

Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

**COMPUESTOS FENÓLICOS,
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE
MEMBRILLO (*Cydonia oblonga* Miller)
CULTIVADO EN ZACATECAS**

**PHENOLIC COMPOUNDS,
ANTIOXIDANT CAPACITY AND
ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY OF
QUINCE (*Cydonia oblonga* Miller)
HARVESTED IN ZACATECAS**

Aguayo-Rojas, J.; S. Mora-Rochín, X. Tovar-Jiménez; R.O. Navarro-Cortez; M. Valdez-Morales y J.L. Ayala-Lujan

COMPUESTOS FENÓLICOS, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE MEMBRILLO (*Cydonia oblonga* Miller) CULTIVADO EN ZACATECAS

PHENOLIC COMPOUNDS, ANTIOXIDANT CAPACITY AND ANTIHYPERSTENSIVE ACTIVITY OF QUINCE (*Cydonia oblonga* Miller) HARVESTED IN ZACATECAS



Compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y actividad antihipertensiva de membrillo (*Cydonia oblonga* Miller) cultivado en Zacatecas

Phenolic compounds, antioxidant capacity and antihypertensive activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) harvested in Zacatecas

Aguayo-Rojas, J.;
S. Mora-Rochín;
X. Tovar-Jiménez;
R.O. Navarro-Cortez;
M. Valdez-Morales y
J.L. Ayala-Lujan

**COMPUESTOS FENÓLICOS,
CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE Y
ACTIVIDAD
ANTIHIPERTENSIVA DE
MEMBRILLO (*Cydonia
oblonga* Miller) CULTIVADO
EN ZACATECAS**

**PHENOLIC COMPOUNDS,
ANTIOXIDANT CAPACITY
AND ANTIHYPERTENSIVE
ACTIVITY OF QUINCE
(*Cydonia oblonga* Miller)
HARVESTED IN
ZACATECAS**

POLIBOTÁNICA
Instituto Politécnico Nacional

Núm. 57: 199-212. Enero 2024

DOI:
[10.18387/polibotanica.57.12](https://doi.org/10.18387/polibotanica.57.12)

Jesús Aguayo-Rojas / jesus_aguayo@uaz.edu.mx

*Universidad Autónoma de Zacatecas, Químico en Alimentos/Biotecnología,
Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 6, La Escondida. Zacatecas, México.
CP. 98160. Fax: (492) 7169647*

S. Mora-Rochín / smora@uas.edu.mx

*Universidad Autónoma de Sinaloa.
Boulevard de las Américas S/N, Col. Universitaria. Culiacán, Sinaloa,
México. CP. 80000., Fax: (667) 7137860*

X. Tovar-Jiménez / xtovar@upp.edu.mx

*Universidad Politécnica de Pachuca
Carretera Pachuca-Cd. Sahagún Km. 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara
Zempoala, Hidalgo, México. CP. 43830., Fax: (771) 5477510*

R.O. Navarro-Cortez / ronc2584@gmail.com

*Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Rancho Universitario, Avenida Universidad Km. 1, Ex-Hacienda de Aquetzalpa
Tulancingo, Hidalgo, México. CP. 43600. Fax: (771) 7172000*

Maribel Valdez-Morales / maribelvaldez47@hotmail.com

*CIIDIR-Unidad Sinaloa, Instituto Politécnico Nacional
Blvd. Juan de Dios Bátiz Paredes 250 Col. San Joachin. CP. 81100
Guasave, Sinaloa, México., Fax: (687) 8729626*

J.L. Ayala-Lujan

*Universidad Autónoma de Zacatecas, Químico en Alimentos/Biotecnología,
Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 6, La Escondida. Zacatecas,
Zacatecas, México. CP. 98160.*

RESUMEN: Las frutas contienen niveles altos de compuestos biológicamente activos que imparten beneficios a la salud, Zacatecas ocupa los primeros lugares en producción de membrillo a nivel nacional. El objetivo del presente estudio fue evaluar el contenido y el perfil de compuestos fenólicos, así como las propiedades antioxidante y antihipertensiva del membrillo cultivado en Zacatecas. Se realizaron extractos metanólicos para evaluar la capacidad antioxidante y se determinó por los métodos DPPH y ABTS. La actividad antihipertensiva fue evaluada mediante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I, presentando una inhibición del 45% y el perfil de compuestos fenólicos se determinó por HPLC-DAD. El contenido de flavonoides y taninos fue de 422 y 250 mg equivalentes de catequina/100 g (bs), respectivamente; para fenólicos totales fue de 122 mg equivalentes de ácido gálico/100 g (bs) y para cumarinas de 46 mg equivalentes de cumarina/100 g (bs). En cuanto a la capacidad antioxidante, se obtuvieron niveles de 6,853 y 11,050 µmol equivalentes de Trolox/100 g (bs) para DPPH y ABTS, respectivamente. Se identificaron cuatro flavonoides: catequina, queracetina, rutina y mericitina y dos ácidos fenólicos ferúlico y sinápico, estos compuestos fenólicos pueden ser los responsables de los beneficios a la salud del membrillo.

Palabras clave: Fitoquímicos, capacidad antioxidante, actividad antihipertensiva, flavonoides.

ABSTRACT: Fruits contain high levels of biologically active compounds that impart health benefits, Zacatecas occupies the first places in quince production nationwide. The objective of the present study was to evaluate the content and profile of phenolic compounds, as well as to the antioxidant and antihypertensive of quince harvested in Zacatecas. Methanolic extracts were made to evaluate the antioxidant capacity and it was determined by the DPPH and ABTS methods. The antihypertensive activity was evaluated by means of the inhibition of the angiotensin converting enzyme I, presenting an inhibition of 45%, and the phenolic compounds profile was determined by HPLC-DAD. The flavonoid and tannin content were 422 and 250 mg of catechin equivalents/ 100 g (db), respectively; for total phenolics it was 122 mg of gallic acid equivalents/ 100 g (db) and for coumarins 46 mg of coumarin equivalents/100 g (db). Regarding antioxidant capacity, levels of 6,853 and 11,050 µmol Trolox equivalents/100 g (db) were obtained for DPPH and ABTS, respectively. Four flavonoids catechin, quercetin, rutin and myricetin and two phenolic acids ferulic and sinapic were identified, these phenolic compounds may be responsible for the health benefits of quince.

Key words: Phytochemicals, antioxidant capacity, antihypertensive activity, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

Frutas, vegetales y plantas son fuentes ricas en compuestos químicos con el potencial de prevenir enfermedades crónicas, el valor medicinal de las plantas y frutas radica en las sustancias químicas contenidas en ellas, que producen una determinada acción fisiológica en el cuerpo humano (Al-matani, Said Al-Wahaibi & Amzad-Hossain, 2015). La hipertensión es uno de los mayores factores de riesgo asociados con la mortalidad en todo el mundo, que representa más de la mitad de todos los casos de las enfermedades cardiovasculares (Bhagani, Kapil & Lobo, 2018). La inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) es un importante enfoque terapéutico empleado en el tratamiento de la presión arterial alta. Esta enzima es una metalopeptidasa dependiente de zinc que convierte la angiotensina I en angiotensina II (octapeptido vasoconstrictor), por lo que aumenta la presión arterial. La ECA también promueve la degradación de la bradicinina que funciona como un vasodilatador y regula el estrés oxidativo (Chakraborty & Roy, 2021). Los fitoquímicos con potencial antioxidante contenidos en frutas, como los compuestos fenólicos, brindan efectos protectores a la salud, ya que tienen la capacidad de reducir las consecuencias del estrés oxidativo, que originan el desarrollo de enfermedades como la hipertensión y el proceso de envejecimiento (Álvarez-Suarez *et al.*, 2014; Rocha da Costa *et al.*, 2023). El membrillo (*Cydonia oblonga* Miller) es una fuente importante de compuestos con efectos positivos a la salud, debido a sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, anticarcinogénicas y antiulcerosas (Stojanovic *et al.*, 2017). Los frutos de membrillo no son muy apreciados plenamente como productos frescos debido a su dureza, lo fibroso de la pulpa, amargor y sobre todo por su astringencia, pero una vez maduros son muy demandados para la elaboración de mermeladas, jaleas y licores (Szychowski, *et al.*, 2018). En México su producción supera las cinco mil 100 toneladas, siendo Durango, Jalisco, y Zacatecas los líderes productores, en conjunto concentran el 77 por ciento del total nacional (SIAP, 2021). Por lo tanto el objetivo fue cuantificar e identificar el contenido de compuestos fenólicos del membrillo cultivado en Zacatecas y analizar su potencial hipertensivo, ya que no se ha realizado anteriormente, esto proporcionara datos para su posible uso industrial, empleándolo como harina funcional, es importante identificar frutas que podrían ser una fuente importante de metabolitos para el desarrollo de fármacos (antioxidante y antihipertensivos) o alimentos nutracéuticos y así cumplir los deseos del consumidor a través de frutas con beneficios para la salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos maduros de membrillo (*Cydonia oblonga* Miller) de un productor local fueron colectados en el municipio de Rio Grande, Zacatecas, México ($23^{\circ} 49' 2''$ N $103^{\circ} 02' 10''$ O) en el mes de septiembre 2020. Las condiciones climáticas son semiárido cálido, con una temperatura media anual de 17.1°C , con una altura de 1857 m. s. n. m., el material vegetal se cortó en rodajas y se deshidrató en un horno de aire forzado hasta alcanzar una humedad del 15% (Precision DN Instruments, Model -43) a 35°C por 48 h, la humedad se determinó de acuerdo al método 925.098, de la AOAC (1999). 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. La harina resultante contenía todas las partes anatómicas del fruto, pulpa y cáscara con excepción de las semillas. La harina obtenida fue almacenada en bolsas de polietileno con sello hermético a -20°C y en oscuridad para evitar la degradación de fitoquímicos.

Extracción de fitoquímicos

La fracción libre que no está unida a la pared celular de fitoquímicos en membrillo fue extraída de acuerdo con Adom & Liu (2002). Se pesaron 0.5 g de harina y se mezclaron con 10 mL de metanol al 80% (80:20, v/v); esta suspensión se homogenizó en un agitador rotatorio (OVAN noria R, EUA, 2010) por 10 min, y fue centrifugada a $3000 \times g$ a 10°C durante 10 min. El sobrenadante se colocó en tubo nuevo y se concentró al vacío a 35°C (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta alcanzar un volumen final de 2 mL.

Determinación de flavonoides

En una placa de 96 celdas, se agregaron 20 μL del extracto, se agregaron 80 μL de agua destilada y 6 μL de NaNO_2 al 5% (p/v) y se dejó reposar por 5 minutos. Posteriormente fueron adicionados 12 μL de AlCl_3 al 10% (p/v), 10 μL de NaOH 1M y 20 μL de agua destilada. Después de 30 min de reposo la absorbancia fue determinada a 510 nm (Synergy TM HI, Multi-Detection, Bioteck, Inc., Winooski, VT, EUA), se empleó catequina (25 ppm a 300 ppm) como estándar (99%, Sigma Chemical Co.) y el contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g de muestra en base seca (bs), esto al restar la humedad de la harina, las determinaciones se realizaron por triplicado (Adom & Liu, 2002).

Determinación de taninos condensados

Debido a su estructura polimérica y para su mejor extracción, ya que se tienen que separar de la pared celular y fraccionar la molécula polimérica, esto se aclara en el apartado de discusión, no se emplearon los extractos de fitoquímicos obtenidos anteriormente. 1 g de harina de membrillo se mezcló con 10 ml de acetona (80:20, v/v). A 20 μL de este extracto, se adicionaron 1200 μL de una solución de vainillina al 4% (p/v) en metanol (99.5%) y 600 μL de HCl concentrado, se dejaron en reposo durante 15 min a temperatura ambiente. Se empleó catequina (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) como estándar (99%, Sigma Chemical Co.) y se midió la absorbancia a 500 nm (Synergy TM HI, Multi-Detection, Bioteck, Inc., Winooski, VT, EUA). Los resultados se calcularon y expresaron como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g (bs). Las determinaciones se realizaron por triplicado (Xu & Chang, 2007).

Determinación de Cumarinas

Las cumarinas son un compuesto sólido y cristalino con una temperatura de fusión de 69 a 73°C , por lo que es importante no emplear altas temperaturas, en su extracción y sobre todo cuando se fabrican harinas de los frutos de donde se obtienen (Santos & Silva, 2008), en nuestro caso la temperatura empleada para la elaboración de la harina de membrillo fueron 35°C . Para determinar el contenido de cumarinas, en las harinas de membrillo, se mezclaron 24 mg de harina en 50 mL de una solución metanolagua (80:20). Una segunda dilución se realizó tomando una alícuota de 8 mL de la solución stock en 25 mL de la solución metanolagua (80:20), obteniendo una concentración final teórica de 153.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (Synergy HT, Bioteck Instrument), a una longitud de onda de 275 nm.

Se preparó una curva de calibración 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 (mg ECU)/100 g (bs), las mediciones se realizaron por triplicado (Soares e Silva *et al.*, 2012).

Determinación de compuestos fenólicos totales

En una placa de 96 celdas, se agregaron 20 µL del extracto. Se mezclaron con 180 µL del reactivo de Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), la reacción se neutralizó con 50 µL Na₂CO₃ al 7% y posteriormente se dejó reposar por 90 min. Se empleó ácido gálico como estándar (Sigma Chemical Co.) y se midió la absorbancia a 750 nm (Synergy TM HI, Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT, EUA), el contenido de fenólicos totales fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/100 g (bs), las determinaciones se realizaron por triplicado (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999).

Determinación del perfil de compuestos fenólicos

La determinación del perfil de compuestos fenólicos en el extracto metanólico fue realizada con un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Dionex UltiMate 3000 acoplado a un detector de arreglo de fotodiodos DAD3000(RS) (Thermo Scientific) (HPLC-DAD), equipado con una bomba cuaternaria de titanio (LPG-3400AB), un muestreador automático (WPS3000TBPL) y un horno para columna (Thermo Scientific). La separación fue realizada empleando una columna analítica Acclaim 120 A (C18, 5 µm, 120 Å, 4.6 × 250 mm), de Dionex (Thermo Fisher Scientific), a temperatura ambiente. La elución de los ácidos fenólicos y flavonoides fue realizada con el siguiente gradiente: agua acidificada con ácido acético (pH 2.8) (A) y acetoniitrilo (B). El gradiente inicia con 95% A, de 0 a 8 min; 6 a 12% B, de 8 a 14 min; 12 a 20% B, de 14 a 18 min; 20 a 35% B, de 18 a 24 min; 35 a 95% B, de 24 a 27 min; 95 a 60% B, de 27 a 31 min; 60 a 40% B, de 31 a 34 min; 40 a 20% B, de 34 a 38 min; and, 20 a 5% B, de 38 a 45 min. Las longitudes de onda establecidas fueron 260, 270, 275, 280, 285, 290, 295, y 300 nm, se emplearon estándares certificados de cada uno de los compuestos fenólicos identificados (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) (Valdez Morales, *et al.*, 2014).

Evaluación de la actividad antioxidante

Se empleó el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), adaptado para celdas. Se mezclaron 20 µL del extracto con 200 µL de la solución de DPPH (Sigma Chemical Co.) en una placa de 96 celdas. Se incubó por 30 minutos. La absorbancia fue determinada a 540 nm (Synergy TM HI, Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT, EUA). La actividad antirradical fue expresada como µmol equivalentes de Trolox (Sigma Chemical Co.) (µmol ET)/100 g (bs). Las determinaciones se realizaron por triplicado (Cardador-Martínez, Loarca-Piña, & Ooman, 2002). La actividad antirradical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se llevó a cabo de acuerdo con Re, Pellegrini, Proteggente, Yang, & Rice-Evans (1999). A 1980 µL de la dilución (3.5 mM, pH 7) del radical ABTS•+ (Sigma Chemical Co.) se le añadieron 20 µL de extracto de fitoquímicos y se incubaron 15 min en oscuridad para posteriormente medir la absorbancia a 735 nm (Synergy TM HI, Multi-Detection, Biotek, Inc., Winooski, VT, EUA). Para ambos métodos se construyó una curva estándar de Trolox (0-125 µM) y la actividad antirradical fue expresada como µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g (bs) y las determinaciones se realizaron por triplicado.

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina

Se midió la actividad de 0.05 mL (0.025 U/mL) de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) frente a su sustrato, Hipuril-L-Histidil-L-Leucina (Sigma Chemical Co.) a una concentración de 0.3% (p/v). Bajo las mismas condiciones se realizó la medición de la actividad de la ECA adicionando enalapriilo, a una concentración de 0.4% (p/v) como control positivo, para inhibir la actividad de la ECA. Para evaluar la propiedad inhibitoria de membrillo se utilizó una concentración de los extractos de 0.2% (p/v) en un buffer de fosfatos PBS (400 mM, pH 8.5). Durante el procedimiento se realizó una incubación de la enzima con su sustrato a 37 °C por 30 minutos y según era el caso, con los inhibidores (enalapriilo o extracto de membrillo);

Hubo modificación a la técnica original, donde la reacción fue detenida con 0.25 ml de HCl 1M. Posteriormente se realizó una extracción del producto de la actividad enzimática, el ácido hipúrico, con 1.0 mL de acetato de etilo, seguido de la evaporación del exceso de acetato de etilo; este producto se disolvió en 1.5 mL de agua destilada y se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 228 nm (Wang, Saito, Tatsumi, & LI, 2003). La actividad de inhibición de la ECA se expresó como % inhibición de la ECA y se calcula como sigue:

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

Análisis estadístico

Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado. Los resultados son reportados como la media y desviación estándar.

RESULTADOS

Compuestos fenólicos en los extractos de membrillo

En el presente estudio el contenido de flavonoides determinado en membrillo fue de 422 ± 4 mg EC/100 g (bs) y taninos de 250 ± 8 mg EC/100 g (bs). El contenido total de fenólicos obtenidos en membrillo fue de 122 ± 10 mg EAG/100 g (bs) y de cumarinas de 46 ± 2 mg ECU/100 g (bs). Por HPLC-DAD se detectaron 4 tipos de flavonoides catequina (534.02 $\mu\text{g/g}$), rutina (4,811.11 $\mu\text{g/g}$), querceína (924.20 $\mu\text{g/g}$) y miricetina (35.51 $\mu\text{g/g}$) y 2 tipos de ácidos fenólicos diferentes, ferúlico (610.32 $\mu\text{g/g}$) y sinápico (653.92 $\mu\text{g/g}$), siendo la rutina el compuesto fenólico que se encontró en mayor cantidad.

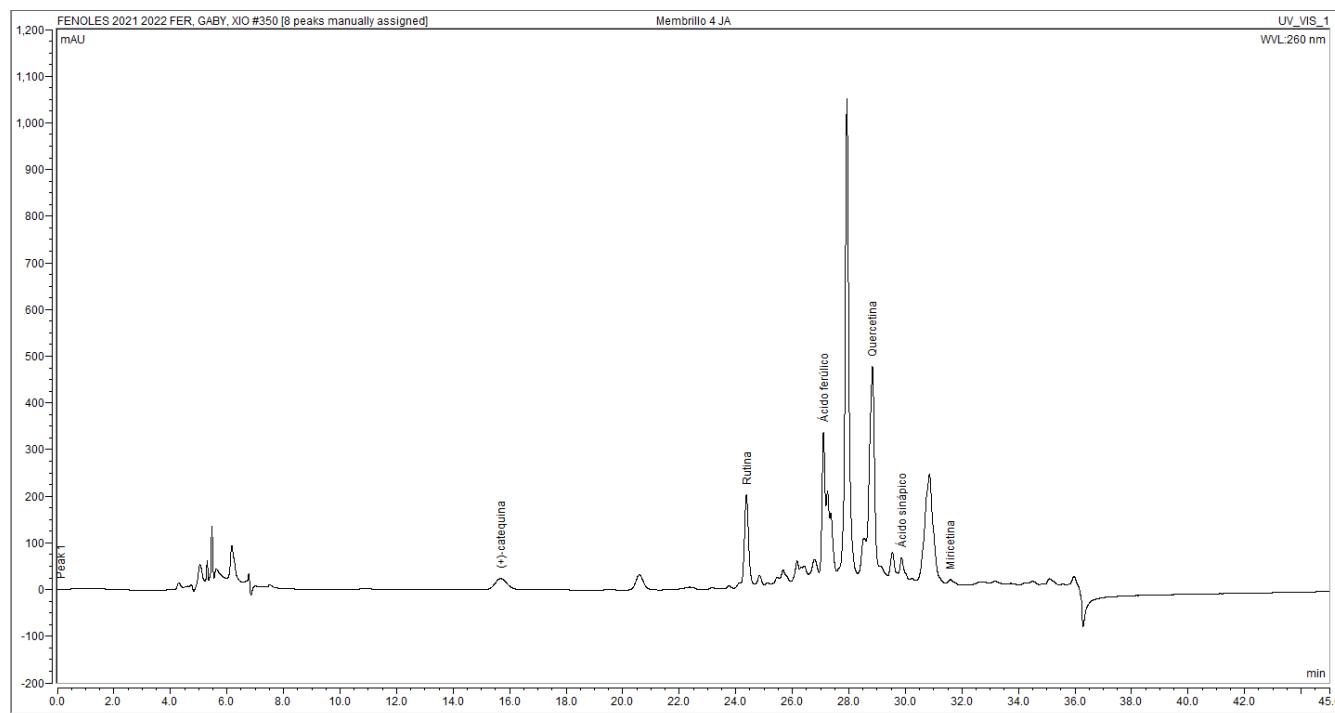


Figura 1. Cromatograma HPLC de los compuestos fenólicos del extracto metanólico de membrillo.

Figure 1. HPLC Chromatogram of the phenolic compounds in the methanolic extract of quince (*Cydonia oblonga* Miller).

Actividad antioxidante

Los valores de actividad antioxidante en membrillo obtenidos en esta investigación por DPPH y ABTS fueron $6,853 \pm 178$ y $11,040 \pm 151$ $\mu\text{mol ET}/100$ g, respectivamente.

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

El extracto metanólico de membrillo logró una inhibición de la ECA del $45 \pm 0.5\%$, no existen estudios científicos que señalen el efecto del membrillo sobre la ECA.

DISCUSIÓN

En el caso de pulpa y en cáscara de membrillo se han reportado contenidos de flavonoides en un rango de 17.28 a 44.65 y de 41.23 a 63.41 mg EC/100 g, respectivamente. Y en mezclas de cáscara y pulpa como en esta investigación en un rango de 119.8 a 211.5 mg EC/100 g, es importante tener en cuenta que los flavonoides representan un porcentaje considerable, en el contenido total de compuestos fenólicos presentes en membrillo, con un intervalo del 24% al 33% (Karadenz, Burdurlu, Koca & Soyer, 2005; Stojanovic *et al.*, 2017). Los valores reportados en este estudio son mayores, que lo reportado por otros investigadores, estas diferencias podrían ser atribuidas por el área de cultivo, el tiempo de cosecha, las condiciones climáticas, además de la variedad y al estado de maduración. Conforme avanza la maduración, la cantidad de los flavonoides disminuye, esto puede ser atribuido a la condensación de diferentes ácidos fenólicos en los últimos estados de maduración, formando algunos complejos fenólicos con taninos y la lignina (Ben Ahmed, Ben Rouina, Sensoy & Boukhriss, 2009).

Los flavonoles están acumulados en la capa externa del tejido de la cutícula, debido a la luz se estimula su biosíntesis. En este trabajo se identificaron tres flavonoles, el glucósido rutina>quercetina>miricetina. Una importante diferencia en su concentración existe entre los diferentes tipos de frutas, dependiendo del grado de exposición a la luz del sol (Stojanovic *et al.*, 2017). Este efecto es benéfico para la salud humana, ya que la quercetina tiene una fuerte actividad antioxidante y puede proteger el organismo de radicales libres dañinos (Szychowski *et al.*, 2018).

Los polifenoles presentes en membrillo incluyen a los flavan-3-oles como la catequina que también se identificó, que junto con la miricetina fueron los compuestos fenólicos que se encontraron en menor cantidad en el extracto. Se ha tenido especial interés en los flavonoles, ya que son los responsables del color del fruto y en los taninos, debido a su fuerte actividad antioxidante (Wojdyło, Oszmian'ski & Bielicki, 2013). Los taninos son definidos usualmente como compuestos fenólicos con un alto grado de polimerización y se encuentran normalmente tanto en la pulpa como en la cáscara.

Las procianidinas poliméricas, ácidos hidroxycinámicos y flavonoles representan el 63%, 36% y 1% del total de compuestos fenólicos en membrillo, sin embargo, sus contenidos, son fuertemente dependientes del tipo de cultivo (Wojdyło, Teleszko & Oszmianski, 2014). No existen reportes del contenido total de taninos en membrillo, por métodos espectrofotométricos, pero se han reportado valores del contenido de procianidinas poliméricas, determinadas por HPLC en otras variedades de membrillo, obteniendo datos de 4900 a 5600 mg/100 g, de este compuesto (Teleszko & Wojdyło, 2015).

En otras frutas como kiwi, arándanos y durazno se han reportado valores de taninos de 240 a 597 mg EC/100 g (bs) (McDougall, Kulkarni & Stewart, 2009; Park *et al.*, 2011; Belhadj *et al.*, 2016; Aguayo-Rojas, Mora-Rochín, Tovar-Jiménez, Rochín-Medina, & Navarro-Cortez, 2022). La alta concentración de taninos en membrillo, tanto en su pulpa, como en los jugos obtenidos de él, puede explicar su astringencia y amargor característico. El amargor y la astringencia dependerán del contenido de flavonoles, ya que estos son las unidades estructurales, que

conforman a este tipo de polímero fenólico, así como su grado de polimerización y de la pectina residual unida a él (Vidal *et al.*, 2004).

El grado de polimerización de los taninos afecta las propiedades fisicoquímicas de las procianidinas (Le Bourvellec, Picot, & Renard, 2006). Este grado de polimerización, en la fruta puede ser de 8 a 11 unidades (Wojdylo *et al.*, 2013), pero en el caso de los jugos de 2 hasta 13 unidades, en este tipo de productos es importante considerar el grado de polimerización, debido a que los taninos son responsables de generar turbidez, por eso entre menor grado presenten, los jugos serán más claros y estables (Oszmian'ski, Wojdylo & Kolniak, 2009). También se ha demostrado que, durante el procesamiento, los taninos son transferidos de las vacuolas del fruto, hacia el jugo o al producto procesado (Le Bourvellec *et al.*, 2004), esto es importante para conocer el posible uso industrial del membrillo y su efecto durante su procesamiento.

Como se mencionó anteriormente los taninos se unen principalmente a las pectinas, en lugar de otros componentes de la pared celular y pueden formar puentes entre las pectinas altamente solubles y las protopectinas insolubles (Arranz, Saura-Calixto, Shaha & Kroon, 2009). Las cumarinas son una de las 8000 estructuras de compuestos fenólicos reportados, 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 marmelos*), así como en semillas, raíces, cortezas y hojas (Borges-Bubols *et al.*, 2013; Davis, Maresca & Supuran, 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, pueden tener diferentes actividades bioactivas, como antibacterianas, antioxidante, antiinflamatorias, antiguagulantes y sobre todo anicarcinogénicas (Zhang *et al.*, 2014; Kubrak, Podgórska & Stompor, 2017).

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, 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 Senol *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2018). Como se indicó anteriormente, no existen reportes del contenido de cumarinas en membrillo, pero Soares e Silva *et al.* (2012) desarrollaron el método utilizado en la presente investigación, y reportaron valores de 4.7 a 5.0 g ECU/100 g en harinas de hojas de guaco (*Mikania glomerata*), una planta trepadora de Brasil, 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.

Hoy en día las cumarinas continúan recibiendo atención debido a sus diversas bioactividades, algunas han sido usadas en el tratamiento de diversas enfermedades, un ejemplo es la 4-hidroxicumaria empleada junto con la aspirina y heparina como anticoagulantes (Mueller, 2004).

Los compuestos fenólicos tienen un rol diverso como antioxidantes, adicionalmente, presentan un papel importante en los atributos sensoriales del fruto (astringencia y amargor), el membrillo es considerado una buena fuente de estos compuestos y esto se puede probar, por su alta intensidad de amargor y astringencia que presenta, incluso en su máxima etapa de maduración (Wojdylo *et al.*, 2013). La distribución y composición de los compuestos fenólicos en frutas son afectados por la madurez, tipo de cultivar, prácticas horticulturales, origen geográfico, estación de crecimiento, condiciones de almacenamiento en poscosecha y las condiciones de procesamiento (Kim, Jeong & Lee, 2003).

Estudios previos realizados por diversos investigadores, con membrillo de varios países, como España, Turquía, Portugal, Irán, Serbia y Túnez han reportado, valores de fenólicos totales en un rango de 71 a 159 mg EAG/100 g en pulpa y de 327 a 710 mg EAG/100 g en la cáscara, se puede observar claramente, que la mayor cantidad de estos compuestos, se encuentran principalmente en la cáscara, esto puede atribuirse, a que estos compuestos sirven como mecanismo de defensa contra parásitos, además de una serie de reacciones químicas y enzimáticas, que ocurren durante la maduración, originando un aumento en el contenido de compuestos fenólicos, al ser liberados de la pared celular por acción de enzimas pectinolíticas (Wojdylo *et al.*, 2014).

En la presente investigación, no se separó la cáscara de la pulpa y los resultados fueron obtenidos de una mezcla de ellas, también hay que señalar que en este estudio, solo se cuantificó la fracción libre de los compuestos fenólicos, por lo que la cantidad total de fenólicos totales podría ser mayor, sin embargo, los resultados son muy parecidos a lo reportado por otros investigadores en pulpa (Silva, Andrade, Martins, Seabra & Ferreira, 2006; Fattouch *et al.*, 2007; Legua *et al.*, 2013; Szychowskia *et al.*, 2014). Es bien conocido que el contenido de estos fitoquímicos está determinado por la ubicación, variedad, madurez, pero también por las condiciones de crecimiento. Factores como luz solar, temperatura y nutrientes del suelo pueden tener una sustancial influencia sobre la composición de la fruta (Stojanovic *et al.*, 2017).

Para la evaluación de la actividad antioxidante en frutas, la especificidad y sensibilidad de un solo método no indica la completa examinación 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 las frutas. Dos ensayos fueron empleados para evaluar las propiedades antioxidantes en los extractos crudos de membrillo, cada ensayo tiene su propia ventaja y limitación, de esta forma los datos obtenidos por los dos métodos aumentan la confianza del potencial antioxidante del membrillo.

La determinación de la capacidad antioxidante es una reacción dependiente del mecanismo. En el presente estudio se emplearon análisis de antioxidantes basados en reacciones químicas (DPPH y ABTS). La actividad antioxidante está fuertemente relacionada con el contenido de compuestos fenólicos, ya que son los principales responsables de la misma (Szychowski *et al.*, 2018). Otros investigadores han reportado una mayor actividad antioxidante en la cáscara, que en la pulpa en el membrillo, esto es atribuido a la mayor concentración de compuestos fenólicos en la piel, esto es importante destacar, ya que si los productos alimenticios elaborados de este fruto (jugos, mermeladas, ates etc.), requieren tener altos niveles de capacidad antioxidante, es necesario procesarlos, incluyendo la cáscara.

También se ha reportado una mayor capacidad antioxidante hidrofílica, que la lipofílica, esto debido a la mayor concentración de compuestos bioactivos polares o hidrofílicos en membrillo, como lo son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, con respecto a los lipofílicos, como los carotenoides (Zaouay, Mena, Garcia-Viguera, & Mars, 2012; Szychowski, Munera-Picazo, Szumny, Carbonell-Barrachinaa & Hernandez, Szychowski, 2014; Teleszko & Wojdylo., 2015).

La actividad antioxidante en los extractos metanólicos de membrillo, determinada por el método ABTS, fue mayor a la obtenida por el método de DPPH, esto puede ser atribuido a la menor estabilidad del radical catión ABTS, aunque ambos valores fueron calculados como equivalentes de trolox. Se han reportado valores de capacidad antioxidante en membrillo de 1,500 a 7,850 µmol ET/ 100 g por ABTS y en DPPH, también se ha determinado la actividad antioxidante en membrillo por este método, pero los datos se han reportado principalmente por el porcentaje de inhibición de este radical, por lo que no lo pudimos comparar, pero en otras frutas como ciruela, guayaba y durazno, se han reportado valores por DPPH de 2010 a 3858 µmol ET/ 100 g (Arion *et al.*, 2014; Teleszko & Wojdylo., 2015; Mokrani & Madani, 2016; Szychowski *et al.*, 2018; Aguayo-Rojas *et al.*, 2022).

Por lo que los datos obtenidos en este estudio son superiores a lo reportado por ABTS en otras variedades de membrillo y en otras frutas. El consumo de antioxidantes en la dieta es importante, ya que estos son capaces de neutralizar radicales libres y de reducir el riesgo de contraer enfermedades crónico-degenerativas. Por lo tanto, es muy importante determinar la actividad antioxidante en las frutas. Hoy en día la capacidad antioxidante en frutas se ha tomado como un indicador de sus beneficios a la salud humana (Prior & Wu, 2013).

Los extractos de pulpa y piel de membrillo presentan una mayor actividad antioxidante que la suma de los compuestos fenólicos evaluados en su forma individual, demostrando el efecto sinergístico de los antioxidantes individuales, además, se ha mostrado que los compuestos fenólicos del membrillo tienen una actividad antioxidante *in vivo*, ya que estos aumentan la capacidad antioxidante en la sangre después de la administración oral en ratas (Hamauzu, Inno, Kume, Irie, & Hiramatsu, 2006; Fattouch *et al.*, 2007). No existen reportes de la inhibición de la ECA en membrillo, pero con otras frutas con sus respectivos valores neutralizadores, se ha reportado en plátano, granada, litchi un 50% de inhibición de la ECA (Fernández & Labra, 2013; Kessy, Wang, Zhao, Zhou, & Hu, 2018), fresa 38% (Cheplick, Kwon, Bhowmik, & Shetty, 2010) y durazno (Aguayo-Rojas *et al.*, 2022).

Como control positivo empleado, el enalapril es uno de los medicamentos más usados para el control de la hipertensión, ya que tienen la capacidad de unirse a iones metálicos como el zinc, este presentó una inhibición de la enzima del 99±1%, No obstante, estas ventajas de los medicamentos inhibidores de la ECA pueden resultar inefectivas en el momento que produzcan efectos adversos tales como erupciones o sarpullidos en la piel, trastornos alimenticios y tos entre otros, que obligan a interrumpir el tratamiento (Laurent, 2017). Debido a los efectos secundarios de los inhibidores mencionados anteriormente, existe la necesidad de inhibidores con pocos o ningún efecto secundario. En este sentido, los informes han demostrado el uso efectivo de diferentes plantas y frutas, como terpenoides y compuestos fenólicos, incluyendo a los flavonoides y taninos, así como algunos derivados del ácido caféico. La mayoría de los estudios han demostrado que los extractos de plantas y frutas son efectivos contra la inhibición de la ECA, por lo que es importante conocer cuáles son los que tienen un mayor potencial (Ojeda *et al.*, 2010; Atanasov *et al.*, 2015).

Entre los grupos de metabolitos secundarios encontrados en membrillo y que presentan un efecto inhibidor de la actividad de la ECA, los taninos podrían ser uno de los compuestos fenólicos principales responsables en alterar tal actividad enzimática, puesto que los taninos altamente glucosilados contenidos en los frutos pueden formar puentes de hidrógeno con el zinc, cofactor de la enzima ECA y con otros sitios activos de la proteína, tal como actúan los fármacos empleados para el control de la hipertensión, pero con la ventaja de que estos fitoquímicos son de origen natural y los efectos secundarios provocados por los medicamentos se pudieran evitar (Lacaille, Franck, & Wagner, 2001). Adicionalmente los grupos hidroxilo (OH^-) de los flavanoles pueden tener un efecto positivo en inhibir la enzima al interactuar con las proteínas, resultando en la formación de un enlace fuerte entre las catequinas y la ECA (Fernández & Labra, 2013).

Los polifenoles inhiben la actividad enzimática compitiendo con el sustrato por los sitios activos. Además, los flavonoides están directamente relacionados con su capacidad para unirse con el ion zinc en el sitio activo de ECA (Larson, Symons & Jalili, 2010). Estos compuestos también mostraron competencia inhibición enzimática, en la que la presencia de grupos hidroxilo y el anillo B desempeña un papel importante en la actividad inhibidora (Balasuriya & Rupasinghe, 2012). Por lo tanto, futuros estudios serán necesarios para identificar el mecanismo de inhibición de estas muestras.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación indican los primeros estudios sobre el contenido y perfil de compuestos fenólicos, así como el potencial nutraceutíco de membrillo cultivado en Zacatecas. Estos resultados comprueban la considerable cantidad de compuestos fenólicos, con potencial nutraceutíco que pueden ser considerados como una buena fuente para aplicaciones médicas y alimentarias. Los fitoquímicos contenidos en la harina de membrillo pueden ser usados como una fuente natural de antioxidantes, además de inhibir la actividad ECA, por lo que podría considerarse al membrillo como una de las frutas con potencial antihipertensivo, aunque son necesarios estudios *in vivo*.

LITERATURA CITADA

- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187.
- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Tovar-Jiménez, X., Rochín-Medina, J. J., & Navarro-Cortez, R.O. (2022). Fitoquímicos y propiedades nutraceutícas de durazno (*Prunus persica* L.) cultivado en Zacatecas. *Polibotánica*, 53, 151–166.
- Al-matani, S. K., Said Al-Wahaibi, R. N., & Amzad Hossain, M. (2015). *In vitro* evaluation of the total phenolic and flavonoid contents and the antimicrobial and cytotoxicity activities of crude fruit extracts with different polarities from *Ficus sycomorus*. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 17(3), 103-108.
- Álvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Tulipani, S., Casoli, T., Di Stefano, G., González-Paramás, A. M., & Battino, M. (2014). One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(3), 289-294.
- AOAC. (1999). Official Methods of Analysis 16° Ed. Harla, Association of Official Analytical Chemists. St. Paul, EUA.
- Arion, C. M., Tabart, J., Kevers, C., Niculaea, M., Filimon, R., Beceanu, D., & Dommes, J. (2014). Antioxidant potential of different plum cultivars during storage. *Food Chemistry*, 146(1), 485-491.
- Arranz, S., Saura-Calixto, F., Shaha, S., & Kroon, P. A. (2009). High contents of nonextractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant foods have been underestimated. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7298–7303.
- Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Wenzig, E. M. P., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E. H., Rollinger, J. M., Schuster, D., Breuss, J. M., Bochkov, V., Mihovilovic, M. D., Kopp, B., Bauer, R., Dirscha, V. M., & Stuppner, H. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582–1614.
- Balasuriya, N., & Rupasinghe, H. P. V. (2012). Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract. *Food Chemistry*, 135(4), 2320–2325.
- Bhagani, S., Kapil, V., & Lobo, M. D. (2018). Hypertension. *Medicine*, 46(9), 509–515.
- Belhadj, F., Somrani, I., Aissaoui, N., Messaoud, C., Boussaid, M., & Marzouki, M. N. (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.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., & Boukhriss, M. (2009). Saline water irrigation effects on fruit development, quality, and phenolic composition of virgin olive oils, cv. Chemlali. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(7), 2803-2811.
- Borges Bubols, G., Vianna, D. R., Remon, A. M., Poser, G. V., Raventos, M. L., Eifler Lima, V. L., & Garcia, S. C. (2013). The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 13(3), 318-322.

- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Ooman, B. D. (2002). Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975-6980.
- Chakraborty, R., & Roy, S. (2021). Angiotensin-converting enzyme inhibitors from plants: A review of their diversity, modes of action, prospects, and concerns in the management of diabetes-centric complications. *Journal of Integrative Medicine*, 19(6), 478-492.
- Cheplick, S., Kwon, Y. I., 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.
- Davis, R. A., Maresca, V. A., & Supuran, C. T. (2013). Natural product coumarins that inhibit human carbonic anhydrases. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21(6), 1539-1542.
- Fattouch, S., Caboni, P., Coroneo, V., Tuberoso, C., Angioni, A., Dessi, S., Marzouki, N., & Cabras P. (2007). Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Miller) pulp and peel polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 963-969.
- Fernández, 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.
- Hamauzu, Y., Inno, T., Kume, C., Irie, M., & Hiramatsu, K. (2006). Antioxidant and antiulcerative properties of phenolics from Chinese quince, quince, and apple fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3), 765-772.
- Karadenz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., & Soyer, Y. (2005). Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4), 297-303.
- Kessy, H. N., 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(3), 301-309.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.
- Kubrak, T., Podgórska, R., & Stompor, M. (2017). Natural and synthetic coumarins and their pharmacological activity. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 15(2), 169-175.
- Lacaille, M. A., Franck, U., & Wagner, H. (2001). Search for potential angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 8(1), 47-52.
- Laurent, S. (2017). Antihypertensive drugs Review. *Pharmacological Research*, 124, 116-125.
- Larson, A., Symons, J.D., & Jalili, T. (2010). Quercetin: a treatment for hypertension?—a review of efficacy and mechanisms. *Pharmaceuticals*, 3(1), 237-250.
- Le Bourvellec, C., Le Quere, J. M., Sanoner, P., Guyot, S., & Drilleau, J. F. (2004). Inhibition of apple polyphenol oxidase activity by procyanidins and polyphenol oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 122-130.
- Le Bourvellec, C., Picot, M., & Renard, C. M. G. C. (2006). Size exclusion chromatography of procyanidins: Comparison between apple and grape procyanidins and application to the characterization of fractions of high degrees of polymerization. *Analityca Chimica Acta*, 563: 33-43.
- Legua, P., Serrano Melgarejo, P. M., Valero, D., Martinez, J. J., Martinez, R., & Hernandez, F. (2013). Quality parameters, biocompounds and antioxidant activity in fruits of nine quince (*Cydonia oblonga* Miller) accessions. *Scientia Horticulturae*, 154, 61-65.
- McDougall, G. J., Kulkarni, N. N., & Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chemistry*, 115(1), 193-199.
- Mena, P., Garcia-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D. A., Bartual, J., & Saura, D. (2011). Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of Science Food and Agriculture*, 91(10), 1893-1906.

- 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(13), 68-76.
- Mueller, R. L. (2004). First-generation agents: Aspirin, heparin and coumarins. *Best Practice and Research Clinical Haematology*, 17(1), 23–53.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin and cyanidin-3-Osambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 7-10.
- Oszmian'ski, J., Wojdylo, A., & Kolniak, J. (2009). Effect of enzymatic mash treatment and storage on phenolic composition, antioxidant activity, and turbidity of cloudy apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 7078–7085.
- Park, Y. S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Suhaj, M., Cvirková, M., & Goristein, 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.
- Prior, R. L., & Wu, X. (2013). Diet antioxidant capacity: Relationships to oxidative stress and health. *American Journal of Biomedical Sciences*, 5(2), 126-139.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, 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.
- Rocha da Costa, C. A., Gilson, G., Lucinda Machado, G. G., Rodrigues, L. J., Araújo de Barros, H. E., Lima Natarelli, C. V., & de Barros Vilas Boas, E. V. (2023). Phenolic compounds profile and antioxidant activity of purple passion fruit's pulp, peel and seed at different maturation stages. *Scientia Horticulturae*, 321, 112244.
- Santos, P. H. S., & Silva, M. A. (2008). Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables—A Review. *Drying Technology*, 26(12), 1421–1437.
- Sezer Senol, F., Skalicka Wozniak, K., Hassan Khan, M. T., Erdogan Orhan, 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.
- Silva, B. M., Andrade, P. B., Martins, R. C., Seabra, R. M., & Ferreira, M. A. (2006). Principal component analysis as tool of characterization of quince (*Cydonia oblonga* Miller) jam. *Food Chemistry*, 94(4), 504–512.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Soares e Silva, L., Santos da Silva, L., Brumano, L., Stringheta P. C., de Oliveira-Pinto, M. A., Moreira Dias, L. O., de Sá Martins-Muller, C., Scio, E., Luis-Fabri, R., Castro, H. C., & Henriques do Amaral M. P. (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.
- Stojanovic, B. T., Mitic, S. S., Stojanovic, G. S., Mitic, M. N., Kostic, D. A., Paunovic, D. D., Arsic, B. B., & Pavlovic, A. N. (2017). Phenolic profiles and metal ions analyses of pulp and peel of fruits and seeds of quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Food Chemistry*, 232, 466–475.
- Szychowski, P. J., Munera-Picazo, S., Szumny, A., Carbonell-Barrachinaa, A. A., & Hernandez, F. (2014). Quality parameters, bio-compounds, antioxidant activity and sensory attributes of Spanish quinces (*Cydonia oblonga* Miller). *Scientia Horticulturae*, 165, 163–170.
- Szychowski, P. J., Lech, K., Sendra-Nadala, E., Hernández, F., Figiel, A., Wojdylo, A., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2018). Kinetics, biocompounds, antioxidant activity, and sensory attributes of quinces as affected by drying method. *Food Chemistry*, 255, 157–164.

Recibido:
27/agosto/2023

Aceptado:
12/enero/2024

- Teleszko, M., & Wojdyło, A. (2015). Comparison of phenolic compounds and antioxidant potential between selected edible fruits and their leaves. *Journal of Functional Foods*, 14, 736–746.
- Valdez Morales, M., Espinoza Alonso, L. G., Espinoza Torres, L. C., Delgado Vargas, F., & Medina Godoy, S. (2014). Phenolic Content and Antioxidant and Antimutagenic Activities in Tomato Peel, Seeds, and Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(23), 5281-9.
- Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V., & Waters, E. (2004). Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytical Chemistry Acta*, 513(1), 57–65.
- 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: JARQ*, 37(2), 129-132.
- Wojdyło, A., Oszmian'ski, J., & Bielicki, P. (2013). Polyphenolic composition, antioxidant activity, and polyphenol oxidase (PPO) activity of quince (*Cydonia oblonga* Miller) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(11), 2762–2772.
- Wojdyło, A., Teleszko, M., & Oszmianski, J. (2014). Antioxidant property and storage stability of quince juice phenolic compounds. *Food Chemistry*, 152, 261–270.
- Xu, B. J., & Chang, S. K. (2007). A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *Journal of Food Science*, 72(2), 5159-5166.
- Zaouay, F., Mena, P., Garcia-Viguera, C., & Mars, M. (2012). Antioxidant activity and physico-chemical properties of Tunisian grown pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 40, 81–89.
- 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, 234-239.
- Zhang, T., Zhong, S., Hou, L., Li, T., Xing, X., Guan, T., Zhang, J., & Wang, Y. (2018). Estrogenic properties of coumarins and meroterpene from the fruits of Cullen corylifolium: Experimental and computational studies. *Phytochemistry*, 152, 148–153.