

Modificaciones enzimáticas de compuestos fenólicos

L.R. Castro-López^{1,*}, A.E. Ortega-Regules³, J.D. Lozada-Ramírez²

¹Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.

²Departamento de Ciencias Químicas y Biológicas

³Departamento de Ciencias de la Salud

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir, C.P.72810, San Andrés Cholula, Puebla, México.

RESUMEN

Los compuestos fenólicos, también llamados polifenoles, son un tipo de metabolitos secundarios encontrados en la mayoría de las plantas. Muchos estudios han indicado que estos compuestos exhiben actividades biológicas tales como propiedades antioxidantes, antimicrobianas y/o anticancerígenas. Sin embargo, los polifenoles presentan limitada solubilidad y estabilidad frente a parámetros como lo son pH, temperatura, presencia de oxígeno, metales, entre otros. Debido a ello, la modificación estructural enzimática de dichos compuestos podría ser una alternativa para afrontar este problema. El propósito de esta revisión es exponer estudios encontrados sobre modificaciones enzimáticas de polifenoles, particularmente por glicosilación y acilación, que permiten la obtención de derivados fenólicos potenciales para ser aplicados en procesos de interés alimentario.

Palabras clave: polifenoles, modificación enzimática, glicosilación, acilación.

ABSTRACT

Phenolic compounds, also called polyphenols, are a type of secondary metabolites found in most plants. Many studies have suggested that these compounds exhibit biological activities such as antioxidant, antimicrobial or anticancer properties. However, they have limited solubility and stability against some parameters such as pH, temperature, presence of oxygen, metals, among others. As a result, the enzyme structural modification of such compounds could be an alternative to address this problem. The purpose of this review is to present studies found on enzymatic modifications, obtained by glycosylation and acylation, which produce phenolic compounds for potential application in food processes.

Keywords: polyphenols, enzymatic modification, glycosylation, acylation.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica:
lilianar.castrolz@udlap.mx

Introducción

Los compuestos fenólicos, también llamados polifenoles, son un tipo de metabolitos secundarios distribuidos ampliamente en el reino vegetal; poseen un anillo aromático el cual está unido a uno o más grupos hidroxilo y se caracterizan por presentar propiedades biológicas, farmacológicas y medicinales. El grupo más importante de los compuestos fenólicos son los flavonoides. Los flavonoides incluyen antocianinas, flavanoles (catequinas), flavonoles, flavonas e isoflavonas. Los flavonoides han sido utilizados en preparaciones alimentarias, cosméticas y farmacéuticas, lo cual les ha conferido un marcado interés que ha venido en aumento durante los últimos años. Sin embargo, el uso de estos compuestos fenólicos en varios dominios, se ha visto limitado por su baja estabilidad presentada frente a diversos parámetros de pH, temperatura, presencia de oxígeno, metales y solubilidad, entre otros. Para optimizar las propiedades presentadas por los flavonoides, distintos autores han estudiado su modificación estructural por reacciones químicas o enzimáticas, siendo dos reacciones las de particular atención: glicosilación y acilación. Diferentes estudios han demostrado que la glicosilación puede repercutir de manera positiva en la estabilidad de las agliconas de los flavonoides y la acilación enzimática puede potenciar la estabilidad y actividad antioxidante de los mismos. Aunque las antocianinas de muchos productos ya han sido caracterizadas y estudiadas, se han realizado pocos estudios sobre su modificación para buscar mayor estabilidad y nuevas propiedades colorantes y antioxidantes.

En este artículo se presentan estudios realizados recientemente sobre las modificaciones estructurales llevadas a cabo por enzimas específicas, particularmente en los procesos de glicosilación y acilación, sobre los compuestos fenólicos, con el fin de potenciar la capacidad antioxidante de los mismos y examinar sus posibles aplicaciones como aditivos en alimentos funcionales.

Revisión bibliográfica

1. Aspectos generales de los compuestos fenólicos

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos se denominan polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Algunos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales, otros participan en fun-

ciones de defensa ante situaciones de estrés y estímulos diversos (hídrico, luminoso, etc). Por lo general, se nombran como derivados del miembro más sencillo de la familia, el fenol. Su estructura química es más o menos compleja y pueden variar de moléculas simples a muy complicadas, con un bajo peso molecular a un mayor peso molecular. Debido a la gran diversidad en su estructura, presentan diferentes propiedades, como solubilidad y polaridad, que les permiten tener diferentes interacciones con otras moléculas alrededor de ellas (Jakobek, García y Tomás, 2013).

1.1 Clasificación

Los compuestos fenólicos constituyen un enorme grupo de sustancias, en su mayoría de origen vegetal, ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se han clasificado en distintos grupos según el número de átomos de carbono y la estructura de su esqueleto base (Muñoz, Fernández, Ramos Alvarado-Ortiz, 2007). De acuerdo a su complejidad química, se han encontrado los siguientes grupos: fenoles simples, ácidos fenólicos, acetofenonas, cumarinas, benzofenonas y estilbenos, xantonas y flavonoides. Estos últimos constituyen el grupo de mayor relevancia y abundancia en la naturaleza (Sánchez-Paniagua, 2008) y fueron descubiertos por el premio Nobel en Bioquímica Dr. Albert Szent-Gyorgi, quien les denominó como "vitamina P". Los polifenoles se clasifican en varias categorías dentro de las que se incluyen antocianidinas, flavonoles, flavanoles (catequinas y proantocianidinas), flavanones, flavonas e isoflavonas (Crozier, Jaganath y Clifford, 2009), en la Fig. 1. se presenta la clasificación de los compuestos fenólicos en bayas de fruta.

La estructura básica de los polifenoles consiste en dos grupos fenilo ligados al puente de tres carbonos comúnmente ciclados con el oxígeno. Varias moléculas de azúcar pueden unirse a la estructura del flavonoide por los grupos hidroxilo, lo cual genera que la estructura de estas moléculas sea más compleja (Jakobek *et al.*, 2013). Los polifenoles comprenden varias clases de sustancias naturales, entre las cuales están muchas de las que les confieren colores amarillo, naranja, rojo, violeta y azul a muchas flores, hojas y frutos, especialmente (Martínez, 2005).

Como resultado de la gran variedad de compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, las propiedades y aplicaciones de los fenoles varían, existiendo algunos con efectos tóxicos sobre los organismos vivos y otros con efectos favorables para la salud.

1.2 Biosíntesis

Los polifenoles, como se mencionó anteriormente y como su nombre lo indica, contienen al menos un grupo **fenol** y un ani-

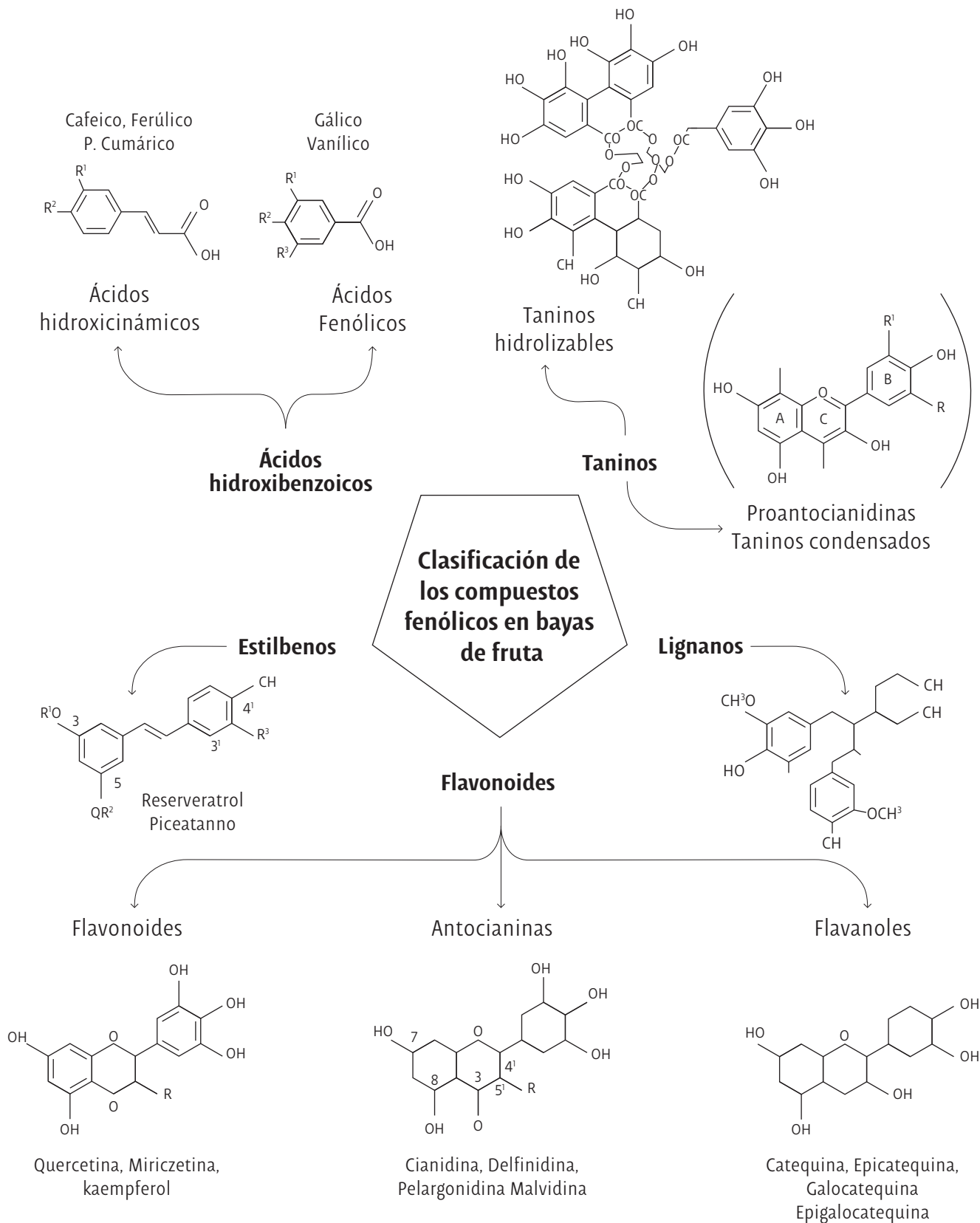


Fig. 1. Clasificación de los compuestos fenólicos en bayas de frutas (Adaptado de Paredes, Cervantes, Vigna y Hernández, 2010)

llo aromático unido a un grupo funcional. Se diferencian de otros compuestos, que también poseen esta estructura fenólica (monoterpenos), en su origen biosintético. La biosíntesis de los polifenoles como producto del metabolismo secundario de las plantas, tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shiquímico y la ruta de los poliacetatos (Bravo, 1998). La ruta del ácido shiquímico proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), y la síntesis de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). La ruta de los poliacetatos proporciona las quinoonas y las xantonas. La ruta del ácido shiquímico (dependiente de la luz) se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fosfato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucólisis. Tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido shiquímico, del que derivan directamente algunos fenoles (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012). En la Fig. 2 se observa la ruta biosintética de los flavonoides en las plantas.

2. Compuestos fenólicos en alimentos

Numerosos estudios han confirmado las propiedades biológicas de los polifenoles, teniendo potencial interés sus propiedades antioxidantes (relacionada con su capacidad para quelar metales y captar radicales libres) (Perez-Vizcaino, Duarte, Jimenez, Santos-Buelga y Osuna, 2009, Xiao, Kai, Yamamoto y Chen, 2013). Consiguiendo un beneficio desde un punto de vista nutricional la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en compuestos fenólicos, reduciendo así la utilización de aditivos antioxidantes. Los flavonoides con mayor poder antioxidante o actividad neutralizadora de radicales libres son: catequina, quercetina, miricetina, kaempferol, isoxanthohumol, genisteína, naringenina y el glucósido de cianidina C_3G presente especialmente en el vino tinto (Ochoa y Ayala, 2004).

Fabianni *et al.*, (2013) encontraron en los extractos de arándano (el cual presenta un alto contenido de polifenoles), un aumento en la actividad antirradicalaria (medida como porcentaje de decoloración de DPPH) del 62.86% al 64.52% usan-

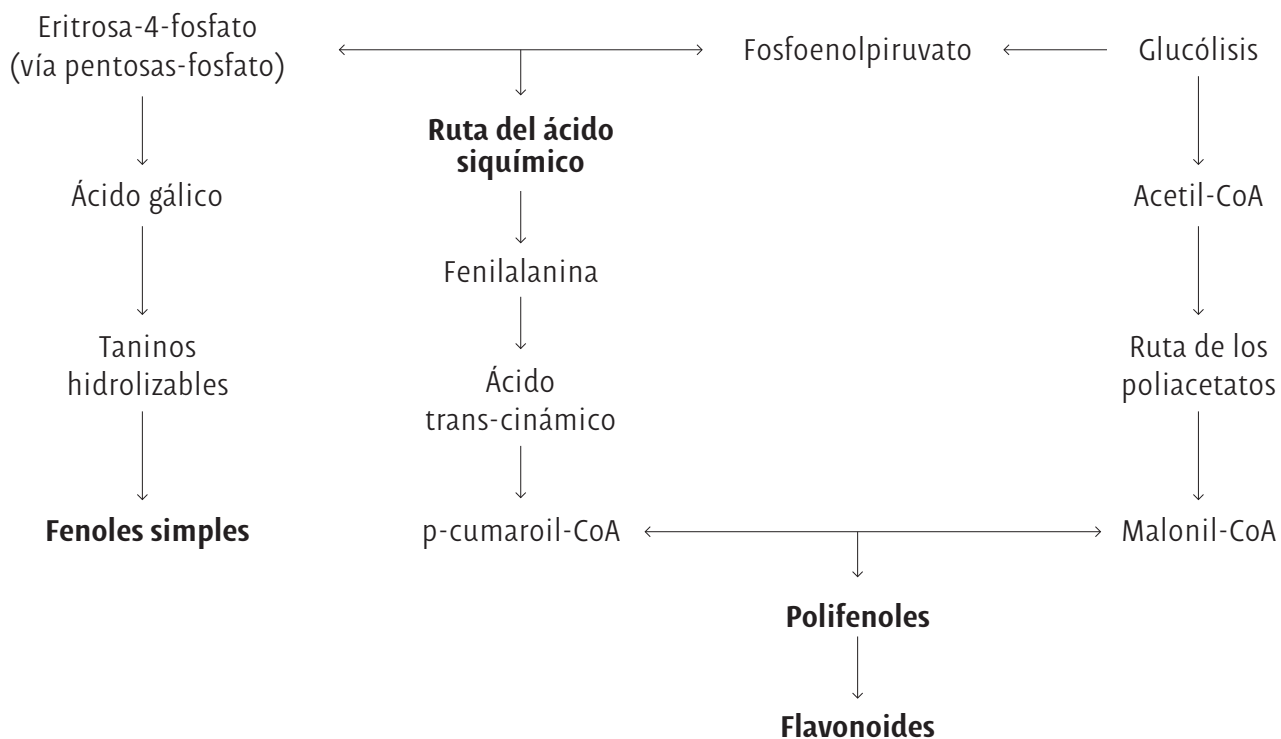


Fig. 2. Ruta biosintética de los polifenoles (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012).

Tabla I. Estudios de intervención en humanos con compuestos polifenólicos de alimentos.

Modo de administración	Compuesto polifenólico)	Dosis por día	Efectos en salud	Referencias
Cebolla	Quercetina	112 mg	Disminución de la presión arterial	Kudolo, 2001
Extracto de Ginkgo Biloba	Quercetina	120-320 mg	Disminución de radicales libres	Kudolo, 2001
Chocolate	Procianidinas	320 mg	Disminución de oxidación de LDL	Taubert, Berkels, Roesen y Klaus, 2003
Vino tinto	Procianidinas	250-500 ml vino	Disminución de peróxidos en plasma	Nigdikar, Williams, Griffin y Howard, 1998

LDL: Lipoproteína de baja densidad. Adaptado de Arranz (2010).

do quercetina como referencia. Otro estudio demostró que estos polifenoles (antocianinas, quercetina, procianidinas) lograron aumentar la capacidad antioxidante del organismo en adultos mayores sanos (50-70 años) (McKay, Oliver, Zampariello y Blumberg, 2015) dando un resultado del 44.6 $\mu\text{mol Trolox/g}$ peso seco por el método ORAC (capacidad de absorbancia del radical oxígeno) (Paredes, Cervantes, Vigna y Hernández, 2010). También se ha reportado que los ácidos fenólicos solubles (formas glicosiladas libres, esterificadas y solubles) contribuyen en la actividad antioxidante de cereales alimentarios, como se observó en un estudio de granos de maíz y trigo, los cuales presentaron una actividad antioxidante de 181.42 ± 0.86 y 70 ± 1.38 μmol de vitamina C equiv/g de grano respectivamente (Pihlava *et al.*, 2015).

Por otro lado, el jugo de uva también ha mostrado beneficios potenciales asociados a su composición polifenólica. Se ha demostrado que adultos mayores con deterioro cognitivo leve después de 12 semanas de consumir jugo de uva (6-9 mL/kg/día) mostraron un mayor aprendizaje y una tendencia hacia una mayor recuperación de memoria de acuerdo al test California verbal learning (CVLT), en relación con los adultos que recibieron un placebo, atribuyendo este resultado al alto contenido de polifenoles (flavonoides) en el jugo de uva (Marshall, Shukitt-Hale, y Shukitt-Hale, 2012). En la Tabla I se muestran estudios de intervención en humanos con sus efectos de salud que conlleva el consumo de alimentos ricos en polifenoles.

La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, formas que no se pueden absorber. La solubilidad y destino metabólico de los polifenoles, debido a biotransformaciones endógenas y exó-

genas, y la interacción con otros componentes de la dieta, determinan la biodisponibilidad (proporción de nutrientes que se digieren, se absorben y se metabolizan a través de las rutas metabólicas habituales de asimilación) de estas sustancias (Birt, Hendrich y Wang, 2001; Srinivasan, 2001). Esta biodisponibilidad, en el caso de los flavonoides, puede ser muy diferente dependiendo del tipo de compuesto y de su estructura concreta, es por eso que su bioaccesibilidad (fracción máxima que puede liberarse de la matriz del alimento en el tracto gastrointestinal) y biodisponibilidad son sujetos de diversos estudios y revisiones (Adam *et al.*, 2002; Duarte y Farah, 2011; Serra *et al.*, 2010), donde el objetivo principal es el determinar cuáles son los polifenoles que mejor se absorben, valorar los polifenoles que dan lugar a metabolitos activos, y caracterizar la actividad biológica de estos metabolitos (Quiñones *et al.*, 2012).

3. Modificaciones enzimáticas

Durante los últimos años se han implementado muchos esfuerzos en la búsqueda de nuevos compuestos fenólicos o en la modificación estructural de los previamente conocidos para incrementar su estabilidad a través de biomimética.

Se ha comprobado que los compuestos fenólicos pueden sufrir modificaciones enzimáticas en su estructura, confiriéndoles una mayor estabilidad así como propiedades mejoradas en cuestión de su capacidad antioxidante y propiedades colorantes. Los polifenoles, particularmente las antocianinas, pueden ser modificadas a través de glicosilaciones, acilaciones y metilaciones usando enzimas selectivas (Yan *et al.*, 2013; Yonekura-Sakakibara, Nakayama, Yamazaki y Saito, 2012). Se ha demostrado la obtención de antocianinas más estables, por medio de la copigmentación con isoquercetina (Yan *et al.*, 2013).

Este tipo de modificaciones sobresaltan el color de las flores y de los frutos de las plantas, resultando de gran importancia, estudiar la probabilidad de modificar estructuralmente dichos compuestos con fines de obtener y conseguir propiedades mejoradas.

3.1 Glicosilaciones y enzimas implicadas

Muchos de los metabolitos secundarios, que tienen una gran tradición en aplicaciones etnofarmacológicas ancestrales y precursoras de la medicina moderna, se presentan naturalmente en su forma glicosilada, por ejemplo la presencia de la glicona representa grandes ventajas desde el punto de vista farmacológico. Un método alternativo para la síntesis de glucósidos es la vía enzimática, en la cual se aprovecha la alta especificidad de las enzimas, permitiendo realizar la síntesis en un número reducido de etapas de proceso y lo que es mejor, evitando subproductos no deseados.

La mayoría de los estudios sobre las consecuencias funcionales de la glicosilación de polifenoles se centran en cómo se afecta su capacidad antioxidante e inhibición de enzimas digestivas, por lo tanto es muy difícil obtener observaciones generales o de aplicación universal sobre el impacto de la glicosilación en la bioactividad de estos compuestos y la capacidad de afectar la salud humana. Sin embargo, podemos encontrar algunos ejemplos de glicosilaciones enzimáticas en algunos alimentos como lo es en jugos, uno de estos ejemplos es el llevado a cabo por Morais *et al.*, en el 2013, donde consiguieron potenciar la actividad antioxidante en jugos de naranja y lima por glicosilación enzimática empleando las enzimas α -L-rhamnosidasa y la β -D-glucosidasa, solas o en combinación, obteniendo derivados con un incremento de actividad antioxidante del 72.7% al 86.5%. También se ha demostrado la eficiencia del kaempferol (flavonol encontrado en el té verde) como limpiador de los radicales 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

(DPPH) y un mejor inhibidor de la xantina oxidasa (Park, Rho, Kim y Chang, 2006). Otro ejemplo de glicosilación enzimática de compuestos fenólicos, es el encontrado en la naringina (flavanona glicosilada) donde se observó que genera una actividad antiinflamatoria con la disminución de un 50% en los niveles de la peroxidación lipídica (Amaro *et al.*, 2009).

Existen varias enzimas implicadas en la glicosilación, particularmente encontramos aquéllas que catalizan las reacciones de sustitución, y son activas con múltiples clases de flavonoides (Tooru, 2005). Un ejemplo de lo anterior es la glucosiltransferasa UGT78G, identificada como una isoflavona glucosiltransferasa que presenta una afinidad cinética baja sobre las antocianidinas (Dixon y Pasinetti, 2010). Las enzimas flavonol glicosil transferasa, antociani(di)n glicosil transferasa y flavonoide glicosil transferasa pueden ser usadas para la modificación estructural "in vitro" de antocianinas con fines de mejorar su capacidad colorante y/o antioxidante (Lillo, Lea y Ruoff, 2008). En la Tabla II se nombran las glucosiltransferasas identificadas durante los últimos años, permitiendo la obtención a gran escala de dichas enzimas en la industria alimentaria.

3.2 Acilaciones y enzimas implicadas

Los compuestos fenólicos pueden proporcionar numerosas oportunidades para la innovación de ingredientes y/o aditivos alimentarios. Sin embargo, dependiendo de su estructura, su uso está limitado, sobre todo en la industria alimenticia por su solubilidad débil en matrices lipídicas. Algunos científicos han investigado la acilación química y enzimática con el fin de mejorar las propiedades de los polifenoles. En comparación con los métodos químicos, el enfoque enzimático es más adecuado para estas modificaciones porque las enzimas son regioselectivas y el proceso puede llevarse a cabo a temperaturas y presiones moderadas, por lo tanto, el proceso de acilación enzimática es un método prometedor.

Tabla II. Glicosiltransferasas identificadas entre el 2006 y 2013

Especie	Enzima	Substrato (s) Aceptor	Substrato donador	Producto	Referencias
<i>Amaranthus tricolor</i>	BGT	Betanidina Kaempferol	UDP-Glc	O-glucósido	Das, Gauri, Misra, Biswas y Dey (2013)
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AtUGT78D3	Quercetina	UDP-Ara	O-arabinosida	Kim <i>et. al.</i> (2010)
<i>Glicina max</i> (L.) Merr	UGT78K1	Antocianidinas Flavonoles	UDP-Glc	O-glucósido	Kovinich Saleem, Arnason y Miki (2011)
<i>Vitis vinifera</i>	Vv GT6	Flavonoles	UDP-Glc	O-glucósido	Ono, Ruike, Iwashita, Nomoto y Fukui (2010)

La acilación corresponde al proceso químico de adicionar grupos acilo a un compuesto con el fin de producir o generar compuestos más estables utilizando biosíntesis química y/o enzimas específicas. Este proceso es particularmente importante en la estabilización de antocianinas, generándose compuestos más azulados. Varios tipos de enzimas han sido probadas para la acilación de flavonoides, como las proteasas, acil transferasas y lipasas, no obstante, el aumento en el número de enzimas disponibles comercialmente permite una amplia gama de biocatalizadores para ser utilizados (Chebil, Humeau, Falcimaigne, Engasser y Ghoul, 2006). La enzima isoflavona-7-O-beta-glucosido 6"-O-maloniltransferasa (EC 2.3.1.115) es una aciltransferasa que se encarga de transferir grupos acilo y participa en la biosíntesis de flavonoides. La enzima comercial registrada lipase B (Novozym 435®) permite la acilación de glucósidos de flavonoles (naringina) de los frutos manzana y arándanos, en sus correspondientes ácidos fenólicos (Steven-son, Wibisono, Jensen, Stanley y Cooney, 2006).

4. Aplicaciones de compuestos fenólicos modificados en alimentos

Para la industria de los alimentos, los compuestos fenólicos tienen un nicho de aplicación cada vez con mayor impacto debido a sus múltiples características benéficas frente a distintos parámetros. Es así como la modificación enzimática en estos compuestos le confiere una mayor versatilidad y, sobre todo, un alto potencial para ser usados como colorantes naturales y aditivos funcionales favoreciendo la capacidad antioxidante.

Evaluando la concentración de antocianinas de productos alimenticios, en un inicio ricos en antocianinas, es probable establecer analíticamente por métodos cromatográficos un índice de calidad, el cual es útil para determinar un análisis rutinario de la vida de anaquel del producto y de sus propiedades benéficas (Bononi y Tateo, 2007). De esta misma manera se puede estimar el incremento en la vida de anaquel de productos adicionados con antocianinas modificadas, más estables y con las mismas o mejores propiedades antioxidantes y colorantes (Zhang *et al.*, 2013).

A pesar de los grandes beneficios que conlleva el consumo de compuestos fenólicos en una dieta diaria, y su aplicación en la industria alimentaria, son pocos los estudios realizados sobre la modificación enzimática de dichos compuestos y su aplicación en alimentos. Sin embargo, en la bibliografía podemos encontrar algunos ejemplos: el primer glucósido flavonol soluble y considerado seguro (GRAS) por la FDA en el 2003, es

la isoquercetina enzimáticamente modificada (EMIQ) obtenida por transglucosilación con la enzima ciclodextrina glucanotransferasa (CGTase) (Akiyama, Washino, Yamada, Koda, y Maitani, 2000). También se ha reportado el potencial de la alfa-L-rhamnosidasa en la producción de bebidas funcionales por la reacción de glicosilación en sus glucósidos flavonoides (Morais *et al.*, 2013) donde se observó, de acuerdo a ensayos con antioxidantes, un incremento significativo en la bioconversión de jugos cítricos, pudiendo favorecer en intervenciones futuras en relación con los beneficios para la salud de los flavonoides cítricos.

Conclusiones y comentarios finales

La estabilización de los compuestos fenólicos, principalmente antocianínicos y flavonoides por métodos enzimáticos, permite obtener nuevos compuestos con múltiples ventajas, ofreciendo mayores posibilidades de aplicación; para inhibir la proliferación celular en cáncer, como antioxidantes en productos farmacéuticos, cremas y alimentos, para evaluar la calidad nutricional de un alimento, entre otros. Es por ello que se necesitan más investigaciones para favorecer el uso de los compuestos fenólicos modificados enzimáticamente, en diferentes campos, teniendo potencial interés su aplicación en alimentos funcionales.

Agradecimientos

La autora L.R. Castro Lopez agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla, por el financiamiento de sus estudios de posgrado y el apoyo para realizar este trabajo.

Referencias

Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M. A., Leenhardt, F., Leuillet, M., Demigné, C. (2002). The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *The Journal of Nutrition*, 132, 1962-1968.

- Akiyama, T., Washino, T., Yamada, T., Koda, T., y Maitani, T. (2000). Constituents of enzymatically modified isoquercitrin and enzymatically modified rutin (extract). *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 41(1), 54-60.
- Amaro, M., Rocha, J., Vila-Real, H., H., Eduardo-Figueira, M., Mota-Filipe, H., Sepodes, B., Ribeiro, M. (2009). Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesised naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*, 42, 1010-1017.
- Andrae-Marobela, K., Ghislain, F.W., Okatch, H y Majinda, R. (2013). Polyphenols: a diverse class of multi-target anti-HIV-1 agents. *Current Drug Metabolism*, 7, 392-413.
- Arranz, S. (2010). Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Tesis de doctorado no publicada, Universidad Complutense de Madrid. España.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317-333.
- Binsack, R., Boersma, B. J., Patel, R. P., Kirk, M., White, C. R., DarleyUsmar, V., Barnes, S., Zhou, F., Parks, D.A. (2001). Enhanced antioxidant activity after chlorination of quercetin by hypochlorous acid. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 25, 434-443.
- Birt D. F., Hendrich, S., Wang, W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 90, 157-77.
- Bononi, M., Tateo, F. (2007) Stabilization of cranberry anthocyanins in nutraceutical capsules. *Int. Journal on Food Science Nutrition*, 58(2), 142-149.
- Chebil, L., Humeau, C., Falcimaigne, J., Engasser, J., Ghoul, M. (2006). Enzymatic acylation of flavonoids. *Process Biochemistry*, 41, 2237-2251.
- Christensen, L. P. (2009). Ginsenosides chemistry, biosynthesis, analysis, and potential health effects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 55, 1-99.
- Crozier, A., Jaganath, I., Clifford, M. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports*, 26, 1001-10043.
- Das, S., Gauri, S., Misra, B., Biswas, M., Dey, S. (2013). Purification and characterization of a betanidin glucosyltransferase from *Amaranthus tricolor* L catalyzing non-specific biotransformation of flavonoids. *Plant Science*, 211, 61-9.
- Dixon, R. y Pasinetti, G. (2010) Flavonoids and Isoflavonoids: From Plant Biology to Agriculture and Neuroscience. *Plant Physiology*, 154, 453-457.
- Duarte, G. S., y Farah, A. (2011). Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogenic acids' bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7925-7931.
- Fabiani, G., Pérez, E., Corral, L., Salguero, A., González, M., Tereschuk, M y Boggetti, H. (2013). Evaluación del contenido de antioxidantes en extractos convencionales y supercríticos de arándano (*Vacciniu corymbosum* L.) Investigaciones en Facultades de Ingeniería del NOA ISSN N° 1853-7871.
- Gorelik, S., Kanner, J., Schurr, D., Kohen, R. (2013). A rational approach to prevent postprandial modification of LDL by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 5, 163-169.
- Jakobek, L., García, R., Tomás, F. (2013). Polyphenolic characterisation of old local apple varieties from Southeastern European region. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31, 199-211.
- Johnson, M., DeMejia, E., Fan, J.F, Lila, M y Yousef, G. (2013). Anthocyanins and proanthocyanidins from blueberry-blackberry fermented beverages inhibit markers of inflammation in macrophages and carbohydrate-utilizing enzymes in vitro. *Molecular and Nutrition Food Research*, 57, 1182-97.
- Kim, B., Jung, N., Joe, E., Hur, H., Lim, Y., Chong, Y. (2010). Bacterial synthesis of a flavonoid deoxyaminosugar conjugate in *Escherichia coli* expressing a glycosyltransferase of *Arabidopsis thaliana*. *Chembiochem*, 11, 2389-92.
- Kovinich, N., Saleem, A., Arnason, J., Miki B. (2011). Combined analysis of transcriptome and metabolite data reveals extensive differences between black and brown nearly-isogenic soybean (*Glycine max*) seed coats enabling the identification of pigment isogenes. *BMC Genomics*, 12, 381.
- Kudolo, G. B. (2001). The effect of 3-month ingestion of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on pancreatic β -cell function in response to glucose loading in individuals with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of clinical pharmacology*, 41(6), 600-611.
- Lillo, C., Lea, U.S., Ruoff, P. (2008) Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell Environ*, 31, 587-601.

- Martínez, A. (2005). Flavonoides. Recuperado el 20 de enero de 2015 de Universidad de Antioquia: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>.
- Marshall, G., Shukitt-Hale, B., Shukitt-Hale, M (2012). Berry Fruit Enhances Beneficial Signaling in the Brain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5709-5715.
- McKay, D., Oliver, C.Y., Zampariello, A., Blumberg, J. (2015). Flavonoids and phenolic acids from cranberry juice are bioavailable and bioactive in healthy older adults. *Food Chemistry*, 168, 233-240.
- Morabito, N. et al. (2002). Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: A randomized double-blind placebo-controlled study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(10), 1904-1912.
- Morais, C., Jares, F., Frankland, A., Cabral, E., Barbosa, I., Nogueira, M. y Oliveira, P. (2013). Enhancement of the antioxidant activity of orange and lime juices by flavonoid enzymatic de-glycosylation. *Food Research International*, 52, 308-314.
- Muñoz, A., Fernández, A., Ramos, F y Alvarado-Ortiz, C. (2007). Evaluation of the antioxidant activity and content of phenolics compounds in wines produced in Peru. *Sociedad Química de Perú*, 73(1), 30-40.
- Nigdikar, S. V., Williams, N. R., Griffin, B. A., y Howard, A. N. (1998). Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low-density lipoproteins to oxidation in vivo. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68(2), 258-265.
- Ochoa, C., Ayala, A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos. *Ingeniería y competitividad*, Volumen 6 - No. 2.
- Ono, E., Ruike, M., Iwashita, T., Nomoto, K., Fukui Y. (2010). Co-pigmentation and flavonoid glycosyltransferases in blue Veronica persica flowers. *Phytochemistry*, 71, 726-35.
- Paredes, O., Cervantes, M., Vigna, M., Hernández, T (2010). Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life a review. *Plant Foods Human Nutrition* 65, 299-308.
- Park, J. S., Rho, H. S., Kim, D. H., y Chang, I. S. (2006). Enzymatic preparation of kaempferol from green tea seed and its antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2951-2956.
- Perez-Vizcaino F, Duarte J, Jimenez R, Santos-Buelga C, Osuna A. (2009). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacology Reports*, 61, 67-75
- Pihlava, J. M., Nordlund, E., Heinio, R. L., Hietaniemi, V., Lehtinen, P y Poutanen, K. (2015). Phenolic compounds in wholegrain rye and its fractions. *Journal of Food Composition and Analysis*, 38, 89-97.
- Quiñones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Sánchez-Paniagua- López, M. (2008). Biosensores amperométricos de tirosinasa para la determinación de compuestos fenólicos en medios acuosos y no acuosos. Tesis de doctorado publicada, Universidad Complutense de Madrid. España.
- Serra, A., Macià, A., Romero, M. P., Valls, J., Bladé, C y Arola, L. (2010). Bioavailability of procyanidin dimmers and trimers and food matrix effect in in vitro and in vivo models. *British Journal of Nutrition*, 103, 944-952.
- Srinivasan, V. (2001). Bioavailability of nutrients: a practical approach to in vitro demonstration of the availability of nutrients in multivitamin- mineral combination products. *Journal of Nutrition*, 13,1349S-1350S.
- Stevenson, D., Wibisono, R., Jensen, J., Stanley, R y Cooney, J. (2006). Direct acylation of flavonoid glycosides with phenolic acids catalysed by *Candida antarctica* lipase B (Novozym 435®). *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 1236-1241.
- Taubert, D., Berkels, R., Roesen, R., y Klaus, W. (2003). Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension [5]. *Journal of the American Medical Association*, 290(8), 1029-1030.
- Tomás-Barberán, F., A, Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzyme as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 81, 853-876.
- Tooru, N. (2005). Evolution and functions of anthocyanin transglycosylation enzyme. Specificity and universality of sugar transferase controlling flower color diversity. *Journal Kagaku to Seibutsu*, 43(3), 142-145.
- Xiao, J.B., Kai, G.Y., Yamamoto, K y Chen, X.Q. (2013). Advance in dietary polyphenols as α -glucosidases inhibitors: a review on structure-activity relationship aspect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 818-36.
- Yan, Q., Zhang, L., Zhang, X., Liu, X., Yuan, F., Hou, Z y Gao, Y. (2013) Stabilization of grape skin anthocyanins by copigmentation with enzymatically modified isoquercitrin (EMIQ) as a copigment. *Food Research International*, 50, 603-609.

Yonekura-Sakakibara, K., Nakayama, T., Yamazaki, M., Saito, K. (2012). Modification and Stabilization of Anthocyanins in Anthocyanins. *Biomedical and Life Sciences*, 169-190.

Young, J. F. *et al.* (2002). Green tea extract only affects markers of oxidative status postprandially: Lasting antioxidant effect of flavonoid-free diet. *British Journal of Nutrition*, 87(4), 343-355.

Zhang, Y., Butelli, E., De Stefano, R., Schoonbeek, H., Magusin, A., Pagliarani, C., Wellner, N., Orzaez, D., Granell, A., Jones, J y Martin, C. (2013). Anthocyanins double the shelf life of tomatoes by delaying overripening and reducing susceptibility to gray mold. *Current Biology*, 23(12), 1094-1100.