

ALIMENTOS FUNCIONALES: PROPIEDADES SALUDABLES, ANÁLISIS Y DISTRIBUCIÓN EN ALIMENTOS.

DR. DAVID GONZÁLEZ GÓMEZ

Departamento de Ciencias Analíticas.
Facultad de Ciencias. UNED

INTRODUCCIÓN

Antecedentes en el uso de plantas con fines medicinales

La evolución del hombre se ha basado en la adquisición de conocimientos y destrezas durante las diferentes etapas de la historia. La búsqueda de remedios curativos para alargar la esperanza y condiciones de vida se lleva realizando desde los inicios de nuestra historia, y sin duda el hombre ha sabido buscar en el reino vegetal un gran número de compuestos beneficiosos para conservar o mejorar su salud^{1,2}. Todas las civilizaciones han utilizado a las plantas y a sus extractos con fines medicinales, y no sólo esto, sino que además ha sido capaz de realizar mejoras en las mismas con objeto de incrementar o mejorar sus propiedades curativas^{3,4}. Existen un gran número de referencias arqueológicas que demuestran como las antiguas civilizaciones llevaban a cabo procesos de injertos en plantas para selección y perfeccionamiento de aquellas especies con mayores efectos saludables⁵. Las primeras referencias documentales que se tienen sobre la utilización de extractos vegetales con fines medicinales proceden de China, en concreto se encuentran en el *Canon de Medicina* del Emperador Amarillo (2500-2600 a.C.)⁶. También se han encontrado documentos escritos de civilizaciones egipcias e indias, en los que se describen las propiedades y utilización de plantas medicinales⁶.

Hipócrates (s. V a.C.), Dioscórides (s. I d.C.) y Galeno (s. II d.C.) fueron los primeros europeos en estudiar los efectos saludables de las plantas. Estos estudios incipientes fueron posteriormente ampliados por estudiosos árabes

(Avicena e Ibn al-Baitar) entre los siglos X y XII d.C. Posteriormente, Paracelso (1493-1541) propuso la existencia de principios activos en plantas y estableció la relación entre la concentración de estos principios activos y su efecto biológico⁷. La obtención y aislamiento de morfina a partir del látex de Opio, por parte de Sertürner⁸ a comienzo del s. XIX, supuso el primer trabajo científico en el que se demostró que el principio activo puro presentaba mayores propiedades terapéuticas que los extractos iniciales. En décadas posteriores fueron aisladas un gran número de estructuras puras tales como los alcaloides emetina extraída de la raíz de la ipecacuana en 1817, la cafeína extraída del café en 1820, y glucósidos como la digitoxina en 1841⁷.

Los efectos saludables que supone el consumo regular de frutas y hortalizas ha quedado constatado con un gran número de estudios epidemiológicos llevados a cabo en el s. XX⁹. En estos estudios se ha evidenciado que el consumo de frutas y hortalizas pueden prevenir un gran número de enfermedades crónicas, incluyendo enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer¹. En concreto se ha recomendado un consumo diario de fruta y hortalizas frescas en una cantidad adecuada (400-500 gramos/día) con objeto de reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, problemas de hipertensión e infarto. De hecho, el carácter saludable de dietas ricas en frutas y hortalizas, queda evidenciado científicamente mediante estudios epidemiológicos que muestran como países como la India y China, en los que la fruta, hortalizas y especias representan una parte esencial de su dieta, tienen una menor incidencia en el número de casos de cáncer y enfermedades cardiovasculares¹⁰.

Desde la segunda mitad del s. XX se está produciendo un cambio en el origen de las patologías relacionadas con la nutrición. Si bien en etapas anteriores los problemas nutricionales estaban relacionados con hambrunas, actualmente son bien distintos, y son debidos principalmente a una mala planificación nutricional o una elevada ingesta de alimentos. Esto está provocando un incremento notable de enfermedades no contagiosas tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, cáncer y enfermedades respiratorias. La relación entre los hábitos alimentarios y la ocurrencia de estas patologías es tal que la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece que el 80 % de las enfermedades cardiovasculares, el 90 % de la diabetes tipo II y un tercio de los procesos cancerígenos podrían ser evitados con cambios en el estilo de vida, incluyendo cambios en la dieta¹¹.

Por otro lado hay que añadir que durante la segunda mitad del s. XX y los comienzos del s. XXI se está produciendo un incremento notable de la esperanza de vida en los países desarrollados. Este incremento en la longevidad de la población viene acompañado de un incremento notable de las enfermedades relacionadas con el envejecimiento celular. Evidencias científicas ponen de manifiesto que patologías como las enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y degenerativas, afecciones inflamatorias, epilepsia, artrosis, cataratas, degeneración macular de la retina, fibromialgia¹² e incluso la esquizofrenia van acompañadas de un aumento del estrés oxidativo a nivel celular¹³. En este sentido se ha comprobado que el aporte de compuestos antioxidantes a través de la dieta, mediante el consumo de frutas y hortalizas, puede ejercer un efecto quimioprotector, ralentizando el estrés oxidativo y el daño producido por el exceso de radicales libres, y por tanto retardando la aparición de las enfermedades derivadas del envejecimiento celular¹⁴. Diferentes autores han reflejado en sus estudios que el carácter antioxidante de alimentos vegetales (frutas y hortalizas) viene dado por un conjunto de compuestos denominados **compuestos bioactivos, funcionales o fitoquímicos**. Estos compuestos no nutritivos y con un marcado carácter antioxidante, son considerados tanto desde un punto de vista bioquímico como **metabolitos secundarios**, y se ha demostrado, al menos en cierta medida, que estos metabolitos secundarios son responsables de los efectos saludables que tiene el consumo de frutas y hortalizas¹⁵.

Acción de los compuestos funcionales o metabolitos secundarios en los ciclos vitales de plantas

Los compuestos fitoquímicos se acumulan en cantidades relativamente grandes en plantas y parecen ser los responsables de un gran número de funciones suplementarias en el ciclo vital de las plantas. Como se ha comentado anteriormente, estos metabolitos secundarios constituyen el conjunto de compuestos bioactivos con carácter saludables en humanos, pero además en la planta juegan un papel esencial, de hecho son sintetizados por éstas para su supervivencia o para su mejor adaptación al medio en el que se encuentran. Las plantas, como organismos sésiles, basan su defensa, protección, comunicación intercelular y polinizadores en la síntesis de estos metabolitos secundarios o fitoquímicos¹⁶.

Por tanto, los compuestos fitoquímicos son fundamentales en las interacciones entre la planta y el ambiente que la rodea. Las defensas químicas

son esenciales en las plantas para sobrevivir a pesar de las condiciones de estrés causadas por factores bióticos, tales como patógenos invasivos, herbívoros y otras especies vegetales competidoras. O por factores abióticos, tales como la radiación UV-B, temperaturas extremas, sequías o deficiencia de nutrientes minerales. En definitiva, los compuestos fitoquímicos pueden ser definidos como un escudo protector entre los tejidos de la planta y el ambiente que lo rodea. La naturaleza de esta defensa química varía entre las diferentes especies vegetales, lo que permite su clasificación de acuerdo a su taxonomía química considerando las familias de metabolitos secundarios que producen. Dentro de los metabolitos secundarios más abundantes en el reino vegetal destacan el ácido benzoico y cinámico, derivados fenólicos, flavonoides, terpenoides, alcaloides y carbohidratos de cadena larga y derivados alcohólicos y compuestos carbonílicos y carboxílicos. De forma menos frecuente, y tan sólo en algunas especies vegetales, también podemos encontrar entre estos metabolitos secundarios glucosinolatos, aminas, tiofenos, glicósidos cianogénicos, disulfuros y sulfuros.

Ejemplos de actuación de los metabolitos secundarios frente a la acción de agentes abióticos lo podemos encontrar en las antocianinas. Las antocianinas protegen a los cloroplastos celulares de la fotodegradación mediante la absorción de la radiación fuertemente energética, además de neutralizar radicales libres y especies con oxígeno reactivo. Otro ejemplo lo podemos encontrar en los flavonoides, estos fitocompuestos además de absorber las radiaciones UV-B, también contribuyen en el crecimiento de los pistilos facilitando así la fertilización del óvulo. Otros ejemplos de protección los podemos encontrar en la acción que tienen los terpenoides e isoflavonas frente a patógenos y para repeler el ataque de insectos. La concentración de metabolitos secundarios de carácter tóxico puede aumentar rápidamente tras el ataque de un herbívoro a la planta, por ejemplo la acción de algunos metabolitos de terpenos, como el limonoide y el azadiractin, pueden inmovilizar la lengua de los mamíferos o la mandíbula de los herbívoros, previniendo posteriores ataques de los mismos.

Nutraceuticos y la utilización de productos naturales en la medicina

Como se verá más adelante, la respuesta que tiene la planta sintetizando metabolitos secundarios frente a la acción de agente abiótico puede ser aprovechada para conseguir productos con un mayor contenido de compuestos funcionales con fines industriales. La relevancia económica que están teniendo estos

compuestos hoy en día, hace que exista un gran número de trabajos científicos encaminados a este fin. En este contexto se ha extendido el uso del término **nutracéutico**, que según se definió por primera vez en 1989 por Stephen DeFelice¹⁷, refiere a aquellos alimentos o productos alimenticios que pueden proporcionar beneficios saludables al consumidor, incluyendo la prevención y tratamiento de algunas enfermedades. El término nutracéutico proviene de la combinación de las dos palabras nutrición y farmacéutico¹⁸.

Un gran número de enfermedades y patologías han sido tratadas mediante el empleo de compuestos funcionales extraídos de plantas, estos biocompuestos presentan una estereoquímica y funcionalidad concreta. Estas características han sido determinadas en las diferentes rutas enzimáticas involucradas en las diferentes rutas biosintéticas de estos compuestos en las plantas. Esta estructura única que poseen estos compuestos hace que puedan interactuar de forma específica con receptores celulares, ejerciendo así su acción biológica, mediante interacciones no covalentes tales como puentes de hidrógeno, apilamientos e interacciones hidrofóbicas y dipolares. El efecto quimioprotector de estos compuestos ha sido ampliamente utilizado para prevenir malfunciones celulares, además hay que destacar el carácter antioxidante que presentan estos metabolitos secundarios. Su acción antioxidante se debe a que interfieren con diferentes sustratos de la secuencia oxidativa, en concreto disminuyen la concentración del oxígeno, neutralizando el oxígeno y el nitrógeno reactivo, quelando metales y neutralizando radicales libres, y de este modo deteniendo las reacciones en cadena altamente dañinas.

EFFECTOS SALUDABLES DE LOS COMPONENTES FUNCIONALES

Un gran número de estudios epidemiológicos realizados en las últimas décadas han puesto de manifiesto la estrecha relación existente entre el consumo regular de frutas y hortalizas en la prevención de enfermedades crónicas relacionadas con procesos oxidativos. Parte de este beneficio saludable de las dietas ricas en estos alimentos se debe a las especiales características nutricionales, particularmente al bajo contenido en grasas, altos contenidos en fibra dietética y sus micronutrientes. Pero además hay que destacar el papel que juegan los metabolitos secundarios presentes, es decir, los compuestos bioactivos o funcionales presen-

tes en frutas y hortalizas. Como se ha indicado, estos metabolitos secundarios no son compuestos con carácter nutricional, pero sin embargo transfieren un conjunto de aspectos muy saludables al ser incorporados a la dieta¹⁹.

La acción saludable de estos compuestos sólo es efectiva cuando forman parte de un hábito alimentario, en el que su incorporación a la dieta se realiza de forma continua durante un largo periodo de tiempo, ya que estos compuestos presentan una relativa baja actividad biológica, sobre todo cuando se compara su acción con la que ejercen los fármacos²⁰. Esto dificulta en gran medida el estudio experimental de la acción beneficiosa que ejercen estos compuestos, por ello es necesario probar su eficacia a través de estudios epidemiológicos.

Muchos de los compuestos funcionales tienen propiedades de captadoras de radicales libres, lo que les confiere actividad antioxidante, lo que podría estar relacionada con aquellas enfermedades causadas por procesos oxidativos de deterioro celular mediados por radicales libres. Estas reacciones de oxidación celular indeseables son muy peligrosas ya que, al igual que otras reacciones radicáticas, son autocatalíticas, es decir, se autopropagan mediante un proceso en cadena. Como resultado, se pueden producir daños irreversibles en componentes esenciales de la célula (lípidos de membrana, ácidos nucleicos, etc.), en un proceso conocido como estrés oxidativo que está relacionado con el envejecimiento celular, enfermedades degenerativas, bloqueo de las arterias y aparición de diferentes tipos de cáncer^{21,22,23}.

El deterioro oxidativo podría definirse como un desequilibrio entre los pro-oxidantes y/o radicales libres y los sistemas antioxidantes del organismo. La formación de radicales libres se debe en gran medida a la acción indirecta del oxígeno. El oxígeno, por un lado es esencial para el desarrollo de la vida, pero por otro lado está involucrado en la formación de radicales libres. Además del oxígeno, la formación de radicales libres es debida a la acción de radiaciones ionizantes, radiación ultravioleta, procesos inflamatorios, agentes contaminantes y tóxicos ambientales. Los radicales libres son moléculas altamente reactivas que se caracterizan por poseer una deficiencia electrónica lo que les convierte en especies con elevada toxicidad a nivel celular.

El organismo posee sistemas de defensa propios que permiten la neutralización de radicales libres, tales como sistemas enzimáticos, tales como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa. Esta neutralización también se puede llevar a cabo mediante la presencia de agentes antioxidantes, moléculas fácilmente oxidables, como pueden ser las vitaminas (vitaminas E y C) y los

compuestos funcionales (terpenoides, polifenoles, alcaloides y compuestos azufrados) que deben ser facilitados a través de la dieta.

Aunque los estudios científicos apuntan que la acción antioxidante de los metabolitos secundarios es el principal mecanismo de acción, trabajos actuales apuntan la existencia de otros mecanismos de acción más allá de su acción antioxidante. La estructura de muchos de los compuestos funcionales incorporados en la dieta, son modificadas durante su absorción en el intestino delgado²⁴, metabolizándose o conjugándose, y en el intestino grueso principalmente por la acción de la microflora bacteriana existente en el colon²⁵. Así, estos metabolitos cuando llegan a la célula y tejidos, son tanto química como biológicamente muy diferentes a la estructura original que presentaban en el alimento inicial, lo cual puede repercutir en su bioactividad²⁶, lo que sugiere que la teorías de su mecanismo de acción basado de forma exclusiva en su capacidad antioxidante se una aproximación simplista²⁷. En este sentido, las nuevas teorías apuntan a que el mecanismo de acción se debe a la interacción que se produce entre los compuestos funcionales o sus metabolitos con receptores celulares y sistemas enzimáticos, o mediante la modificación de la expresión del genómica²⁸.

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS

La gran diversidad estructural que presentan los compuestos funcionales, junto con la posibilidad de que aparezcan altamente sustituidos con azúcares y/o formando polímeros y oligómeros, hace que su identificación y análisis sean una tarea compleja. Para realizar un estudio sobre el contenido de una determinada familia de compuestos funcionales en matrices alimentarias, requiere el empleo sistemático de un método de análisis que tenga en cuenta de forma global la dificultad del sistema: baja concentración de analito, alto grado de sustitución, presencia de isómeros, alto grado de polimerización, matrices complejas y alto grado de variabilidad entre muestras. De este modo, en este apartado se detallarán las diferentes etapas requeridas para el análisis de estos compuestos: Extracción y purificación, y separación, identificación y cuantificación.

Etapas de extracción de matrices alimentarias

La etapa de extracción se diseñará teniendo en cuenta las características estructurales del compuesto a extraer. Aspectos tales como hidrofobicidad y es-

tabilidad serán parámetros importantes a considerar a la hora de diseñar la etapa de extracción. Por ejemplo, la extracción de licopeno, tetraterpeno presente en el tomate, debe abordarse de forma muy diferente a la extracción de los antocianidinas presentes en cerezas. En el primer caso, dado el carácter lipófilo del compuesto, será necesario emplear disolventes de naturaleza apolar, mientras que en el segundo habrá que emplear disolventes polares. Además en el caso de las antocianidinas, la acidez del medio juega un papel crucial en su estabilidad, por lo que además habrá que fijar un pH ácido con objeto de no alterar la estructura del compuesto objeto de análisis. En otros casos, como en la extracción de alcaloides nitrogenados, será necesario realizar la extracción en varias etapas aprovechando las propiedades ácido base de los analitos, y así eliminar gran parte de los componentes polares de la matriz que lo acompaña, como ocurre en el caso del análisis de melatonina en frutos rojos. Finalmente, tras la etapa de extracción se suelen realizar procesos de saponificación e hidrólisis con objeto de eliminar sustituyentes azucarados de la estructura base (agliconas) del compuesto funcional facilitando así su análisis, aunque en otras muchas ocasiones sea necesario realizar el análisis de los compuestos derivados.

Separación, identificación y cuantificación.

Tras el proceso de extracción es necesario llevar a cabo la identificación y cuantificación del compuesto o familias de compuestos de interés. Este trabajo es complejo por varios motivos, primero por la gran diversidad estructural de compuestos funcionales que pueden ser extraídos de la matriz vegetal por cualquiera de los procedimientos indicados anteriormente. A su vez, un mismo compuesto puede presentar diferentes grados de sustitución, generalmente con azúcares y presentar diferentes grados de polimerización. De este modo, la primera fase de todo análisis debe centrarse en la separación e identificación de los compuestos funcionales presentes en los extractos obtenidos, para que una vez identificados se pueda proceder a su cuantificación.

Existen diferentes herramientas analíticas que nos permiten abordar este trabajo, pero sin duda las técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas/masas son las más utilizadas.

La cromatografía puede definirse como una técnica de separación de los componentes de una mezcla basada en la velocidad de desplazamiento diferencial de los mismos, que se establece al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o

gaseosa) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria, la cual puede ser líquida o sólida. Se encuentra regida por factores termodinámicos y cinéticos. Los aspectos termodinámicos son los que determinan las características de la retención y selectividad del sistema cromatográfico y corresponden a los equilibrios de distribución de los solutos entre la fase móvil y la fase estacionaria. En cuanto a los aspectos cinéticos, consideran el tiempo para el que se alcancen los sucesivos equilibrios entre las fases en el tiempo de contacto y la velocidad de desplazamiento diferencial de la mezcla de solutos en el lecho cromatográfico.

En la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) la fase estacionaria es un sólido y la fase móvil un líquido, siendo estos los componentes principales que están implicados en la separación que tiene lugar en el sistema cromatográfico. La separación cromatográfica tiene lugar cuando los componentes de la mezcla interactúan en diferente extensión con la fase móvil o con la fase estacionaria de manera que tardan tiempos diferentes en ir desde la posición de introducción de la mezcla a la posición del detector. Combinar cromatografía de líquidos (LC) y espectrometría de masas (MS) se puede considerar uno de los avances más importantes de las últimas décadas en Química Analítica, convirtiéndose en la técnica de elección en numerosos campos de aplicación tales como control del desarrollo de nuevos fármacos, análisis de alimentos, análisis medioambientales, aplicaciones bioanalíticas o biotecnológicas, etc.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA ABUNDANCIA DE COMPUESTOS FUNCIONALES EN PLANTAS

La concentración y abundancia de compuestos funcionales en plantas está influenciada por múltiples factores externos debido a que los metabolitos secundarios en plantas interactúan entre la planta y el entorno en el que se encuentra. De este modo, la modificación de ciertos factores externos tiene como respuesta, por parte de la planta, de la síntesis en mayor o menor cantidad de ciertos compuestos funcionales. Además de los factores externos mencionados, existen factores genéticos que determinan que diferentes variedades de una misma especie puedan tener concentraciones y abundancias de compuestos funcionales muy diferentes.

Aprovechando ambas circunstancias, es posible diseñar las condiciones de cultivo, almacenamiento o procesado apropiadas para obtener productos vegeta-

les con altos contenidos en fitocompuestos. Además, haciendo la selección varietal adecuada combinando aquellos cultivares con mejores propiedades, en términos de concentración de compuestos bioactivos, podemos disponer de alimentos vegetales altamente funcionales.

Considerando lo anteriormente expuesto, los factores que pueden modificarse con objeto de mejorar las propiedades funcionales pueden clasificarse en dos grupos: *Factores Pre-cosecha* y *Factores Post-cosecha*.

Factores Pre-cosecha

a) Factores genéticos

En algunas ocasiones, la influencia genética en el contenido de biocompuestos puede apreciarse de forma externa. La abundancia e identidad de diferentes compuestos bioactivos en distintos cultivares de manzana (*Malus domestica*) se pueden apreciar fácilmente en el color de la piel que presentan.

La variación de este aspecto externo se debe a la diferente concentración de cianidina-3-galactosido, clorofilas y caratenoides presentes en la piel. Pero no sólo el factor genético influye el color de la epidermis de la fruta, sino que el contenido total de compuestos funcionales, como el caso del contenido de fenoles en manzana, puede incrementar en un 100 % de unos cultivares a otros²⁹.

Desde los inicios de la agricultura, el hombre ha ido mejorando las diferentes variedades mediante el injerto o cruzamiento de distintos cultivares entre sí. Las variedades de frutas y hortalizas que están a disposición del consumidor, son el resultado de un continuo proceso de selección y mejora genética, proceso que ha requerido centenas o miles de años, y esta selección no se ha realizado teniendo en mente los aspectos saludables que pudieran reportar las nuevas variedades, sino que tradicionalmente esta cruzamiento ha ido dirigido al incremento de la productividad, el rendimiento, la resistencia frente a plagas o la calidad global del producto. Por tanto, podría ser plausible la utilización de las técnicas de mejora genética para mejorar los aspectos saludables, en relación al contenido de compuestos funcionales, de frutas y hortalizas. Recientemente, la mejora genética ha sido propuesta como un método adecuado para luchar contra la desnutrición en países en vía de desarrollo mediante el desarrollo de nuevas variedades con mejores propiedades nutricionales o enriquecidas en determinados compuestos nutricionales³⁰.

Otra forma de modificar el contenido de compuestos funcionales en pro-

ductos vegetales se puede abordar a través de la ingeniería genética mediante el diseño de nuevos cultivos transgénicos con altos contenidos en compuestos funcionales. En este sentido, se han publicado diferentes trabajos en los que se ponen de manifiesto como la manipulación genética puede incrementar el contenido de licopeno en tomate³¹ o de forma más drástica incluir nuevos compuestos funcionales en alimentos, como es el caso de la inclusión de carotenos en arroz mediante ingeniería genética³².

El arroz es la principal fuente de alimentación de un gran número de países altamente poblados en áreas y, en algunos casos, con bajos recursos. La población de estos países con una dieta basada casi de forma exclusiva en el consumo de arroz, está en alto riesgo de tener una grave deficiencia de provitamina A (-caroteno), que en último caso puede producir serios problemas de salud. La incorporación de terpenoides, mediante la modificación genética, en la parte del grano de arroz que se consume tradicionalmente (arroz no integral) es una solución factible para proporcionar a estas poblaciones de alimentos que permitan incorporar los micronutrientes necesarios en su dieta, evitando así un gran número de patologías. Estas acciones podrían ayudar a prevenir entre 1 y 2 millones de muertes en niños altamente vulnerables³³.

b) Factores ambientales

La concentración de compuestos funcionales en alimentos también está altamente influenciada por las condiciones climáticas en las que ha crecido la planta. La cantidad de irradiación solar recibida, la presencia de agentes contaminantes, temperatura, humedad o la deficiencia hídrica pueden alterar de forma importante la síntesis de un compuesto funcional. Recordemos que estos compuestos, metabolitos secundarios de plantas, son los encargados de interactuar entre el ambiente y la planta, modulando de este modo su presencia en función de las condiciones externas.

Factores post-cosecha

Tras la recolección el metabolismo de la planta no se para, sino que ésta sigue viviendo, y por tanto desarrollando todas las funciones propias de un organismo vivo. En este sentido, y considerando que las plantas responden a factores abióticos, causantes de algún tipo de estrés, mediante la modificación/activación de ciertos mecanismos anabólicos y catabólicos de síntesis de metabolitos secundarios tales como terpenoides, compuestos polifenólicos y derivados

azufrados³⁴. Generalmente, las plantas hacen frente a estrés provocado activando sus mecanismos de defensa, lo que incluye la síntesis de los metabolitos indicados anteriormente. Por tanto, una estrategia para incrementar la presencia de compuestos funcionales en plantas, consiste en la inducción controlada de algún tipo de estrés abiótico, sin que esto suponga un deterioro en sus propiedades organolépticas³⁵.

REFERENCIAS

1. Balsano, C.; Alisi, A., Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current pharmaceutical design* **2009**, *15* (26), 3063-73.
2. Balentine, D. A.; Albano, M. C.; Nair, M. G., Role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health. *Nutrition reviews* **1999**, *57* (9 Pt 2), S41-5.
3. Chagne, D.; Lin-Wang, K.; Espley, R. V.; Volz, R. K.; How, N. M.; Rouse, S.; Brendolise, C.; Carlisle, C. M.; Kumar, S.; De Silva, N.; Micheletti, D.; McGhie, T.; Crowhurst, R. N.; Storey, R. D.; Velasco, R.; Hellens, R. P.; Gardiner, S. E.; Allan, A. C., An ancient duplication of apple MYB transcription factors is responsible for novel red fruit-flesh phenotypes. *Plant physiology* **2013**, *161* (1), 225-39.
4. Azorin-Ortuno, M.; Yanez-Gascon, M. J.; Pallares, F. J.; Rivera, J.; Gonzalez-Sarrias, A.; Larrosa, M.; Vallejo, F.; Garcia-Conesa, M. T.; Tomas-Barberan, F.; Espin, J. C., A dietary resveratrol-rich grape extract prevents the developing of atherosclerotic lesions in the aorta of pigs fed an atherogenic diet. *J Agric Food Chem* **2012**, *60* (22), 5609-20.
5. Kobori, C. N.; Huber, L. S.; Sarantopoulos, C. I.; Rodriguez-Amaya, D. B., Behavior of flavonols and carotenoids of minimally processed kale leaves during storage in passive modified atmosphere packaging. *J Food Sci* **2011**, *76* (2), H31-7.
6. Young, S. D.; Jaganath, D., Feasibility of Using Social Networking Technologies for Health Research Among Men Who Have Sex With Men: A Mixed Methods Study. *American journal of men's health* **2013**.
7. Yust Mdel, M.; Millan-Linares Mdel, C.; Alcaide-Hidalgo, J. M.; Millan, F.; Pedroche, J., Hypocholesterolaemic and antioxidant activities of chickpea

- (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. *J Sci Food Agric* **2012**, *92* (9), 1994-2001.
8. Coenen, H., [On the year of morphine discovery in Paderborn by Serturmer]. *Archiv der Pharmazie und Berichte der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft* **1954**, *287* (4), 165-80.
 9. Tsuruta, Y.; Nagao, K.; Shirouchi, B.; Nomura, S.; Tsuge, K.; Koganemaru, K.; Yanagita, T., Effects of lotus root (the edible rhizome of *Nelumbo nucifera*) on the development of non-alcoholic fatty liver disease in obese diabetic db/db mice. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **2012**, *76* (3), 462-6.
 10. Cai, Y.; Luo, Q.; Sun, M.; Corke, H., Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life sciences* **2004**, *74* (17), 2157-84.
 11. Fund, W. C. R., Food, nutrition and prevention of cancer: A Global perspective. *American Institute for Cancer Research* **2007**, 16.
 12. Lim, G. P.; Chu, T.; Yang, F.; Beech, W.; Frautschy, S. A.; Cole, G. M., The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse. *The Journal of Neuroscience* **2001**, *21* (21), 8370-8377.
 13. Buijsse, B.; Feskens, E. J.; Kok, F. J.; Kromhout, D., Cocoa intake, blood pressure, and cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *Archives of internal medicine* **2006**, *166* (4), 411-7.
 14. Tipoe, G. L.; Leung, T. M.; Hung, M. W.; Fung, M. L., Green tea polyphenols as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent for cardiovascular protection. *Cardiovascular & hematological disorders drug targets* **2007**, *7* (2), 135-44.
 15. Heim, K. E.; Tagliaferro, A. R.; Bobilya, D. J., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry* **2002**, *13* (10), 572-584.
 16. Hohtola, A., Bioactive compounds from northern plants. *Advances in experimental medicine and biology* **2010**, *698*, 99-109.
 17. Kalra, E. K., Nutraceutical definition and introduction. *AAPS pharmSci* **2003**, *5* (3), E25.
 18. Bohlin, L.; Goransson, U.; Alsmark, C.; Weden, C.; Backlund, A., Natural products in modern life science. *Phytochemistry reviews: proceedings of the Phytochemical Society of Europe* **2010**, *9* (2), 279-301.

19. Iriti, M.; Vitallini, S., Health-Promoting Effects of Traditional Mediterranean Diets - A Review. *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES* **2012**, *62* (2), 71-76.
20. Tomás-Barberán, F. A., Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud* **2003**, *10* (2), 41-53.
21. (a) Potterat, O.; Hamburger, M., Morinda citrifolia (Noni) fruit phytochemistry, pharmacology, safety. *Planta medica* **2007**, *73* (3), 191-9;
(b) Pugliese, A. G.; Tomas-Barberan, F. A.; Truchado, P.; Genovese, M. I., Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds. *J Agric Food Chem* **2013**.
22. Romo Vaquero, M.; Garcia Villalba, R.; Larrosa, M.; Yanez-Gascon, M. J.; Fromentin, E.; Flanagan, J.; Roller, M.; Tomas-Barberan, F. A.; Espin, J. C.; Garcia-Conesa, M.T., Bioavailability of the major bioactive diterpenoids in a rosemary extract: Metabolic profile in the intestine, liver, plasma, and brain of Zucker rats. *Molecular nutrition & food research* **2013**.
23. Tenorio, M. D.; Espinosa-Martos, I.; Prestamo, G.; Ruperez, P., Soybean whey enhance mineral balance and caecal fermentation in rats. *European journal of nutrition* **2010**, *49* (3), 155-63.
24. Selma, M. V.; Espin, J. C.; Tomas-Barberan, F. A., Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of agricultural and food chemistry* **2009**, *57* (15), 6485-501.
25. Jaganath, I. B.; Mullen, W.; Edwards, C. A.; Crozier, A., The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. *Free radical research* **2006**, *40* (10), 1035-46.
26. Kroon, P. A.; Clifford, M. N.; Crozier, A.; Day, A. J.; Donovan, J. L.; Manach, C.; Williamson, G., How should we assess the effects of exposure to dietary polyphenols in vitro? *The American journal of clinical nutrition* **2004**, *80* (1), 15-21.
27. Williamson, G.; Manach, C., Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. *The American journal of clinical nutrition* **2005**, *81* (1 Suppl), 243S-255S.
28. Williams, R. J.; Spencer, J. P.; Rice-Evans, C., Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? *Free radical biology & medicine* **2004**, *36* (7), 838-49.
29. McGhie, T. K.; Hunt, M.; Barnett, L. E., Cultivar and growing region deter-

- mine the antioxidant polyphenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *J Agric Food Chem* **2005**, *53* (8), 3065-70.
30. Nestel, P.; Bouis, H. E.; Meenakshi, J. V.; Pfeiffer, W., Biofortification of staple food crops. *The Journal of nutrition* **2006**, *136* (4), 1064-7.
31. Fraser, P. D.; Romer, S.; Shipton, C. A.; Mills, P. B.; Kiano, J. W.; Misawa, N.; Drake, R. G.; Schuch, W.; Bramley, P. M., Evaluation of transgenic tomato plants expressing an additional phytoene synthase in a fruit-specific manner. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2002**, *99* (2), 1092-7.
32. Ye, X.; Al-Babili, S.; Klott, A.; Zhang, J.; Lucca, P.; Beyer, P.; Potrykus, I., Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* **2000**, *287* (5451), 303-5.
33. West, K. P., Jr.; Howard, G. R.; Sommer, A., Vitamin A and infection: public health implications. *Annual review of nutrition* **1989**, *9*, 63-86.
34. Dixon, R. A., Natural products and plant disease resistance. *Nature* **2001**, *411* (6839), 843-7.
35. Cisneros-Zevallos, L., The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science* **2003**, *68* (5), 1560-1565.