

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“EXTRACTOS DE UCHUVA (*Physalis peruviana* L.)  
SOMETIDA A ESTRÉS SALINO Y SU EFECTO SOBRE LA  
INHIBICIÓN DE ENZIMAS GASTROINTESTINALES”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO AGROQUÍMICO**

PRESENTA

**DULCE MARÍA MORA GARDUÑO**

DIRIGIDA POR

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO**

CO-DIRIGIDA POR

**Dra. MARELY GRACIELA FIGUEROA PÉREZ**

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2022



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“EXTRACTOS DE UCHUVA (*Physalis peruviana* L.)  
SOMETIDA A ESTRÉS SALINO Y SU EFECTO SOBRE LA  
INHIBICIÓN DE ENZIMAS GASTROINTESTINALES”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERO AGROQUÍMICO**

**PRESENTA**

**DULCE MARIA MORA GARDUÑO**

**DIRIGIDA POR**

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO**

**SINODALES**

**Dra. ROSALÍA REYNOSO CAMACHO  
DIRECTOR**

**Dra. MARELY GRACIELA FIGUEROA PÉREZ  
CO-DIRECTOR**

**M. en C. ROCÍO CRYSTABEL LÓPEZ GONZÁLEZ  
SINODAL**

**Q.A. FRANCISCO ROMERO GONZÁLEZ  
SINODAL**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2022.**

---

---

---

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Doctora Rosalía por su apoyo tanto académico como emocional durante todo momento. A mis sinodales Francisco, Crystabel, Marely, que siempre estuvieron atentos en mis inquietudes y proceso.

A mis padres: Carmen y Alejandro, que son mi motor y apoyo incondicional. A mis hermanos: Jessi, Vane, Ale, Dani, Beto y Abraham; mis sobrinos Ale, Dani, Emi, Alejandrino y Sofi. Y mis cuñados, Javi, John y Karen. Gracias familia por su comprensión, amor y soporte.

A mis compañeros de laboratorio: Alex, Anita, Naye, Yuri, Ale, Hugo, Haiku, Fer, quienes fueron mis guías y amigos. Al resto de mis amigos y a mis compañeros de generación, cuyo apoyo, incluso a distancia, siempre fue fundamental.

## ÍNDICE GENERAL

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE GENERAL	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	vii
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Diabetes	1
1.2 El Índice glucémico	1
1.3 Inhibidores de $\alpha$ -amilasa	2
1.4 Inhibidores de lipasa pancreática	3
1.5 Inhibidores naturales de $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática	3
1.6 <i>Physalis peruviana</i> L.	4
1.7 Composición nutrimental del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L.	6
1.8 Fitoquímicos presentes en la planta y frutos de uchuva	7
1.9 Estrés abiótico y elicitación	10
1.10 Estrés salino y producción vegetal	10
1.11 Efecto del estrés salino en la producción de metabolitos secundarios	11
2. HIPÓTESIS	12
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo General	13
3.2 Objetivos específicos	13
4. METODOLOGÍA	14
4.1 Materiales	14
4.1.1. Inducción del estrés salino	14
4.2. Evaluación de compuestos bioactivos	15
4.2.1 Extracción de compuestos fenólicos totales	15
4.2.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	15

4.2.3 Cuantificación de flavonoides	15
4.2.4 Extracción y cuantificación de carotenoides totales	16
4.3.1. Ensayo de inhibición de $\alpha$ -amilasa	16
4.3.2. Determinación de inhibición de lipasa pancreática	17
4.4. Análisis estadístico	18
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1 Efecto del estrés salino en el rendimiento de <i>Physalis peruviana</i> L.	19
5.1.1 Producción de materia seca	19
5.1.2 Crecimiento de las plantas	23
5.2 Efecto del estrés salino en la producción de compuestos fitoquímicos de <i>Physalis peruviana</i> L.	24
5.2.1 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	25
5.2.2 Cuantificación de flavonoides	26
5.2.3 Cuantificación de carotenoides	28
5.3 Inhibición de enzimas intestinales por extractos fenólicos y carotenoides de <i>Physalis peruviana</i> L.	32
5.3.1 Inhibición de lipasa pancreática por extractos fenólicos de <i>Physalis peruviana</i> L.	32
5.3.2 Cuantificación de extractos fenólicos y carotenoides de <i>Physalis peruviana</i> L. resuspendidos en agua y DMSO	36
5.3.3 Inhibición de lipasa pancreática por extractos fenólicos y carotenoides de <i>Physalis peruviana</i> L. resuspendidos en agua y DMSO	38
5.3.4 Inhibición de $\alpha$ -amilasa por extractos fenólicos y carotenoides de <i>Physalis peruviana</i> L.	41
5.4 Correlaciones de Pearson entre los compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides de <i>Physalis peruviana</i> L. con la inhibición de enzimas gastrointestinales	43
6. CONCLUSIONES	45
7. BIBLIOGRAFÍA	46

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Macronutrientes y micronutrientes de la pulpa de <i>Physalis peruviana</i> L.	7
2	Compuestos Fitoquímicos presentes en el jugo de <i>Physalis peruviana</i> L.	8
3	Fitoquímicos aislados en la hoja de <i>Physalis peruviana</i> L.	9
4	Rendimiento del fruto ( <i>Physalis peruviana</i> L.) cultivado bajo estrés salino.	21
5	Localización de los picos de absorción de los extractos de pigmentos fotosintéticos.	31
6	Contenido de metabolitos secundarios en hoja y fruto secos de <i>Physalis peruviana</i> L. sometidos a estrés salino.	37
7	Inhibición de lipasa pancreática por extractos de fenoles y carotenoides resuspendidos.	38
8	Porcentaje de Inhibición de $\alpha$ -amilasa por extractos fenólicos y carotenoides de hoja y fruto secos de <i>Physalis peruviana</i> L.	41
9	Correlaciones de Pearson entre la actividad inhibitoria de lipasa pancreática y $\alpha$ -amilasa con los compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides de hoja y fruto de <i>Physalis peruviana</i> L.	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Morfología de <i>Physalis peruviana</i> L.	5
2	Alimentos elaborados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L.	6
3	Rendimiento en peso seco de hojas por planta de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	19
4	Rendimiento en peso seco de fruto por planta de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	20
5	Rendimiento en número de frutos por planta de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	22
6	Altura de la planta <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	23
7	Compuestos fenólicos en hoja y fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	25
8	Contenido de flavonoides en hoja y fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	26
9	Estructura de los principales flavonoides.	27
10	Contenido de carotenoides en hoja y fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. sometida a estrés salino.	28
11	Extracto de carotenoides de hoja y fruto de <i>Physalis peruviana</i> L.	29
12	Espectro de absorbancia de pigmentos fotosintéticos de hoja de <i>Physalis peruviana</i> L., resuspendidos en DMSO.	30
13	Inhibición de lipasa pancreática por extractos de fenoles de <i>Physalis peruviana</i> L. a 30, 60 y 120 min de reacción.	32

## RESUMEN

La uchuva (*Physalis peruviana* Linnaeus) es una especie nativa de Sudamérica que pertenece a la familia de las solanáceas. Ha sido usada en la medicina tradicional como tratamiento contra enfermedades metabólicas como la diabetes. Sus propiedades las atribuyen a su perfil de metabolitos bioactivos, principalmente los polifenoles y carotenoides, así como a su capacidad para inhibir enzimas intestinales. La producción de estos compuestos bioactivos, pueden ser aumentadas en las plantas mediante estrés salino. El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del estrés salino en la planta de uchuva sobre su rendimiento, contenido de compuestos bioactivos e inhibición de enzimas gastrointestinales. Las plantas de uchuva (35) fueron tratadas con NaCl a 10, 20, 30 y 40 mM, mediante aplicación en suelo. Treinta días después del amarre del fruto se determinó el rendimiento de frutos y hojas en la planta. En hoja y fruto se determinó el contenido de compuesto fenólicos totales, flavonoides, carotenoides e inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y lipasa. Se encontró que la aplicación de NaCl en todas las concentraciones generó afectaciones en la producción de follaje y frutos, principalmente con el tratamiento NaCl 40 mM aplicado en la etapa de floración y fructificación; disminuyendo el follaje un 26 % en peso seco y 37 % en producción de frutos respecto al control. Por otro lado, se observó un aumento en el contenido de compuestos fenólicos de 80.5 % en hojas y 29.6 % en frutos, además de un 17.7 % en flavonoides de hojas y frutos tratados con NaCl 40 mM. La inhibición de lipasa no se modificó con la elicitación de uchuva con NaCl, mientras que la inhibición de  $\alpha$ -amilasa incremento en un 30 % en los frutos elicitados. Este efecto mostró una correlación de Pearson de 0.712 para fenoles y 0.849 para flavonoides, y un nivel de significancia menor a 0.05. La elicitación de uchuva con NaCl aumenta significativamente su contenido de compuestos bioactivos e inhibición de enzimas gastrointestinales, sin embargo, afecta el rendimiento de la planta significativamente.

**Palabras clave:** *Physalis peruviana* L., elicitación, fitoquímicos, lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa.



## INTRODUCCIÓN

La uchuva es un fruto agridulce de color amarillo o anaranjado, de la familia de las solanáceas, que se usa para diversos platillos principalmente en Sudamérica, Estados Unidos y algunos países de Europa. Ocupa el segundo lugar en exportación como fruta fresca después del plátano y se considerada originaria de Perú. En la actualidad es cultivada principalmente en Colombia sin embargo se ha extendido su cultivo a otros países, entre ellos México (Madriñan-Palomino y col., 2010; Monroy-Valencia y col., 2021).

El fruto de uchuva contiene un valor nutricional alto, es una excelente fuente de vitaminas, minerales y fibra; y tanto el fruto como las hojas son ricos en metabolitos secundarios, principalmente compuestos fenólicos y carotenoides. (Ramadan-Hassanien, 2011; Mascarenhas y col., 2014; Ramírez-Nieto y col., 2018).

Los metabolitos secundarios derivan de los metabolitos primarios y son aquellas moléculas que no tienen una función fundamental en el mantenimiento de los procesos vitales de las plantas, pero tienen importancia en su interacción con el ambiente, y su adaptación a condiciones adversas (Molina y col., 2018). En conjunto las plantas producen alrededor de un millón de metabolitos, sin embargo los metabolitos secundarios constituyen menos del 1% en peso seco de las plantas. Por ello se han desarrollado estrategias para mejorar su perfil fitoquímico, como la elicitación con NaCl, la cual consiste en exponer a la planta a una concentración conocida de NaCl durante alguna de las etapas del desarrollo del cultivo con la finalidad de activar la producción de compuestos de interés como los fenoles, ya que se ha encontrado que, en plantas tolerantes a la salinidad, como la uchuva, aumenta la producción de compuestos fenólicos tras ser sometida a NaCl. (Meloni y col., 2019; Rosas-Medina y col., 2020).

Este cambio en los metabolitos de la planta podría provocar una mejora en las propiedades benéficas a la salud. Por ejemplo, enfermedades como la diabetes son tratadas con este tipo de compuestos, algunos de los cuales son capaces de

inhibir enzimas como la amilasa y la lipasa. Dichas enzimas, son importantes en el sistema digestivo, ya que catalizan compuestos complejos como oligosacáridos y triacilgliceroles a moléculas más simples que puedan ser fácilmente digeridas. La inhibición de estas enzimas ayuda a reducir la disponibilidad de estos compuestos, beneficiando así la salud de personas (Worsztynowicz y col., 2014; Maqsood y col., 2017; Thakur y col., 2019).

Por lo tanto, el tratamiento salino de la planta de uchuva podría ser una alternativa para incrementar sus compuestos bioactivos y mejorar la capacidad de inhibición de las enzimas digestivas.

## **1. ANTECEDENTES**

### **1.1 Diabetes**

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica caracterizada por mantener elevados los niveles de glicemia en la sangre del individuo afectado (Baynest, 2015). La razón por la que un paciente diabético no puede controlar normalmente su glicemia está relacionada con defectos en la síntesis de la insulina, secreción de esta hormona o en la disminución del número de sus receptores y/o en su afinidad por la insulina (Zatterale y col., 2020).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce varios tipos de diabetes, dentro de los que destacan: la diabetes de tipo I, que se caracteriza por la ausencia de síntesis de insulina; la diabetes de tipo II, que tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficientemente la insulina, generalmente como consecuencia del exceso de peso o la inactividad física (American Diabetes Association, 2014).

La principal función metabólica de la insulina consiste en favorecer el transporte de la glucosa hacia el interior de las células musculares (miofibrillas) y adiposas (Tokarz y col., 2018).

### **1.2 El Índice glucémico**

El índice glucémico (IG) se define como el área bajo la curva de los niveles de glucosa en la sangre en las dos horas siguientes de la ingesta de un alimento comparado con un alimento de referencia, siendo los más utilizados una solución de glucosa pura, o el pan blanco (Gangwisch y col., 2019).

Después del consumo de alimentos con IG alto, hay un aumento rápido en los niveles de glucosa en la sangre y en respuesta a esto, se aumentan los niveles de insulina (Vega-López y col., 2018). La insulina promueve la absorción de la

glucosa de la sangre a las células, el tejido adiposo, y del músculo esquelético, almacenándola en forma de glucógeno (Van Der Harg y col., 2017).

Por otro lado, otra alteración también presentada por los pacientes diabéticos es el incremento de triacilglicéridos en torrente sanguíneo y esto puede ser controlado mediante una inhibición de la lipasa pancreática, enzima encargada de la hidrólisis de los triacilglicéridos en el intestino delgado. Una alternativa para controlar y disminuir los niveles de glucosa asociados a una dieta con alto IG es el consumo de frutos y hierbas que disminuyen la absorción de hidratos de carbono a través de la inhibición de enzimas responsables de su digestión, como la  $\alpha$ -amilasa (Mahmood, 2016).

### **1.3 Inhibidores de $\alpha$ -amilasa**

Para que los carbohidratos de la dieta se absorban, deben ser hidrolizados a monosacáridos en el intestino. Las amilasas, son enzimas que rompen la molécula del almidón en fracciones más cortas (dextrinas). Las amilasas actúan directamente sobre los enlaces  $\alpha$ -1,4 de la molécula de almidón, lo que da como resultado final la liberación de maltosa, maltotriosa y dextrinas límite. Las dextrinas límite se terminan de hidrolizar por la dextrinasa, originando maltosa y maltotriosa. Finalmente, la maltosa y maltotriosa son digeridas por disacaridasas específicas presentes en la membrana del enterocito, dando como resultado final moléculas de glucosa libre (Whitehurst y col., 2009; Morales, 2017). Por lo que la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa en el sistema digestivo es una de las mejores opciones para mantener el índice glucémico (Taha y col., 2017).

La acarbosa es un medicamento aprobado por la FDA para prevenir la progresión de la diabetes mellitus tipo II combinado con dieta y ejercicio. La acarbosa actúa como inhibidor de  $\alpha$ -amilasa pancreática, retardando la absorción de carbohidratos y disminuyendo de este modo la absorción de glucosa postprandial en la sangre. Sin embargo, el uso de este medicamento aumenta el riesgo de

hipoglucemia cuando se usa con agentes antidiabéticos como las sulfonilureas o la insulina y está contraindicado para pacientes con cirrosis hepática y enfermedades intestinales crónicas. Para mejorar la calidad de vida de las personas que poseen esta enfermedad es necesario el uso de múltiples agentes antidiabéticos que les ayuden a mantener los índices de glucosa en la sangre y a tratar los efectos adversos derivados; con este propósito se recomienda la ingesta de alimentos ricos en compuestos fenólicos (DeFronzo y col., 2015; Tatipamula y col., 2021; McIver y col., 2022).

#### **1.4 Inhibidores de lipasa pancreática**

En presencia de triglicéridos, el hígado libera la lipasa pancreática al intestino delgado, la cual cataliza la hidrólisis de los triacilglicéridos para dar ácidos grasos libres y monoacilglicéridos. La lipasa tiene un papel clave en la regulación del metabolismo de lípidos y la acumulación de tejido adiposo; por lo que la inhibición de la lipasa pancreática es una forma de reducir la disponibilidad de estos compuestos. Existen fármacos encargados de la inhibición de la lipasa pancreática como el orlistat, el cual actúa uniéndose covalentemente a residuos de serina del sitio activo, reduciendo de esta manera alrededor del 30% la absorción de grasas en humanos. A pesar de esto la FDA ha informado que el uso de este medicamento a largo plazo tiene efectos adversos graves como la hepatotoxicidad y la pancreatitis aguda, destacando la necesidad de terapias más seguras y efectivas (Borges y col., 2019; Chukwuma y col., 2019; Orabi y col., 2020).

#### **1.5 Inhibidores naturales de $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática**

Las plantas, frutos y semillas producen una amplia variedad de fitoquímicos, estos metabolitos son utilizados de manera tradicional para tratar enfermedades metabólicas (Rasouli y col., 2017). La diversidad de metabolitos en las plantas es tan amplia que incluso la industria farmacéutica deriva aproximadamente el 25 %

de sus fármacos, de manera directa o indirecta (Molina y col., 2018). Por lo que el consumo de alimentos vegetales tiene un impacto positivo gracias a la ingesta de fibra, ácidos grasos mono y poliinsaturados, compuestos antioxidantes y antiinflamatorios (Kooti y col., 2016; Salas-Salvadó y col., 2019).

Se ha reportado que los pacientes con enfermedades metabólicas como obesidad y diabetes mellitus tipo II se benefician con el consumo de alimentos naturales en su dieta que contienen polifenoles. Por lo tanto, se recomienda que los pacientes adopten patrones dietarios que enfatizan el consumo de alimentos vegetales ricos en sustancias bioactivas como fitoesteroles, diterpenos, triterpenos y compuestos polifenólicos que reduzcan la absorción de carbohidratos y lípidos. Además de brindar un efecto antioxidante y antiinflamatorio, que mejoran el estado de salud y la calidad de vida de las personas con obesidad y diabetes (Cedó y col., 2017; Merone & McDermott, 2017; Molina y col., 2018).

### **1.6 *Physalis peruviana* L.**

La uchuva (*Physalis peruviana* L.) es una planta que pertenece a la familia de las solanáceas y al género *Physalis*. Tiene alrededor de 100 especies y, produce un fruto dentro de un cáliz formado por cinco sépalos hasta su madurez (entre 60 y 90 días). Es una hierba arbustiva perenne, con hojas pubescentes en forma de corazón (Figura 1 E) (Olivares y col., 2017). Los frutos de la uchuva se caracterizan por presentar una coloración amarillo-anaranjados, de bayas de 1.25 a 2.5 cm de diámetro y, semillas aplanadas y de forma lenticular (Figura 1 C) (Fischer y col., 2014).

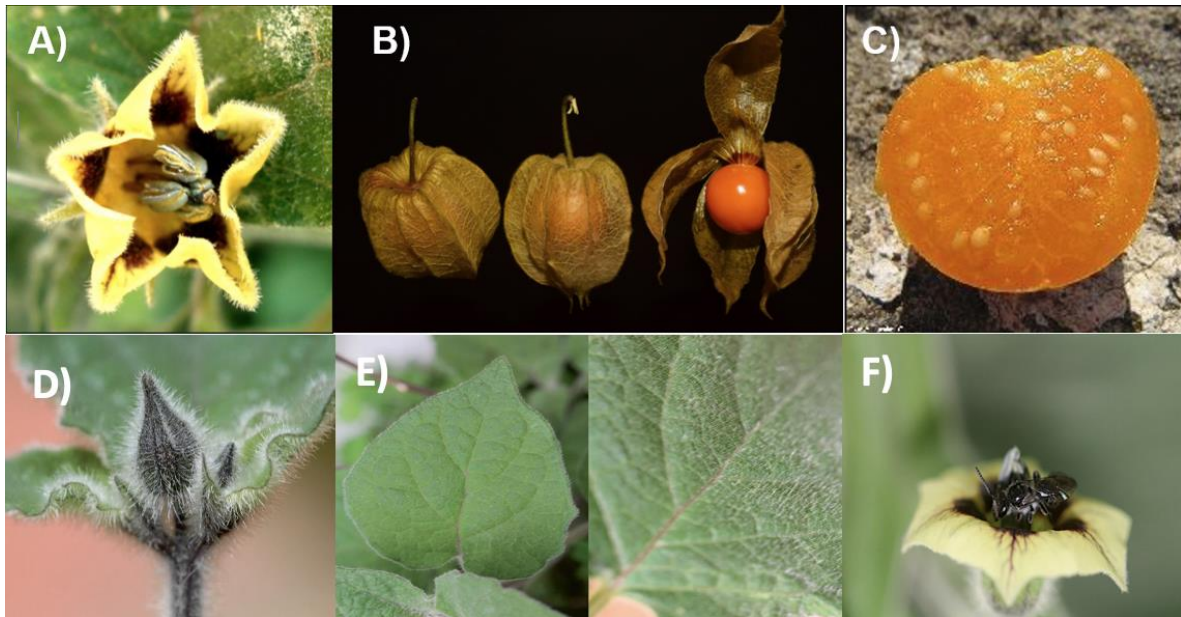


Figura 1. Morfología de *Physalis peruviana* L.

A) Flor. B) Cáliz y fruto de uchuva. C) Corte transversal del fruto, se muestran las semillas aplanadas de forma lenticular. D) Botón de flor E) Hoja en forma de corazón con acercamiento de la pubescencia. F) Abeja polinizando una flor (Adaptada de Restrepo, 2008; Ramírez, 2020).

La uchuva es un fruto agridulce que generalmente se consume fresco, pero también se usa para diversos platillos, mermeladas, jugos, salsas y conservas en algunos países de América y Europa (Figura 2). Ocupa el segundo lugar en exportación como fruta fresca después del plátano; la fruta es conocida con diversos nombres de acuerdo con el idioma y costumbres de la región, algunos de estos son “goldenberry”, “aguaymanto”, “uvilla”, o “cape gooseberry”. La uchuva es considerada originaria de Perú, aunque también se cultiva en Egipto, Sudáfrica, India, Nueva Zelanda, Australia y actualmente su cultivo se ha extendido y popularizado en otros países de América, entre ellos México (Fischer y col., 2014; Ramírez-Nieto y col., 2018, Monroy-Valencia y col., 2021).



Figura 2. Alimentos elaborados del fruto de *Physalis peruviana* L.

- A) Pie de uchuva (Vargas, 2014). B) Mermelada de uchuva baja en azúcar (Pérez, 2009).  
C) Licor artesanal de uchuva (Organicocr.store, 2022).

### 1.7 Composición nutricional del fruto de *Physalis peruviana* L.

El fruto de uchuva contiene como principal macronutriente a los carbohidratos (19 %), con menores concentraciones de lípidos y proteínas. Ramadan-Hassanien (2011), reportó 0.62 g/100 g de sólidos insolubles en alcohol en jugo fresco de uchuva, 0.9 – 1.0 % en contenido de ácido, pH 3.7; azúcares totales 4.9 g/100 g, principalmente sacarosa (35 g/100 g azúcar) y fructosa (29 g/100 g de azúcar).

Para los micronutrientes la vitamina más abundante es la vitamina C (43 mg/100 g), seguido de niacina (1.7 mg/100 g). El fósforo es el mineral más importante (55.3 mg/100 g), seguido del calcio (8 mg/100 g) (Cuadro 1). El jugo de uchuva es una fuente de ácidos grasos poliinsaturados, este contiene 0.2 % de aceite, en el que los principales ácidos grasos son linoleico, oleico, palmítico, palmitoleico y  $\gamma$ -linolénico (GLA). Dentro de estos ácidos grasos, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) fueron los más abundantes. También se ha reportado que contiene 46 mg/100 g de Vitamina C y la Vitamina E con 90.5 mg/100 g (Ramírez-Nieto y col., 2018).



Cuadro 1. Macronutrientes y micronutrientes de la pulpa de uchuva

Componente	Cantidad
Humedad	78.9 %
Proteína	0.05–0.3 g/100 g
Lípidos	0.15–0.2 g/100 g
Carbohidratos	19.6 g/100 g
Fibra	4.9 g/100 g
Ceniza	1.0 g/100 g
Calcio	8.0 mg/100 g
Fósforo	55.3 mg/100 g
Hierro	1.2 mg/100 g
Caroteno	1.6 mg/100 g
Tiamina	0.1 mg/100 g
Riboflavina	0.03 mg/100 g
Niacina	1.70 mg/100 g
Ácido ascórbico	43.0 mg/100 g
SFA	22.7 % <sup>a</sup>
MUFA	31.9 % <sup>a</sup>
PUFA	44.4 % <sup>a</sup>
PUFA Ácidos grasos poli-insaturados MUFA Ácidos grasos monoinsaturados SFA Ácidos grasos saturados. <sup>a</sup> Porcentaje de grasas totales presentes en el jugo.	

(Ramadan-Hassanien, 2011)

### 1.8 Fitoquímicos presentes en la planta y frutos de uchuva

La uchuva se ha utilizado tradicionalmente para prevenir y mejorar el control de enfermedades metabólicas, el jugo de uchuva contiene altos niveles de compuestos bioactivos, lo cual le confiere propiedades benéficas a la salud, además de capacidad antioxidante (Mayorga, 2019). La concentración de compuestos fenólicos totales en jugo de la uchuva es de 6.30 mg/100 g de jugo como equivalentes de ácido cafeico. También se han encontrado altas cantidades de  $\beta$ -caroteno y de tocoferoles, principalmente el  $\gamma$ -tocoferol como mayoritario (Cuadro 2) (Ramírez-Nieto y col., 2018).

Cuadro 2. Compuestos Fitoquímicos presentes en el jugo de *Physalis peruviana* L.

<b>Fitoquímico</b>	<b>Cantidad</b>
Fenólicos totales	6.3 mg GAE/100 mL
Esteroles totales	55.6 g/kg
$\Delta^5$ -Avenasterol	12.5 g/kg
Campesterol	12.2 g/kg
Lanosterol	6.6 g/kg
Stigmasterol	6.2 g/kg
Carotenoides	
$\beta$ -caroteno	4.32 g/kg
Tocoferoles	
$\alpha$ -tocoferol	28.3 g/kg
$\beta$ -tocoferol	15.2 g/kg
$\gamma$ -tocoferol	45.5 g/kg

(Ramírez-Nieto y col., 2018)

Por otra parte, Medina y col. (2012), reportaron que las hojas de uchuva son una fuente rica en compuestos bioactivos, principalmente, witaesteroides, terpenos, witanólidos, alcaloides y flavonoides (Cuadro 3).

En el fruto de uchuva, los compuestos que se ha relacionado como responsables de la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -glucosidasa y actividad hipoglucemiante son los ésteres de sacarosa, alcaloides de pirrolidina, flavonoides y terpenoides y (Singab y col., 2014; Fokunang y col., 2017; Jiménez y col., 2018).

Kinasih y col. (2020) reportaron a la quercetina, mirecetina y kaempferol como los principales compuestos fenólicos del fruto de uchuva y reportaron un contenido de quercetina de (20.7  $\mu$ g/mL de jugo). La quercetina es capaz de mejorar la función antioxidante de las células  $\beta$ -pancreáticas; resultando benéfico como suplemento para personas diabéticas. Además, observaron una disminución en los niveles de glucosa en la sangre y aumento en los niveles de insulina al administrar jugo de uchuva a ratas macho Wistar con diabetes mellitus tipo 2.

Erman y col. (2018) reportaron presencia de fisalina, ácido cítrico y vitamina C, en extractos etanólicos de uchuva como principios activos antidiabéticos, ya que inhiben la actividad de la enzima glucógeno-fosforilasa que cataliza el proceso de glucogenólisis.

Cuadro 3. Fitoquímicos aislados en la hoja de *Physalis peruviana* L.

Tipo de compuesto	Compuesto aislado
Witaesteroides, terpenos	Fisalina A 2,3-dihidrowitanólido E 4β-hidroxiwitanólido E Witanólido E Fisalolactona Witanólido S Perulactona 5β,6β-epoxi-1β,14α,17β,20-tetrahidroxi-24-enólido Fisalolactona B, perulactona B, witaperuvina D 3-O-β-D-glucopiranosido de fisalolactona B 24-metilenocolesterol Sitosterol.
Alcaloides	3β-acetoxitropano y dos isómeros Nmetilpirrolidinilhigrina
Witanólidos	Fiperunolide A Fiperunolide B Fiperunólido C Fiperunólido D Peruvianoxide Fiperunólido E Fiperunólido F 1,10-seco witaperuvina C 4β-hidroxiwitanólido E Visconolido Witanólido F Witafisanólido
Flavonoides	No especificados

(Medina y col., 2012)

## 1.9 Estrés abiótico y elicitación

El estrés en las plantas consiste en romper con el estado de homeostasis, este estado impide a las plantas expresar su máximo potencial de rendimiento, sin embargo, también es un factor importante que determina la composición química de las plantas. El uso de la activación de los mecanismos de defensa de la planta para estimular la biosíntesis de los metabolitos secundarios deseados y asegurar su supervivencia, persistencia y competitividad, se denomina elicitación. Los elicitores son herramientas útiles para mejorar la producción de compuestos vegetales de interés y se clasifican según su origen, en endógenos y exógenos; o según su naturaleza, en bióticos y abióticos. Un elicitor abiótico, fácilmente disponible, barato y con eficacia comprobada es el NaCl (Gutiérrez y col., 2016; Bistgani y col., 2019; Lu y col., 2019; Hawrylak-Nowak y col., 2021).

## 1.10 Estrés salino y producción vegetal

El estrés salino, inducido por NaCl inhibe el crecimiento y reduce la producción de fruto, desarrollo de follaje y pigmentación en las hojas de muchas especies vegetales del género *Physalis*. La inhibición del crecimiento vegetal bajo estrés salino está asociada a alteraciones en las relaciones hídricas-efecto osmótico, afectaciones en la tasa fotosintética, y a la toxicidad de los iones sodio ( $\text{Na}^+$ ) y cloro ( $\text{Cl}^-$ ). En respuesta la planta puede tener alteraciones fisiológicas y energéticas (producción y uso de carbohidratos), por una disminución en la eficiencia fotosintética. El daño causado y la respuesta de la planta ante el estrés salino depende de la especie, la resistencia de la planta a la salinidad, la etapa de crecimiento de la planta en la que es inducido el estrés, la duración y concentración del tratamiento. La especie *Physalis peruviana* L. se considera medianamente sensible a las sales, sin embargo, los mecanismos exactos de la inhibición del crecimiento bajo condiciones de estrés salino no se han dilucidado por completo para todas las especies del género *Physalis* (Miranda y col., 2010; Wáskewicz y col., 2012; Acosta-Motos y col., 2017; Hasanuzzaman y col., 2019).

### 1.11 Efecto del estrés salino en la producción de metabolitos secundarios

Se conoce como metabolismo a los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en un ser vivo. En las plantas, los metabolitos primarios son aquellos que están involucrados directamente en su crecimiento, desarrollo y reproducción; como los azúcares, aminoácidos y lípidos. Los metabolitos secundarios por otro lado derivan de los metabolitos primarios y son aquellas moléculas que no tienen una función fundamental en el mantenimiento de los procesos vitales de las plantas, pero tienen importancia en su interacción con el ambiente, y su adaptación a condiciones adversas (Molina y col., 2018).

La tolerancia a la salinidad en plantas está relacionada con el estrés oxidativo. Para hacerle frente, las plantas activan diversos mecanismos e inducen a las rutas metabólicas del ácido shikímico, fosfato de pentosa y fenilpropanoide, de las cuales se derivan los metabolitos secundarios osmoprotectores y antioxidantes como los compuestos fenólicos y carotenoides (Peralta, 2014; Bistgani y col., 2019; Meloni y col., 2019).

García y col. (2010) reportaron que el estrés salino induce una disminución en el contenido relativo de clorofila e incrementa la peroxidación de lípidos a nivel foliar, en las variedades Montalbán y Tacarigua del género carota; así como un aumento en el contenido foliar de alcaloides y flavonoides y una disminución de fenoles totales. Rosas-Medina y col. (2020), reportaron un incremento en el contenido de flavonoides y antocianinas en plantas de *Physalis ixocarpa* sometidas a crecimiento en una concentración considerable de sal (120 mM). Por lo tanto, la concentración de compuestos bioactivos en plantas inducidas con estrés salino son dependientes del género y variedad, así como de la concentración de sal utilizada.

Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes concentraciones del NaCl en la planta de uchuva y en las características agronómicas, sus compuestos bioactivos e inhibición de enzimas digestivas.

## **2. HIPÓTESIS**

El fruto de *Physalis peruviana* L. sometido a estrés salino durante el cultivo, incrementa su contenido de compuestos fenólicos y carotenoides, mejorando las propiedades inhibitorias de enzimas gastrointestinales.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Determinar el efecto del estrés salino en la planta de uchuva sobre su contenido de compuestos bioactivos, inhibición de enzimas gastrointestinales y su rendimiento.

#### **3.2 Objetivos específicos**

3.2.1. Determinar el efecto del estrés salino sobre el peso de fruto y follaje de uchuva sometida a estrés salino.

3.2.2. Determinar el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides totales de extractos de follaje y fruto de la uchuva previamente sometida a estrés salino.

3.2.3 Evaluar la inhibición de las enzimas amilasas y lipasas por los extractos de compuestos fenólicos y carotenoides de uchuva.

3.2.4 Correlacionar los compuestos fenólicos y carotenoides de la uchuva con la inhibición de enzimas gastrointestinales.

## **4. METODOLOGÍA**

### **4.1 Materiales**

#### **4.1.1. Inducción del estrés salino**

El estudio se estableció bajo el diseño experimental de bloques al azar con 6 repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 8 macetas.

La siembra se realizó en charolas de poliestireno de 200 cavidades conteniendo peat moss marca Sunshine Mix 3 como sustrato. Desde la siembra y hasta los 45 días después de la emergencia, el sustrato se mantuvo húmedo mediante irrigación diaria; posteriormente las plántulas de 30 días fueron trasplantadas en macetas y el cultivo se manejó bajo el sistema de fertirriego en invernadero. Se irrigaron por goteo tres veces al día con solución de Steiner y fueron tutoradas al alcanzar 50 cm de altura.

Noventa días después del transplante, durante el periodo de floración y formación del fruto se inició la inducción de estrés salino, el cual consistió en la aplicación gradual de NaCl en la solución nutritiva hasta alcanzar concentraciones finales de 0 (control), 10, 20, 30 y 40 mM, y se monitoreó su conductividad eléctrica, para que no excediera los 6 dS/m, valor reportado para suelos medianamente salinos.

A partir de la inducción del estrés y en intervalos de ocho días se registraron los parámetros de crecimiento de la planta: altura total de planta, número de hojas por planta, número de frutos por planta y peso del fruto. 30 días después de la formación del fruto se llevó a cabo la cosecha, se les retiró la cáscara, se lavaron y secaron en un horno de convección a 50 °C. Finalmente se molieron en un molino de cuchillas y se enviaron a la Universidad Autónoma de Querétaro para los análisis; donde se refrigeraron a - 20 °C. El cultivo de la planta y procesamiento del fruto se llevó a cabo en la Universidad Tecnológica de Culiacán, Culiacán, Sinaloa México con modificaciones a las metodologías de De Pascale y col. (2001); Burcu y col. (2017).



## **4.2. Evaluación de compuestos bioactivos**

### **4.2.1 Extracción de compuestos fenólicos totales**

Para la obtención de los extractos se mezclaron 0.5 g del fruto seco molido y 20 mL de una solución metanol/agua (50:50), pH 2 con HCl. Se agitó la mezcla a 1500 g, durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó el extracto durante 10 min, a 1500 g y 4 °C, para recuperar el sobrenadante. Después, se adicionaron 20 mL de una solución acetona/agua (70:30) al residuo, se agitó la mezcla a 1500 g durante 1 h a temperatura ambiente y se centrifugó 1500 g, durante 10 min a 4 °C, para recuperar el sobrenadante. Los sobrenadantes se mezclaron para determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales (Hassan y col., 2011).

### **4.2.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales**

El contenido de fenoles totales se determinó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col. (1999). En una microplaca se colocaron 10 µL del extracto obtenido en el punto 4.2.1, 40 µL de agua destilada y 25 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 1 N. La mezcla se agitó durante 5 min y posteriormente se le adicionaron 125 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 5 %. Finalmente, se dejó reposar durante 30 min, protegida de la luz y la absorbancia se leyó a 765 nm. Los resultados se interpolaron de una curva estándar de ácido gálico y se expresan como mg equivalentes de ácido gálico/g muestra seca.

### **4.2.3 Cuantificación de flavonoides**

El contenido de flavonoides se determinó siguiendo la metodología de Oomah y col. (2005). En una microplaca se colocaron: 100 µL del extracto obtenido en el punto 4.2.1, 130 µL de agua destilada y 20 µL de 2-aminoetildifenilborato al 1 % en metanol. La mezcla se agitó y la absorbancia se leyó a 404 nm. Los resultados

se interpolaron de una curva estándar de rutina y se expresan como mg equivalentes de rutina / g muestra seca.

#### **4.2.4 Extracción y cuantificación de carotenoides totales**

La concentración de carotenoides totales se determinó espectrofotométricamente usando la ley de Lambert-Beer, descrita por Olives-Barba y col. (2006). Se utilizó la mezcla de solventes que reportaron como la más eficaz para la extracción de carotenoides: hexano:acetona:etanol (50:25:25 v/v/v).

Se pesaron 2.5 g de muestra seca y molida de hoja y fruto de uchuva y se le agregaron 100 mL de la mezcla de solventes de extracción. La mezcla se agitó durante 30 min, se agregaron 300 mL de agua destilada y se recuperó la fase orgánica. Los extractos se centrifugaron a 14000 rpm durante 5 min a 4 °C y se separa la fase orgánica de la acuosa; estas operaciones se repitieron una vez más y se juntaron las fases orgánicas. Todo el procedimiento se llevó a cabo protegiendo la muestra de la luz. Finalmente se midió la absorbancia a 446 nm. Los resultados se expresan como mg equivalentes de  $\beta$  - caroteno/100 g muestra seca. Para los futuros ensayos los extractos se concentraron en el rotaevaporador y se refrigeraron a 4 °C.

### **4.3. Inhibición de enzimas digestivas**

#### **4.3.1. Ensayo de inhibición de $\alpha$ -amilasa**

Para este ensayo se usó  $\alpha$ -amilasa pancreática porcina de Sigma Chemical Co. Se determinaron las actividades inhibitorias mediante modificaciones a la técnica de Apostolidis y col. (2007).

Para las muestras se tomaron alícuotas de 500  $\mu$ L de los extractos obtenidos en los puntos 4.2.1 y 4.2.4, se adicionaron 500  $\mu$ L de solución de  $\alpha$ -amilasa (1

mg/mL) y se incubaron a 25 °C durante 10 min; posteriormente se adicionaron 500 µL de solución de almidón al 1 % en tampón de fosfato de sodio (PBS) 0.02 M (pH 6.9 con cloruro sódico 0.006 M) como sustrato a la mezcla de reacción y se incubó a 25 °C durante 10 min. La reacción se detuvo después de este tiempo con 1.0 mL de reactivo colorante de ácido dinitrosalicílico (DNS). Los tubos de ensayo se incubaron en un baño de agua hirviendo durante 5 min y se enfriaron a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se llevó a un volumen final de 10 mL con agua destilada y se midió la absorbancia a 540 nm. Se realizó también un blanco de las muestras sustituyendo la α-amilasa pancreática porcina por 500 µL de PBS.

Para medir el 100 % de la actividad enzimática en la reacción se sustituyó el extracto por agua miliQ; y para el blanco se sustituyó la enzima por 500 µL de PBS. Como control positivo se utilizó el medicamento acarbose, a una concentración de 1 mg/mL en PBS en lugar de los extractos y su blanco con PBS en lugar de la α-amilasa pancreática porcina.

El porcentaje de inhibición se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición } \alpha\text{-amilasa} = [(A_o - A_b) - (A_m - A_{bm})] / (A_o - A_b) * 100$$

Donde  $A_o$  es la absorbancia del 100 % actividad enzimática,  $A_b$  es la absorbancia del blanco,  $A_m$  es la absorbancia de la muestra y  $A_{bm}$  corresponde a la absorbancia del blanco de la muestra.

#### **4.3.2. Determinación de inhibición de lipasa pancreática**

Las actividades inhibitoras de la lipasa pancreática porcina de las muestras de uchuva se determinaron mediante una adaptación al método de Maqsood y col. (2017) utilizando 4-nitrofenil laurato (pNFP) de la marca Sigma-Aldrich como sustrato y lipasa de porcino pancreática de la marca Sigma-Aldrich (10 mg / mL) en una solución tampón de Tris (100 mM, pH 8.2 con HCl).

Para las muestras se tomaron alícuotas de 50 µL de los extractos obtenidos en los puntos 4.2.1 y 4.2.4, se adicionaron 400 µL de Tris, 150 µL de la enzima y 450 µL de sustrato. La mezcla se agitó durante 30, 60 y 120 min a 37 °C para determinar el mejor tiempo de reacción y se leyó a 400 nm. Para los blancos de las muestras se sustituyó la enzima por agua miliQ. El 100% de la actividad enzimática se realizó utilizando agua miliQ en lugar de los extractos y en el blanco se sustituyó la lipasa pancreática por agua miliQ. Para el control positivo se siguió la misma metodología usando el orlistat (10 mg/mL en DMSO) en lugar de los extractos y su blanco con agua miliQ en lugar de la lipasa pancreática.

El porcentaje de inhibición se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición lipasa pancreática} = [(A_o - A_b) - (A_m - A_{bm})] / (A_o - A_b) * 100$$

Donde  $A_o$  es la absorbancia del 100 % actividad enzimática,  $A_b$  es la absorbancia del blanco,  $A_m$  es la absorbancia de la muestra y  $A_{bm}$  corresponde a la absorbancia del blanco de la muestra.

#### **4.4. Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar. La evaluación estadística de los datos se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 %. La comparación de todos los tratamientos se realizó con un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey. En el análisis de correlaciones se utilizó una prueba de Pearson ( $p < 0.05$ ). Los resultados fueron analizados con el paquete estadístico de JMP 8.0 portable.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Efecto del estrés salino en el rendimiento de *Physalis peruviana* L.

Las plantas, en respuesta al estrés salino, activan diferentes mecanismos fisiológicos y bioquímicos (Acosta-Motos y col., 2017). Sin embargo, éste tiene afectaciones directas en el rendimiento de los cultivos que se ve reflejado en el crecimiento foliar, altura de las plantas y el número de frutos, debido al efecto negativo que la toxicidad de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  tienen en la tasa fotosintética y la apertura de los estomas (Rezende y col., 2018; Silva y col., 2021).

#### 5.1.1 Producción de materia seca

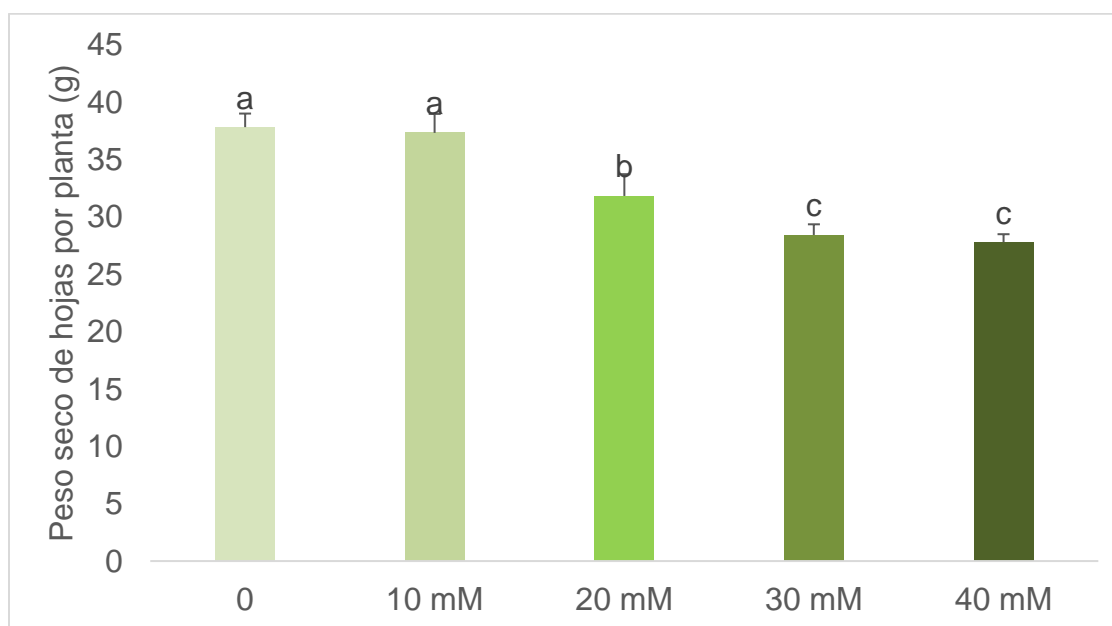


Figura 3. Rendimiento en peso seco de hojas por planta de *Physalis peruviana* L. sometida a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

La producción de materia seca es el criterio más utilizado para medir el crecimiento de una planta, su eficiencia fotosintética y su capacidad para traslocar biomasa a los frutos durante el ciclo de vida del cultivo (Ronga y col., 2017; Monroy – Pedroza y col., 2021). Cuando las plantas de uchuva recibieron el tratamiento de estrés salino se pudo observar una disminución en el peso seco de hojas y frutos a medida que aumenta la concentración de NaCl en el tratamiento (Figuras 3 y 4).

En el caso del peso seco de las hojas, podemos observar en la Figura 3 que las plantas de uchuva que recibieron el tratamiento con NaCl 10 mM no presentaron diferencia significativa respecto al grupo control; sin embargo, las plantas tratadas con NaCl 20 mM presentaron una disminución del 15.9 %, mientras que en los tratamientos con NaCl 30 y 40 mM el peso seco de las hojas de uchuva disminuyeron un 24.8 y 26.5 % respecto al control.

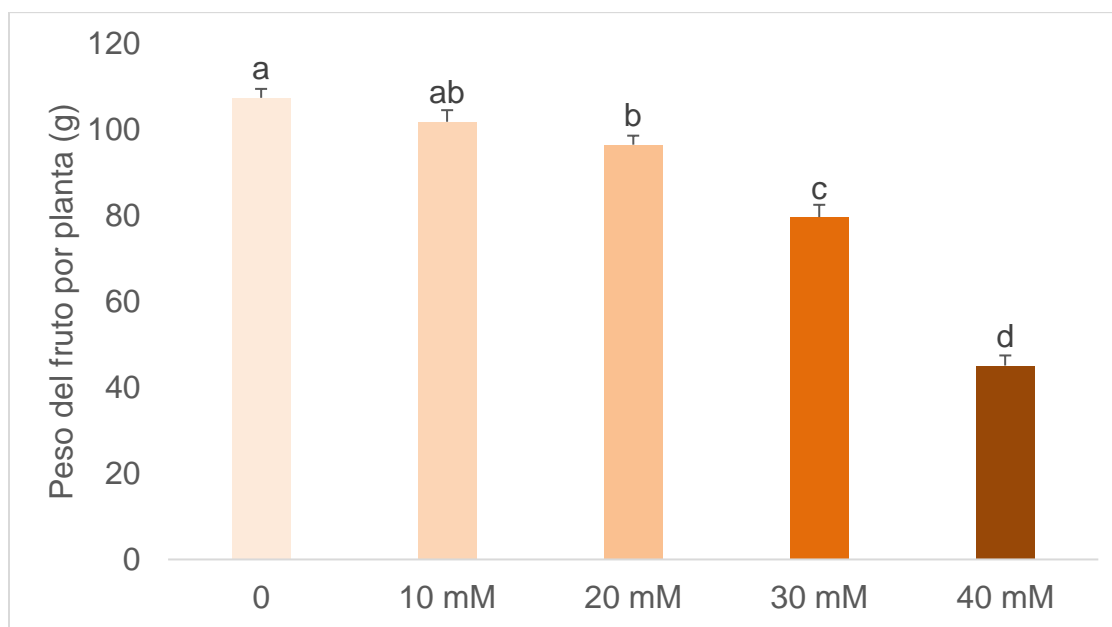


Figura 4. Rendimiento en peso seco de fruto por planta de *Physalis peruviana* L. sometida a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

Una de las respuestas fisiológicas de las plantas que presentan resistencia al estrés salino, es la disminución del número de hojas para controlar la pérdida de agua por transpiración, y un ajuste osmótico que garantiza la turgencia en las células de la planta (Silva y col., 2021).

Al disminuirse la producción de hojas en las plantas que recibieron el tratamiento de estrés salino disminuye la capacidad fotosintética de las plantas y la producción de biomasa y rendimiento. Estos parámetros están relacionados con el índice de área foliar (IAF), que es una medida que ayuda a determinar el rendimiento de un cultivo (Kelly y col., 2020). De este modo es predecible una afectación en la planta en su habilidad para producir frutos.

En la Figura 4 se observa que el peso seco de los frutos de uchuva que recibieron el tratamiento de NaCl 10 mM no presentaron diferencia significativa respecto al grupo control. A medida que incrementa el contenido de la sal en el tratamiento, el rendimiento decreció. Con NaCl 20, 30 y 40 mM disminuyó 10.2 %; 25.8 % y 58 % respectivamente.

Cuadro 4. Rendimiento del fruto (*Physalis peruviana* L.) cultivado bajo estrés salino.

Tratamiento	Peso promedio de cada fruto seco (g)
Control	1.3 ± 0.04 <sup>a</sup>
NaCl 10 mM	1.3 ± 0.02 <sup>a</sup>
NaCl 20 mM	1.1 ± 0.05 <sup>ab</sup>
NaCl 30 mM	1.3 ± 0.08 <sup>a</sup>
NaCl 40 mM	0.9 ± 0.02 <sup>b</sup>
Datos expresados como la media ± desviación estándar, n=3. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $\alpha=0.05$ ) mediante la prueba de Tukey.	

Durante la etapa de formación y llenado de frutos, las plantas utilizan el 80 % de los fotosintatos como metabolitos para el fruto, que se vuelve el principal sitio de demanda. Al disminuir el área foliar de la uchuva, a medida que aumenta la elicitación, se afecta el rendimiento en peso seco de los frutos (Mengel & Kirkby, 2001).

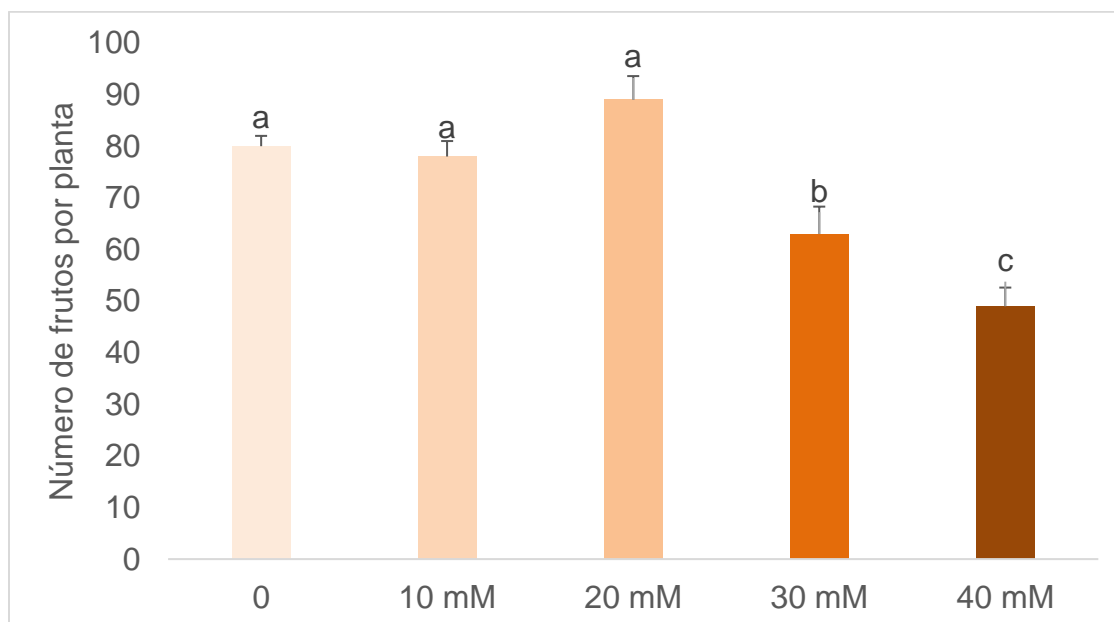


Figura 5. Rendimiento en número de frutos por planta de *Physalis peruviana* L. sometida a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

En el caso del número de frutos, en la Figura 5 se puede observar que las plantas de uchuva con afectaciones significativas fueron aquellas que recibieron el tratamiento NaCl 30 y 40 mM las cuales disminuyeron 21.3 %, y 38.8 % respectivamente comparado con el grupo control. Sin embargo, la relación entre el número de frutos por planta y el peso seco de los frutos por planta podemos observar en el cuadro 4 que solo hay diferencia entre el peso individual de frutos en



las plantas que recibieron la elicitación con NaCl 40 mM los cuales disminuyen aproximadamente un 30 % respecto al grupo control (Cuadro 4).

El daño oxidativo causado en las hojas por la elicitación con NaCl repercute en la producción y translocación de fotosintatos, sin embargo, el daño no presenta un impedimento para que la planta de uchuva termine su ciclo de vida; lo cual es una característica de las plantas tolerantes a la salinidad. Factores como el manejo de nutrientes y las condiciones del agua repercuten en la producción de frutos y materia seca (Ronga y col., 2017).

### 5.1.2 Crecimiento de las plantas

El daño causado por el estrés salino disminuye el potencial hídrico del suelo y provoca muerte prematura en las hojas; en respuesta, la planta disminuye el suministro de carbohidratos y hormonas de crecimiento en las regiones meristemáticas, inhibiendo así su crecimiento (Acosta-Motos y col., 2017).

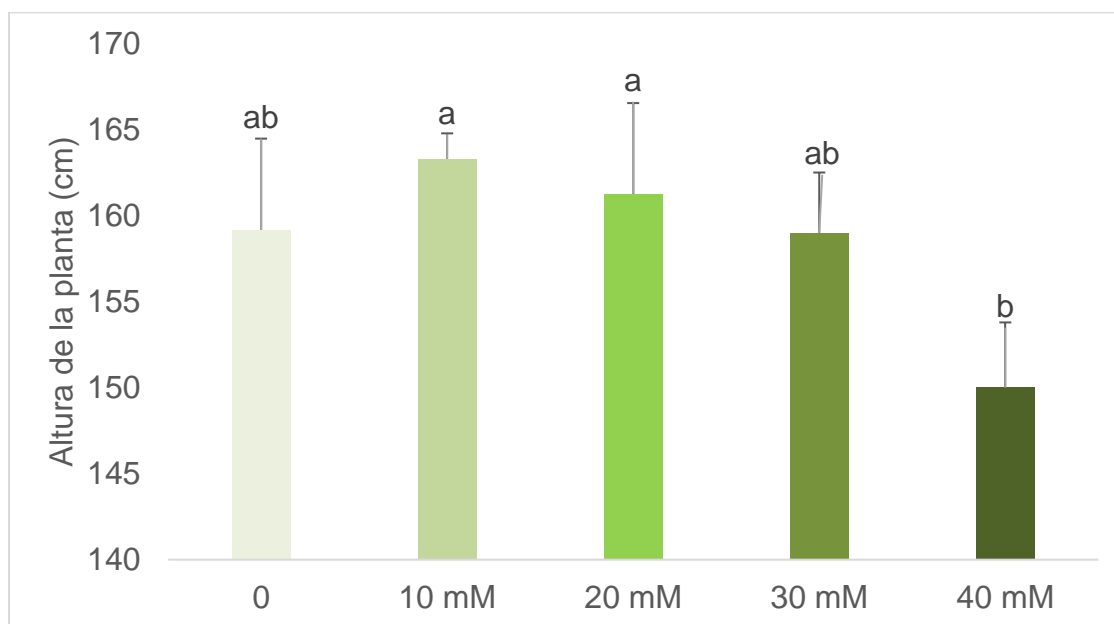


Figura 6. Altura de la planta *Physalis peruviana* L. sometida a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

En la Figura 6 se puede apreciar que la altura de las plantas de uchuva, bajo condiciones de estrés salino, comienza a verse afectada con el tratamiento de NaCl 40 mM, siendo este un 5.66 % menor al grupo control.

El estrés salino es uno de los factores más importantes que limitan el crecimiento y rendimiento de las plantas, ya que presentan un desbalance osmótico, iónico y nutricional. Sin embargo, mejora la calidad de los frutos debido a un aumento en la cantidad de sólidos solubles en la pulpa y compuestos fenólicos que influyen en la resistencia de las plantas al estrés salino (Waśkiewicz, 2012; Pérez-Labrandia y col., 2019).

## **5.2 Efecto del estrés salino en la producción de compuestos fitoquímicos de *Physalis peruviana* L.**

Las plantas, en adaptación a ambientes hostiles; como la salinidad en suelos, inducen la producción de compuestos antioxidantes. El principal efecto adverso que producen las altas concentraciones de NaCl en la célula es la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO); este estrés oxidativo provoca daño y muerte celular. Por lo que las ERO son vitales en la señalización intracelular redox, activando mecanismos de resistencia de las plantas para controlar el daño por oxidación. Uno de estos mecanismos es la producción de compuestos fenólicos y carotenoides que contribuyen a la protección de la planta frente al estrés causado por ERO (Waśkiewicz, 2012).

González y col. (2021), reportaron que el tratamiento de NaCl 40 mM es a partir del cual se observa diferencia en el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides de las plantas de uchuva, por lo que los futuros ensayos se realizaron en las plantas que recibieron este tratamiento y en el grupo control.

### 5.2.1 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos en las plantas son sintetizados por las rutas metabólicas del ácido shikímico, fosfato de pentosa y fenilpropanoide; procesos que son controlados endógenamente durante el desarrollo de la planta, o regulados por factores externos como el daño oxidativo causado por las ERO. Los compuestos fenólicos ayudan a mantener la función celular y la estabilidad fisiológica de las plantas (Waśkiewicz, 2012; Miranda y col., 2013; Morandi-Vuolo y col., 2019).

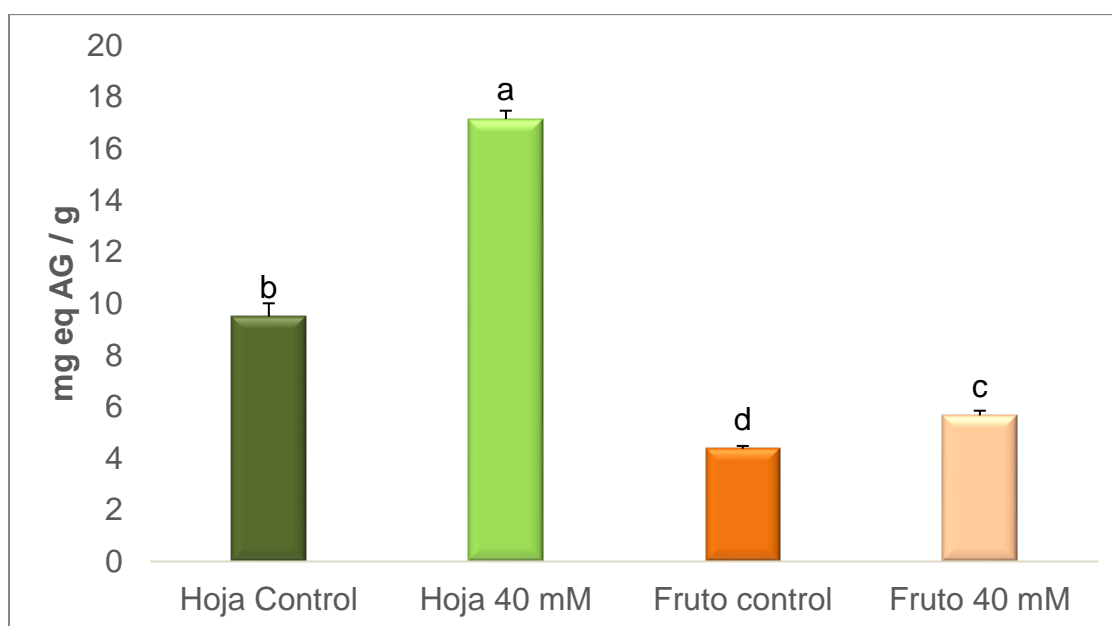


Figura 7. Compuestos fenólicos en hoja y fruto de *Physalis peruviana* L. sometidas a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

En la Figura 7 se puede observar que las plantas de uchuva que recibieron el tratamiento de NaCl 40 mM aumentaron la concentración de compuestos fenólicos totales, un 80.5 % en las hojas, y 29.6 % en el fruto respecto al grupo

control cuando el estrés salino es aplicado noventa días después de la siembra, en la etapa de floración y fructificación.

Bajo condiciones de estrés salino, el contenido de compuestos fenólicos aumenta; esta característica la comparten las plantas que son tolerantes a la salinidad (Waśkiewicz y col., 2013). En el caso de la uchuva, Miranda y col. (2010) reportaron que la uchuva es medianamente tolerante a la salinidad.

### 5.2.2 Cuantificación de flavonoides

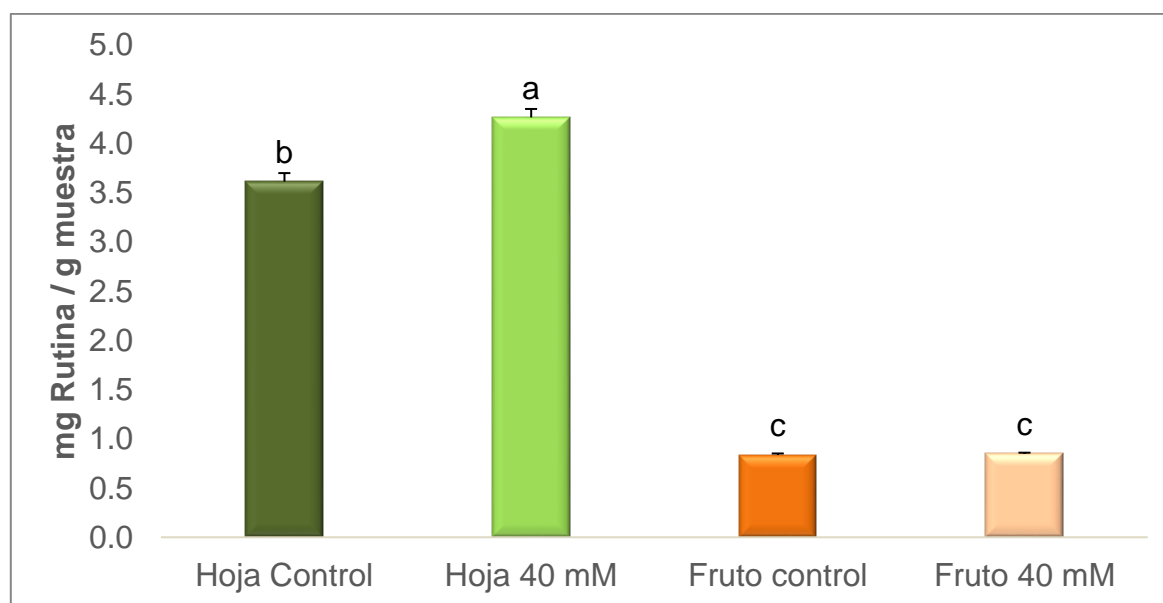


Figura 8. Contenido de flavonoides en hoja y fruto de *Physalis peruviana* L. sometidas a estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más comunes y más ampliamente distribuidos en los tejidos de las plantas, siendo uno de los principales pigmentos fotosintéticos junto con los carotenoides y clorofila (Khoddami y col., 2013). Las plantas producen flavonoides mediante la ruta de los fenilpropanoides.

Unas de las principales funciones de los flavonoides es su actividad catalítica en la fase luminosa de la fotosíntesis y como reguladores de los canales iónicos en la fosforilación (Yildiztugay y col., 2020).

En la Figura 8 se observa que los frutos que recibieron el tratamiento de estrés salino 40 mM no presentaron diferencia significativa, respecto al grupo control, en el contenido de flavonoides. Por otro lado, en las hojas se observa un aumento en el contenido de flavonoides en las plantas que recibieron el tratamiento de NaCl 40 mM respecto al grupo control.

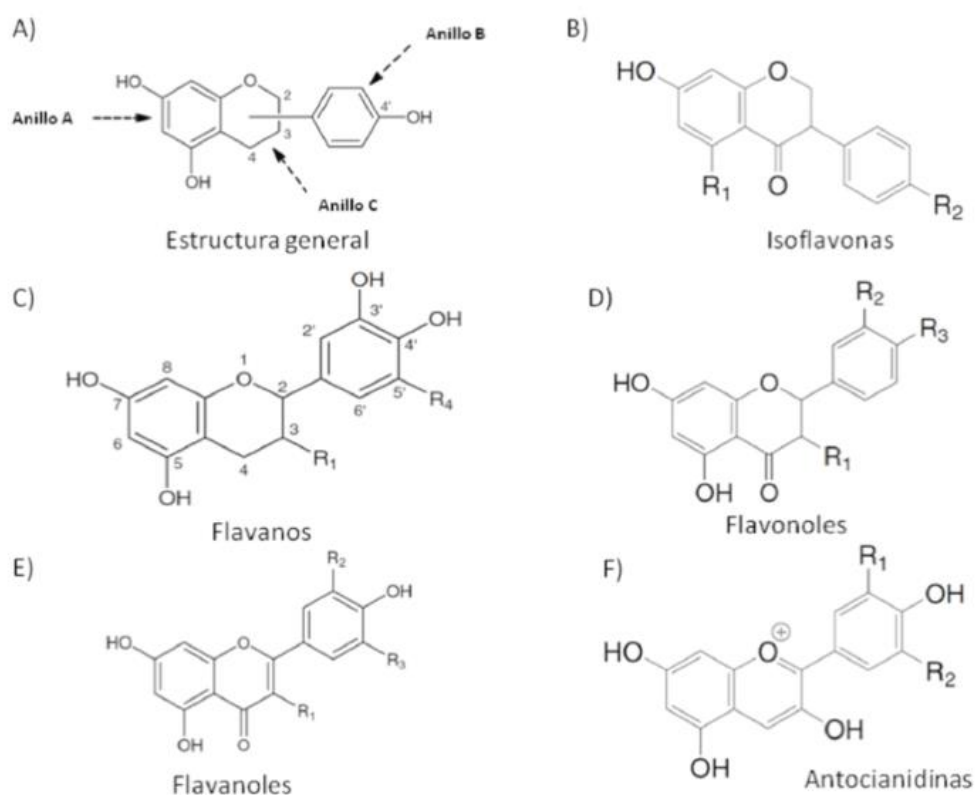


Figura 9. Estructura de los principales flavonoides.

La diferencia entre ellos radica principalmente en el grupo  $-OH$  y en el grado de saturación que presenta el anillo C. En la imagen se muestran en A) la estructura general de flavonoides, B) Isoflavonas, C) Flavanos, D) Flavonoles, E) Flavanoles y F) Antocianidinas (Mendieta y col., 2010).

Los resultados obtenidos (Figura 8) muestran que en las hojas de uchuva elicidadas con NaCl 40 mM, los flavonoides incrementan. Los flavonoides se producen principalmente en las células del mesófilo, vacuolas y cloroplastos, las cuales son células vegetales que encontramos en las hojas, al elicitar las plantas con NaCl se produce un aumento de ERO y como mecanismo de adaptación al estrés salino, la planta índice a la ruta metabólica de los fenilpropanoides; ruta mediante la cual se producen los flavonoides, ya que éstos tienen la habilidad de inhibir a las enzimas que producen ERO como lipoxigenasa y xantina oxidasa gracias al grupo catecol con el que cuenta el esqueleto de los flavonoides en el anillo B (Figura 9) (Yildiztugay y col., 2020).

### 5.2.3 Cuantificación de carotenoides

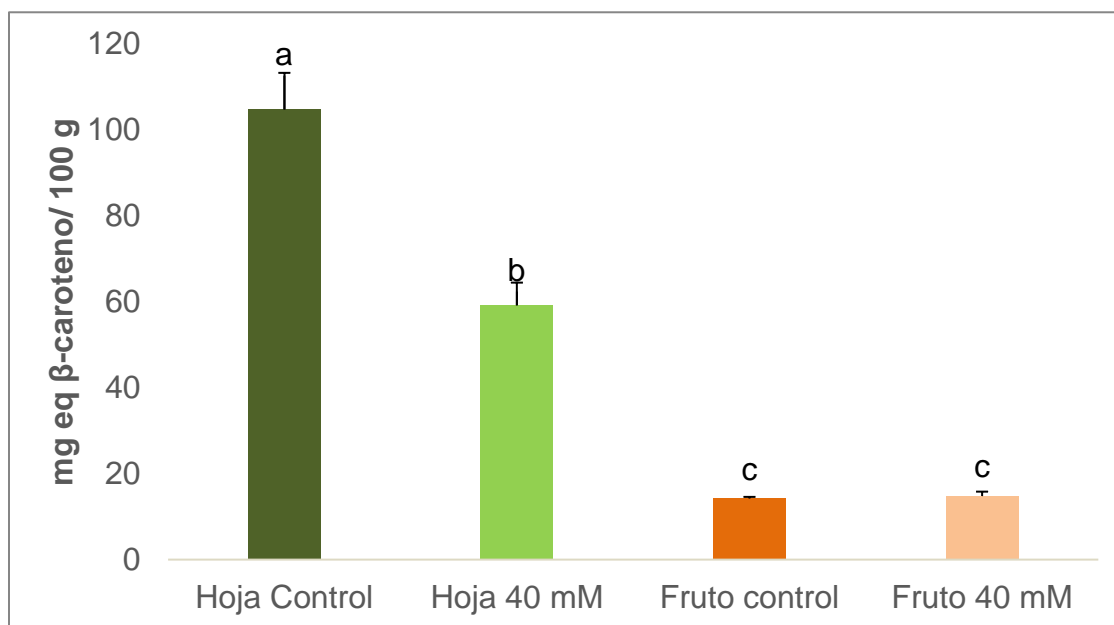


Figura 10. Contenido de carotenoides en hoja y fruto de *Physalis peruviana* L. cultivadas bajo estrés salino.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

El color de los frutos uchuva durante la etapa de madurez está asociado con la acumulación de carotenoides y la degradación de clorofila en las hojas. Los carotenoides son sintetizados en los plásmidos de las células vegetales; en las hojas tienen función protectora frente a fotodaño. Así como un rol fotosintético importante, ya que maximizan la captura de energía luminosa al incrementar la región del espectro en que puede ser absorbida y facilitan la transferencia de energía de excitación al centro de reacción en la fase luminosa de la fotosíntesis (Croft y Chen 2018).

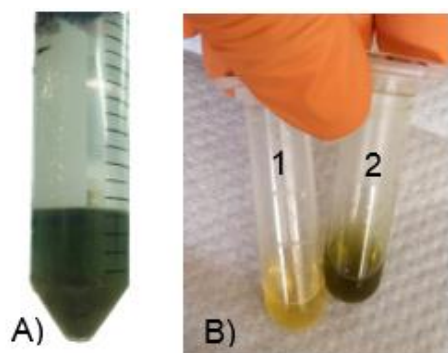


Figura 11. Extracto de carotenoides de hoja y fruto de *Physalis peruviana* L.

A) Extracto de hoja de uchuva en hexano.  
B) Extractos resuspendidos en DMSO de fruto (1) y hoja (2) de uchuva.

En el caso de los carotenoides en fruto de uchuva no se pudo apreciar diferencia significativa en aquellos que recibieron el tratamiento de NaCl 40 mM respecto al grupo control (Figura 10). Por lo tanto, se presenta una conservación de los carotenoides bajo condiciones de estrés salino por parte del fruto de uchuva (Massaretto y col., 2018).

La respuesta antioxidante de las plantas al estrés salino depende de varios factores: estado de madurez de la planta, el genotipo, la especie, la severidad del estrés, condiciones ambientales en las que se desarrolla el cultivo, etc. (Miranda y col., 2013).

En el caso de la hoja de uchuva, se puede observar en la Figura 10 que, el contenido de carotenoides cuantificado es muy alto y los extractos resultantes presentaban una coloración verde, a diferencia de los de fruto que eran color amarillo (Figura 11). Por lo tanto, se realizó un barrido en un rango de 300 a 800 nm en el espectro de una muestra del extracto de carotenoides de hoja control y hoja con el tratamiento NaCl 40 mM resuspendida en DMSO (Figura 12).

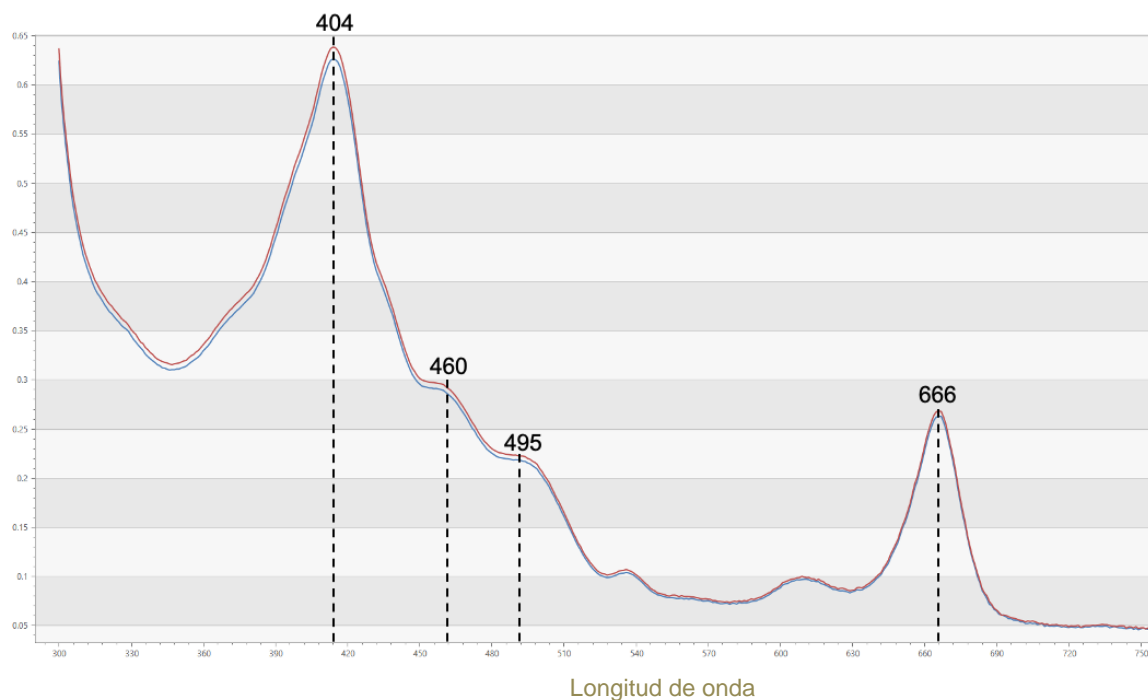


Figura 12. Espectro de absorción de pigmentos fotosintéticos de hoja de *Physalis peruviana* L. resuspendidos en DMSO.

En líneas punteadas a 404 nm y 666 nm los pigmentos de la clorofila y a 460 nm y 495 nm  $\beta$ -caroteno.

En la Figura 12 se pueden observar dos picos de máxima absorción, a los 414 y 666 nm respectivamente, los cuales coinciden con el espectro de absorción de la clorofila en DMSO, reportados por Ronen y Galun (1984) (Cuadro 5). La técnica de extracción utilizada fue la del apartado 4.2.4 para los dos tejidos de la planta y los resultados se reportan como mg equivalentes  $\beta$ -caroteno/100 g de



muestra seca, sin embargo el hexano también es usado para la extracción de clorofila y otros pigmentos fotosintéticos y la absorbancia es medida a 446 nm, región de la luz azul en la cual también podemos encontrar a la clorofila. (Olivares y col., 2006).

En el espectro de absorbancia obtenido de los compuestos fotosintéticos de hoja de uchuva en DMSO (Figura 11), se aprecia un pico a los 460 nm, el cual puede corresponder a los carotenoides presentes en la hoja. Sin embargo, éstos son enmascarados por la clorofila, que se encuentra como pigmento principal en las hojas.

La disminución de fotosintatos en las hojas de uchuva sometidas a estrés salino es del 46.3 %, respecto al control. Las limitaciones osmóticas causan degradación de la clorofila por daño al fotosistema II, específicamente en los centros de reacción (Guiné y col., 2020). Las moléculas de clorofila facilitan la conversión de la radiación solar absorbida en energía química almacenada, mediante la recolección de energía luminosa, transfiriendo la energía de excitación a los centros de reacción. (Croft y Chen 2018).

Cuadro 5. Localización de los picos de absorción de los extractos de pigmentos fotosintéticos.

Pigmento fotosintético	Localización de los picos de máxima absorbancia	
	Región azul (nm)	Región roja (nm)
Clorofila a	433	665
Clorofila b	416	648
$\beta$ - caroteno	425 465	-

(Ronen y Galun, 1984)

### 5.3 Inhibición de enzimas intestinales por extractos fenólicos y carotenoides de *Physalis peruviana* L.

#### 5.3.1 Inhibición de lipasa pancreática por extractos fenólicos de *Physalis peruviana* L.

Al evaluar la actividad inhibitoria de los compuestos fenólicos de un alimento contra enzimas digestivas, se tienen que considerar diversos factores como el tiempo y la composición del medio de reacción, ya que estos pueden subestimar o sobreestimar el efecto inhibitorio que puedan tener después de ser ingeridos (Herrera y col., 2019).

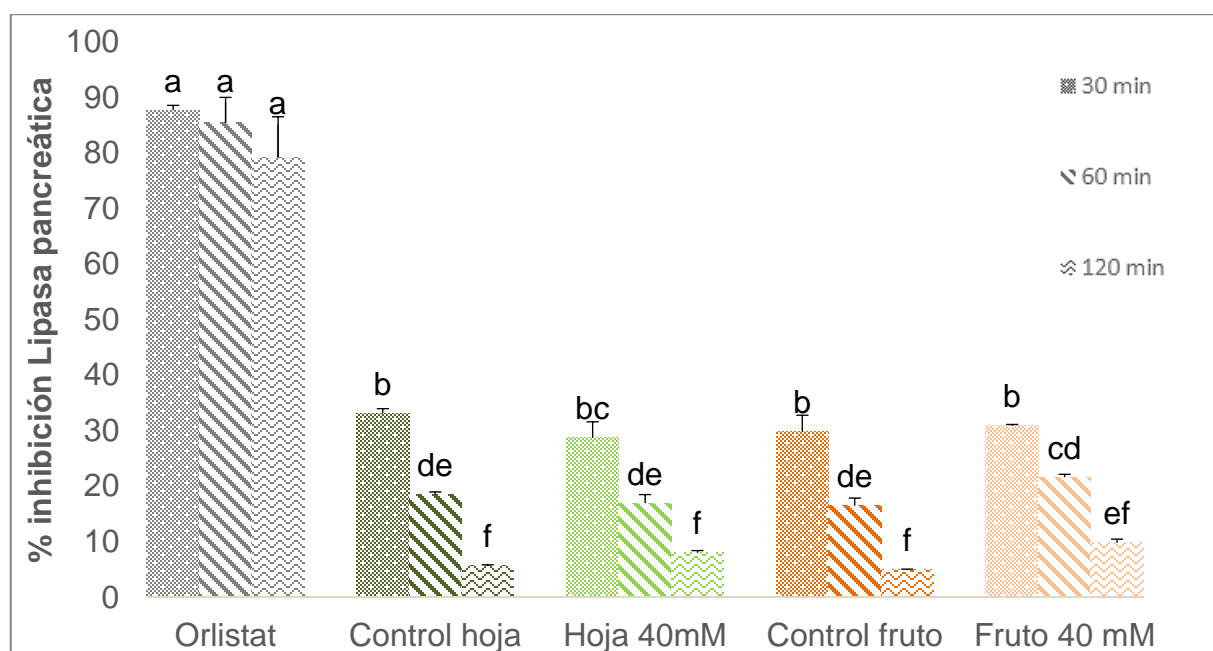


Figura 13. Inhibición de lipasa pancreática de extractos de fenoles de *Physalis peruviana* L. a 30, 60 y 120 min de reacción.

Los valores representan la media  $\pm$  D.E. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ), con la prueba de Tukey-Kramer.

Las pruebas de inhibición de lipasa pancreática con extractos fenólicos de hoja y fruto de uchuva se realizaron a 30, 60 y 120 min de reacción, tomando como referencia las especificaciones de la enzima, para observar el efecto del tiempo en la inhibición de la actividad enzimática. En la Figura 13 se puede apreciar que a medida que el tiempo transcurre, disminuye la inhibición de la actividad enzimática de los compuestos fenólicos de uchuva. Por otro lado, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre la inhibición causada por tejido, ni por tratamiento.

En la Figura 13 se observa que la actividad inhibitoria del orlistat también disminuye a medida que transcurre el tiempo, sin embargo, esta disminución no es estadísticamente significativa. Los comportamientos observados tanto por el fármaco, como por los compuestos fenólicos resultan interesantes de analizar; ya que el orlistat se clasifica farmacológicamente como un inhibidor selectivo irreversible, inhibe a la lipasa pancreática a través la unión covalente a residuos de serina del sitio activo que son esenciales para su actividad catalítica; por lo que no se esperaba la disminución en la actividad catalítica del fármaco a través del tiempo (Brownlee y col., 2010).

La técnica utilizada para medir la actividad inhibitoria de la lipasa pancreática, se fundamenta en la hidrólisis de la cadena del pNFP por la lipasa pancreática, los ésteres liberados se miden a 400 nm. Se esperaría que el control positivo emita una absorbancia que incrementa conforme transcurre el tiempo, en los cálculos se elimina la absorbancia que resulta de la degradación del sustrato en ausencia de la enzima, por lo que la disminución de la actividad inhibitoria del orlistat tiene otra explicación (Saleh y col., 2017). Lewis y col. (2012) reportaron un comportamiento similar tras realizar dos experimentos; el primero en dos fases de incubación, la primera fase de incubación consiste en colocar orlistat (diluido en laurilsulfato de sodio al 3%) con la enzima, posteriormente agregan el sustrato y llevan a la segunda incubación, finalmente miden la actividad catalítica. El segundo consiste en una sola fase de incubación y concluyen que el orlistat es inhibidor selectivo irreversible de lipasa pancreática, dependiente del tiempo en solución; ya que a medida que

aumenta el tiempo de incubación, en ambos experimentos, disminuye la actividad inhibitoria del orlistat cuando este está en solución.

En cuanto a la inhibición por los compuestos fenólicos de uchuva, esta inhibición no se potencializa en las plantas elicitadas con NaCl 40 mM, a pesar de que el contenido de compuestos fenólicos se incrementa en hojas y frutos elicitados como se observa en la Figura 7. En el caso de los flavonoides, puede haber una correlación con su capacidad inhibitoria de lipasa pancreática, se discute más a detalle en el punto 5.4.

Los resultados obtenidos indican que la actividad inhibitoria de lipasa pancreática por los compuestos fenólicos de uchuva no incrementa con la elicitación NaCl 40 mM, en la etapa de floración y fructificación. Sin embargo, existe uno o más compuestos fenólicos extraíbles en hoja y fruto con capacidad de inhibir a la lipasa pancreática *in vitro*. Por otro lado, existen diversos factores que pueden interferir en la disminución de la actividad inhibitoria de los compuestos fenólicos (Figura 13), a través del tiempo. Uno de estos factores es la estructura de los compuestos fenólicos. Martínez-González y col. (2020) evaluaron la actividad de diversos flavonoides como inhibidores de la lipasa pancreática y encontraron que un buen inhibidor debe poseer tres características estructurales para tener la capacidad de interactuar con la lipasa pancreática: doble enlace entre el C2 y el C3, la estructura de catecol en el anillo B, y doble hidroxilación en el anillo A. En donde el doble enlace, que le confiere estructura plana y rigidez a la estructura, es la característica más relevante.

Kinasih y col. (2020) reportaron a la quercetina como uno de los principales compuestos fenólicos del jugo de Uchuva, la cual cumple con los requisitos mencionados. Sin embargo, en este estudio encontramos que la hoja presenta más contenido de flavonoides que el fruto y en este último se ha encontrado a la quercetina como un compuesto mayoritario, pero con concentraciones muy bajas 0.010 mg/100 mL en decocciones de este material y disminuye durante el proceso de elicitación (0.005 mg/100 mL), mientras que la capacidad inhibitoria sobre la lipasa pancreática de hoja y fruto es similar.

Gracias a la bibliografía consultada, podemos considerar a la quercetina como uno de los compuestos fenólicos responsables de la inhibición de lipasa pancreática en el fruto de uchuva, cuya inhibición es reversible, no competitiva, sin embargo esta consideración se basa únicamente en su posibilidad de interactuar con la enzima, más no asegura que sea el compuesto responsable de dicha inhibición o que sea el único. De igual forma pueden estar interactuando otros compuestos fenólicos ya sea de forma individual o como complejos.

Por otro lado, la disminución en la actividad catalítica a través del tiempo puede asociarse al tipo de interacción entre el compuesto fenólico y la enzima. Los compuestos fenólicos por efecto del pH y la temperatura pudieron haber sufrido modificaciones estructurales como una desprotonación en el medio, disminuyendo así su capacidad inhibitoria o su fuerza de unión a la enzima, liberando finalmente el sitio activo y permitiendo la actividad catalítica de la enzima a través del tiempo (Laguna y col., 2007; Herrera y col., 2019; Xiang y col., 2020).

Dada la inestabilidad de los compuestos fenólicos, se seleccionaron 30 minutos de reacción como el mejor tiempo para evaluar actividad inhibitoria de los compuestos fenólicos sobre la lipasa pancreática. Para determinar si los solventes usados para su extracción interfirieron la inhibición de lipasa pancreática, se decidió eliminar los solventes de los extractos fenólicos de hoja y fruto de uchuva. Las muestras se concentraron en un rota vapor y se resuspendieron en dos medios: agua, para aquellos compuestos que son hidrosolubles, y DMSO para los compuestos liposolubles, posteriormente se evaluó la actividad inhibitoria de lipasa pancreática y  $\alpha$ -amilasa de los extractos resuspendidos. De igual manera se cuantificó el contenido de fenoles y flavonoides para identificar si existía alguna variación entre los extractos antes y después de ser resuspendidos (Maqsod y col., 2017; Wang y col., 2018; Herrera, 2019).

### **5.3.2 Cuantificación de extractos fenólicos y carotenoides de *Physalis peruviana* L. resuspendidos en agua y DMSO**

#### Fenoles

En el Cuadro 6 se observa que los extractos de hoja sin estrés salino disminuyen un 20 % cuando son resuspendidos en agua y se mantiene cuando son resuspendidos en DMSO. Los extractos de hoja elicitada resuspendidos en agua mostraron un incremento en el contenido de fenoles (9.3 %), respecto al extracto obtenido del punto 4.2.1 [compuesto por agua, acetona y metanol (MAH) (40:35:25)] y el extracto de hoja elicitada resuspendido en DMSO disminuyó un 12.5 % respecto a MAH. Los extractos fenólicos de fruto de uchuva no presentaron cambios importantes entre los medios de resuspensión.

#### Flavonoides

El contenido de flavonoides en fruto de uchuva no varía cuando los extractos se resuspenden (Cuadro 6). Por otro lado, en el caso de las hojas de uchuva sin estrés salino, el contenido de flavonoides disminuyó un 63.7 % cuando el extracto fenólico fue resuspendido en agua y un 56.9 % en las hojas de uchuva elicitada; mientras que en DMSO la cuantificación de flavonoides fue 18.1% mayor al extracto MAH en las hojas de uchuva elicitada. Los flavonoides del fruto de uchuva se resuspenden, sin mostrar diferencia significativa, en agua y DMSO por igual.

Los flavonoides presentan poca solubilidad en agua (Morandi-Vuolo y col., 2019), y se encuentran principalmente en las hojas (Yildiztugay y col., 2020), por ello se aprecia que la principal diferencia en contenido de flavonoides resulte observable en las hojas y la tendencia se mantenga cuando estos son resuspendidos en DMSO.

#### Carotenoides

Los carotenoides son insolubles en agua, por lo que únicamente se resuspendieron en DMSO. En el Cuadro 6 se observa que los carotenoides

disminuyen considerablemente cuando se resuspenden, a pesar de que el DMSO tiene la capacidad de conservar pigmentos fotosintéticos (Ronen y Galun, 1984). Hubo una disminución de carotenoides del 83.5% en la hoja control, 75% en la hoja elicitada, 77.6% en el fruto control y 79.2% en el fruto elicitado, tras ser resuspendidos, lo que podemos atribuir a su alta inestabilidad especialmente cuando son expuestos a la luz, calor y oxígeno. A pesar de que se cuidaron los extractos de los daños por degradación a causa de factores ambientales, se presentó una disminución significativa (Oliver y Palou, 2000).

Cuadro 6. Contenido de compuestos bioactivos en hoja y fruto secos de *Physalis peruviana* L. sometidas a estrés salino.

	<b>Muestra</b>	<b>Tratamiento</b>	<b><sup>1</sup>Fenoles</b>	<b><sup>2</sup>Flavonoides</b>	<b><sup>3</sup>Carotenoides</b>
<b>Extracto*</b>	Hoja	Control	9.50 ± 1.50 <sup>d</sup>	3.62 ± 0.12 <sup>c</sup>	104.66 ± 8.51 <sup>a</sup>
		NaCl 40 mM	17.15 ± 0.32 <sup>b</sup>	4.27 ± 0.09 <sup>b</sup>	56.19 ± 1.98 <sup>b</sup>
	Fruto	Control	4.37 ± 0.11 <sup>gh</sup>	0.84 ± 0.02 <sup>f</sup>	14.20 ± 0.38 <sup>cd</sup>
		NaCl 40 mM	5.66 ± 0.18 <sup>f</sup>	0.85 ± 0.01 <sup>f</sup>	14.78 ± 1.01 <sup>cd</sup>
<b>Extractos resuspendidos en agua</b>	Hoja	Control	7.57 ± 0.02 <sup>e</sup>	1.31 ± 0.06 <sup>e</sup>	ND
		NaCl 40 mM	18.75 ± 1.00 <sup>a</sup>	1.84 ± 0.12 <sup>d</sup>	ND
	Fruto	Control	4.12 ± 0.40 <sup>h</sup>	0.89 ± 0.07 <sup>f</sup>	ND
		NaCl 40 mM	5.55 ± 0.29 <sup>fg</sup>	0.84 ± 0.03 <sup>f</sup>	ND
<b>Extractos resuspendidos en DMSO</b>	Hoja	Control	8.97 ± 0.38 <sup>d</sup>	3.99 ± 0.08 <sup>bc</sup>	23.25 ± 0.12 <sup>c</sup>
		NaCl 40 mM	15.00 ± 0.36 <sup>c</sup>	5.04 ± 0.32 <sup>a</sup>	14.07 ± 0.11 <sup>cd</sup>
	Fruto	Control	4.60 ± 0.25 <sup>fgh</sup>	0.95 ± 0.01 <sup>ef</sup>	3.18 ± 0.25 <sup>d</sup>
		NaCl 40 mM	5.57 ± 0.30 <sup>fg</sup>	0.98 ± 0.01 <sup>ef</sup>	3.07 ± 0.22 <sup>d</sup>

Datos expresados como la media ± desviación estándar, n=3. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $\alpha=0.05$ ) mediante la prueba de Tukey.

<sup>1</sup> Fenoles totales (mg equivalentes de ácido gálico/g muestra seca).

<sup>2</sup> Flavonoides (mg de rutina/g de muestra seca).

<sup>3</sup> Carotenoides (mg equivalentes  $\beta$ -caroteno/100 g de muestra seca).

\*El extracto de fenoles es el obtenido del punto 4.2.1 y está compuesto por agua, acetona y metanol (MAH) (40:35:25). El extracto de carotenoides es en hexano, punto 4.2.4.

ND = no detectado.

### 5.3.3 Inhibición de lipasa pancreática por extractos fenólicos y carotenoides de *Physalis peruviana* L. resuspendidos en agua y DMSO

En el Cuadro 7 se observa que los extractos fenólicos resuspendidos se comportan de manera diferente al evaluar su actividad inhibitoria de lipasa pancreática, dependiendo del medio en el que son resuspendidos. Los fenoles resuspendidos en DMSO muestran el mismo comportamiento que los extractos MAH, a pesar de que en el Cuadro 6 se muestra que el contenido de fenoles y flavonoides resuspendidos en DMSO es mayor en hoja que en fruto y a su vez, estos incrementan con la elicitación.

Cuadro 7. Inhibición de la lipasa pancreática por extractos de fenoles y carotenoides resuspendidos.

Extracto	Porcentaje de inhibición lipasa pancreática a los 30 min reacción			
	Extractos fenólicos			Carotenoides
Solvente	MAH	Agua	DMSO	DMSO
Orlistat	-	-	92.4 ± 0.7 <sup>a</sup>	92.4 ± 0.7 <sup>a</sup>
Hoja Control	33.1 ± 0.8 <sup>b</sup>	58.9 ± 0.7 <sup>b</sup>	75.7 ± 6.1 <sup>b</sup>	67.2 ± 6.3 <sup>b</sup>
Hoja NaCl 40 mM	28.7 ± 2.9 <sup>b</sup>	63.4 ± 4.8 <sup>b</sup>	70.8 ± 0.4 <sup>b</sup>	64.7 ± 4.3 <sup>b</sup>
Fruto control	29.8 ± 3.0 <sup>b</sup>	42 ± 2.2 <sup>c</sup>	68.6 ± 1.6 <sup>b</sup>	72 ± 1.1 <sup>b</sup>
Fruto NaCl 40 mM	30.9 ± 0.2 <sup>b</sup>	42.1 ± 4.0 <sup>c</sup>	74.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	73.8 ± 4.1 <sup>b</sup>

Datos expresados como la media ± desviación estándar, n=3. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $\alpha=0.05$ ) mediante la prueba de Tukey.  
 ND = no detectado.  
 Orlistat se usó como control positivo

Al resuspender en agua, el comportamiento de los fenoles cambia, las hojas de uchuva mostraron una mayor inhibición de la lipasa pancreática hasta de un 20 % que los frutos, lo que representa una mejor relación al contenido de fenoles y



flavonoides en los diferentes tejidos de la planta; sin embargo, no se aprecia una diferencia significativa entre tratamientos, es decir, la inhibición no incrementa con la elicitación.

Adicionalmente, en el Cuadro 7 se puede observar que los extractos resuspendidos en DMSO tienen mayor actividad inhibitoria que los resuspendidos en agua y el extracto MAH. Estos valores incluso son similares a los observados por los carotenoides de hoja y fruto resuspendidos en DMSO, los cuales aparentemente muestran un efecto de inhibición de lipasa pancreática por igual en hojas y en fruto.

Cierto número de moléculas de agua son requeridas para actividad enzimática. La lipasa pancreática es estable en solventes relativamente hidrofóbicos debido a que las moléculas de agua que contiene están fuertemente unidas. Sin embargo, Zaks y col. (1985), reportaron que la lipasa pancreática es completamente inactiva en DMSO y formaldehído. El DMSO tiene la habilidad de penetrar membranas y desnaturalizar proteínas de forma reversible, desplazando o reemplazando el agua alrededor de ellas (Ronen y Galun, 1984). Sin embargo, diversos autores han reportado el uso del DMSO en sus ensayos de inhibición de lipasa pancreática (Maqsod y col., 2017).

Ginson y col. (2020) utilizan DMSO para la preparación del orlistat como control positivo, debido a la baja solubilidad que presenta en agua y mencionan que la concentración de DMSO no debe superar el 2 % del volumen final de reacción. Otros autores utilizan DMSO para resuspender sus extracciones de fenoles debido a que muchos de estos son poco solubles en agua (Maqsod y col., 2017). Más recientemente Cam-Van y col. (2022) reportaron que se puede usar hasta 30 % de DMSO en el volumen final de reacción sin cambios considerables en la actividad de la enzima, al igual que el metanol y etanol para disolver a los inhibidores antes de introducir al medio acuoso del ensayo.

Para confirmar los anteriormente expuesto, se realizó una prueba siguiendo la misma metodología del punto 4.2.6 colocando 5 % de DMSO en el volumen final de la reacción, y se encontró que el DMSO por sí solo inhibe un 51.5 % a la lipasa

pancreática a los 30 min de reacción bajo estas condiciones. Por lo tanto, no se puede atribuir la inhibición reportada de la lipasa pancreática a los extractos resuspendidos en DMSO, debido a la influencia que el solvente tiene en la desnaturalización proteica. Esta actividad de la enzima en los extractos disueltos en DMSO se puede comparar con la actividad del orlistat, ya que este también fue disuelto en DMSO y se observa que la inhibición que presenta el orlistat es 30 % superior a la mostrada por los extractos de fenoles y carotenoides de uchuva resuspendidos en DMSO, sin embargo, este medicamento puede presentar efectos colaterales.

Otra observación importante es que, en agua, los extractos fenólicos muestran mayor porcentaje de inhibición de lipasa pancreática que los extractos MAH, y se observa una mayor inhibición en extractos de hoja que de fruto. Éste mismo comportamiento fue reportado por Wanyu-Wang y col. (2018), quienes tras realizar extractos de fenoles en metanol y agua encontraron que los extractos fenólicos en agua son más eficaces para inhibir a la lipasa pancreática comparado con los extractos metanólicos. Esto puede ser debido a las condiciones de reacción, que en agua los compuestos fenólicos polares con mayor actividad inhibitoria de lipasa pancreática se vuelvan más accesibles para interactuar con la enzima, mientras que los hidrofóbicos se agrupan y los hidrofílicos se exponen e interactúan (McMurry y col., 2012).

El efecto de los extractos de uchuva como inhibidor de lipasa pancreática en personas con obesidad puede ser subestimado o sobreestimado al realizarse in vitro, ya que se lleva a cabo una reacción bajo condiciones controladas, sin embargo, es una herramienta muy útil que nos sirve como un estimador y como base para futuros ensayos (Herrera y col., 2019).

### 5.3.4 Inhibición de $\alpha$ -amilasa por extractos fenólicos y carotenoides de *Physalis peruviana* L.

Al evaluar la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -amilasa con los extractos MAH y los resuspendido en agua, en hoja de uchuva no se detectó inhibición. Por otro lado, en el fruto se observó que la actividad inhibitoria se incrementa un 30 % en MAH en las plantas elicidadas, mientras que para el extracto resuspendido en agua no se presentó inhibición (Cuadro 8). Esto significa, que los compuestos de uchuva que presentan actividad inhibitoria de la enzima  $\alpha$ -amilasa *in vitro* no son hidrosolubles.

Cuadro 8. Porcentaje de Inhibición de  $\alpha$ -amilasa por extractos fenólicos y carotenoides de hoja y fruto secos de *Physalis peruviana* L.

Extracto	Porcentaje de inhibición de $\alpha$ -amilasa			
	Extractos fenólicos			Carotenoides
Solvente	MAH	Agua	DMSO	DMSO
Acarbosa	83.3 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	83.3 $\pm$ 1	83.3 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	83.3 $\pm$ 1 <sup>a</sup>
Hoja Control	ND	ND	50.2 $\pm$ 3 <sup>b</sup>	44.8 $\pm$ 4.1 <sup>bc</sup>
Hoja NaCl 40 mM	ND	ND	53.7 $\pm$ 5 <sup>b</sup>	53.8 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>
Fruto control	11.5 $\pm$ 0.5 <sup>c</sup>	ND	46.6 $\pm$ 3.9 <sup>b</sup>	39.2 $\pm$ 2.6 <sup>c</sup>
Fruto NaCl 40 mM	40.5 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	ND	79.8 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	43.8 $\pm$ 3.9 <sup>bc</sup>

Datos expresados como la media  $\pm$  desviación estándar, n=3. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $\alpha=0.05$ ) mediante la prueba de Tukey. ND = no detectado. Acarbosa se usó como control positivo

Respecto al uso de DMSO con la  $\alpha$ -amilasa Griffin y Fogarty (1973) reportaron que la actividad catalítica de la enzima es afectada cuando en el medio de reacción tenemos DMSO, a mayor concentración de DMSO estos autores

observaron una disminución de la actividad catalítica de la enzima, proponiendo un 66 % de inhibición con la concentración de DMSO empleada en nuestro estudio. Por lo tanto, la presencia de DMSO sobreestimó de manera importante la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa con los extractos de fenoles y carotenoides resuspendidos en DMSO.

Por otro lado, en DMSO son miscibles los compuestos liposolubles que no pudimos resuspender en el medio acuoso (Cam-Van y col., 2022). Si observamos en el Cuadro 8, podremos notar que en los extractos fenólicos resuspendidos en DMSO de fruto de uchuva tienen el mismo comportamiento que el extracto MAH, la actividad inhibitoria se potencializa en el fruto elicitado en la misma proporción que observamos en los extractos fenólicos MAH.

Con los resultados obtenidos se puede sugerir que el fruto de uchuva produce compuestos fenólicos, que *in vitro* muestra un comportamiento de baja solubilidad en agua, pero muy soluble en solventes menor polares, estos tienen la capacidad de inhibir  $\alpha$ -amilasa, y el efecto de inhibición enzimática aumenta cuando las plantas de uchuva son elicidadas con NaCl 40 mM durante la etapa de floración y fructificación.

Para el caso de los carotenoides no se observó un efecto inhibitorio, la actividad presentada por estos, puede atribuirse al DMSO en el medio de reacción, es necesario el uso de una metodología distinta que ayude a confirmar tal comportamiento.

Monroy-Valencia y col. (2021) realizaron un experimento en el cual elicitaron plantas de uchuva con NaCl 30 y 90 mM y encontraron que las plantas elicidadas con NaCl 30 mM se diferenciaban del grupo control por los flavonoides específicos de quercetina que se producen tras la elicitación. Sin embargo, en estudios realizados en laboratorio con decocciones de frutos y hojas de uchuva no se encontraron incrementos importantes en este flavonoide en plantas tratadas con NaCl, pero esto debe ser confirmado directamente en el fruto.

En suma, se encontró actividad inhibitoria por los compuestos fenólicos de hoja y fruto de uchuva *in vitro*, contra las enzimas lipasa y  $\alpha$ -amilasa de páncreas de porcino. Los compuestos fenólicos presentan comportamientos distintos de inhibición dependiendo del medio de suspensión y las condiciones de la reacción. La elicitación con NaCl 40 mM a los noventa días de la siembra muestra beneficios en la actividad de los extractos fenólicos de fruto para inhibir  $\alpha$ -amilasa.

#### **5.4 Correlaciones de Pearson entre los compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides de *Physalis peruviana* L. con la inhibición de enzimas gastrointestinales**

En el Cuadro 9 se muestra la relación entre el contenido de fenoles, flavonoides y carotenoides con la inhibición de lipasa pancreática y  $\alpha$ -amilasa por medio de correlaciones de Pearson realizadas mediante el programa JMP. Las correlaciones de Pearson son usadas para examinar la fuerza y la dirección de la relación lineal entre dos variables continuas; es decir, medir el grado de asociación entre dos variables dependientes una de la otra (Crawley y col., 2015).

Podemos observar en el Cuadro 9 que para el fruto de uchuva se obtienen correlaciones altamente significativas entre el contenido de flavonoides y la inhibición de lipasa pancreática; así como en el contenido de fenoles y flavonoides para la inhibición de  $\alpha$ -amilasa, con probabilidades de significancia menores a 0.05, es decir que el riesgo de decir que existe una correlación cuando no es así es menor a 5 % (Crawley y col., 2015).

En el caso de las hojas de uchuva no existe una correlación significativa, se obtiene una relación lineal moderada no concluyente entre el contenido de fenoles y flavonoides y la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -amilasa, con una probabilidad de significancia mayor de 0.05. Mientras que, en los carotenoides, se presenta una correlación inversa significativa no concluyente, es decir, que a medida que aumenta el contenido de carotenoides la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa es menor, con una probabilidad de significancia mayor a 0.05. Es probable que las

hojas contengan un metabolito capaz de inhibir a estas enzimas, sin embargo, éste no incrementa con la elicitación de NaCl 40 mM a los 90 días de siembra.

Cuadro 9. Correlaciones de Pearson entre la actividad inhibitoria de lipasa pancreática y  $\alpha$ -amilasa con los compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides de hoja y fruto de *Physalis peruviana* L.

	x	y	Variable	Media	DE	Correlación	Probabilidad de significancia
F	Fenoles	Lipasa	Fenoles	4.977	0.690	0.131	0.6038
R	Flavonoides	Lipasa	Flavonoides	0.893	0.065	<b>0.851</b>	<b>&lt;.0001</b>
U	Fenoles	Amilasa	Fenoles	5.142	0.565	<b>0.712</b>	<b>0.0314</b>
T	Flavonoides	Amilasa	Flavonoides	0.917	0.069	<b>0.849</b>	<b>0.0038</b>
O	Carotenoides	Lipasa	Carotenoides	8.004	0.573	-0.422	0.4046
	Carotenoides	Amilasa	Carotenoides	8.091	0.714	-0.491	0.5094
H	Fenoles	Lipasa	Fenoles	13.896	4.510	-0.046	0.8568
O	Flavonoides	Lipasa	Flavonoides	3.316	1.460	-0.069	0.7846
J	Fenoles	Amilasa	Fenoles	11.318	3.224	0.484	0.4092
A	Flavonoides	Amilasa	Flavonoides	4.515	0.628	0.548	0.3388
	carotenoides	lipasa	carotenoides	19.568	5.934	0.234	0.6557
	carotenoides	amilasa	carotenoides	19.980	6.629	-0.742	0.2578

## 6. CONCLUSIONES

La elicitación con NaCl a 40 mM en plantas de uchuva, durante la etapa de floración y fructificación del cultivo, afectó el rendimiento de frutos y la producción de follaje.

La elicitación mejoró el contenido de compuestos fenólicos de hoja y fruto y de flavonoides en hoja. Sin embargo, el efecto sobre inhibición de lipasa fue similar entre plantas elicitadas y no elicitadas. Mientras que los frutos obtenidos de plantas elicitadas mostraron una mayor capacidad inhibitoria para la enzima  $\alpha$ -amilasa.

El tratamiento con NaCl durante el cultivo de uchuva perjudica significativamente el rendimiento del fruto y, a pesar de que provoca ligeros incrementos en su contenido de compuestos bioactivos y capacidad inhibitoria de la  $\alpha$ -amilasa, este tratamiento no se recomienda como herramienta a gran escala para mejorar los beneficios sobre inhibición de enzimas digestivas de la planta debido a las pérdidas que podría generar por disminuciones en la producción.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

**Acosta-Motos** JR, Ortuño MF, Bernal-Vicente A, Diaz-Vivancos P, Sánchez Blanco MJ, Hernández JA. Plant responses to salt stress: Adaptative mechanisms. *Agronomy* **2017**; 7,18

**ADA**. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **2014**; 37 (1): 81-90.

**Apostolidis** E, Kwon YI, Shetty K. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* **2007**; 8: 46–54.

**Baynest** HW. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolism* **2015**; 6(5): 1-9.

**Bistgani** ZE, Hashemi M, DaCosta M, Craker L, Maggi F, Morshedloo MR. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. *Ind Crops and Prod* **2019**; 135: 311-320.

**Borges** J, Almeida J, De Sá J, Bezerra K, Damasceno P, Reis I, Moura M. Inhibition of pancreatic lipase and characterization by extracts from fruit pomaces cultivars grown in Brazilian semiarid. *Jour of Agr Stud* **2019**; 7(4): 343-356.

**Brownlee** I, Forster D, Wilcox M, Dettmar P, Seal C, & Pearson J. Physiological parameters governing the action of pancreatic lipase. *Nutrition Research Reviews* **2010**;23(1): 146-154.

**Burcu-Celikli** F, Akkelle P, Naci-Onus A. In vitro Salinity Evaluation Studies in Golden Berry (*Physalis peruviana* L.). *Biotech Jour Inter* **2017**; 20(1): 1-8.

**Cam-Van** T, Nhan VH, Luu TTH, Nguyen TT, Nguyen BQ. Ho TH, col. Screening for pancreatic lipase inhibitors: evaluating assay conditions using p-nitrophenyl palmitate as substrate. *All Life*, **2022**; 15(1):13-22.



**Cedó L**, Santos D, Roglans N, Julve J, Pallarès V, Rivas-Urbina A, et al. Human hepatic lipase overexpression in mice induces hepatic steatosis and obesity through promoting hepatic lipogenesis and white adipose tissue lipolysis and fatty acid uptake. *PLoS ONE* **2017**; 12(12): 1-14.

**Chukwuma C**, Matsabisa M. Medicinal plants with concomitant anti-diabetic and anti-hypertensive effects as potential sources of dual acting therapies against diabetes and hypertension: A review. *Journal of Ethnopharmacology* **2019**; 253: 329-360.

**Crawley MJ**. Statistics. An introduction using R. 2a. edición. Londres: John Wiley & Sons, Ltd, **2015**.

**Croft H**, Chen JM. Leaf Pigment Content. *Comprehensive*. En: Liang S, Ed. Remote Sensing. Elsevier, **2018**:117–142.

**DeFronzo R**, Ferrannini E, Groop L, y col.. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* **2015**; 1(15019): 1-22.

**De Pascale S**, Maggio A, Fogliano V, Ambrosino P, Ritieni A. Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *J Hor Sci Bio* **2001**; 76: 342-354.

**Erman F**, Kireççi OA, Ozsahin AD, Erman O, Kaya T, Yılmaz Ö. Effects of *Physalis peruviana* L. and *Lupinus albus* on malondialdehyde, glutathione, cholesterol, vitamins and fatty acid levels in kidney and liver tissues of diabetic rats. *Progress in Nutrition* **2018**; 20: 218-230.

**Fisher G**, Almanza-Merchán PJ, Miranda D. Importancia y cultivo de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Rev Bras Frutic* **2014**; 36(1): 01-15.

**Fokunang C**, Mushagalusa F, Tembe-Fokunang E, Ngoupayo J, Ngameni B, Njinkio LN, et al. Phytochemical and zootechnical studies of *Physalis peruviana* L. leaves exposed to streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharmacognosy Phytother* **2017**; 9(8): 123-130.

**Gangwisch** J, Hale L, St-Onge M, Choi L, LeBlanc E, Dolores M, et al. High glycemic index and glycemic load diets as risk factors for insomnia: analyses from the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr* **2019**; 111(2): 429–439.

**García** M, García G. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento, daño oxidativo y concentración foliar de metabolitos secundarios en dos variedades de caraota (*Phaseolus vulgaris* L). *Interciencia* **2010**; 35(11): 840-846.

**Griffin** PJ, Fogarty WM. Dimethyl sulphoxide as a solvent for amylose in the determination of amylolytic activity. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* **1973**; 23:297-300

**Ginson** G, SNC S & Paul AT. Investigation of synergistic potential of green tea polyphenols and orlistat combinations using pancreatic lipase assay-based synergy directed fractionation strategy. *South African Journal of Botany*, **2020**; 135: 50–57.

**Guiné** RPF, Gon F, Oliveira S, Correia P. Evaluation of Phenolic Compounds, Antioxidant Activity and Bioaccessibility in *Physalis Peruviana* L., *International Journal of Fruit Science*, **2020**; 20:470-490.

**Gutiérrez-Mañero** FJ, Soledad M, Gómez M, Saco-Sierra MD. Aplicación biotecnológica de bacterias rizosféricas: elicitación de sistemas defensivos sistémicos en relación con la producción de compuestos con interés farmacológico y alimentario. Tesis doctoral. **2016**. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.

**Hasanuzzaman** M, Rehman K, Nahar K, Alharby H. *Plant Abiotic Stress Tolerance: Agronomic, Molecular and Biotechnological Approaches*. Suiza: Springer, **2019**.

**Hassan** FA, Ismail A, Abdulhamid A, Azlan A. Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Mangifera pajang* Kort.) peels and their free radical scavenging activity. *Journal of agricultural and food chemistry* **2011**; 59 (17): 9102-9111.

**Hawrylak-Nowak**, Dresler, Rubinowska, Matraszek-Gawron. Eliciting effect of foliar application of chitosan lactate on the phytochemical properties of *Ocimum basilicum* L. and *Melissa officinalis* L. *Food Chemistry*. **2021**; 342.

**Herrera** T, Navarro J, Fornari T, Reglero G, Martin D. Inhibitory effect of quinoa and fenugreek extracts on pancreatic lipase and  $\alpha$ -amylase under in vitro traditional conditions or intestinal simulated conditions. *Food Chemistry* **2019**; 270(1): 509-517.

**Jiménez** C, Bernal CA, Castellanos L, Aragón DM, Martínez-Matamoros D, Baena Y, Ramos FA. Peruvioses A to F, sucrose esters from the exudate of *Physalis peruviana* L. fruit as  $\alpha$ -amylase inhibitors, *Carbohydrate Research* **2018**; 461: 4-10.

**Kelly** N, Choe D, Meng O, Runkle S. Promotion of lettuce growth under an increasing daily light integral depends on the combination of the photosynthetic photon flux density and photoperiod. *Scientia Horticultura* **2020**; 272: 1-8.

**Khoddami** A, Wilkes MA, Roberts TH. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules* **2013**;18(2): 2328-2375.

**Kinasih** LS, Djamiatun K, Al-Baarri AN. Golden Berry (*Physalis peruviana* L.) Juice for Reduction of Blood Glucose and Amelioration of Insulin Resistance in Diabetic Rats. *Jurnal Gizi Dan Pangan*, **2020**; 15(1): 37-44.

**Kooti** W, Farokhipour M, Asadzadeh Z, Ashtary-Larky D, Asadi- Samani M. The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. *Electronic physician* **2016**; 8 (1): 1832-1842.

**Laguna**, Piña. *Bioquímica de Laguna*. Martínez, Riveros, Vázquez. Eds. 6a ed. Mexico. El Manual Moderno, **2007**.

**Lewis** R, Liu D. Direct Measurement of Lipase Inhibition by Orlistat Using a Dissolution Linked In Vitro Assay. *Clin Pharmacol Biopharm* **2012**; 1(3): 1-11.

**Lu ZY, Hsee CK.** Less willing to pay but more willing to buy: How the elicitation method impacts the valuation of a promotion. *Journal of Behavioral Decision Making* **2019**; 1; 1-11.

**Madriñan-Palomino CE, Barrera-Marin N, Muñoz-Flores JE.** Caracterización Morfológica de accesiones de *Physalis peruviana* L. del Banco de Germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira (Tesis de maestría). **2010**. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia.

**Mahmood N.** A review of  $\alpha$ -amylase inhibitors on weight loss and glycemic control in pathological state such as obesity and diabetes. *Comp Clin Pathol* **2016**; 25: 1253–1264.

**Maqsood M., Ahmed D., Atique I., Malik W.** Lipase inhibitory activity of *Lagenaria siceraria* fruit as a strategy to treat obesity. *Jour Trop Med* **2017**; 10(3): 305- 310.

**Martínez-González AI, Díaz-Sánchez AG, Rosa L, Bustos-Jaimes I, Vázquez-Flores A, Álvarez-Parrilla E.** Inhibición de lipasa pancreática por flavonoides: importancia del doble enlace C2=C3 y la estructura plana del anillo C. *Biotechnia*. **2020**; 22(2), 50-60.

**Mascarenhas-DeSouza C, Oliveira-DeSouza M, Muniz-deOliveira L, Pelacani C, Regina-Pelacani C.** Effect of priming on germinability and salt tolerance in seeds and seedlings of *Physalis peruviana* L. *Afr. J. Biotechnol.* **2014**; 13: 1955–1960.

**Massaretto IL, Albaladejo I, Purgatto E, Flores FB, Plasencia F, Egea-Fernández JM, Bolarin MC, Egea I.** Recovering Tomato Landraces to Simultaneously Improve Fruit Yield and Nutritional Quality Against Salt Stress. *Front Plant Sci.* **2018**; 9(1778): 1-17.

**Mayorga-Cubillos F, Arguelles J, Rodríguez E, Ariza C, Barrero L.** Yield and physicochemical quality of *Physalis peruviana* L. fruit related to the resistance response against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Physali*. *Agronomía Colombiana* **2019**; 37(2): 120-130.

**McIver** LA, Tripp J. Acarbose. En: StatPearls. Treasure Island. Ed. StatPearls Publishing, **2022**.

**McMurry** J. Química Orgánica. 8ª. ed. México D.F. Cengage Learning Editores, **2012**.

**Medina** DP, Luengas-Caicedo PE, Ospina-Giraldo LF. Implementación de una metodología para la obtención de marcadores de frutos de *Physalis peruviana* L., y evaluación de actividad hipoglicemiante. Tesis Magisterial. **2012**. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

**Meloni** DA, Gulotta MR, Silva DM, Araiza MP. Effects of salt stress on germination, seedling growth, osmotic adjustment, and chlorophyll fluorescence in *Prosopis alba* G. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias **2019**; 51(1): 1853-8665.

**Mendieta**, Limon, Díaz, y col. Los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. Mensaje bioquímico, **2010**: 143-154.

**Mengel** K and Kirkby EA. Plant growth and crop production. En: Kosegarten EA y Apeel T, Eds. Principles of plant nutrition. 5a edición. Kluwer Academic Publishers **2001**: 243-329

**Merone** L, McDermott R. Nutritional anti-inflammatories in the treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. **2017**; 127: 238-253

**Miranda** D, Fischer G, Mewis I, Rohn S, Ulrichs C. Salinity effects on proline accumulation and total antioxidant activity in leaves of the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). Journal of Applied Botany and Food Quality **2013**; 87: 67-73.

**Miranda** D, Ulrichs C, Fischer G. Dry matter accumulation and foliar K, Ca and Na contents in salt-stressed cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants. Agronomía Colombiana **2010**; 28 (2): 165-172.

**Molina** A, González FV. La influencia del estrés abiótico en la síntesis de metabolitos secundarios de plantas medicinales. Trabajo fin de grado. **2018**. Universidad de Laguna, España.

**Monroy-Pedroza** D, Martínez-Hernández JJ, Gavi-Reyes F, Torres-Aquino M, Hernández-Ríos I. Crecimiento, acumulación y distribución de materia seca en dos variedades de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* y *A. cruentus*) bajo fertigación. *Biotecnia* **2021**; 23(3): 14-21.

**Monroy-Velandia** D, Coy-Barrera E. Effect of salt stress on growth and metabolite profiles of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) along Three Growth Stages. *Molecules* **2021**; 26(9): 1-18.

**Morales-Gómez** A. T. Determinación del potencial inhibitor del extracto y fracciones de passiflora manicata sobre enzimas digestivas ( $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y lipasa pancreática). Trabajo de grado. **2017**. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

**Morandi-Vuolo** M, Silva-Lima V, Maróstica-Junior MR. Chapter 2 – Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. En: Segura-Campos MR, Ed. Bioactive Compounds. Woodhead Publishing, **2019**:33-50

**Olivares-Tenorio** ML, Dekker M, Verkerk R, Van Boekel MA. Exploring the potential of an Andean fruit: An interdisciplinary study on the cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). Tesis Doctoral. **2017**. Wageningen University and Research, Wageningen, NL.

**Oliver** J, Palou A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **2000**; 881(1-2):543–555.

**Olives-Barba** AI, Cámara-Hurtado M, Sánchez Mata M.C, Fernández Ruiz V, López-Sáenz M. Application of a UV–vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and b-carotene in vegetables. *Food Chemistry*. **2006**; 95: 328–336.

**Oomah** B, Cardador-Martínez A, Loarca-Piña G. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). Journal of the Science of Food and Agriculture. **2005**; 85(6): 935-942.

**Orabi** S, Eman S, Hanem K. Commiphora myrrha Resin Alcoholic Extract Ameliorates High Fat Diet Induced Obesity via Regulation of UCP1 and Adiponectin Proteins Expression in Rats. Nutrients **2020**; 12(3): 803-821.

**Organicocr.store**. Fotografía licor artesanal de Uchuva. Consultado **2022**. Disponible en: <https://organicocr.store/categoria-producto/licor-uchuva/>

**Peralta-Sánchez** MG. Metabolitos secundarios y clorofilas en cempasúchil en respuesta a estrés salino. **2014**; 5(9): 1589-1599.

**Pérez SO**. Fotografía mermelada de Uchuva. **2009**. Disponible en: <https://olgasofiaperez.com/mermelada-de-uchuvas-baja-en-azucar/>

**Pérez-Labrada** F, López-Vargas ER, Ortega-Ortiz H, Cadenas-Pliego G, Benavides-Mendoza A, Juárez-Maldonado A. Responses of Tomato Plants under Saline Stress to Foliar Application of Copper Nanoparticles. Plants **2019**; 8(6): 151-168.

**Ramadan-Hassanien** MF. *Physalis peruviana* L.: A Rich Source of Bioactive Phytochemicals for Functional Foods and Pharmaceuticals. Food Reviews International **2011**; 27: 259-273.

**Ramírez-Nieto** N, Osorio-Roa C. Diseño y desarrollo de un prototipo de producto biofuncional a partir de frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Tesis Magisterial. **2018**. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

**Ramírez** F, Lee-Davenport T. Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Reproductive Biology. Suiza: Springer Nature, **2020**.

**Rasouli** H, Mohammad-Bagher S, Hosseini-Ghazvini, Adibi H, Khodarahmi R. Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic

compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Food Funct* **2017**; 8: 1942-1954.

**Rezende** RA, Rodrigues FA, Soares JD, Silveira HR, Pasqual M, Dias G. de M. Salt stress and exogenous silicon influence physiological and anatomical features of in vitro-grown cape gooseberry. *Cienc Rural* **2018**; 48(1): 1-9.

**Restrepo** **2008**. Disponible en: <https://pixabay.com/es/photos/physalis-frutas-delicioso-rojo-2946954/>

<https://www.flickr.com/photos/22012266@N02/2806770540/in/photostream/>

<https://www.agromatica.es/physalis-peruviana/>

**Ronen** R, Galun M. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. *Environmental and Experimental Botany* **1984**; 4(3): 239-245.

**Ronga** D, Zaccardelli M, Lovelli S, Perrone D, Francia E, Milc J, y col. Biomass production and dry matter partitioning of processing tomato under organic vs conventional cropping systems in a Mediterranean environment. *Scientia Horticulturae* **2017**; 224: 163–170.

**Rosas-Medina** I, Colmenero-Robles A, Naranjo-Jiménez N, Ávila-Reyes JA, Almaraz-Abarca A. La salinidad incrementa el contenido de flavonoides, de antocianinas y el potencial hipoglucemiante de tomatillo (*Physalis ixocarpa*). *E-cucba*. [serie en internet]. **2020**. [2020, 08, 29]; 13:21-29. Disponible en: <file:///C:/Users/Dul/Desktop/tesis/tomate%20verde.pdf>.

**Salas-Salvadó** J, Becerra-Tomás N, Papandreou C, Bulló M. Dietary Patterns Emphasizing the Consumption of Plant Foods in the Management of Type 2 Diabetes: A Narrative Review. **2019**; 7: 1-10.

**Saleh** HM, Hassan AA, Mansour EH, Fahmy HA, El-Bedawey AEFA. Melatonin, phenolics content and antioxidant activity of germinated selected legumes and their fractions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* **2017**; 18(3): 294-301.



**Silva** AL, Neves M, Carneiro VJ, Santos-Neto F, Silva R, Torres T. Physiological and biochemical indicators of *Physalis angulata* L. plants submitted under salinity. *Comunicata Scientiae* **2021**; 12: 1-10.

**Singab** AN, Youssef FS, Ashour ML. Medicinal Plants with Potential Antidiabetic Activity and their Assessment. *Med Aromat Plants* **2014**; 3(1): 151-165.

**Singleton** VL, Orthofer R, Lamuela RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* **1999**; 299: 152-78.

**Taha** M, Imran S, Ismail NH, Selvaraj M, Rahim F, Chigurupati S, Ullah H, Khan F, et al. Biology-oriented drug synthesis (BIODS) of 2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-ethyl aryl ether derivatives, in vitro  $\alpha$ -amylase inhibitory activity and in silico studies. **2017**; 74: 1-9.

**Tatipamula** VB, Kukavica B. Phenolic compounds as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer agents and improvement of their bioavailability by liposomes. *Cell Biochemistry and Function* **2021**; 39(8): 926-944.

**Thakur**, Bhattacharya, Khosla, Puri. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. **2019**; 12: 1-12.

**Tokarz** V, MacDonald P, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *Cell Biol* **2018**; 217 (7): 2273–2289.

**Van-der-Harg** JM, Eggels L, Bangel FN, Ruigrok SR, Zwart R, Hoozemans J, Scheper W. Insulin deficiency results in reversible protein kinase A activation and tau phosphorylation. *Neurobiology of Disease* **2017**; 103: 163–173.

**Vargas E.** Fotografía pie de Uchuva. **2014**. Disponible en: <https://www.revistaperfil.com/vida/gastronomia/uchuva-la-fruta-del-amor/5LECUHX6UREGVAU6SGI6KFO4E4/story/>

**Vega-López S**, Venn B, Slavin J. Relevance of the glycemic index and glycemic load for body weight, diabetes, and cardiovascular disease. *Nutrients* **2018**; 10: 1361.

**Wang W**, Li J, Zhang H, Wang X, Fan J, Zhang X. Phenolic compounds and bioactivity evaluation of aqueous and methanol extracts of *Allium mongolicum* Regel. *Food Sci Nutr.* **2018**; 7: 779-787.

**Waśkiewicz A**, Muzolf-Panek M, Goliński P. Phenolic Content Changes in Plants Under Salt Stress. En Ahmad P y col., Ed. *Ecophysiology and Responses of Plants Under Salt Stress*. Springer Science & Business Media **2012**: 283–314.

**Whitehurst R**, Van-Oort M. *Enzymes in food technology*. 2. Reino Unido. John Wiley & Sons, **2009** vol. 2(384): 103-115.

**Worsztynowicz P**, Napierała M, Białas W, Grajek W, Olkowicz M. Pancreatic  $\alpha$ -amylase and lipase inhibitory activity of polyphenolic compounds present in the extract of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) **2014**; 49 (9): 1457-1463.

**Xiang H**, Li J, Waterhouse, Liu, Cui. Pancreatic lipase-inhibiting protein hydrolysate and peptides from seabuckthorn seed meal: Preparation optimization and inhibitory mechanism. *LWT - Food Science and Technology*, **2020**; 134.

**Yildiztugay E**, Ozfidan-Konakci C, Kucukoduk M, Turkan I. Flavonoid naringenin alleviates short-term osmotic and salinity stresses through regulating photosynthetic machinery and chloroplastic antioxidant metabolism in phaseolus vulgaris. *Front. Plant Sci* **2020**; 11(682): 1-18.

**Zaks A**, Klibanov A. Enzyme-catalyzed processes in organic solvents. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1985**; 82: 3192-3196.

Zatterale F, Longo M, Naderi J, Raciti GA, Desiderio A, Miele C and Beguinot F. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front. Physiol.* **2020** 10:1607.