

Compuestos fenólicos, minerales, capacidad antioxidante y antihipertensiva de pingüica (*Arctostaphylos pungens*)

Phenolic compounds, minerals, antioxidant and antihypertensive capacity of pointleaf manzanita (*Arctostaphylos pungens*)

Ricardo Omar Navarro-Cortez¹, Xochitl Tovar-Jimenez², Saraíd Mora-Rochín³,
Jesús Jaime Rochín-Medina⁴, Jesús Aguayo-Rojas^{*5}

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Rancho Universitario, Avenida Universidad Km. 1, Ex-Hacienda de Aquetzalpa. Tulancingo, Hidalgo, México. CP. 43600.

²Universidad Politécnica de Pachuca. Carr. Pachuca-Cd. Sahagún Km. 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara. Zempoala, Hidalgo, México. CP. 43830.

³Universidad Autónoma de Sinaloa. Boulevard de las Américas S/N, Col. Universitaria. Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80000.

⁴Instituto Tecnológico de Culiacán. Juan de Dios Batiz S/N, Col. Guadalupe. Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80220.

⁵Universidad Autónoma de Zacatecas, Químico en Alimentos, Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 6, La Escondida. Zacatecas, Zacatecas, México. CP. 98160. Email: jesus_aguayo@uaz.edu.mx

*Autor de correspondencia

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos; minerales como Ca, Fe, Mg, Mn y Zn; la capacidad antioxidante por DPPH, ABTS y ORAC; y la actividad antihipertensiva en pingüica colectada en Zacatecas. El contenido de flavonoides, taninos, cumarinas y fenólicos fue de 52 mg equivalentes de catequina/100 g, 278 mg equivalentes de catequina/100 g, 67 mg equivalentes de cumarina/100 g y 323 mg equivalentes de ácido gálico/100 g, respectivamente. En cuanto a la capacidad antioxidante, se obtuvieron niveles de 6214 μmol equivalentes de trolox/100 g, 8465 μmol equivalentes de trolox/100 g y 7141 μmol equivalentes de trolox/100 g para DPPH, ABTS y ORAC, respectivamente. La actividad antihipertensiva, evaluada mediante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I, presentó una inhibición del 50%. El contenido de Ca y Fe detectado en pingüica cumple con los requerimientos diarios de consumo, y el contenido de Mg, Mn y Zn se encontró por debajo de la dosis diaria recomendada.

Palabras clave: Fitoquímicos; capacidad antioxidante; actividad antihipertensiva; minerales.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the content of phenolic compounds; minerals such as Ca, Fe, Mg, Mn, and Zn; antioxidant capacity by DPPH, ABTS, and ORAC; and antihypertensive activity in pointleaf manzanita collected in Zacatecas. The content of flavonoids, tannins, coumarins, and phenolics was 52 mg catechin equivalents/100 g, 278 mg catechin equivalents/100 g, 67 mg coumarin equivalents/100 g, and 323 mg gallic acid equivalents/100 g, respectively. Regarding the antioxidant capacity, levels of 6214 μmol equivalents of trolox/100 g, 8465 μmol equivalents of trolox/100 g, and 7141 μmol equivalents of trolox/100 g were obtained for DPPH, ABTS, and ORAC, respectively. The antihypertensive activity, evaluated through the inhibition of the angiotensin converting enzyme I, presented an inhibition of 50%. The content of Ca and Fe detected in pointleaf manzanita fulfills the daily consumption requirements, and the content of Mg, Mn, and Zn were found in quantities below the recommended daily dose.

Keywords: Phytochemicals; antioxidant capacity; antihypertensive activity; minerals.

Recibido: 03 de junio de 2021

Aceptado: 10 de enero de 2022

Publicado: 09 de febrero de 2022

Cómo citar: Navarro-Cortez, R. O., Tovar-Jimenez, X., Mora-Rochín, S., Rochín-Medina, J. J., & Aguayo-Rojas, J. (2022). Compuestos fenólicos, minerales, capacidad antioxidante y antihipertensiva de pingüica (*Arctostaphylos pungens*). *Acta Universitaria* 32, e3231. doi: <http://doi.org/10.15174/au.2022.3231>

Introducción

En individuos sanos, existe un equilibrio entre el sistema de defensa antioxidante natural y las especies reactivas de oxígeno (ROS), generados por los organismos vivos y por fuentes exógenas. Cuando el equilibrio es interrumpido, los ROS pueden inducir daño oxidativo a varias biomoléculas como proteínas, lípidos, DNA y RNA, originando daño estructural celular (Velazquez *et al.*, 2005). Las frutas contienen niveles altos de compuestos biológicamente activos que imparten beneficios a la salud, además de los valores nutricionales básicos. Los antioxidantes naturales han sido de interés debido a su seguridad y a su potencial efecto terapéutico (Belhadj *et al.*, 2016); estos son capaces de actuar como neutralizadores de radicales libres, inhibidores enzimáticos y sinergistas. Los antioxidantes naturales de origen vegetal como flavonoides, taninos y antocianinas son seguros y además son bioactivos (Mohsen & Ammar, 2009). Estudios epidemiológicos han revelado una asociación positiva entre el consumo de frutas y una reducción de ciertas enfermedades crónico-degenerativas, como enfermedades cardiovasculares, hipertensión y ciertos tipos de cáncer (Manzoor *et al.*, 2012). La mejor manera de suministrar antioxidantes al cuerpo humano es comer de cinco a nueve porciones de frutas como fresas y todo tipo de arándanos, que son ricas en antioxidantes como polifenoles (Giampieri *et al.*, 2014).

Además de los fitoquímicos, los minerales son reguladores esenciales de los procesos fisiológicos en humanos. Más de un tercio de todas las proteínas del cuerpo humano requieren iones metálicos para su función, y una carencia de estos puede tener un impacto significativo en la salud (Konczak & Roulle, 2011). Las frutas son fuentes importantes de minerales para la dieta y su contenido es muy variado entre cada una de ellas, por lo que es importante determinar su tipo y contenido de minerales para promover su consumo (Mirdehghan & Rahemi, 2007). La pingüica (*Arctostaphylos pungens*) es nativa del suroeste de Estados Unidos y del norte-centro de México. Esta crece en hábitats de chaparrales y bosques, donde forma arbustos erguidos y extensos de 1 m a 3 m de altura (Márquez *et al.*, 2005). El fruto es pequeño y con forma de manzana, de ahí su nombre de manzanita o manzanilla, con un diámetro de 5 mm a 8 mm, lisa, de color rojo oscuro o rojo amarillento y sabor agridulce, la cual es comida por aves y otros animales salvajes. El fruto puede ser consumido crudo o cocido. Los frutos son secados y molidos para ser usados como saborizante. El té, elaborado de sus hojas o frutos, es empleado para tratar la bronquitis y problemas urinarios (Berg, 1974; Weise *et al.*, 1991). En la zona serrana del estado de Zacatecas este fruto crece de manera natural, no obstante, no existen estudios que indiquen su potencial nutraceutico y su contenido de compuestos fenólicos, por lo que el objetivo de la presente investigación es cuantificar los niveles de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, actividad antihipertensiva y contenido de minerales de este fruto, con el fin de determinar sus posibles propiedades nutraceuticas.

Materiales y Métodos

Frutos maduros de pingüica (*Arctostaphylos pungens*) fueron colectados en el municipio de Monte Escobedo, Zacatecas, México (22° 18' 00" N; 103° 35' 00" O) en el mes de noviembre del 2019. El material fue secado en un horno convección (Precision Instruments, Model DN-43) a 35 °C por 2 días. Los frutos secos fueron molidos (UD Cyclone Sample Mill, UD Corp., Boulder, CO) hasta pasar por una malla 80-US (0.180 mm) y empacados en bolsas de plástico (1 kg). La harina de pingüica resultante fue almacenada a -20 °C (Thermo Scientific) hasta su uso.

Extracción de fitoquímicos

0.5 g de harina se mezclaron con 10 ml de metanol al 80%; esta suspensión se agitó en un rotador (OVAN noria R, EUA, 2010) por 10 min y fue centrifugada a 3000 x g/10 °C/10 min. El sobrenadante se concentró a 35 °C (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta alcanzar un volumen final de 2 ml (Adom & Liu, 2002).

Flavonoides

En una placa de 96 celdas se agregaron 20 µl del extracto de fitoquímicos. Los extractos se mezclaron con 80 µl de agua destilada y 6 µl de NaNO₂ al 5%, y se reposó por 5 min. Posteriormente, fueron adicionados 12 µl de AlCl₃ al 10%, 10 µl de NaOH 1 M y 20 µl de agua destilada. La absorbancia fue determinada a 510 nm (Synergy HT, Biotek Instrument), después de 30 minutos. Se preparó una curva de calibración (R² = 0.975) utilizando catequina (25 ppm-300 ppm), y el contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Adom & Liu, 2002).

Taninos condensados

Se mezcló 1 g de harina con 10 ml de acetona al 80%, posteriormente, se tomó una alícuota de 20 µl del extracto y la misma cantidad de una curva estándar de catequina; se mezclaron con 1200 µl de vainillina al 4% en metanol y 600 µl de HCL concentrado. Se dejaron en reposo durante 15 min. Se midió la absorbancia a 500 nm (Synergy HT, Biotek Instrument). Los resultados se calcularon y expresaron como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g, empleando una curva de calibración (R² = 0.995) de catequina 50 µg/ml a 1000 µg/ml. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Xu & Chang, 2007).

Cumarinas

Se mezcló 24 mg de la harina de pingüica con 50 ml de una solución metanol/agua (80:20). Una segunda dilución se realizó tomando una alícuota de 8 ml de la solución stock en 25 ml de la solución metanol/agua (80:20), obteniendo una concentración final teórica de 153.6 µg/ml. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (Synergy HT, Biotek Instrument) a una longitud de onda de 275 nm. Se preparó una curva de calibración (R² = 0.996) tomando como estándar de cumarina la 2H-1-benzopirano-2-ona de Fluka (Sigma-Aldrich), y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de cumarina (ECU)/100 g. Las mediciones se realizaron por triplicado (Soares *et al.*, 2012).

Compuestos fenólicos

En una placa de 96 celdas se agregaron 20 µl del extracto de fitoquímicos y se mezclaron con 180 µl del reactivo de Folin Ciocalteu, la reacción se neutralizó con 50 µl Na₂CO₃ al 7% y se reposó por 90 min. La absorbancia fue registrada a 750 nm (Synergy HT, Biotek Instrument), y se preparó una curva de calibración (R² = 0.994) utilizando ácido gálico como estándar. El contenido de fenólicos totales fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/100 g. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Singleton *et al.*, 1999).

Capacidad antioxidante por DPPH

Se preparó una solución 150 mM de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) en metanol al 80%, se mezcló 20 µl de la curva estándar de trolox y del extracto de fitoquímicos con 200 µl de la solución de DPPH en una placa de 96 celdas. Se incubó por 30 minutos en oscuridad. La absorbancia fue determinada a 540 nm. Se construyó una curva estándar de trolox (0-120 µM), y la actividad antiradical fue expresada como µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Cardador-Martínez *et al.*, 2002).

Capacidad antioxidante por ABTS

El radical ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM) mezclados en partes iguales e incubados en oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical, se diluyó en una solución amortiguadora de fosfatos hasta obtener un valor de absorbancia entre 0.70 ± 0.02 a 735 nm. A 1980 µl de la dilución del radical ABTS•+ se le añadieron 20 µl de extracto de fitoquímicos y se incubaron por 15 min en oscuridad para posteriormente medir la absorbancia a 735 nm. Se construyó una curva estándar de trolox (25-125 µM). La actividad antiradical fue expresada como µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Re *et al.*, 1999).

Capacidad antioxidante por el método ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno)

Los extractos fueron evaluados empleando Trolox como estándar y fluoresceína como prueba. Los radicales peroxilo fueron generados por 2,2-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro, y la pérdida de fluorescencia fue monitoreada en un Synergy Microplate Reader (Synergy™ HT Multi-Detection, BioTek, Inc., Winooski, VT). La absorbancia de excitación y emisión fueron fijadas a 485 nm y 538 nm, respectivamente. La actividad antioxidante fue expresada como µmol equivalentes de Trolox (ET)/ 100 g. Las determinaciones se realizaron por triplicado (Ou *et al.*, 2001).

Minerales

El contenido de minerales se realizó utilizando el método 955.06 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1998) a partir de muestras calcinadas (450 °C, 6 h) y digeridas con HCl concentrado, utilizando un espectro de absorción atómica (Perkin-Elmer 2380). Los resultados de minerales fueron expresados como partes por millón (ppm). Todos los resultados fueron expresados en base seca (bs). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

Se midió la actividad de 0.05 ml de la ECA frente a su sustrato, Hipuril-L-Histidil-L-Leucina (SIGMA) a una concentración (% p/v) de 0.30%. Bajo las mismas condiciones se realizó la medición de la actividad de la ECA adicionando enalapril (SIGMA), a una concentración de 0.4 % p/v como control positivo. De la misma manera, se evaluó la propiedad inhibitoria en los extractos de pingüica. La concentración de cada uno fue de 0.2% p/v en un buffer de fosfatos PBS. Se realizó una incubación a 37 °C por 30 min de la enzima con su sustrato y, según era el caso, con los inhibidores. La reacción fue detenida con 0.25 ml de HCl 1 M. Posteriormente, se realizó una extracción del producto de la actividad enzimática (ácido hipúrico) con 1.0 ml de acetato de etilo, seguido de su evaporación. Este producto se solubilizó en 1.5 ml de agua destilada. Se determinó la absorbancia del producto obtenido a una longitud de onda de 228 nm. Todos los análisis se realizaron por triplicado (Wang *et al.*, 2003). La actividad de antihipertensiva se expresó como % inhibición de la ECA y se calculó como sigue:

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia muestra}) / (\text{Absorbancia control}) \times 100$$

Análisis de datos

Los valores reportados para cada una de las respuestas analizadas son los promedios \pm desviación estándar. Una curva de calibrado representa la respuesta de un método analítico a concentraciones conocidas de analito. Las disoluciones que contienen concentraciones conocidas de analito se llaman disoluciones estándar (Harris, 2003). Las curvas de calibración para flavonoides, taninos, cumarinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante por DPPH, ABTS y ORAC se obtuvieron preparando disoluciones a diferentes concentraciones del estándar mencionado en el apartado de materiales y métodos para cada una de las respuestas evaluadas. La absorbancia de cada una de estas soluciones se determinó en un espectrofotómetro utilizando una longitud de onda diferente dependiendo de la prueba (flavonoides 515 nm, taninos condensados 500, cumarinas 275 nm, fenoles 750 nm, DPPH 540 nm, ABTS 735 nm). Una vez obtenidas las absorbancias de las soluciones, se construyó un gráfico de dispersión con las concentraciones de las diferentes soluciones en el eje X y la absorbancia en el eje Y. Utilizando el método de mínimos cuadrados, los datos se ajustaron a una línea recta, donde se obtuvo la ecuación de la recta del tipo $Y = mx + b$: donde Y es la variable dependiente (absorbancia), b es el intercepto, m es la pendiente de la recta y X es la variable independiente (concentración de los estándares). El análisis de regresión permite predecir el valor de una variable dependiente basado en el valor de una variable independiente (Kumari & Yadav, 2018). El coeficiente de determinación (R^2) de los modelos de regresión se obtuvo de la siguiente manera (Moore & McCabe, 1999):

$$R^2 = \frac{SSR \text{ (regresión)}}{SST}$$

SSR: suma de cuadrados de la regresión

SST: Suma de cuadrados totales

El coeficiente de determinación (R^2) es la porción de la variación total de la variable dependiente, que puede ser explicada por la variable independiente. Cuando $R^2 = 1$, se dice que el 100% de la variación en la variable dependiente es explicada por la variable independiente (Kumari & Yadav, 2018). En la Tabla 1 se presenta el análisis de varianza para cada uno de los modelos de regresión, ajustado para cada curva de calibración, así como los valores de r y R^2 . De acuerdo con los valores obtenidos de R^2 , los modelos explican más del 97% de la variabilidad de los valores de la absorbancia en función del cambio de concentración del estándar en la disolución.

Tabla 1. Análisis de varianza, coeficientes de correlación y coeficientes de determinación de las curvas de calibración.

Modelo		Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Valor p	r	R^2 ajustada
Flavonoides	Regresión	0.287	0.287	275.62	3.04E-6	0.989	0.975
	Residuos	0.006	1.04E-3				
	Total	0.293					
Taninos condensados	Regresión	0.0975	9.75E-2	1056.55	5.34E-6	0.998	0.995
	Residuos	3.69E-4	3.69E-4				
	Total	0.0979					
Cumarinas	Regresión	1.653	1.653	7654.53	1.09E-35	0.998	0.996
	Residuos	6.5E-3	2.16E-4				
	Total	1.660					
Compuestos fenólicos	Regresión	0.031	0.031	714.69	0.0001	0.997	0.994
	Residuos	0.0001	4.33E-5				
	Total	0.031					
DPPH	Regresión	0.381	0.381	2702.13	4.98E-8	0.999	0.997
	Residuos	7.03E-4	1.41E-4				
	Total	0.381					
ABTS	Regresión	0.111	0.111	210.32	1.31E-4	0.991	0.977
	Residuos	2.11E-3	5.27E-4				
	Total	0.113					
ORAC	Regresión	0.746	0.746	3581.74	1.03E-5	0.999	0.998
	Residuos	0.0006	2.08E-4				
	Total	0.747					

Fuente: Elaboración propia.

Resultados

Flavonoides

El contenido de flavonoides obtenido en pingüica fue 52.2 mg EC/100 g (Tabla 2). No existen reportes del contenido de flavonoides en pingüica, pero lo reportado en otras frutas como ciruela, kiwi y manzana es de 118 mg EC/100 g (bs) a 239 mg EC/100 g (bs) (Awad *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2003; Park *et al.*, 2014), valores arriba a lo encontrado en nuestro estudio.

Tabla 2. Compuestos fenólicos.

Material	Flavonoides ¹	Taninos ²	Cumarinas ²	Fenólicos Totales ⁴
Pingüica	52.2 ± 2.1	278.02 ± 1.92	67 ± 16	323.4 ± 5.6

¹Miligramos equivalentes de catequina/100 g

²Miligramos equivalentes de catequina/100 g

³Miligramos equivalentes de cumarina/100 g

⁴Miligramos equivalentes de ácido gálico/100 g

Fuente: Elaboración propia.

Taninos

En el presente estudio el contenido de taninos fue de 278.02 mg EC/100 g (Tabla 2). El contenido de taninos reportado en algunas frutas (durazno, caqui, kiwi, arándanos) es de 240 mg EC/100 g a 597 mg EC/100 g, pero en pingüica no existen reportes sobre su contenido (Belhadj *et al.*, 2016; Del Bubba *et al.*, 2009; McDougall *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2011).

Cumarinas

En el presente estudio se encontró un valor de 46 mg ECU/100 g (Tabla 2); no existen reportes del contenido de cumarinas en pingüica. El método usado en la presente investigación es el desarrollado por Soares *et al.* (2012), donde reportaron valores de 4.7 g ECU/100 g a 5.0 g ECU/100 g en harinas de hojas de guaco (*Mikania glomerata*), una planta trepadora de Brazil, que es empleada en la medicina tradicional para el tratamiento del asma, tos y bronquitis. Esta planta es conocida por sus altos contenidos de cumarinas, por lo que se puede considerar una presencia significativa de este compuesto en nuestra muestra.

Fenólicos totales

El contenido total de fenólicos fue de 323.4 mg EAG/100 g (Tabla 2). No existen reportes acerca del contenido de fenólicos en *Arctostaphylos pungens*, pero en otras frutas (fresa, mango, ciruela, tuna, pera, zarzamora) el contenido de estos compuestos es de 218 mg EAG/100 (bs) a 440 mg EAG/100 (bs) (Arion *et al.*, 2014; Clerici & Carvalho-Silva, 2011; Crecente-Campo *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2010).

Actividad antioxidante

Los valores de actividad antioxidante de la pingüica se muestran en la Tabla 3. No existen reportes que nos indiquen la actividad antioxidante en la pingüica, pero los datos reportados en otras frutas por el método DPPH varían de 2010 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ a 3200 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (ciruela, guayaba, durazno), por ABTS varían de 2230 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ a 7500 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (ciruela, guayaba, durazno) y por ORAC varían de 1002 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ a 9584 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ (ciruela negra, durazno, uva, arándano azul, manzana, mango, pera, fresa,) (Arion *et al.*, 2014; Floegel *et al.*, 2011; Kristl *et al.*, 2011; Mokrani & Madani, 2016; Thaipong *et al.*, 2006). Y los valores obtenidos en *Arctostaphylos pungens* por DPPH, ABTS y ORAC fueron 6214 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, 8465 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ y 7141 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, respectivamente. Los resultados obtenidos por los tres métodos mostraron que la capacidad antioxidante en pingüica es alta en comparación con los valores reportados en otras frutas por los tres métodos.

Tabla 3. Capacidad antioxidante.

Material	ORAC ¹	DPPH ²	ABTS ³
Pingüica	7141 \pm 95	6214 \pm 132	8465 \pm 124

^{1,2,3} $\mu\text{mol equivalentes de Trolox}/100\text{ g}$

Fuente: Elaboración propia.

Minerales

El contenido de minerales en pingüica es mostrado en la Tabla 4. El calcio es esencial para la estructura y funcionamiento de huesos y dientes; el requerimiento diario en adultos es de 800 mg/día a 1200 mg/día, (Shin & Kim, 2015). En este estudio se obtuvo un valor de 1345 mg/100 g. El hierro es un mineral esencial, su consumo diario requerido para adultos es de 10 mg/día a 15 mg/día (Leterme *et al.*, 2006), su contenido en pingüica fue de 169.5 mg/100 g. El Mg fue el tercer mineral detectado en mayor cantidad con 10.7 mg/100 g, los requerimientos diarios de este mineral en adultos es de 300 mg/día a 400 mg/día (Berto *et al.*, 2015). El cuerpo humano contiene entre 2 g a 3 g de Zn, y el 0.1% de este tiene que ser repuesto diariamente. El consumo diario requerido de Zn es de 12 mg/día a 15 mg/día (Mareta & Sandstead, 2006), y lo detectado en pingüica fue de 4.2 mg/100 g. La dosis diaria requerida para Mn es de 1.8 mg/día a 2.3 mg/día, y lo obtenido en pingüica fue de 0.725 mg/100 g (Berto *et al.*, 2015). El contenido de minerales en frutas varía de acuerdo con la planta, su madurez, condiciones del suelo, clima y prácticas agrícolas (Mirdehghan & Rahemi, 2007).

Tabla 4. Minerales.

Muestra	Ca ppm	Mg ppm	Fe ppm	Zn ppm	Mn ppm
Pingüica	13 450 ± 1.06	107 ± 1.04	1695 ± 0.98	42 ± 0.87	7.25 ± 0.95

Fuente: Elaboración propia.

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina

El extracto metanólico de pingüica logró una inhibición de la ECA del 50%. No existen estudios científicos que señalen el efecto de la pingüica sobre la ECA; no obstante, sí existen reportes con otras frutas con sus respectivos valores inhibidores, como lo son plátano, granada, litchi (50%) y fresa (38%). Además, se ha reportado que la cáscara y semillas de la uva han alcanzado porcentajes de inhibición de hasta un 80% (Cheplick *et al.*, 2010; Fernandez & Labra, 2013; Kessy *et al.*, 2018), mientras que el control positivo enalapril presentó una inhibición de la enzima del 98% ± 1%.

Discusión

Flavonoides

Actualmente, existe un creciente interés en los flavonoides, debido a la posibilidad de mejorar la salud pública a través de la dieta promovida por el consumo de frutas, donde este fitoquímico se encuentra en cantidades considerables (Ignat *et al.*, 2011). Las frutas son una buena fuente de flavonoides, aunque no existen reportes del contenido total de estos fitoquímicos en pingüica. La presencia de flavonoles como quercetina, miricetina y kaempferol con sus glucósidos y la catequina han sido reportados previamente en *Arctostaphylos pungens* y *Arctostaphylos uva-ursi* (Panusa *et al.*, 2015). Con la excepción de los flavan-3-oles (catequinas), los flavonoides se acumulan principalmente en forma de glucósidos y están a menudo concentrados en las células epidérmicas superiores de las cáscaras de las frutas. La determinación de flavonoides presentes en frutas es un tema que está estrechamente relacionado con los beneficios a la salud de los alimentos de origen vegetal. La investigación sobre la cuantificación de los flavonoides en frutas, como la pingüica, es necesaria para revelar la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de estos compuestos en la dieta humana, aunque el contenido de flavonoides en pingüica resultó menor. Comparado con otros frutos, la capacidad antioxidante fue superior a otros frutos, por lo que la actividad antioxidante en pingüica está relacionada con otros fitoquímicos y no con los flavonoides.

Taninos

El contenido de taninos en frutas ha sido por mucho tiempo de interés en alimentos debido a su importancia en la calidad de las frutas y sus productos, los taninos están asociados con el color, astringencia y amargor en las frutas (Landete, 2012). Por otra parte, varias investigaciones han revelado el efecto anticarcinogénico, actividad antiinflamatoria, antimutagénica, antimicrobiana y antioxidante de los taninos (Borges-Argáez *et al.*, 2007; Prior & Gu, 2005). Los taninos contienen al ácido tánico como unidad estructural, tienen un peso molecular relativamente alto y son divididos usualmente en dos grupos: hidrolisables (galotaninos y elagitaninos) y condensados, también conocidos como proantocianidinas (Hagerman & Butler, 1991). Estas diferencias en la estructura química hacen que las investigaciones sean dirigidas hacia sus propiedades biológicas o su relación en su actividad-estructura. Los taninos condensados se acumulan en la vacuola, a menudo se encuentran en las capas epidérmicas y subepidérmicas de las frutas (Kao *et al.*, 2002). En cambio, los taninos hidrolizables son conocidos por encontrarse en la pared celular (Grundhöfer *et al.*, 2001). Los taninos condensados son más estables y no son fácilmente desdoblados. La presencia de galotaninos ha sido previamente reportada (monogaloilglucosa, digaloilglucosa, trigaloilglucosa, tetragaloilglucosa y pentagaloilglucosa) en *Arctostaphylos pungens* y *Arctostaphylos uva-ursi* (Olennikov & Chekhirova, 2013; Panusa *et al.*, 2015), además de la presencia de elagitaninos. El contenido de taninos condensados en frutas es afectado principalmente por las condiciones ambientales de las áreas de cultivo y el grado de maduración de las frutas, y puede estar influenciado por el almacenamiento y las condiciones de proceso (Serrano *et al.*, 2009). El efecto antioxidante de estos compuestos es atribuido principalmente a su modo de acción en neutralizar radicales libres, quelación de metales de transición, inhibición de enzimas prooxidantes y peroxidación lipídica (Koleckar *et al.*, 2008).

Cumarinas

Existen pocos reportes sobre el contenido de cumarinas en frutas, pero se han reportado hasta 15 diferentes tipos de cumarinas en frutos como el membrillo de bengala (*Aegle marmelos*). También se ha reportado su presencia en pomelo (*Citrus maxim*), un fruto cítrico, así como en los frutos de plantas como la *Cullen corylifolium* y la *Angelica officinalis* L., siendo cuatro las principales cumarinas identificadas por HPLC: imperatorina, isoimperatorina, xantotoxina y bergapteno (Sezer *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2018). Las cumarinas son una de las 8000 estructuras de compuestos fenólicos o polifenoles reportadas que están presentes en los vegetales. Las cumarinas están ampliamente distribuidas en diferentes partes anatómicas de las plantas, son conocidas por su agradable olor a vainilla y se encuentran en altas concentraciones en frutas como el membrillo de Bengala (*Aegle marmeleos*), así como en semillas, raíces, cortezas y hojas (Borges *et al.*, 2013). Su estructura básica consta de un anillo bencénico, unido a un anillo α -pirona con un átomo de oxígeno en la posición α , y un grupo cetona en el carbono 2 (C2); además, son derivados del ácido cinámico. A este esqueleto básico se le pueden adicionar diferentes residuos, formando así la familia de las cumarinas. Adicionalmente, de acuerdo con estas distintas estructuras, pueden tener diferentes actividades bioactivas, como antibacterianas, antioxidante, antiinflamatorias, anticoagulantes y sobre todo anticarcinogénica (Kubrak *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2014).

Compuestos fenólicos

La distribución y el contenido de los compuestos fenólicos en frutas son de interés debido a sus beneficios a la salud. Estos beneficios están asociados con sus propiedades antioxidantes, no obstante, hoy en día más evidencia señala su efecto como moléculas involucradas en numerosas vías de señalización y, de esta forma, afectar funciones celulares y en la expresión de genes, además de su efecto directo en el sistema digestivo (Battino *et al.*, 2009). La distribución y composición de los compuestos fenólicos en frutas son afectados por la madurez, tipo de cultivar, prácticas hortícolas, origen geográfico, estación de crecimiento, condiciones de almacenamiento en poscosecha y condiciones de procesamiento (Kim *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos más comunes en frutas son antocianinas, glucósidos de flavonoles, proantocianidinas y ácidos hidroxicinámicos (Määttä-Riihinen *et al.*, 2004).

Actividad antioxidante

Los compuestos antioxidantes son capaces de neutralizar radicales libres y de esta forma reducir el riesgo de enfermedades crónicas. Hoy en día, la actividad antioxidante en las frutas ha sido tomada como un indicador de sus efectos benéficos para la salud humana (Prior & Wu, 2013). La especificidad y sensibilidad de un solo método no indica la completa exanimación de los fitoquímicos en el extracto; de esta forma, la combinación de varios métodos puede proveer una evaluación más confiable del perfil de antioxidantes en piñuica. Tres ensayos fueron empleados para evaluar la capacidad antioxidante, cada ensayo tiene su propia ventaja y limitación, cada método emplea un radical libre diferente para determinar la capacidad antioxidante; de esta forma, los datos obtenidos por los tres métodos aumentan la confianza del potencial antioxidante de la piñuica, al poder neutralizar una mayor cantidad de radicales libres.

Minerales

Las frutas y hortalizas son fuentes valiosas de minerales, estos micronutrientes intervienen en numerosos procesos bioquímicos, y una ingesta adecuada de determinados minerales se relaciona con la prevención de diversas enfermedades. Aunque las principales fuentes de calcio en la dieta humana son los productos lácteos, su contenido en frutas como en lo detectado en piñuica no debe ser subestimado (Shin & Kim, 2015). El hierro está contenido en la hemoglobina en los glóbulos rojos de la sangre, la cual transporta el oxígeno de los pulmones hacia los tejidos del cuerpo, incluyendo los músculos y el cerebro (Konczak & Rouille, 2011). El Mg es un constituyente de los huesos y dientes, contribuye a la liberación de la hormona paratiroidea y la reacción de conversión de la vitamina D a su forma activa, además de la respiración en tejidos y la relajación de los músculos (Berto *et al.*, 2015; Elinge *et al.*, 2012). Deficiencia de Zn es común cuando alguien presenta síntomas de malnutrición y afecta al sistema inmune, en los sentidos del olfato y gusto, así como en la síntesis del DNA y RNA (Elinge *et al.*, 2012; Fraga, 2005). El Mn es un elemento tóxico a altas concentraciones, y en bajas dosis, es un elemento esencial. El Mn es un cofactor crucial para varias enzimas, incluyendo la enzima antioxidante, Mn superóxido dismutasa (MnSOD), así como piruvato carboxilasa, transferasas, hidrolasas y quinasas. El Mn también es importante en la sanación de heridas, digestión, reproducción y en la regulación de la energía celular (Freeland-Graves *et al.*, 2015).

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina

Diferentes tipos de compuestos contenidos en alimentos han sido investigados sobre sus propiedades inhibitorias de la ECA. Estos derivados pueden ser divididos dentro de tres categorías, péptidos de origen animal, vegetal y de microorganismos (Herrera *et al.*, 2014; Wilson *et al.*, 2011). Actualmente, diversos medicamentos son empleados para el control de la hipertensión arterial, estos pertenecen al grupo de

inhibidores de la ECA. Ejemplos de ellos son el captopril, enalapril, lisinopril y termocapril. Estos medicamentos generalmente actúan ligando el zinc, cofactor de la ECA, a un grupo sulfhidrilo, lo que permite bloquear eficazmente los lugares activos de la enzima e inhibir así su actividad biológica. No obstante, pueden producir efectos adversos tales como erupciones o sarpullidos en la piel, trastornos alimenticios, tos, entre otros (Laurent, 2017). Terpenoides y compuestos fenólicos, incluyendo a los flavonoides, taninos, así como algunos derivados del ácido cafeico, son algunos metabolitos secundarios producidos en frutas que han sido identificados como potenciales inhibidores de la ECA, con la ventaja de no presentar efectos secundarios (Ojeda *et al.*, 2010).

Conclusiones

Los resultados de esta investigación indican los primeros estudios sobre el contenido de fitoquímicos y el potencial nutraceútico de la pingüica. Estos resultados comprueban la presencia de compuestos fenólicos en el fruto. Los fitoquímicos contenidos en pingüica pueden ser usados como una fuente natural de antioxidantes; además, la pingüica presentó actividad antihipertensiva al poseer una actividad inhibitoria de la ECA. Así mismo, el contenido de minerales Ca y Fe cumplen con los requerimientos diarios de consumo.

Referencias

- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187. doi: <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Arion, C. M., Tabart, J., Kevers, C., Niculaua, M., Filimon, R., Beceanu, D., & Dommes, J. (2014). Antioxidant potential of different plum cultivars during storage. *Food Chemistry*, 146(1), 485-491. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.072>
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1998). *Official methods of analysis* (16th ed.). AOAC.
- Awad, M. A., de Jager, A., & van Westing, L. M. (2000). Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, 83(3-4), 249-263. doi: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(99\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(99)00124-7)
- Battino, M., Beekwilder, J., Denoyes-Rothan, B., Laimer, M., McDougall, G. J., & Mezzetti, B. (2009). Bioactivities of berries relevant to human health. *Nutrition Reviews*, 67(1), 145-50. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00178.x>
- Belhadj, F., Somrani, I., Aissaoui, N., Messaoud, C., Boussaid, M., & Nejib, M. (2016). Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during ripening of *Prunus persica* L. varieties from the North West of Tunisia. *Food Chemistry*, 204, 29-36. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.111>
- Berg, A. R. (1974). *Arctostaphylos* Adans. En C. S. Schopmeyer (ed.), *Seeds of woody plants in the United States* (pp. 228-231). CRC Inc.
- Berto, A., Fiori da Silva, A., Visentainer, J. V., Matsushita, M., & Evelázio de Souza, N. (2015). Proximate compositions, mineral contents and fatty acid compositions of native Amazonian fruits. *Food Research International*, 77, 441-449. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.018>
- Borges-Argáez, R., Canche-Chay, C. I., Pena-Rodríguez, L. M., Said-Fernandez, S., & Molina-Salinas, G. M. (2007). Antimicrobial activity of *Diospyros anisandra*. *Fitoterapia*, 78(5), 370-372. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.004>
- Borges, G., Da Rocha, D., Medina-Reimon, A., von Poser, G., Maria, R., Eifler Lima, V., & Garcia, C. (2013). The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 318-322. doi: <https://doi.org/10.2174/138955713804999775>
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2002). Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975-6980. doi: <https://doi.org/10.1021/jf020296n>

- Cheplick, S., Kwon, Y., Bhowmik, P., & Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Bioresource Technology*, 101(1), 404–413. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.068>
- Clerici, M. T. P. S., & Carvalho-Silva, L. B. (2011). Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, 44(7), 1658–1670. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.020>
- Crecente-Campo, J., Nunes-Damaceno, M., Romero-Rodríguez, M. A., & Vázquez-Odériz, M. L. (2012). Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch, cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 23–30. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.004>
- Del Bubba, M., Giordani, E., Pippucci, L., Cincinelli, A., Checchini, L., & Galvan, P. (2009). Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7), 668–677. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.02.015>
- Elinge, C. M., Muhammad, A., Atiku, F. A., Itodo, A. U., Peni, I. J., Sanni, O. M., & Mbongo, A. N. (2012). Proximate, mineral and anti-nutrient composition of pumpkin (*Cucurbitapepo* L) seeds extract. *International Journal of Plant Research*, 2(5), 146–150. doi: <https://doi.org/10.5923/j.plant.20120205.02>
- Fernandez, K., & Labra, J. (2013). Simulated digestion of proanthocyanidins in grape skin and seed extracts and the effects of digestion on the angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *Food Chemistry*, 139(1-4), 196-202. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.021>
- Floegel, A., Kim, D., Chung, S., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Fraga, C. G. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 235–244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Freeland-Graves, J., Mousa, T., & Sanjeevi, N. (2015). Nutritional requirements formanganese. En L. Cosat & M. Aschner (eds.), *Toxicology: Manganese in health and disease* (pp. 34–75). Issues inc.
- Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M., & Battino, M. (2014). Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 3867–3876. doi: <https://doi.org/10.1021/jf405455n>
- Grundhöfer, P., Niemetz, R., Schilling, G., & Gross, G. G. (2001). Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*, 57(6), 915-927. doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00099-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00099-1)
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1991). Tannins and lignins. En G. A. Rosenthal & M. R. Berenbaum (eds.), *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites* (pp. 355–376). CRC Press.
- Harris, D. C. (2003). Curvas de calibración. En D. C. Harris (ed.), *Análisis químico cuantitativo* (pp. 80-94). Reverté.
- Herrera, F. G., Ruiz, J. C., Acevedo, J. J., Betancur, D. A., & Segura, M. R. (2014). ACE inhibitory, hypotensive and antioxidant peptide fractions from *Mucuna pruriens* proteins. *Process Biochemistry*, 49(10), 1691-1698. doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.06.021>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821–1835. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Kao, Y., Harding, S. A., & Tsai, C. J. (2002). Differential expression of two distinct phenylalanine ammonia-lyase genes in condensed tannin-accumulating and lignifying cells of quaking aspen. *Plant Physiology*, 130(1), 796-807. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.006262>
- Kessy, H. N. E., Wang, K., Zhao, L., Zhou, M., & Hu, Z. (2018). Enrichment and biotransformation of phenolic compounds from litchi pericarps with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition activity. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 301-309. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.003>
- Kim, D., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321–326. doi: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00423-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00423-5)

- Kim, H., Moon, J. Y., Kim, H., Lee, D., Cho, M., Choi, H., Kim, Y. S., Mosaddik, A., & Cho, S. K. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*, 121(2), 429–436. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.060>
- Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., & Opletal, L. (2008). Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 8(5), 436–447. doi: <https://doi.org/10.2174/138955708784223486>
- Konczak, I., & Roule, P. (2011). Nutritional properties of commercially grown native Australian fruits: Lipophilic antioxidants and minerals. *Food Research International*, 44(7), 2339–2344. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.023>
- Kristl, J., Slekovec, M., Tojnko, S., & Unuk, T. (2011). Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Food Chemistry*, 125(1), 29–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.027>
- Kubrak, T., Podgórski, R., & Stompor, M. (2017). Natural and synthetic coumarins and their pharmacological activity. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 15(2), 169–175. doi: <https://doi.org/10.15584/ejcem.2017.2.12>
- Kumari, K., & Yadav, S. (2018). Linear regression analysis study. *Journal of the Practice of Cardiovascular Sciences*, 4(1), 33–36. doi: https://doi.org/10.4103/jpcs.jpcs_8_18
- Landete, J. M. (2012). Updated knowledge about polyphenols: Functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(10), 936–948. doi: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.513779>
- Laurent, S. (2017). Antihypertensive drugs Review. *Pharmacological Research*, 124, 116–125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.07.026>
- Leterme, P., Bulden, A., Estrada, F., & Londoño, A. M. (2006). Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. *Food Chemistry*, 95(4), 644–652. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.003>
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P. H., González-Paramás, A. M., & Törrönen, A. R. (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4477–4486. doi: <https://doi.org/10.1021/jf049595y>
- Manzoor, M., Anwar, F., Saari, N., & Ashraf, M. (2012). Variations of antioxidant characteristics and mineral contents in pulp and peel of different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars from Pakistan. *Molecules*, 17(1), 390–407. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules17010390>
- Mareta, W., & Sandstead, H. H. (2006). Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(1), 3–18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2006.01.006>
- Márquez-Linares, M. A., Jurado, E., & González, S. (2005). Algunos aspectos de la biología de la manzanita (*Arctostaphylos pungens* HBK.) y su papel en el desplazamiento de bosques templados por chaparrales. *Revista Ciencia UANL*, 9(2), 57–64. <http://eprints.uanl.mx/1741/>
- McDougall, G. J., Kulkarni, N. N., & Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry*, 115(1), 193–199. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.093>
- Mirdehghan, S. H., & Rahemi, M. (2007). Seasonal changes of mineral and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 120–127. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.001>
- Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112(3), 595–598. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.014>
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162, 68–76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043>
- Moore, D. S., & McCabe, G. P. (1999). Least squares regression. En D. S. Moore (ed.), *Introduction to the practice of statistics* (pp. 135–147). Freeman and Company.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-

- Osambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 7-10. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.059>
- Oleennikov, D. N., & Chekhirova, G. V. (2013). 6''-Galloylpicein and other phenolic compounds from *Arctostaphylos uva-ursi*. *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 1-7. doi: <https://doi.org/10.1007/s10600-013-0491-6>
- Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4619-4626. doi: <https://doi.org/10.1021/jf010586o>
- Panusa, A., Petrucci, R., Marrosu, G., Multari, G., & Gallo, F. R. (2015). UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling of *Arctostaphylos pungens* and *Arctostaphylos uva-ursi*. A comparative study of phenolic compounds from leaf methanolic extracts. *Phytochemistry*, 115(1), 79-88. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.01.002>
- Park, Y., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Suhaj, M., Cvikrová, M., Martincová, O., Weisz, M., & Gorinstein, S. (2011). Comparison of the contents of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwifruit cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 963-970. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.08.010>
- Park, Y., Namiesnik, J., Vearasilp, K., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Barasch, D., Nemirovski, A., Trakhtenberg, S., & Gorinstein, S. (2014). Bioactive compounds and the antioxidant capacity in new kiwi fruit cultivars. *Food Chemistry*, 165, 354-361. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.114>
- Prior, R. L., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, 66(18), 2264-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.03.025>
- Prior, R. L., & Wu, X. (2013). Diet antioxidant capacity: Relationships to oxidative stress and health. *American Journal of Biomedical Sciences*, 5(2), 126-139. doi: <https://doi.org/10.5099/aj130200126>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. doi: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Serrano, J., Pupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(2), 310-329. doi: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900039>
- Sezer, F., Skalicka, K., Hassan, M. T., Erdogan, I., Sener, B., & Głowniak, K. (2011). An in vitro and in silico approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of the methanol extract, furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 462-467. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.08.016>
- Shin, C. S., & Kim, K. M. (2015). Calcium, is it better to have less? Global Health Perspectives. *Journal of Cellular Biochemistry*, 116(8), 1513-1521. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.25119>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuele-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-165. doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Soares, L., Santos, L., Brumano, L., Stringheta, P. C., de Oliveira, M. A., Moreira, L. O., de Sá, C., Scio, E., Luiz, R., Castro, H. C., da Pena, M. (2012). Preparation of dry extract of *Mikania glomerata* Sprengel (Guaco) and determination of its coumarin levels by spectrophotometry and HPLC-UV. *Molecules*, 17(9), 10344-10354. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules170910344>
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Velazquez, D. V. O., Xavier, H. S., Batista, J. E. M., & de Castro-Chaves, C. (2005). *Zea mays* L. extracts modify glomerular function and potassium urinary excretion in conscious rats. *Phytomedicine*, 12(5), 363-369. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.12.010>
- Wang, L., Saito, M., Tatsumi, E., & Li, L. (2003). Antioxidative and angiotensin I-Converting enzyme inhibitory activities of sufu (Fermented Tofu) extracts. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 37(2), 129-132. doi: <https://doi.org/10.6090/jarq.37.129>

- Weise, D. R., Ward, D. E., Paysen, T. E. & Koonce, A. L. (1991). Burning California Chaparral – an exploratory study of some common shrubs and their combustion characteristics. *International Journal of Wildland Fire*, 1(3), 153–158. doi: <https://doi.org/10.1071/WF9910153>
- Wilson, J., Hayes, M., & Carney, B. (2011). Angiotensin-I-converting enzyme and prolyl endopeptidase inhibitory peptides from natural sources with a focus on marine processing by-products. *Food Chemistry*, 129(2), 235-244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.081>
- Xu, B. J., & Chang, S. K. C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*, 72(2), 159-66. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00260.x>
- Zhang, K., Ding, W., Sun, J., Zhang, B., Lu, F., Lai, R., Zou, Y., & Yedid, G. (2014). Antioxidant and antitumor activities of 4-arylcoumarins and 4-aryl-3,4-dihydrocoumarins. *Biochimie*, 107(Part B), 203-210. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2014.03.014>
- Zhang, T., Zhong, S., Hou, L., Li, T., Xing, X., Guan, T., Zhanga, J., & Wang, Y. (2018). Estrogenic properties of coumarins and meroterpene from the fruits of *Cullen corylifolium*: Experimental and computational studies. *Phytochemistry*, 152, 148–153. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.010>