

**COMPUESTOS ANTIOXIDANTES
DEL HINOJO AMARGO**

Foeniculum vulgare

Carles Codina, Irene Parejo, Jaume Bastida, Jesús Burillo,
Francesc Viladomat

COMPUESTOS ANTIOXIDANTES DEL HINOJO AMARGO. *Foeniculum vulgare*

Carles Codina^a, Irene Parejo^a, Jaume Bastida^a, Jesús Burillo^b,
Francesc Viladomat^a

^a Departamento de Productos Naturales, Biología Vegetal y Edafología,
Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona Avda Joan XXIII s/n
08028 Barcelona, España

^b Servicio de Investigación Agroalimentaria, (DGA),
Unidad de Recursos Forestales, Área de Aromáticas y Medicinales,
Apdo de Correos 727 50080 Zaragoza España

Introducción

De las especies mediterráneas estudiadas en una fase previa de monitoreo de plantas con actividad antioxidante (Parejo et al., 2002), se seleccionó el residuo constituido por el material destilado del hinojo amargo, *Foeniculum vulgare* (Apiaceae), para el estudio de su composición química. Si bien los aceites esenciales de esta planta se han estudiado ampliamente, apenas se tiene conocimiento de la presencia de otros compuestos no volátiles, tales como ácidos fenólicos y flavonoides. Así, tan sólo se ha descrito la presencia de ácido clorogénico, derivados del ácido hidroxibenzoico, glicósidos de flavonoides y algunas cumarinas en el hinojo dulce (Schmidtlein and Herrmann, 1975, Murray et al., 1982, Bilia et al., 2000, Soliman et al., 2002), mientras que en el hinojo amargo se han identificado unos pocos aglicones y glicósidos de flavonoides (Crowden et al., 1969, Harbone & Saleh, 1971, Kunzemann & Herrmann, 1977, Soliman et al. 2002).

En relación a la actividad antioxidante del hinojo, aunque se han investigado sus aceites esenciales con esta finalidad (Ruberto et al., 2000), no se han efectuado estudios anteriores en extractos polares de esta planta. En el presente trabajo se han identificado 42 compuestos fenólicos distintos, de los cuales 27 no se han descrito con anterioridad en ninguna de las variedades (dulce y amarga) de hinojo.

Material y Métodos

Material vegetal

Las plantas de *Foeniculum vulgare* Mill var. *vulgare* (Apiaceae) procedían de cultivos establecidos bajo condiciones agrónomicamente controladas, en una parcela experimental de Cetina (Zaragoza, España) El material vegetal estaba constituido por hojas, tallos y estructuras florales, y fue previamente destilado por arrastre de vapor para la extracción de los aceites esenciales. La extracción se llevó a cabo en la finca experimental "La Alfranca" (Diputación General de Aragón) a nivel de planta piloto, y siguiendo un protocolo de operación estandarizado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Una vez destilado, el material se secó al aire, y se pulverizó en molino.

Extracción y fraccionamiento bioquímico

1kg de material seco del residuo destilado de hinojo se extrajo por decocción con agua durante 15 minutos. Los extractos acuosos combinados, una vez enfriados y filtrados, se cromatografiaron en columnas de Amberlita® empaquetadas con XAD-7 and XAD-16, eluyéndose con metanol:agua (1:1), metanol, y finalmente acetona, hasta decoloración. Después de concentrar, se obtuvieron 54 g de extracto crudo (EC), el cual se redisolvió en agua, y particionó con acetato de etilo, lo que dió lugar a una fracción de acetato de etilo (FAE) y otra acuosa (FA). Una alícuota de esta última se disolvió en metanol:agua (1:1) y se fraccionó por cromatografía de gel filtración (Sephadex® LH-20), obteniéndose 96 fracciones de 10 mL, que fueron monitoreadas por TLC utilizando como revelador una solución metanólica de DPPH®, y agrupadas finalmente en siete fracciones (A - G). Cada una de ellas fue objeto de un nuevo fraccionamiento bioquímico y posterior proceso de purificación mediante Sephadex LH 20, TLC preparativa y/o HPLC semipreparativa. Todo el proceso de extracción, fraccionamiento y separación cromatográfica al que fue sometido el residuo de hinojo está resumido en la **Figura 1**.

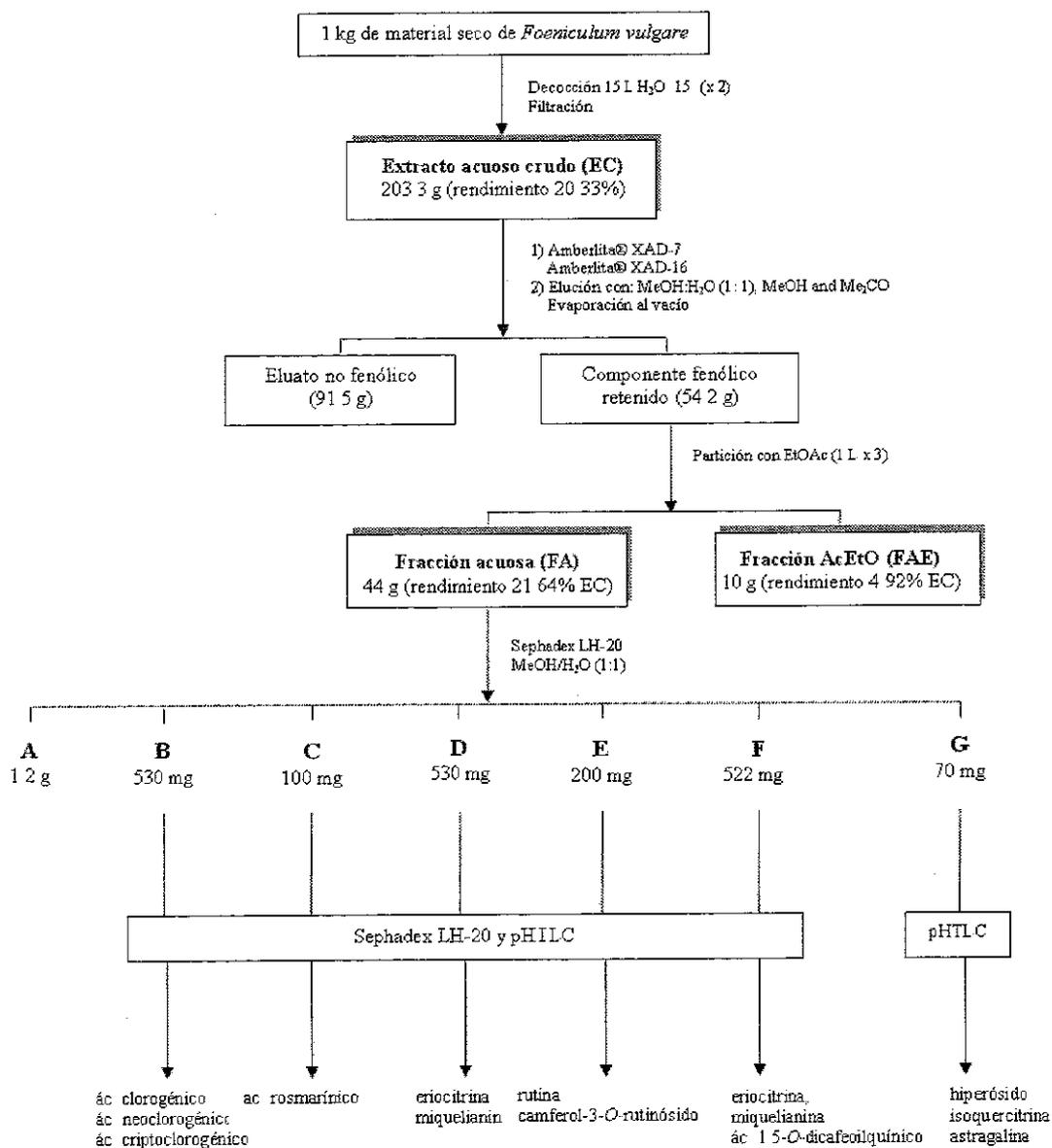


Figura 1 Esquema del proceso de extracción y fraccionamiento bioguiado del residuo de hinojo

Identificación de los compuestos fenólicos

Una vez aislados y purificados, la identificación de los distintos compuestos se realizó principalmente por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) mono- y bidimensional. Los espectros de protón (^1H -RMN) y de carbono (^{13}C -RMN) se realizaron en un espectrómetro Varian Gemini-300. También se realizaron experimentos bidimensionales (HMBC, HMQC, COSY y NOESY) para la confirmación de algunas estructuras, los cuales se llevaron a cabo en un espectrómetro Inova 500. Para el análisis de las muestras, éstas se disolvieron en metanol deuterado (CD_3OD)

Además de la elucidación estructural de los compuestos mayoritarios obtenidos en el proceso de aislamiento bioguiado, las diferentes fracciones obtenidas se analizaron por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC/MS), de acuerdo con la metodología desarrollada al efecto (Parejo et al., remitado), con la finalidad de identificar el mayor número posible de sustancias fenólicas presentes en el hinojo

Determinación de la actividad antioxidante

El extracto crudo, así como cada una de las fracciones obtenidas y de los compuestos posteriormente aislados, se sometió al análisis de la capacidad captadora de radicales libres por el método del DPPH, radicales hidroxilo por el método de quimioluminiscencia (QL), o del anión superóxido (SO), los cuales se describen en la METODOLOGÍA. El contenido de fenoles totales se expresa como equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg de extracto, la actividad captadora de radicales libres e hidroxilo como concentración inhibitoria 50 % (CI_{50}), y la actividad captadora del anión superóxido como porcentaje de inhibición.

Análisis cuantitativo por HPLC

Con la finalidad de poder cuantificar los compuestos fenólicos mayoritarios del hinojo, y ante la ausencia de otros métodos cuantitativos de determinación de fenoles en esta planta, se desarrolló un método analítico de determinación cuantitativa por HPLC de diez compuestos

fenólicos, el cual se validó para distintos parámetros siguiendo la normativa ICH (Parejo et al, remitido). Las sustancias de referencia utilizadas para la validación del método fueron ácido 5-*O*-cafeoilquinico (ácido clorogénico), quercetina-3-*O*-rutinosido (rutina) y ácido rosmarínico, obtenidos comercialmente, y ácido 1,5-*O*-dicaffeoilquinico, quercetina-3-*O*-glucuronido (miquelianina), y eriodictiol-7-*O*-rutinosido (eriocitrina), aislados previamente en nuestro laboratorio de plantas de hinojo. La detección de los compuestos fenólicos se realizó a 330 nm, a excepción de la eriocitrina, que se determinó a 280 nm.

Estudio comparativo de distintas muestras de hinojo

Una vez establecido un método de determinación cuantitativa por HPLC de los compuestos fenólicos presentes en el hinojo, se procedió a determinar el contenido de fenoles en distintas muestras de hinojo: material destilado, material sin destilar, y frutos, puesto que éstos últimos constituyen la droga que figura en las Farmacopeas Europea, Alemana y Española, entre otras. Con los tres tipos de muestras se realizó la comparación de los fenoles cuantificados por HPLC con el contenido total de fenoles determinado por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito en la sección *Diseño Experimental*.

Resultados

Fraccionamiento bioguiado

Las fracciones obtenidas durante el proceso de separación y fraccionamiento cromatográfico del residuo de hinojo fueron objeto de evaluación de su actividad antirradicalaria. La fracción acuosa (FA) obtenida en el proceso inicial de extracción y fraccionamiento exhibió el mayor contenido de fenoles totales (297 EAG/mg), así como la mejor actividad captadora de radicales libres ($CI_{50} = 9.94$) y radicales hidroxilo ($CI_{50} = 15.23$), aunque la inhibición del anión superóxido (58.63 %) fue inferior a la del extracto crudo (**Tabla 1**). El proceso posterior de fraccionamiento bioguiado de la fracción acuosa condujo al aislamiento de seis fracciones activas (la fracción A no puede considerarse activa), siendo las fracciones F y G las que mostraron

una mayor actividad. La fracción F resultó ser la más activa de todas, con un valor de CI_{50} de 4.58 y un porcentaje de inhibición del 93.6 % para la actividad captadora de radicales hidroxilo y del anión superóxido, respectivamente, así como unos niveles elevados de fenoles totales (368.9 EAG/mg). Sin embargo, la fracción G mostró la mayor actividad captadora de radicales libres ($IC_{50} = 6.45$), mientras que la fracción D presentó el mayor contenido de fenoles totales (443.5 EAG/mg) y la mayor actividad captadora de radicales hidroxilo ($CI_{50} = 3.92$). Por último, la fracción E mostró la menor actividad captadora de radicales libres y anión superóxido, así como el menor contenido de fenoles totales.

Tabla 1. Contenido de fenoles totales (CFT) y actividad captadora de radicales de los diferentes extractos y fracciones del residuo de hinojo (ver la sección de Material y Métodos para la identificación de las fracciones). Los resultados son la media de tres determinaciones \pm DE (desviación estándar)

Fracción	Peso (g)	CFT ^a	DPPH ^b	QL ^b	Superóxido ^c
CE	203	138.70 \pm 3.15	16.42 \pm 1.04	20.30 \pm 1.24	70.21 \pm 3.22
EAF	10	38.05 \pm 1.86	46.06 \pm 2.36	120.30 \pm 5.36	23.40 \pm 0.96
AF	44	297.10 \pm 18.9	9.94 \pm 0.26	15.23 \pm 0.25	58.63 \pm 1.26
A	1.90	125.60 \pm 2.36	75.90 \pm 3.00	86.35 \pm 4.56	54.70 \pm 1.23
B	0.85	385.00 \pm 10.1	16.87 \pm 0.66	7.14 \pm 0.74	65.30 \pm 15.9
C	0.16	364.25 \pm 10.9	21.60 \pm 0.36	10.18 \pm 0.44	81.00 \pm 2.36
D	0.53	443.50 \pm 17.9	20.00 \pm 0.08	3.92 \pm 0.30	61.70 \pm 1.01
E	0.20	308.40 \pm 2.67	41.31 \pm 1.95	18.59 \pm 1.28	29.20 \pm 0.36
F	0.52	368.95 \pm 10.7	9.40 \pm 0.25	4.58 \pm 0.41	93.60 \pm 3.02
G	0.07	361.91 \pm 29.1	6.45 \pm 0.02	25.33 \pm 1.36	71.00 \pm 1.47

a Valores expresados como EAG/mg extracto

b Valores expresados como CI_{50} (μ g/mL)

c Valores expresados como porcentaje de inhibición a 50 μ g/mL

Aislamiento y elucidación estructural

La separación cromatográfica de las fracciones obtenidas, y su posterior purificación por TLC y HPLC preparativas, dió como resultado el aislamiento de doce compuestos, cinco de los cuales son derivados del ácido cinámico, entre los que se encuentran tres isómeros del ácido clorogénico, concretamente los ácidos neoclorogénico (ác 3-O-cafeoilquínico), criptoclorogénico (ác 4-O-cafeoilquínico) y el propio ácido clorogénico (ác 5-O-cafeoilquínico), el ácido rosmarínico, de reconocido valor antioxidante, y el ácido 1,5-O-dicafeoilquínico. Los otros siete compuestos fenólicos aislados e identificados químicamente por RMN fueron tres flavonoides monoglicosidados: quercetina-3-O-galactósido (hiperósido), quercetina-3-O-glucósido (isoquercitrina) y camferol-3-O-glucósido, tres flavonoides diglicosidados: quercetina-3-O-rutinósido (rutina), eriodictiol-7-O-rutinósido (eriocitrina) y camferol-3-O-rutinósido, y finalmente la quercetina-3-O-glucurónido (miquelianina). Las estructuras de dichos compuestos se representan en la Figura 2.

Compuestos fenólicos minoritarios

Además de los doce compuestos aislados y caracterizados químicamente a lo largo del proceso de fraccionamiento bioguiado, el análisis por LC/MS de cada una de las fracciones inicialmente obtenidas permitió la identificación de un total de 42 compuestos de naturaleza fenólica, los cuales se presentan agrupados por categorías estructurales en la **Tabla 2**. La distribución de dichos compuestos entre las distintas fracciones no fue homogénea en cuanto a la naturaleza de sus constituyentes. Así, las fracciones A, B y G mostraron contener un sólo tipo de compuestos fenólicos: un total de diez isómeros del ácido quínico esterificado con ácidos cafeico, ferúlico o cumárico, simultáneamente en el caso de las fracciones A y B, y flavonoides monoglicosidados en el caso de la fracción G. Por el contrario, el resto de fracciones (C-F) presentó una composición fenólica más diversa, encontrándose en cada una de ellas compuestos pertenecientes a dos o más grupos estructurales distintos (**Tabla 2**). De los 42 compuestos identificados, 27 de ellos se describen por primera vez en el hinojo.

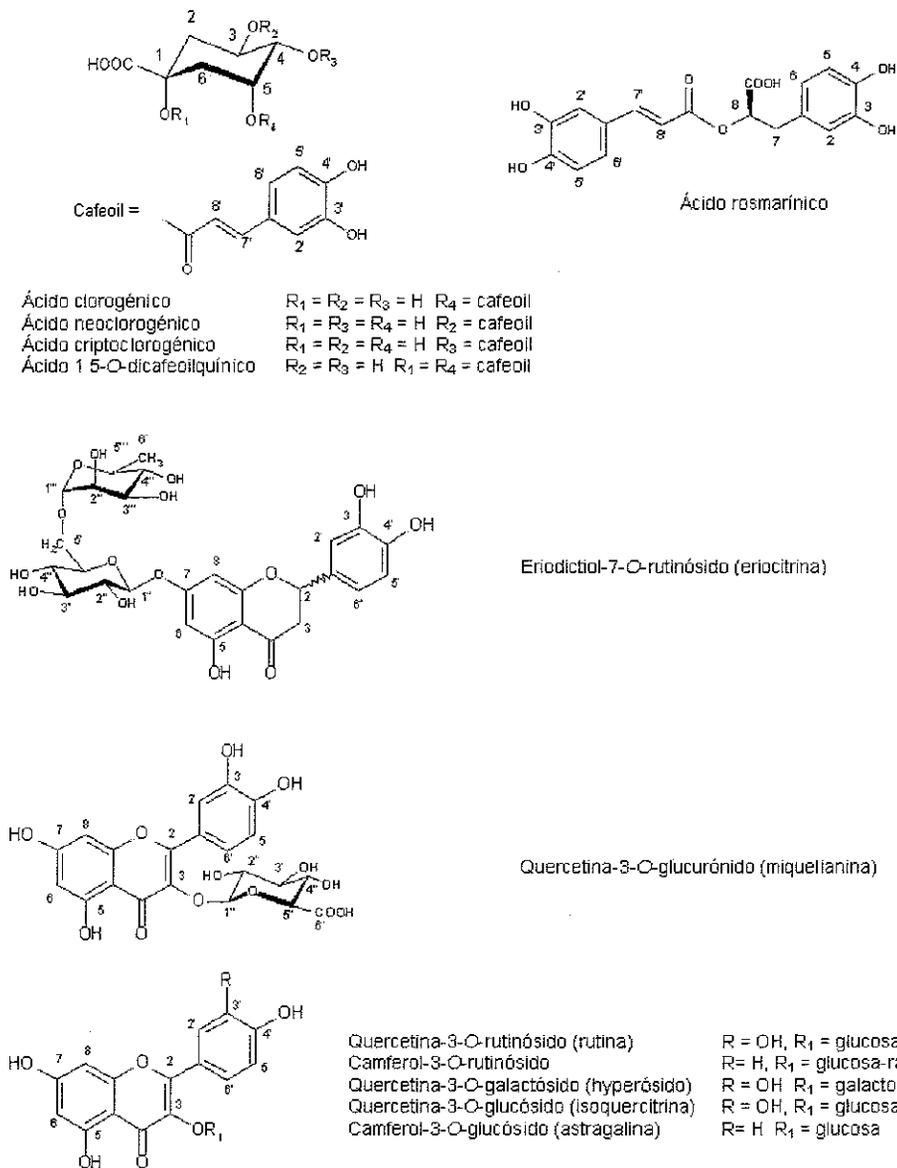


Figura 2 Compuestos mayoritarios aislados de *Foeniculum vulgare*

Table 2. Distribución por grupos estructurales de los distintos compuestos fenólicos identificados en cada una de las fracciones del residuo de hinojo

Grupo estructural	Compuesto	Fracción
<i>Derivados del ácido cinámico</i>		
	Ácido 3-cafeoilquinico (ác neoclorogénico)	A, B
	Ácido 5-cafeoilquinico (ác clorogénico)	A, B
	Ácido 1-cafeoilquinico*	A, B
	Ácido 3-feruloilquinico*	A, B
	Ácido 4-cafeoilquinico (ác criptoclorogénico)	A, B
	Ácido 4-cumaroilquinico*	A, B
	Ácido 5-cumaroilquinico*	A, B
	Ácido 5-feruloilquinico*	A, B
	Ácido 1-feruloilquinico*	A, B
	Ácido 4-feruloilquinico*	A, B
	Ácido rosmarínico	C
	Ácido 1,3-dicafeoilquinico*	F, E
	Ácido 1,4-dicafeoilquinico*	F, E
	Ácido 1,5-dicafeoilquinico	F
<i>Derivados del ácido benzoico</i>		
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico- <i>O</i> -glucósido* (arbutina)	C
<i>Derivados de la cumarina</i>		
	Esculetina- <i>O</i> -glucósido (esculina)*	C
<i>Flavonoides glucurónidos</i>		
	Isorhamnetina-3- <i>O</i> -glucurónido*	C
	Apigenina-7- <i>O</i> -glucurónido*	C
	Luteolina-7- <i>O</i> -glucurónido*	D
	Camferol-3- <i>O</i> -glucurónido	D
	Quercetina-3- <i>O</i> -glucurónido (miquelianina)	D, E, F
<i>Flavonoides diglicosidados</i>		
	Isorhamnetina- <i>O</i> -dihexósido 1*	C
	Isorhamnetina- <i>O</i> -dihexósido 2*	C
	6,8- <i>C</i> -dihexosilapigenina*	C
	Quercetina-3- <i>O</i> -rutinósido (rutina)	D, E
	Eriodictiol-7- <i>O</i> -rutinósido (eriocitrina)	D, E, F
	Luteolina-7- <i>O</i> -rutinósido*	E
	Camferol-3- <i>O</i> -rutinósido	E
	Isorhamnetina-3- <i>O</i> -rutinósido*	E
	Naringerina-7- <i>O</i> -rutinósido (narinrutina)*	F
	Quercetina- <i>O</i> -dihexósido 1	F
	Quercetina- <i>O</i> -dihexósido 2*	F
	Acacetina-7- <i>O</i> -rutinósido*	F
<i>Flavonoides monoglicosidados</i>		
	Quercetina-3- <i>O</i> -galactósido (hiperósido)	G
	Quercetina-3- <i>O</i> -glucósido (isoquercitrina)	G
	Camferol-3- <i>O</i> -glucósido	G
	Isorhamnetina-3- <i>O</i> -galactósido*	G
	Isorhamnetina-3- <i>O</i> -glucósido*	G

* Compuestos identificados por primera vez en el hinojo

Determinación cuantitativa de fenoles

La prueba preliminar para determinar las condiciones óptimas de extracción de los compuestos fenólicos del hinojo puso de manifiesto que el mejor rendimiento de la extracción se obtenía utilizando una mezcla de agua:metanol (80:20), y sonicando a temperatura ambiente (25 °C) durante 20 minutos. Una vez establecidos estos parámetros, se desarrolló un método analítico para determinar cuantitativamente dichos compuestos por HPLC (Parejo et al., remitido). El método ha permitido la separación de diez de los constituyentes mayoritarios del hinojo, con una resolución muy aceptable (**Figura 3**) y en un tiempo de análisis de 40 minutos, lo que representa un ahorro de tiempo y de solvente con respecto a otros métodos de identificación de fenoles. Además, el método se ha validado para diversos parámetros (linealidad, precisión, etc.).

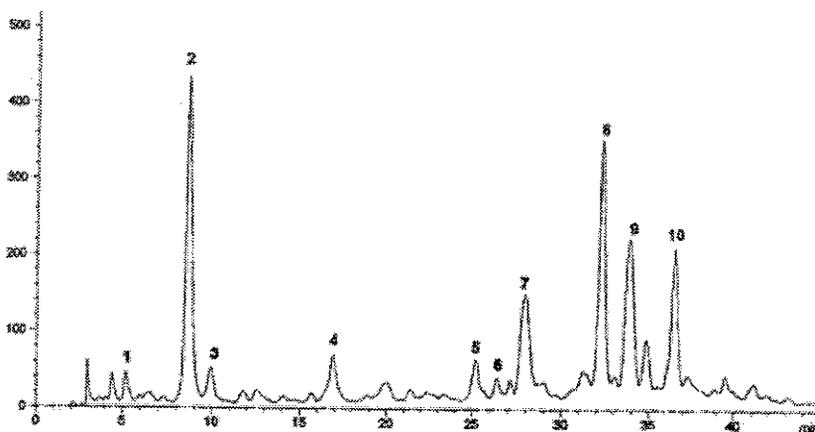


Figura 3

Cromatograma HPLC del perfil fenólico de una muestra destilada de hinojo. Compuestos: 1. ácido neoclorogénico; 2. ácido clorogénico; 3. ácido criptoclorogénico; 4. ácido 1,3-O-dicafeoilquinico; 5. eriocitrina; 6. rutina; 7. miquelianina; 8. ácido 1,5-O-dicafeoilquinico; 9. ácido 1,4-O-dicafeoilquinico y 10. ácido rosmarínico.

Contenido de fenoles en distintas muestras de hinojo

Los tres tipos de material de hinojo analizado mostraron un perfil fenólico distinto, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Así, mientras el principal compuesto fenólico del hinojo sin destilar fue el ácido clorogénico, en el material destilado fue el ácido rosmarínico, y en los frutos la miqueliana y el ácido 1,3-*O*-dicafeoilquinico (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido fenólico en diferentes muestras de hinojo. Los valores (expresados en mg/100 g de peso seco) son la media de diez repeticiones \pm desviación estándar

Compuesto	Material sin destilar	Material destilado	Frutos
Ácido 3- <i>O</i> -cafeoilquinico (ác. neoclorogénico)	132.5 \pm 3.4	40.0 \pm 2.5	Trazas
Ácido 5- <i>O</i> -cafeoilquinico (ác. clorogénico)	208.2 \pm 11.5	238.9 \pm 11.6	100.7 \pm 3.2
Ácido 4- <i>O</i> -cafeoilquinico (ác. criptoclorogénico)	Trazas	52.8 \pm 1.9	Trazas
Eriodictiol-7- <i>O</i> -rutinosido (eriodictina)	Trazas	185.1 \pm 16.3	Trazas
Quercetin-3- <i>O</i> -rutinosido (rutina)	32.3 \pm 2.1	42.2 \pm 0.9	30.6 \pm 1.8
Quercetin-3- <i>O</i> -glucurónido (miqueliana)	99.4 \pm 5.3	236.1 \pm 22.8	230.9 \pm 10.7
Ácido 1,4- <i>O</i> -dicafeoilquinico	41.2 \pm 2.3	53.5 \pm 3.2	26.1 \pm 2.2
Ácido 1,5- <i>O</i> -dicafeoilquinico	166.1 \pm 4.7	308.2 \pm 17.9	100.5 \pm 5.1
Ácido 1,3- <i>O</i> -dicafeoilquinico	144.1 \pm 8.6	211.2 \pm 6.3	221.9 \pm 16.9
Ácido rosmarínico	125.5 \pm 7.1	478.0 \pm 13.9	98.2 \pm 4.1
Total HPLC ¹	949.3 \pm 23.6	1846.0 \pm 97.3	808.9 \pm 44.0
Total FC ²	2518.0 \pm 20.1	3051.8 \pm 110.7	2402.8 \pm 167.4
Relación HPLC/FC ³	37.7	60.5	33.7

1 Fenoles totales cuantificados por HPLC

2 Fenoles totales determinados por el método de Folin-Ciocalteu

3 Proporción (%) del contenido fenólico determinado por HPLC con respecto al contenido total de fenoles

Además, el material destilado mostró un contenido de eriocitrina relativamente elevado, flavonoide éste que se presentó solamente en trazas en los otros dos tipos de materiales analizados. En general, el contenido de compuestos fenólicos en el material destilado fue superior al del material sin destilar, mientras que los frutos mostraron los menores niveles de fenoles en los tres tipos de muestras

En el caso del hinojo destilado, el contenido de fenoles determinado por HPLC representó el 60.5 % del contenido total de fenoles determinados por el método de Folin-Ciocalteu, acumulando así un mayor contenido de compuestos activos que el material sin destilar y que los frutos de hinojo, materiales en los que dicho porcentaje fue del 37.7 % y 33.7 %, respectivamente.

Conclusiones

En este trabajo, el fraccionamiento bioguiado del extracto crudo del material de hinojo previamente destilado condujo a la identificación de siete compuestos con actividad captadora de radicales: los ácidos clorogénico, rosmarínico y 1,5-di-*O*-caffeoilquinico, y los flavonoides eriocitrina (eriodictiol-7-*O*-rutinósido), rutina (quercetin-3-*O*-rutinósido), hiperósido (quercetin-3-*O*-galactósido) y camferol-3-*O*-rutinósido. A excepción del ácido clorogénico, identificado en la variedad dulce de *Foeniculum vulgare* (Bilia et al., 2000), y del camferol-3-*O*-rutinósido, presente en la variedad amarga del hinojo (Kunzemann et al., 1977), el resto de los productos aislados no se han descrito anteriormente en el hinojo. Por el contrario, el aglicón quercetina y el flavonoide camferol-3-*O*-arabinósido, que se habían descrito en los frutos del hinojo (Kunzemann y Herrmann, 1977), no se han encontrado en este residuo vegetal.

La identificación de estos compuestos en el hinojo pone de manifiesto la conexión entre su composición química y su actividad antioxidante. Además, estos resultados pueden contribuir a la interpretación de los efectos farmacológicos de esta planta medicinal, y a dar soporte a la posibilidad de que el hinojo posee efectos protectores para la salud humana. Además, aparte de su uso en la dieta mediterránea como una especia o en la medicina popular, el residuo deri-

vado de su destilación para aceites esenciales constituye una fuente accesible de antioxidantes naturales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Gobierno de Aragón a través de las Ayudas a la Experimentación, del Departamento de Agricultura, y por la Generalitat de Catalunya (referencia 2001SGR - 00124), y se ha realizado en el marco del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED, Proyecto IV.11). Los autores están especialmente agradecidos a la Dra. Olga Jáuregui, de los Servicios Científicotécnicos de la Universidad de Barcelona, por su asistencia técnica en la identificación de los compuestos fenólicos por LC/MS

Bibliografía

- Bilia AR, Fumarola M, Gallori S, Mazzi G, Vincieri FF (2000):** Identification by HPLC-DAD and HPLC-MS analyses and quantification of constituents of fennel teas and decoctions J Agric Food Chem 48. 4734-4738
- Chen CP, Yokozawa T, Chung HY (1999):** Inhibitory effect of caffeis analogues isolated from *Salviae miltiorrhizae radix* against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical Exper Toxicol Pathol 51. 59-63
- Crowden RK, Harbone JB, Heywood VH (1969):** Chemosystematics of the Umbelliferae A general survey Phytochem 8, 1963-1984
- Harbone JB, Saleh NAM (1971):** Flavonoid glycoside variation in fennel *Foeniculum vulgare* Phytochem 10 399-400
- Kunzemann J, Herrmann K (1977):** Isolation and identification of flavon(ol)-O-glycosides in caraway (*Carum carvi* L.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) anise (*Pimpinella anisum* L.) and coriander (*Coriandrum sativum* L.) and of flavon-C-glycosides in anise I Phenolics of spices. Zeitschrift für Lebensmittel-Untercuchung und Forschung 164 194-200.
- Murray RDH, Méndez J, Brown SA (1982)** The Natural Coumarins Occurrence Chemistry, Biochemistry. Wiley & Sons Chichester. U K
- Nakatani N, Kayano S, Kikuzaki H, Sumino K, Katagiri K, Mitani T (2000)** Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) J Agric Food Chem 48 5512-5516
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Flerlage N, Burillo J, Codina C (2002):** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non-distilled Mediterranean herbs and aromatic plants J Agric Food Chem 50. 6882-6890

- Parejo I, Jáuregui O, Sánchez-Rabaneda F, Viladomat F, Bastida J, Codina C** (Re-mitido) Separation and characterisation of phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) using liquid chromatography-negative electrospray ionization tandem mass spectrometry J Agric Food Chem
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Schmeda-Hirschmann G, Burillo J, Codina C** (En prensa) Bioguided isolation and identification of the non-volatile antioxidant compounds from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) waste J Agric Food Chem
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Codina C** (En prensa) High-performance liquid chromatographic analysis of the main antioxidative phenolic compounds in fennel (*Foeniculum vulgare*) Anal Chim Acta
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganda G (1996):** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Rad Biol Med 20, 933-956
- Ruberto G, Baratta MT, Deans SG, Dorman HJ (2000):** Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. Planta Medica 66, 687-693
- Schmidtlein H, Herrmann K (1975):** On the phenolic acids of vegetables. IV. Hydroxycinnamic acids and hydroxybenzoic acids of vegetables and potatoes. Zeitschrift für Lebensmittel-Untercuchung und Forschung 159, 155-263
- Soliman FM, Shehata AH, Khaleel AE, Ezzat SM (2002)** An acetylated kaempferol glycoside from flowers of *Foeniculum vulgare* and *F. Dulce*. Molecules 7, 245-251
- Yokozawa I, Dong E, Liu ZW, Shimizu M (1997):** Antioxidative activity of flavones and flavonols in vitro. Phytotherapy Res 11, 446-449