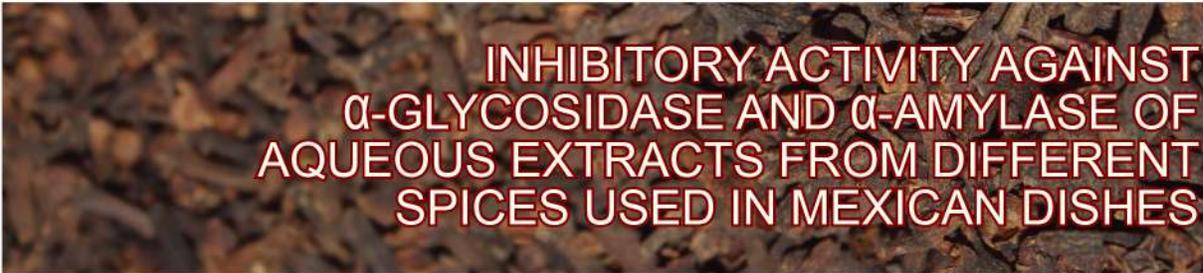


ACTIVIDAD INHIBITORIA SOBRE α -GLUCOSIDASA Y α -AMILASA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE ALGUNAS ESPECIAS UTILIZADAS EN LA COCINA MEXICANA



INHIBITORY ACTIVITY AGAINST
 α -GLYCOSIDASE AND α -AMYLASE OF
AQUEOUS EXTRACTS FROM DIFFERENT
SPICES USED IN MEXICAN DISHES

**Osmary Alín Sevilla-Asencio,
Octavio Dublán-García,
Leobardo Manuel Gómez-Oliván,
Leticia Xochitl López-Martínez***

Facultad de Química, Universidad
Autónoma del Estado de México.
Paseo Colón, esq. Paseo Toluca,
Toluca, Estado de México, México,
C.P. 50120.

*Autor para correspondencia:
lomarleticia@gmail.com

Fecha de recepción: 29 de marzo de 2013.
Fecha de aceptación: 11 de julio de 2013.

RESUMEN

La diabetes es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. Muchos estudios están dirigidos hacia la búsqueda de componentes dietarios que sean benéficos para su tratamiento y prevención. El objetivo del presente estudio fue examinar el efecto antioxidante e inhibitorio de α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), que son especias utilizadas comúnmente en la cocina mexicana. Se prepararon extractos acuosos (50 °C durante 3 h) y se determinó

el contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y potencial inhibitorio in vitro de α -glucosidasa y α -amilasa. El contenido de compuestos fenólicos totales varió de 3.12 a 104.4 mg/g de muestra. Todos los extractos mostraron actividad antioxidante que fue expresada como porcentaje de inhibición del radical DPPH- (30 % a 80 %) y capacidad inhibitoria de α -glucosidasa de 22 % a 70 %. La inhibición de la actividad α -amilasa se encontró de 0 % a 50 %. Los extractos acuosos de canela presentaron mayor capacidad inhibitoria contra la acción de la α -glucosidasa y actividad contra el radical DPPH-, los extractos acuosos de orégano mostraron menor inhibición de la actividad

Figura 1.

Muestras de Orégano (*Origanum vulgare*).
Figure 1. Oregano samples (*Origanum vulgare*).



α -glucosidasa y no presentaron inhibición contra la actividad α -amilasa. La efectividad inhibitoria de las enzimas y el contenido de compuestos fenólicos totales no presentó correlación. Sin embargo, se encontró una correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$). La inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa es una de las formas terapéuticas para retardar la digestión y absorción de los carbohidratos y en consecuencia, la reducción de glucosa postprandial en sangre. El uso de especias culinarias consumidas en los platillos mexicanos podría representar un uso potencial durante los estados tempranos de hiperglicemia.

PALABRAS CLAVE: α -amilasa, α -glucosidasa, actividad antioxidante, especias.

ABSTRACT

Diabetes is one of the main causes of morbidity and mortality around the world. Many studies have been conducted to find beneficial dietary components for its treatment and prevention. The aim of the present work was to evaluate the antioxidant and inhibitory effects of α -glycosidase and α -amylase from aqueous extracts of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), cumin (*Cuminum cyminum*) oregano (*Origanum vulgare*), black pepper (*Piper nigrum*) and clove (*Eugenia caryophyllus*), which are widely used in Mexican dishes. Aqueous extracts were prepared (50 °C for 3h) and phenolic compounds content, antioxidant activity, as well as the in vitro inhibitory potential of α -glycosidase and α -amylase, were determined. The contents of phenolic compounds ranged from 3.12 to 104.4 mg/g of sample. All the extracts exhibited an antioxidant activity, expressed as the percentage of inhibition of DPPH- radical (30 to 82 %) and inhibitory capacity of α -glycosidase (22 to 70 %). The inhibition of α -amylase activity was found between 0 AND 50 %. The aqueous extracts of cinnamon yielded highest inhibitory

capacity against α -glycosidase and DPPH-radical activities. The aqueous extracts of oregano showed lowest inhibition against α -glycosidase activity and did not show inhibition against α -amylase. The inhibitory effectiveness of the enzymes and the total phenolic compounds were not correlated. However, there was a correlation between the antioxidant activity and the total phenolic compounds ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$). The inhibition of α -glycosidase and α -amylase is one of the therapeutic approaches to slow down the digestion and absorption of carbohydrates and hence, the reduction of postprandial blood glucose. The use of these typical Mexican spices has potential in the early stages of hyperglycemia treatment.

KEYWORDS: α -amylase, α -glycosidase, antioxidant activity, species.

INTRODUCCIÓN

La prevalencia de pacientes con diabetes mellitus ha incrementado en los últimos años, debido a los cambios en el estilo de vida y el consumo de dietas con alto contenido de carbohidratos (Tappy y Lê, 2010). La diabetes tipo 2 es la forma más común de diabetes caracterizada por la resistencia a la insulina y un incremento anormal de azúcar en sangre inmediatamente después de consumir alimentos (hiperglicemia postprandial) (Kwon y col., 2007); y es uno de los desórdenes de salud asociado con la incidencia y la progresión de enfermedades microvasculares (retinopatía diabética, pérdida de la visión y nefropatías) y macrovasculares (amputaciones y enfermedades cardiovasculares). Uno de los enfoques terapéuticos más importantes para disminuir la hiperglicemia postprandial es retardar la absorción de la glucosa a través de la inhibición de las enzimas que hidrolizan carbohidratos como α -glucosidasa y α -amilasa. Estudios epidemiológicos han demostrado que dietas ricas en frutas y vegetales pueden reducir el riesgo de una amplia variedad de enfermedades incluyendo a la diabetes, debido a la presencia de compuestos de

naturaleza fenólica (Srinivasan, 2005). Se ha reportado que esos compuestos poseen efectos benéficos incluyendo efectos inhibitorios de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Cheplick y col., 2010; Ranilla y col., 2010). Las especias son parte de las plantas que se utilizan frescas o secas para agregar sabor, aroma y sensación picante a los alimentos y bebidas (McGee, 2004), son una excelente fuente de antioxidantes de origen natural, y algunas de ellas son más efectivas que algunos antioxidantes de origen sintético y más seguras desde el punto de vista de la salud. El objetivo del presente estudio fue examinar el efecto antioxidante e inhibitorio de α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos obtenidos de algunas especias utilizadas en la cocina mexicana: canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), (Figura 1) pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

El reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico, fosfato monobásico, fosfato dibásico, cloruro de sodio, nitrofenil α -D-glucopiranosido, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox), DPPH-(1,1-difenil-2-picrylhydrazyl), α -amilasa, α -glucosidasa y acarbosa fueron obtenidos de Sigma-

Aldrich Chemical Co. (St. Luis, MO); carbonato de sodio, fenol, sulfato de sodio y ácido dinitrosalicílico (DNS) fueron adquiridos de BAKER (Phillipsburg, NJ), y el hidróxido de sodio, carbonato de sodio y etanol fueron obtenidos de Fisher Scientific (Pittsburg, PA).

Espicias

Las especias utilizadas en este estudio: canela (*Cinnamomum zeylanicum*), comino (*Cuminum cyminum*), orégano (*Origanum vulgare*), pimienta negra (*Piper nigrum*) y clavo (*Eugenia caryophyllus*), fueron obtenidas en forma seca en el mercado Miguel Hidalgo de Toluca, Estado de México, en el año 2012. Todas las muestras fueron sometidas a molienda (KRUPS Gx 4100) hasta la obtención de un polvo fino con un molino para café y especias.

Preparación de los extractos acuosos

Se pesaron 5 g de cada muestra molida en un tubo de 40 mL, y se adicionaron 25 mL de agua destilada. Los tubos se colocaron en baño maría a 50 °C durante 3 h. Se agitaron cada 30 min con un vórtex. Después de ese tiempo, las muestras fueron filtradas con papel filtro Whatman No. 421. Los filtrados se colectaron y se centrifugaron a 8000 rpm (Sorvall RC5C, Sorvall Instruments, Dupont, Wilmington, DE) durante 10 min. Después de este tiempo, los sobrenadantes fueron colectados y refrigerados hasta el momento de ser analizados.

Determinación de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales se determinaron por el procedimiento de Gao y col. (2002), utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Se adicionaron a tubos de ensayo 400 µL de una solución acuosa de ácido gálico y 1.6 mL de carbonato de sodio al 7.5 % (en agua destilada); posteriormente, se colocaron 400 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluído 2 veces con agua destilada). Se mezclaron 100 µL de los extractos acuosos de las especias con los reactivos mencionados anteriormente. Después, la mezcla reposó durante 90 min en ausencia de luz a temperatura ambiente, y se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro con arreglo de diodos (Hewlett Packard HP 8452A). Los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico/g

de especia molida en base a una curva estándar de 0-600 mg de ácido gálico/mL.

Inhibición del radical DPPH-

La actividad antioxidante fue analizada por el método de Ranilla y col. (2010), con algunas modificaciones: 100 µL de los extractos acuosos (estandarizados a 0.25 mM de compuestos fenólicos totales) de cada una de las especias, fueron transferidos a tubos de polipropileno, donde se adicionaron 2.8 mL de una solución del radical DPPH- disuelto en metanol (98.9 µM). Se agitaron en un vórtex durante 15 s y se mantuvieron en ausencia de luz durante 30 min. Después de ese tiempo, se determinó la absorbancia a 515 nm. Se utilizó metanol como blanco, una solución de Trolox 0.02 mM como control positivo antioxidante, y el control fue una mezcla de 2.8 mL de DPPH- y 100 µL de metanol.

La actividad antioxidante se expresó como % de inhibición:

$$\% \text{ inhibición} = [(A_{0515} - A_{1515}) / A_{0515}] \times 100$$

Donde:

A_{0515} = Absorbancia sin el extracto.

A_{1515} = Absorbancia con el extracto.

Actividad inhibitoria de la enzima α -glucosidasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad α -glucosidasa de los extractos acuosos de las especias fue adaptado de Yuan y col. (2012). Una mezcla de 50 µL de los extractos acuosos, 100 µL de amortiguador de fosfatos 0.1 M a pH 6.9, y 100 µL de una solución de α -glucosidasa de levadura *S. cerevisiae* (67 mU/ensayo) se incubó en un plato de 96 pozos a 25 °C durante 10 min. Después de ese tiempo, se adicionaron 100 µL de una solución de p -nitrofenil α -D glucopiranosido (p-NPG) 0.1 M en amortiguador de fosfatos pH 6.9 a cada pozo. Esta mezcla fue nuevamente incubada a 25 °C. La absorbancia fue determinada a 405 nm en un lector de microplatos (SpectraMax M2, Molecular Devices Corp., SoftmaxPro v.4.6 software, Sunnyvale, CA, USA). Los cambios en la absorbancia fueron monitoreados inicialmente antes de la incubación y después de 30 min (de la adición del p-NPG); y fueron comparados con una muestra control que consistió en 50 µL de amortiguador de

fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos. Se utilizó una solución de acarbosa (0.44 mg/mL) como inhibidor positivo.

El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática fue calculada por:

$$\% \text{ inhibición} = \left[\frac{(\Delta A_{\text{bs control}} - \Delta A_{\text{bs muestra}})}{\Delta A_{\text{bs control}}} \right] \times 100$$

Donde:

$\Delta A_{\text{bs control}}$: Cambios en la absorbancia del control.

$\Delta A_{\text{bs muestra}}$: Cambios en la absorbancia de la muestra.

Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

El ensayo para medir la inhibición de la actividad de la α -amilasa por los extractos acuosos de las especias fue adaptado de Adisakwattana y col. (2009). La enzima α -amilasa (páncreas de porcino) (3 U/mL) fue disuelta en amortiguador de fosfatos salino 0.1 M, pH 6.9. Se adicionaron 200 µL de los extractos estandarizados a 0.25 mM de compuestos fenólicos totales a una solución de almidón (1 g/L); la reacción fue iniciada al adicionar 500 µL de la solución de la enzima, y la mezcla fue incubada a 25 °C durante 10 min en tubos de ensayo. Después de ese tiempo, se adicionaron 500 µL de una solución de 10 g/L de amortiguador de fosfatos 0.02 M (pH 6.9 con cloruro de sodio 6 mM). La mezcla de reacción se incubó nuevamente a 25 °C durante 10 min, y se detuvo por la adición de 1 mL de una solución de ácido dinitrosalicílico (1 % 3,5-ácido dinitrosalicílico, 0.2 % fenol, 0.05 % Na_2SO_3 y 1 % NaOH en solución acuosa). Después de ese tiempo, la mezcla se incubó en un baño de temperatura controlada (90 °C) durante 5 min, y se enfrió a temperatura ambiente. Posteriormente, la mezcla se diluyó con 10 mL de agua destilada y se determinó la absorbancia a 540 nm, de 0.44 mg/mL como inhibidor positivo. La muestra control consistió en 200 µL de amortiguador de fosfatos pH 6.9, en lugar de los extractos.

El porcentaje de inhibición de la actividad enzimática fue calculada por:

$$\% \text{ inhibición} = \left[\frac{(\Delta A_{\text{bs control}} - \Delta A_{\text{bs muestra}})}{\Delta A_{\text{bs control}}} \right] \times 100$$

Donde:

$\Delta A_{\text{control}}$: Cambios en la absorbancia del control.

$\Delta A_{\text{muestra}}$: Cambios en la absorbancia de la muestra.

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado.

Análisis estadístico

Para todos los experimentos se utilizó un diseño por bloques completamente al azar, y la significancia de diferencias entre medias de los tratamientos fue establecida utilizando un ANOVA de una sola vía, seguida con una comparación de Fisher con el *software* estadístico MINITAB® v. 15.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compuestos fenólicos totales

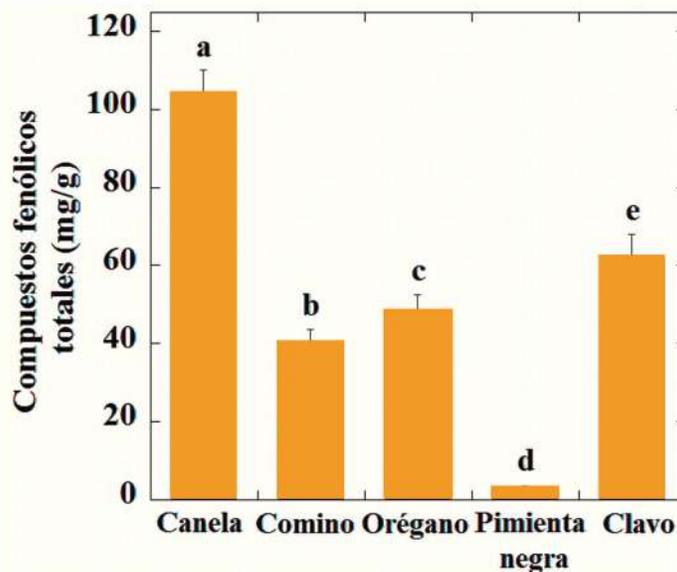
Los fitoquímicos, en especial los compuestos fenólicos están recibiendo creciente atención debido a sus actividades biológicas. Cho y col. (2003), reportaron que este tipo de compuestos juegan un papel importante en la modulación de la actividad α -glucosidasa y α -amilasa, por lo tanto, pueden contribuir al manejo de la diabetes tipo 2, y en este estudio los compuestos fenólicos constituyen el principal grupo de compuestos que actúan como antioxidantes. El contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos de las especias seleccionadas se muestra en la Figura 2. La diferencia en la concentración de compuestos fenólicos entre extractos fue estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

En general, el contenido de compuestos fenólicos varió de entre 3.12 a 104.4 mg/g. El extracto acuoso de canela mostró la mayor concentración en el contenido de compuestos fenólicos (104.4 mg/g), seguido de clavo (62.5 mg/g), orégano (48.2 mg/g) y comino (40.2 mg/g). La pimienta negra mostró la menor concentración (3.20 mg/g). Estos resultados son similares a los obtenidos por Kim y col. (2011), quienes reportaron que el contenido de compuestos fenólicos de las extracciones acuosas de distintas especias varió de 4.02 a 108.2 mg/g. También se han encontrado derivados de flavonoides en estas especias tales como antocianinas, flavonas, catequinas y ácido gálico, que se ha demostrado presentan actividades antioxidantes y capacidad de

Figura 2.

Contenido de compuestos fenólicos totales de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo. Los resultados son expresados como la media de los análisis y su desviación estándar por triplicado.

Figure 2. Total phenolic compounds of aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



reducir el estrés oxidativo celular (Oboh y col., 2007).

Actividad antioxidante

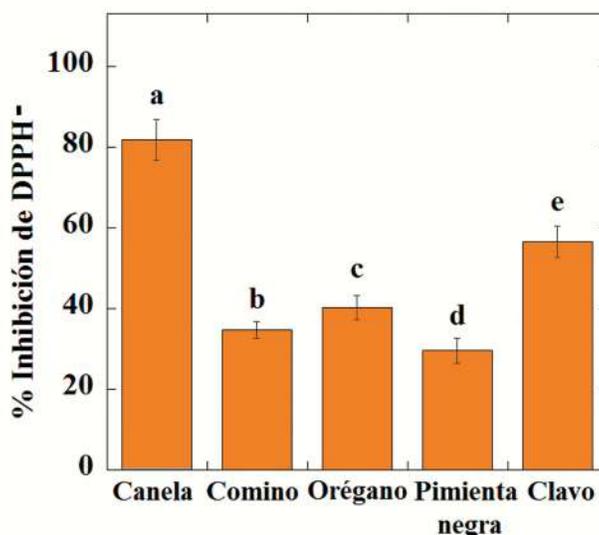
La actividad antioxidante de las especias es atribuida principalmente a fitoquímicos de

naturaleza fenólica presentes en ellas. Se encontró que los extractos acuosos de todas las especias presentaron actividad antioxidante basada en la capacidad de los extractos acuosos de donar un átomo de H, y por lo tanto neutralizar al radical DPPH $^{\cdot}$. Esta habilidad

Figura 3.

Actividad antioxidante sobre el radical DPPH $^{\cdot}$ de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo. Los resultados son expresados como la media \pm DE de los análisis por triplicado.

Figure 3. DPPH radical scavenging activity of aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



varió de 30 a 80 % (Figura 3). El extracto de pimienta negra presentó la menor actividad antioxidante, mientras que los extractos de canela mostraron la mayor actividad contra el radical DPPH-. Para la validación de esta prueba se utilizó Trolox 0.02 mM como estándar positivo antioxidante, el cual mostró un porcentaje de inhibición del radical DPPH- de 98 %. Aunque la actividad antiradical de los extractos acuosos de las especias fue menor que el presentado por el Trolox, el estudio revela que estos extractos actúan como antioxidantes primarios presentando la capacidad de inhibir o detener la acción del radical DPPH-. Las diferencias observadas en las actividades antioxidantes pueden ser debido a la presencia de diferentes compuestos presentes en los extractos. La correlación presentada entre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos fue significativa ($r^2 = 0.94$, $P < 0.05$), soportando que el contenido de estos compuestos contribuye significativamente a la actividad antioxidante. Este tipo de correlaciones han sido reportadas previamente por Zheng y col. (2001) y Kim y col. (2011).

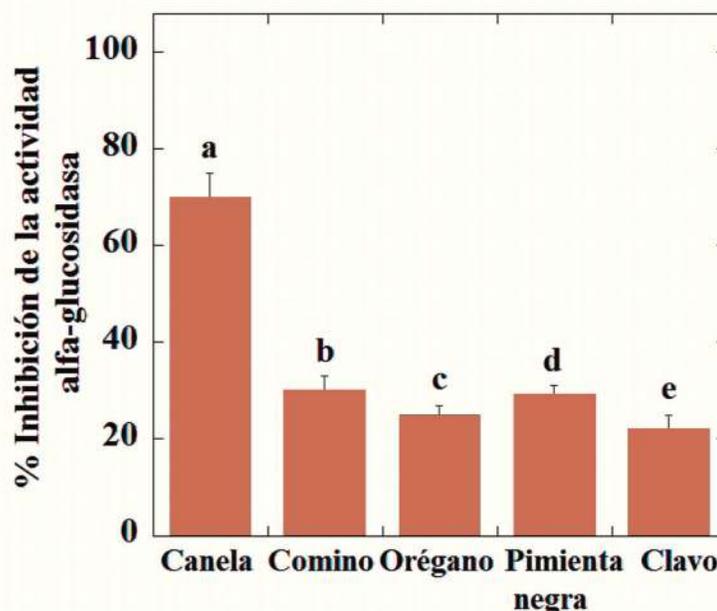
Actividad inhibidora de α -glucosidasa

Las enzimas glucosidasas localizadas en los vellos de la superficie de la membrana intestinal son enzimas clave en la digestión de carbohidratos. La administración oral de inhibidores de glucosidasas retarda la digestión y absorción de carbohidratos y modulan así, la elevación de la glucosa postprandial en sangre. En la Figura 4 se muestra el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de las especias sobre la actividad α -glucosidasa. Se utilizó acarbosa como inhibidor de referencia, mostrando una inhibición del 93 %. Todos los extractos exhibieron capacidad de inhibir la actividad de esta enzima (22-70 %) a la concentración estandarizada de 0.25 mM de compuestos fenólicos totales, pero fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa. Los extractos acuosos de canela presentaron la mayor actividad inhibidora, mientras que los extractos de clavo mostraron la menor actividad contra la enzima α -glucosidasa, la enzima clave

Figura 4.

Efecto de la actividad inhibitoria de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo sobre α -glucosidasa. Los resultados son expresados como la media de los análisis por triplicado.

Figure 4. α -glucosidase inhibitory effect of the aqueous extractos from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



para metabolizar los oligosacáridos no absorbibles en monosacáridos absorbibles en el intestino delgado. La inhibición de estas enzimas retarda la digestión de oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos, disminuyendo la absorción de la glucosa y consecuentemente disminuyendo la glucosa postprandial.

Actividad inhibidora de α -amilasa

La α -amilasa, enzima salival o pancreática juega un papel importante en la ruptura temprana de carbohidratos complejos a moléculas simples. Todos los extractos, excepto los de orégano exhibieron capacidad de inhibir la actividad de esta enzima (0 - 50 %) a la concentración estandarizada de 0.25 mM, pero fueron menos efectivos comparados con la droga terapéutica acarbosa (82 %). El porcentaje más elevado de inhibición fue observado en los extractos acuosos de canela (50 %), mientras que los extractos de orégano mostraron la menor actividad contra la enzima α -amilasa (0 %) (Figura

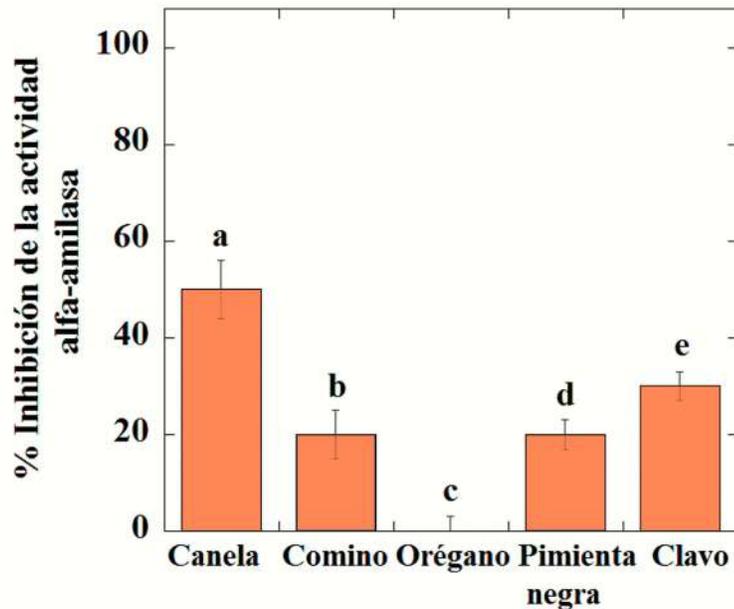
5). La α -amilasa es una de las enzimas responsables por la hidrólisis del almidón, produciendo azúcares simples como glucosa y maltosa. La inhibición de esta enzima puede retardar la digestión de carbohidratos y reducir la velocidad de absorción de glucosa, y consecuentemente podría disminuir los niveles de glucosa postprandial en sangre.

Haciendo una comparación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y el potencial de inhibición de α -glucosidasa ($r^2 = 0.75$, $P < 0.05$) y α -amilasa ($r^2 = 0.62$, $P < 0.05$) se observaron correlaciones no significativas. Además, la mayor capacidad de inhibir la actividad de α -glucosidasa comparada con α -amilasa, exhibida por los extractos acuosos, podría evitar los efectos secundarios de los medicamentos utilizados para la inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa como distensión abdominal, flatulencia, meteorismo y diarrea (Bischoff, 1994). Estos efectos pueden ser causados por la excesiva inhibición de la amilasa intestinal, lo que

Figura 5.

Efecto de la actividad inhibitoria de los extractos acuosos de canela, comino, orégano, pimienta negra y clavo sobre α -amilasa. Los resultados son expresados como la media de los análisis por triplicado.

Figure 5. α -glucosidase inhibitory effect of the aqueous extracts from cinnamon, oregano, cumin, black pepper and clove. Values are expressed as the means \pm SD for 3 replicates.



provoca fermentación bacteriana anormal de los carbohidratos no digeridos en el colon. Por lo tanto, este estudio confirma el hecho, de que los inhibidores originarios de especias poseen baja actividad inhibitoria contra α -amilasa, y fuerte actividad inhibitoria contra α -glucosidasa, y pueden ser utilizadas para el manejo de la hiperglicemia postprandial con efectos secundarios mínimos (Know y col., 2007; Oboh y col., 2007).

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que existen diferencias en el contenido de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y actividad inhibitoria de enzimas que hidrolizan carbohidrato de extractos acuosos de cinco especias comúnmente consumidas en platillos de la cocina mexicana. Se reporta una fuerte correlación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante, además, la fuerte inhibición de α -glucosidasa y la débil inhibición de α -amilasa indican que las especias consideradas en este estudio son una opción para la reducción de glucosa postprandial en sangre. ||

REFERENCIAS

- Adisakwattana, S., Chantarasinlapin, P., Thammarat, H., and Yibchok-Anun, S. (2009). A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 24 (5): 1194-1200.
- Bischoff, H. (1994). Pharmacology of glucosidase inhibitor. *European Journal of Clinical Investigation*. 24: S3-10.
- Cheplick, S., Kwon, Y. I., Bhowmik, P., and Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Bioresource Technology*. 101: 404-413.
- Cho, E. J., Yokozawa, T., Rhyu, D. Y., Kim, S. C., Shibahara, N., and Park, J. C. (2003). Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1, 1-diphenyl 2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*. 10(6-7): 544-551.
- Gao, L., Oomah, B. D., and Mazza, G. (2002). *Wheat quality: antioxidant activity wheat millstreams*. In P. Ng, & C. W. Wrigley (Eds.), *Wheat quality elucidation*. St. Paul, MN: AACC International, ACCC Press. 233 Pp.
- Kim, I. S., Yang, M. R., Lee, O. H., and Kang, S. N. (2011). Antioxidant activities of hot water extracts from various spices. *International Journal of Molecular Sciences*. 12(6): 4120-4131.
- Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Kim, Y. C., and Shetty, K. (2007). Health Benefits of Traditional Corn, Beans, and Pumpkin: In Vitro Studies for Hyperglycemia and Hypertension Management. *Journal of Medicinal Food*. 10 (2): 266-275.
- McGee, H. (2004). *Flavoring, from plants: herbs and species, tea and coffee*. In H McGee (Ed.), *McGee on food and cooking*, London: Holder and Stoughton, Ltd. 450 Pp.
- Oboh, G., Puntel, R. L., and Rocha, J. B. T. (2007). Hot pepper (*Capsicum annum*, *Tepin* and *Capsicum chinense*, *Habanero*) prevents Fe²⁺ induced lipid peroxidation in Brain: in vitro. *Food Chemistry*. 102: 178-185.
- Ranilla, L. G., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., and Shetty, K. (2010). Phenolic compounds antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology*. 101: (12) 4676-4689.
- Srinivasan, K. (2005). Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 56(6): 399-414.
- Tappy, L. and Lê, K. A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiological Reviews*. 90 (1): 23-46.
- Yuan, T., Wan, C., Liu, K., and Seeram, N. P. (2012). New maplexins FI and phenolic glycosides from red maple (*Acer rubrum*) bark. *Tetrahedron*. 68 (4): 959-964.
- Zheng, W. and Wang, S. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 (11): 5165-5170.