máxima protección de color se presenta a una concentración de 250 mg EAG/L, ya que a partir de esta concentración no existe una diferencia significativa dado que no se potencializa el efecto de protección contra la oxidación de la emulsión, debido probablemente a que en presencia de una sustancia antioxidante la emulsión se estabiliza o su decoloración es lenta.

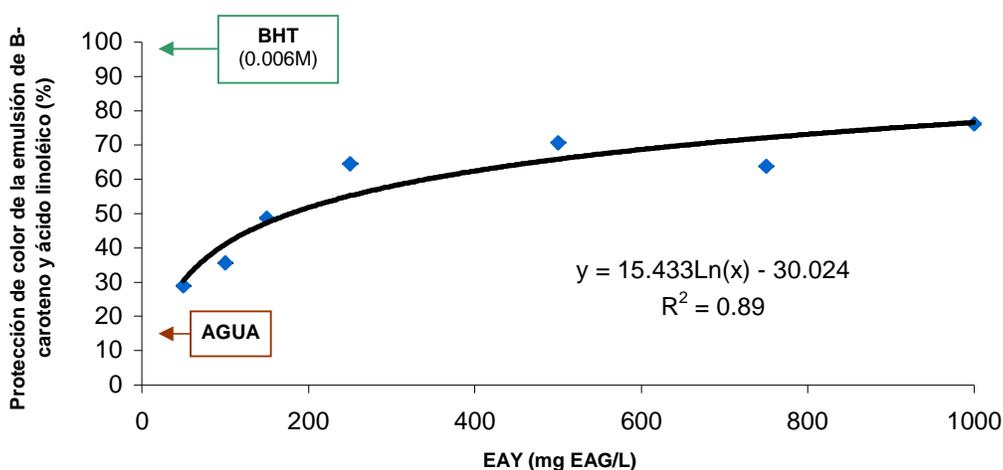


Figura 8. Efecto de la concentración del EAY sobre el porcentaje de protección de color de la emulsión de β -caroteno y ácido linoléico.

No se han reportado estudios sobre el porcentaje de protección de color de una emulsión de β -caroteno y ácido linoléico de la flor de *Yucca filifera*. Sin embargo, Shahidi y colaboradores (2001) en estudios con un extracto de *Lathyrus maritimus L* perteneciente a una especie de guisante, mostraron que dicho extracto presenta una actividad antioxidante equivalente a la del BHT (0.01M). Ellos indican que la cantidad de CFT en el extracto analizado fue del 79.1%, y que tanto la cantidad de estos como su composición química, son importantes en la actividad antioxidante.

7.3 Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad quelante del EAY.

Se muestra en la Figura 9 el efecto de la concentración de CFT sobre la actividad quelante del EAY. Se observa que mientras aumenta la concentración de CFT del EAY se presenta una mayor actividad quelante, a 1000 mg EAG/L la actividad quelante del EAY es del 64.7%, menor que la mostrada por el EDTA (0.1M).

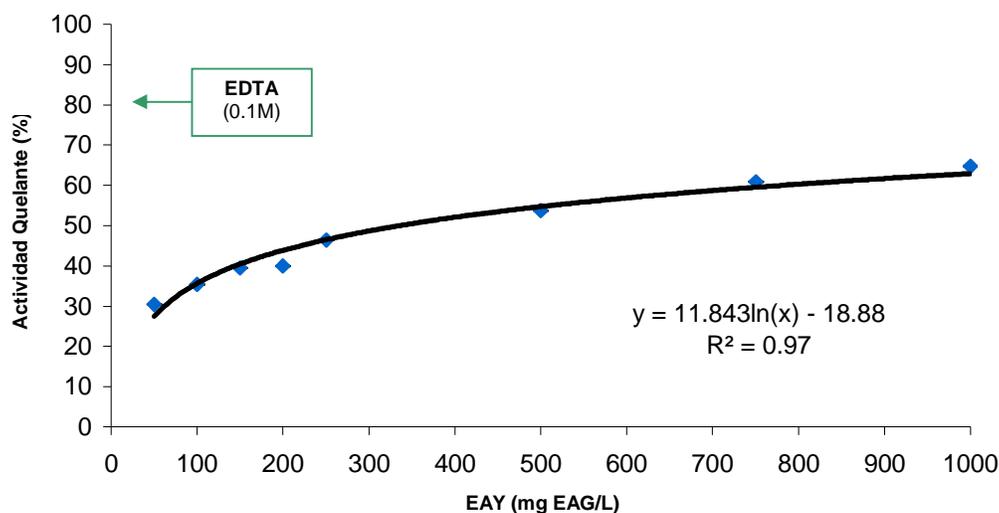


Figura 9. Efecto de la concentración de CFT sobre la actividad quelante del EAY.

En estudios realizados se ha reportado la capacidad de un extracto de *Mentha piperita* para quelar los iones de hierro, demostrando que a mayor concentración de CFT mayor es la actividad quelante, protegiendo así del daño oxidativo. No se han reportado estudios sobre la actividad quelante de la flor de *Yucca filifera*, sin embargo, por su composición química en la cual pueden estar presentes diversos compuestos de naturaleza fenólica su forma de acción puede ser debido a la unión del grupo fenoxi con el ion ferroso (Fe^{2+}), formando un complejo estable con los iones de los metales impidiendo que inicien las reacciones de oxidación (Damien y colaboradores, 2003).

7.4 Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR.

Se presenta en la Figura 10 el efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR, donde conforme aumenta la concentración del EAY existe una mayor inhibición de la formación de compuestos fluorescentes, mostrando entre ellas una función logarítmica ($r^2=0.99$).

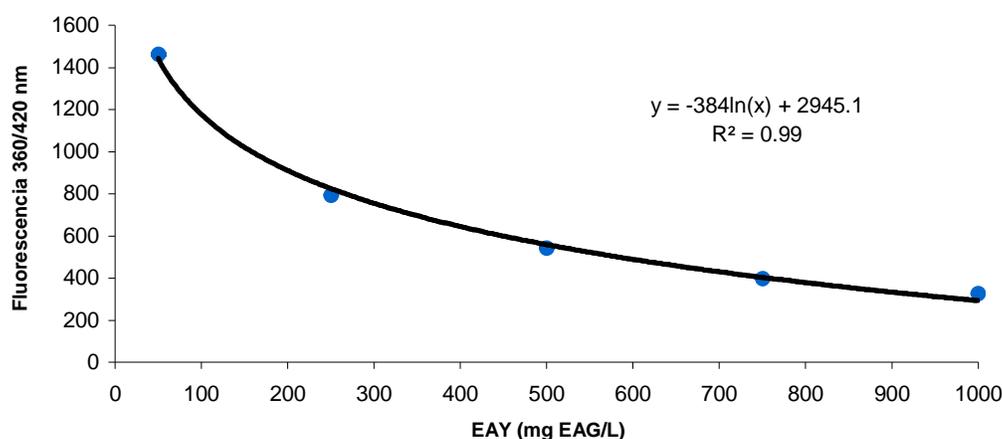


Figura 10. Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes del SPR.

Estudios realizados por Jarillo, A. (2008) reportan que a mayor concentración de CFT de un extracto acuoso de cilantro (*Coriandrum sativum*) menor es la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación de un sistema de peptona de gelatina-ribosa. La inhibición de la formación de los compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR a 92°C puede deberse a uno de los mecanismos de inhibición hasta ahora reportados: atrapamiento de grupos carbonilos, atrapamiento de radicales libres y quelación de metales. Acerca del EAY no se han reportado antecedentes de estudio sobre el tema, por lo que hasta el momento no se ha identificado el tipo de compuestos fluorescentes que se forman durante la glicación del sistema analizado.

Al combinar las Figuras 7 y 10 se obtiene la Figura 11 donde se observa que durante la glicación del SPR conforme aumenta la actividad antirradical del extracto mayor es la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes con una correlación de Pearson igual a -0.89 ($p < 0.05$). Esto puede ser debido a que el EAY siga el mecanismo de atrapamiento de radicales libres.

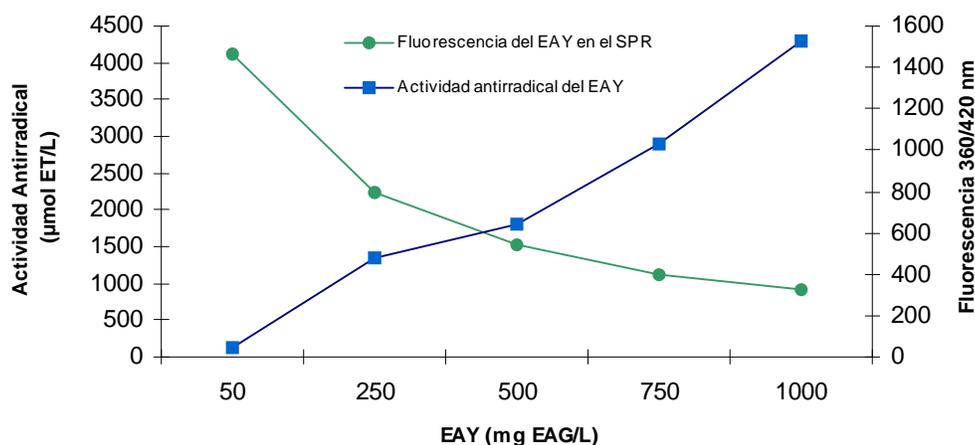


Figura 11. Efecto de la concentración de CFT del EAY sobre la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR y sobre la actividad antirradical.

Similares resultados fueron reportados por Jarillo, A. (2008) indicando que durante la glicación de un sistema de peptona de gelatina-ribosa a una temperatura de 92°C conforme aumenta la actividad antirradical de un extracto acuoso de cilantro (*Coriandrum sativum*) mayor es la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes, con una correlación de -0.95 ($p < 0.05$).

En investigaciones recientes realizadas por Schamberger y Labuza (2005) observaron que en un sistema modelo glucosa-glicina al adicionar los flavonoides con actividad antioxidante del té verde epicatequina (EC) y la epigallocatequina galato (EGCG) a 0.001M , adicionados a la leche sometida a un proceso térmico de UHT se redujo la formación de compuestos fluorescentes y compuestos pardos productos de la reacción de Maillard. Estos autores proponen que estos flavonoides (EC y EGCG) podrían ser usados en la industria alimentaria con el fin de inhibir la formación de dichos compuestos.

7.5 Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY.

La cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY durante 3 horas de calentamiento se muestra en la Figura 12. Se observa que la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY es menor que durante la glicación SPR sin el extracto, al minuto 180 se presentó una inhibición de la formación de compuestos fluorescentes en un porcentaje de 53.27%, inhibición que puede ser debida a la capacidad antirradical que presenta el EAY.

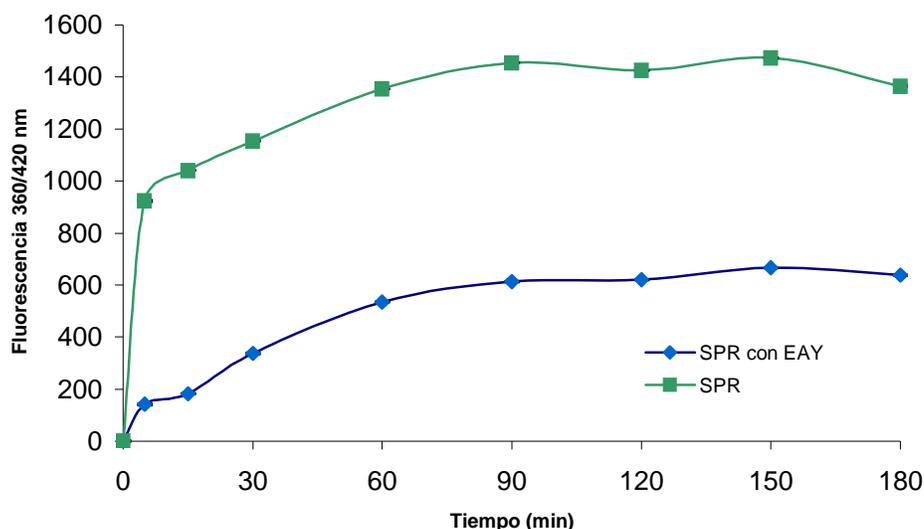


Figura 12. Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR en presencia del EAY.

Además, a partir del minuto 90 ya no se observa un aumento significativo ($p < 0.05$) en la formación de compuestos fluorescentes en ambas cinéticas, al igual que lo reportado por Jarillo A. (2008) en el estudio de una cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación de un sistema de peptona de gelatina-ribosa en presencia de un extracto acuoso de cilantro (*Coriandrum sativum*) a una temperatura de 92°C. Lo cual puede explicarse a partir de que en este tiempo de la cinética inicie la etapa avanzada de la reacción de Maillard en el sistema de glicación estudiado.

Cabe mencionar, que la diferencia en la concentración de compuestos fluorescentes presentada al inicio de ambas cinéticas, puede deberse a que la ribosa es un azúcar reductor que reacciona rápidamente con los grupos aminos de la peptona de gelatina (aún a temperatura ambiente) y durante la primera medición dichos compuestos ya habían comenzado a formarse.

7.6 Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SPR en presencia del EAY.

En la Figura 13 se presenta la cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SPR en presencia del EAY. Se observa que durante la glicación del SPR no existe diferencia significativa entre la formación de compuestos pardos durante la glicación en presencia o en ausencia del EAY a los diferentes tiempos estudiados; lo cual puede ser debido a que la acción antioxidante del EAY no inhibió la formación de compuestos pardos de la glicación del SPR a 92°C, es decir no fue capaz de inhibir las reacciones de la etapa final de la glicación del SPR a esa temperatura.

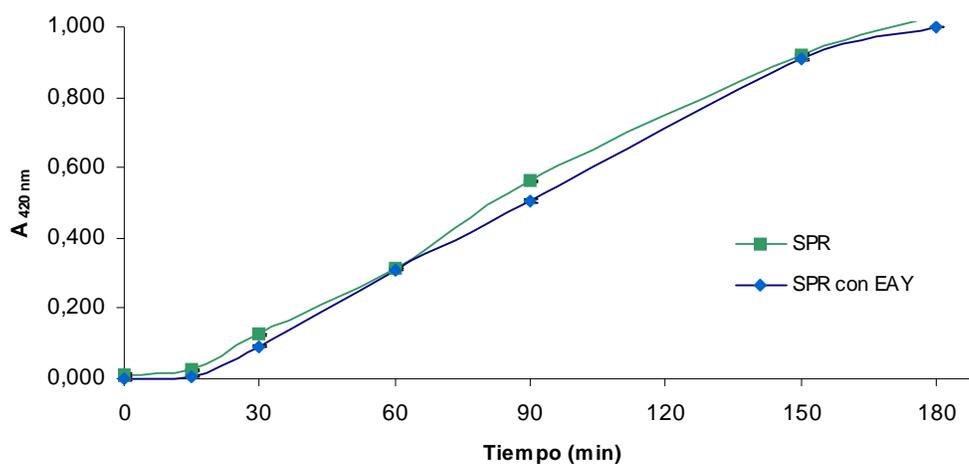


Figura 13. Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SPR en presencia del EAY.

7.7 Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY.

Se observa en la Figura 14 la cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY. La formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY es menor que durante la glicación del SAR sin el EAY. A las 191 horas se presentó una inhibición de la formación de compuestos fluorescentes en un porcentaje de 86.6% para la glicación del SAR en presencia del EAY, mientras que para la glicación del SAR en presencia de la aminoguanidina dicha inhibición fue del 88.3%.

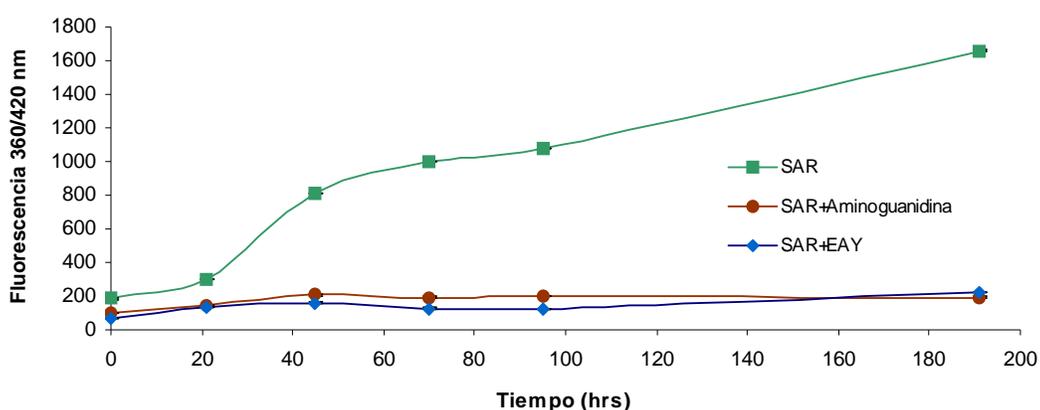


Figura 14. Cinética de inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SAR en presencia del EAY.

Se ha reportado que la aminoguanidina inhibe la formación de los compuestos fluorescentes en un 52% en un sistema de albúmina-glucosa a una temperatura de 37°C (Misur y Turk, 2001). Por su parte, Singh y colaboradores (2001) demostraron que el mecanismo de acción por medio del cual la aminoguanidina presenta un efecto inhibitorio sobre algunos productos de la glicación de proteínas es por medio del atrapamiento de grupos carbonilo. Mientras que el mecanismo que puede seguir el EAY durante la inhibición de compuestos fluorescentes como se mostró anteriormente (Figura 11) puede ser por el atrapamiento de radicales libres.

7.8 Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SAR en presencia del EAY.

Se muestra en la Figura 15 la cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SAR en presencia del EAY. Se observa que después de 191 horas la inhibición de compuestos pardos es de 95.31% para el SAR con EAY y del 18.75% para el SAR con la aminoguanidina.

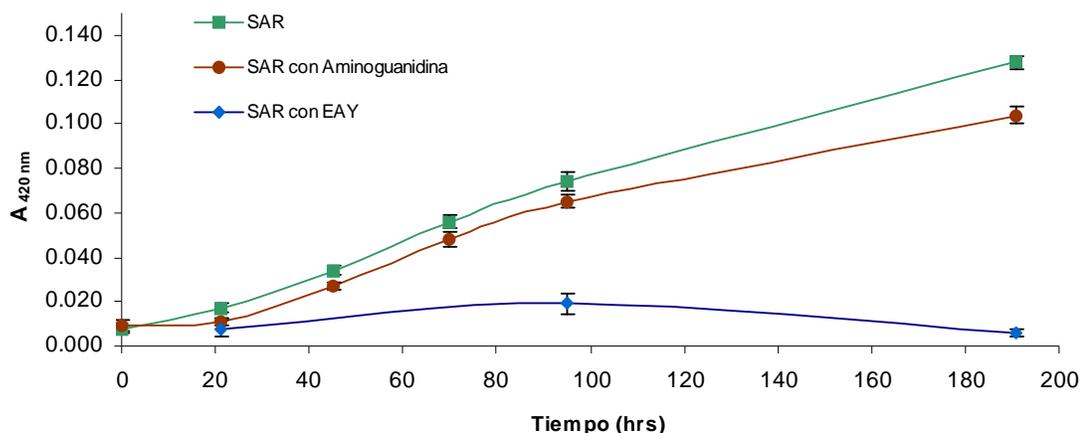


Figura 15. Cinética de inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación del SAR en presencia del EAY.

Al parecer no existen reportes de la inhibición de la formación de compuestos pardos durante la glicación de proteínas por medio de la aminoguanidina. Con respecto al EAY, se observa que tiene la capacidad de inhibir los compuestos fluorescentes de la etapa intermedia de la reacción de Maillard (Figura 14) así como los compuestos pardos (Figura 15) que se forman en la etapa avanzada.

8. CONCLUSIONES.

- ✓ El extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* presenta actividad antirradical, antioxidante y quelante.

- ✓ A mayor concentración del extracto acuoso de la flor de *Yucca filifera* existe una mayor inhibición de la formación de compuestos fluorescentes durante la glicación del SPR a 92°C.

- ✓ El mecanismo que podría explicar la inhibición de la formación de compuestos fluorescentes del SPR a 92°C en presencia del EAY es el atrapamiento de radicales libres.

- ✓ El EAY inhibe la formación de compuestos fluorescentes en un 86.6% mientras que la aminoguanidina inhibe un 88.3% en el SAR a una temperatura de 37°C.

- ✓ El EAY inhibe la formación de compuestos pardos en un 95.31% mientras que la aminoguanidina inhibe solamente un 18.75% en el SAR a una temperatura de 37°C.

9. PERSPECTIVAS O RECOMENDACIONES

* Evaluar *in vivo* el efecto inhibitorio de la formación de los productos de la glicación de proteínas del EAY.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Alanis, F. G. 2001. Plantas nativas usadas como alimentos, condimentos y bebidas de las comunidades vegetacionales desérticas o semidesérticas en Nuevo León, México. *RESPYN*. 2(1):13–16.
- Ames, J. 1990. Control of the Maillard reaction in food systems. *Tren. in Food Sci. & Tech.* 1:150-154.
- Amrein, T. M., Lukac, H. A., Perren, R. Escher, F. y Amado, R. 2005. Acrylamide in roasted almonds and hazelnuts. *J. Agr. Food Chem.* 53:7819–7825.
- Arraguin. M.I., Cabrera. L.G., Fernández. N.R., Orozco. L.C., Rodríguez. C.B. y Yopez, M. 1997. *Introducción a la flora de Querétaro*. Talleres gráficos del Gobierno del Estado, Santiago de Querétaro. pp:22-29, 70-73.
- Ávila, M. D. y Castro, F. G. 1997. Actividad antioxidante de las flores de mayor consumo en la población de Cienfuegos. *Rev. Cub. Quim.* 13(1):13–15.
- Birlouez-Aragón, I., Nicolas, M., Metais, A., Mar Chond, N., Grenier, J. y Calvo, D. 1998. A rapid fluorometric method to estimate the heat treatment of liquid milk. *Inter. Dairy J.* 8:771-777.
- Borelli, R., Fogliano, V., Monti, S. y Ames, J. 2002. Characterization of melanoidins from a glucose-glycine model system. *Eur. Food Res. Technol.* 3:210-215.
- Breska, A. P. y Manners, G. D. 2006. Evaluation of the antioxidant capacity of limonin, nomilin, and limonin glucoside. *J. Agric. Food. Chem.* 54(11):3827–3831.
- Chabaud, L. 1976. Paquetes tecnológicos: *Yucca filifera*. SIRE, México. pp:1–4.
- Chihuailaf, R., Contreras, P. y Wittwer, F. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet. Mex.* 3:265-283.
- Damien, H., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y. y Hiltunen, R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 51:4563-4569.
- Davies, C. y Labuza, T. 1997. The Maillard reaction: application to confectionery products. *Confect. Scienc.* 35-66.
- Delgado, J. 2000. Análisis proximal y toxicológico de las flores de *Yucca filifera* y *Agave Americana*. En: *Tesis para obtener el título de Licenciado en Nutrición*. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro, México. pp:11-13.

- Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. y Morales, F. 2005. Glicación de proteínas *in vivo*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto del Frío Madrid, España.
- Ericsson, C. 1981. Maillard reaction in food: chemical, physiological and technological aspects. En: *Progress in food nutrition and science*. Pergamon Press, Oxford. 5:441-451.
- Frankel, E. y Meyer, A. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food.
- Friedman, M. 1996. Food browning and its prevention: An overview. *J. Agric. Food Chem.* 44(3):631-653.
- García, B. L., García, G. L., Rojo, D. D. y Sánchez, G. E. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Rev. Cub. Invest. Biomed.* 20:231-235.
- George, S., Brat, P., Adler, P. y Amiot, M. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *J. Agric. Food Chem.* 53(5):1370-1373.
- Goldberg, T., Cai, W., Peppas, M., Dardaine, V., Baliga, B., Uribarri, J. y Vlassara, H. 2004. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 104:1287-1291.
- González, F. Y.; Peña, S. M.; Sánchez, A. R. y Santana, L. 2001. Taninos de diferentes especies vegetales en la prevención del fotoenvejecimiento. *Rev. Cub. Invest. Biomed.* 20(1):16-20.
- Guicin, I., Buyukokuroglu, M. y Kufrioglu, O. 2003. Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *J. Agric. Food Chem.* 5:1370-1373.
- Guerrero, R. E., Juárez, R. J. y Acevedo, F. G. 1985. Determinación de artrópodos asociados a flor y fruto de *Yucca filifera* (Chamb), y su daño en las paredes de Caopas, Zac, y Matehuala; S. L. P. *Agra. Rev. Cient. UAAAN.* 1(1):35-45.
- Gugliucci, A. 2000. Glicación de proteínas: rol protagónica de la hiperglicemia en las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus. *Rev. Med. del Urug.* 1:58-75.
- He, C., Sabol, J., Mitsuhashi, T. y Vlassara, H. 1999. Dietary glycotoxins. Inhibition of reactive products by aminoguanidine facilitates renal clearance and reduce tissue sequestration. 48:1308-1315.
- Hodge, J. 1953. Chemistry of Browning reactions in model systems. *J. Agric. Food Chem.* 1(15):928-943.
- Jarillo, A. D. 2008. Estudio de la actividad antioxidante de un extracto acuoso de Cilantro (*Coriandrum sativum*) sobre la inhibición de la formación de compuestos

fluorescentes durante la glicación de proteínas, en función del pH. En: *Tesis para obtener el título de Licenciado en Nutrición*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México. pp:55-60.

- Jing, H. y Kitts, D. 2002. Chemical and biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products. *Food and Chem. Toxic.* 40:1007-1015.
- Kathleen, M. y Escole-Stump, S. 1998. Vitaminas. En: *Nutrición y dietoterapia de Krause*. 9^{na} edición. (ed) Mc Graw-Hill Interamericana Editores SA de CV, Mc Graw Hill, México. pp:77-172.
- Kim, H. y Kim, K. 2003. Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.* 5:1586-1591.
- Koschinsky, T., He, C., Mitsuhashi, T., Bucala, L. C., Buenting, C., Heitman, K. y Vlassara, H. 1997. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc. Natl. Aca. Sci.* 94:6474-6479.
- Ledl, F. y Schleicher, E. 1999. The Maillard reaction in food and in human body, new results in chemistry, biochemistry and medicine. *Angew Chem. Int.* 29:565-706.
- Lee, K. y Shibamoto, T. 2002. Toxicology and antioxidant activities of non-enzymatic browning reaction products: review. *Food Rev. Inter.* 18 (2 y 3):151-175.
- Lewis, R. 1989. Toxicants and antinutrients in plant foods. En: *Food additives handbook*. Van Nostrand Reinhold. USA. 86:96-102.
- Matuda, E. y Piña, L.I. 1980. Género Yucca. En: *Las plantas mexicanas del género Yucca*. (ed) Serie Fernando de Alba, Ixtlilxochitl, México. pp:102-104.
- Misur, I. y Turk, Z. 2001. Substituted guanidine compounds as inhibitors of nonenzymatic glycation *in vitro*. *Croat. Chem. Acta.* 74(2):455-465.
- Miyata, T., Ypersele de Strihou, C., Ueda, Y., Ichimori, K., Inagi, R., Onogi, H., Ishikawa, N., Nangaku, M. y Kurokawa, K. 2002. Angiotensin II receptor antagonists and angiotensin-converting enzyme inhibitors lower *in vitro* the formation of advanced glycation end products: Biochemical mechanisms.
- Monti, S., Ritieni, A., Sacchi, R., Skog, K., Borgen, E. y Fogliano, V. 2001. Characterization of phenolic compounds in virgin olive oil and their effect on the formation of carcinogenic/mutagenic heterocyclic amines in a model system. *J. Agric. Food Chem.* 49(8):3969-3975.
- Morales F. J. y Jiménez – Pérez, S. 2001. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to colour and fluorescence. *J. Agric. Food Chem.* 72:119 – 125.

- Mottran, D., Wedzicha, B. y Dodson, A. 2002. Food chemistry: acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*. 419:448-449.
- Muñoz, Ch. M., Chávez, V. A., Roldán, A. J., Ledesma, S. J., Mendoza, M. E., Pérez – Gil, R. F., Hernández, C. S. y Chaparro, F. A. 1996. Verduras. En: *Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo e Latinoamérica*. 2° edición. Pax México, México. pp:51–101.
- Ortiz, M. B. 1997. La dieta azteca. En: *Medicina, salud y nutrición azteca*. Siglo XXI, México. pp:140, 282.
- Pérez, R. M., Vargas, R., Martínez, F. J., García, E. V. y Hernández, B. 2003. Actividad antioxidante de los alcaloides de *Boconia arborea*. Estudio sobre seis métodos de análisis. *Ars. Pharmac.* 44:1; 5-21.
- Pratt, D. E. 1965. Lipid antioxidants in plant tissues. *J. Food Sci.* 30:737.
- Pratt, D. E. 1972. Water soluble antioxidant activity of soybeans. *J. Food Sci.* 37:322.
- Pratt, D. E. y Watts, B. M. 1964. The antioxidant activity of vegetable extracts. I flavone aglycones. *J. Food Sci.* 29:27.
- Price, D., Rhett, P., Thorpe, S. y Baynes, J. 2001. Chelating activity of advanced glycation end-product inhibitors. *The J. of Biol. Chem.* 52:48967-48972.
- Prior R. 2003. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *Am. J. Clin. Nutr.* 78:570S-558S.
- Ramírez, M. E., Calderón, R. Z. y Villanueva, S. J. 2005. Riesgo de consumo de compuestos antinutrimientales y antifisiológicos en un alimento no convencional: flor de *Yucca filiphera*. *Bol. Inf. de la Coord. de Inv.* 26:1–3.
- Rentería, L y Cantú, C. 2003. El efecto de *Tegeticula Yuccasella Riley* (Lepidoptera: Prodoxidae) sobre la fenología reproductiva de *Yucca filifera Chabaud* (Agavaceae) en Linares, N. L., México. *Act. Zool. Mex.* 89:85–92.
- Sakata, N., Imanaga, Y., Meng, J., Tahikawa, Y., Takebayashi, S., Hagai, R. y Horiuchi, S. 1999. Increased advanced glycation end products in atherosclerotic lesions of patients with end-stage renal disease. *Atheros.* 142:67-77.
- Satué-Gracia, M. T., Heinonnen, M. y Frankel, E. N. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *J. Agric. Food Chem.* 45:3362-3367.

- Schamberger, G. y Labuza, T. 2005. Effect of green tea flavonoids on Maillard browning in UHT milk. Department of Food Science and Nutrition, University of Minnesota, 1334 Eckless Avenue, St. Paul MN 55108, USA.
- Shahidi, F., Janitha, P. K. y Wanasundara, P. D. 2001. Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 32(1):67-103.
- Singh, R., Barden, A., Mori, T. y Beilin, L. 2001. Advanced glycation end-products: a review. *Diab.* 44:129-146.
- Skog, K., Johansson, M. y Jagerstad, M. 1998. Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem. Toxicol.* 36:879-896.
- Stintzing, F., Shieber, A. y Carle, R. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *Eur. Food Res. Technol.* 212:396-407.
- Stitt, A., Gardiner, A., Thomas, A., Nathan, C., Frizzell, N., Duffy, N., Boyle, C., Janusszeusky, S., Andrzej, B., John, S. y Thorpe, R. 2004. The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits development of retinopathy in experimental diabetes. 51:2826-2832.
- Sumaya – Martínez, S., Thomas, B., Linard, A., Binet y Gerard, F. 2005. Effect of Maillard reaction conditions on browning and antiradical activity of sugar–tuna stomach hydrolysate model system. *Food Res. Inter.* 38(8-9):1045–1050.
- Sugimura, T., Wakabayashi, K., Nakagama, H. y Nagao, M. 2004. Heterocyclic amines: mutagens/carcinogens produce during cooking of meat and fish. *Cancer Scienc.* 95:290-299.
- Thompson, U. L. 1993. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in food. *Food Reser. Inter.* 26:131-149.
- Tomás-Barberán, F., Llorach, R., Espín, J. y Ferreres, F. 2004. Agri-Food. Residues as a source of phytochemicals. En: *Total Foodproceedings*. Norwich. 42-48.
- Totlani, V. y Peterson, D. 2005. Reactivity of epicatechin in aqueous and glucosa Maillard reaction models: quenching of C2, C3 and C4 sugar fragments. *J. Agr. Food Chem.*
- Uribarri, J., Pepa, M., Cai, W., Oldberg, T., He, C. y Vlassara, H. 2003. Restriction of dietary glycotoxins reduces excessive advanced glycation end products in renal failure patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14:728-731.

- Vallejo, D. M. 2005. Una mejor comprensión del estrés oxidativo, cómo afecta a las células y su relación con el alcoholismo. Departamento de Química y Biología. Universidad de las Américas de Puebla. México; pp:5-10.
- Vitek, P., Bhattacharya, K., Glendening, J., Stopa, E., Vlassara, H., Bucala, R., Manogue, K. y Cerami, A. 1994. Advanced glycation end products contribuye to amyloidosis in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:766-4770.
- Vlassara, H. 2001. The AGE-receptor in the pathogenesis of diabetic complications. *Diab. Metab. Rev.* 17:436-443.
- Vlassara, H. y Palace, M. 2002. Diabetes ad advanced glycation endproducts. *J. Intern. Med.* 251:87-101.
- Wada, L. y Ou, B. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of oregon caneberries. *J. Agric. Food Chem.* 50:3495-3500.
- White, P. J. y Xing, Y. 1997. Antioxidants from cereals and legumes. En: *Natural antioxidants chemistry, health effects and applications.* Shahidi, F., AOCS Press, Champain, Illinois, USA.
- Wu, C. H. y Yen, G. C. 2005. Inhibitory effect of naturally occurring flavonoids on the formation of advanced glycation end products. *J. Agric. Food Chem.* 53(8):3167-3173.