

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“BIOACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIHIPERTENSIVA DE
DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) EN
RATAS HIPERTENSAS”**

Presentada por:

MILUSKA ALEXANDRA CISNEROS YUPANQUI

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGÍSTER SCIENTIAE EN
NUTRICIÓN**

Lima - Perú

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“BIOACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIHIPERTENSIVA DE
DOS VARIEDADES DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) EN
RATAS HIPERTENSAS”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGÍSTER SCIENTIAE EN
NUTRICIÓN**

Presentada por:

MILUSKA ALEXANDRA CISNEROS YUPANQUI

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco

PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Vélchez Perales

ASESOR

Dra. María Elena Villanueva Espinoza

MIEMBRO

Dra. Nataly Bernuy Osorio

MIEMBRO

AGRADECIMIENTOS

- Al programa de becas CIENCIACTIVA CONCYTEC, Convenio de Gestión N° 183-2015 FONDECYT por la subvención de estudios de la Maestría en Nutrición y por el financiamiento del presente trabajo de investigación.
- A mi asesor, el Ph.D. Carlos Vílchez Perales por su incondicional apoyo, paciencia y orientación. Asimismo, muchas gracias por la confianza depositada durante todo el desarrollo del presente trabajo.
- A mi asesor de pregrado, el Dr. David Campos por el apoyo brindado para la realización de la parte experimental en el Instituto de Biotecnología, área de Biotecnología Industrial.
- A los señores Mauro Ayala y Reynaldo Madrid por la paciencia y orientación en la enseñanza del uso de animales de laboratorio.
- A mis amigos por su apoyo durante toda esta etapa. Gracias por siempre darme ánimos y las palabras de aliento necesarias para seguir por este camino.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.	Quinoa	3
2.1.1.	Generalidades	3
2.1.2.	Composición nutricional	3
2.2.	Bioactividad de la quinua	4
2.2.1.	Compuestos bioactivos sobre el estrés oxidativo	4
2.2.2.	Compuestos bioactivos sobre la hipertensión arterial	7
2.3.	Relación entre hipertensión y estrés oxidativo	11
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
3.1.	Lugar de ejecución y duración	13
3.2.	Materia prima e insumos	13
3.3.	Animales experimentales.....	13
3.4.	Materiales, equipos y reactivos	14
3.4.1.	Materiales	14
3.4.2.	Equipos.....	14
3.4.3.	Reactivos	15
3.5.	Métodos de análisis	15
3.5.1.	Determinación del contenido de humedad	15
3.5.2.	Determinación del contenido de proteína total.....	15
3.5.3.	Determinación de proteína soluble en quinua e hígado de ratas	15
3.5.4.	Determinación de la actividad antioxidante ABTS	17
3.5.5.	Determinación de compuestos fenólicos totales.....	18
3.5.6.	Determinación de flavonoides	18
3.5.7.	Determinación de la actividad antihipertensiva de la harina de quinua cocida.....	18
3.5.8.	Determinación del IC ₅₀	19
3.5.9.	Determinación de la actividad antihipertensiva en riñón y sangre.....	20
3.5.10.	Determinación del perfil lipídico.....	20
3.5.11.	Determinación de glucosa sanguínea	21
3.5.12.	Determinación de la actividad catalasa	21
3.5.13.	Determinación de la actividad superóxido dismutasa	22

3.6.	Metodología experimental	22
3.6.1.	Obtención de harina cocida de quinua	22
3.6.3.	Evaluación <i>in vitro</i> de la harina de quinua roja y negra cocida.....	24
3.6.4.	Evaluación <i>in vivo</i> de la harina de quinua roja y negra cocida.....	24
3.7.	Diseño experimental	27
3.8.	Análisis estadístico	27
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
4.1.	Caracterización y bioactividad de la harina de quinua cocida.....	30
4.2.	Ensayos biológicos en ratas inducidas a hipertensión	38
4.2.1.	Efecto de la harina de quinua cocida sobre el perfil lipídico y estrés oxidativo	38
4.2.2.	Efecto de la harina de quinua cocida sobre los niveles de glucosa.....	43
4.2.3.	Efecto de la harina de quinua cocida sobre la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina	45
4.3.	Relación entre hipertensión, estrés oxidativo, niveles de glucosa y perfil lipídico.	47
V.	CONCLUSIONES	50
VI.	RECOMENDACIONES	51
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
VIII.	ANEXOS	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: Procedimiento para la determinación de proteína soluble en muestras de hígado	16
Cuadro 2: Composición porcentual y valor nutricional calculado de la dieta para ratas	25
Cuadro 3: Descripción de los tratamientos suministrados a los animales.....	26
Cuadro 4: Características de la harina de quinua roja y negra cocida.....	31
Cuadro 5: Actividad antioxidante en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de acción de la enzima convertidora de angiotensina (ACE).....	9
Figura 2: Flujo de operaciones para la obtención de harina de quinua negra y roja cocida	23
Figura 3: Diseño experimental para la bioactividad antioxidante y antihipertensiva en dos variedades de harina de quinua cocida	28
Figura 4: Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en harina de quinua roja y negra cocida.....	32
Figura 5: Perfil lipídico en ratas tras la administración de los tratamientos.....	38
Figura 6: Niveles de glucosa en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos	44
Figura 7: Inhibición de la ACE en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Composición de dieta estándar para ratas	69
Anexo 2: Curva estándar de proteína soluble.....	70
Anexo 3: Curva estándar de capacidad antioxidante ABTS	70
Anexo 4: Curva estándar de compuestos fenólicos totales	71
Anexo 5: Curva estándar de flavonoides.....	71
Anexo 6: Kit comercial para determinación de perfil lipídico.....	72
Anexo 7: Kit comercial para determinación de glucosa	73
Anexo 8: Resultados de los análisis en la harina de quinua roja y negra cocida	74
Anexo 9: Compuestos fenólicos y flavonoides obtenidos en la harina de quinua roja y negra cocida.....	74
Anexo 10: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos	75
Anexo 11: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de flavonoides	75
Anexo 12: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de proteína soluble	76
Anexo 13: Cálculo de valores IC ₅₀ de la harina de quinua roja y negra cocida.....	77
Anexo 14: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante y la inhibición de la ACE de la harina de quinua roja y negra cocida	77
Anexo 15: Perfil lipídico en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos	78
Anexo 16: Actividad antioxidante en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos.....	79
Anexo 17: Prueba de correlación entre la actividad de la enzima superóxido dismutasa y catalasa tras la administración de los tratamientos.....	80
Anexo 18: Nivel de glucosa en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos.....	81
Anexo 19: Inhibición de la ACE en sangre y riñón de ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos	82
Anexo 20: Prueba de correlación entre la actividad de la enzima superóxido dismutasa y la inhibición de la ACE tras la administración de los tratamientos	83

RESUMEN

La hipertensión es uno de los factores de riesgo clave en el desarrollo de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), reportándose que los compuestos bioactivos de ciertos alimentos, entre ellos la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), promueven la disminución del riesgo de padecer dichas ECNT. Así, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la bioactividad antihipertensiva, a través de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE, por sus siglas en inglés) y la antioxidante, mediante cambios en el estrés oxidativo, niveles de glucosa y perfil lipídico, de dos variedades de quinua (Negra Collana y Roja Pasankalla) en ratas *Holtzman* inducidas a hipertensión. Para ello, se distribuyeron aleatoriamente 30 ratas en 5 tratamientos. Con excepción del control negativo, los 4 tratamientos restantes fueron inducidos a hipertensión y alimentados, durante 21 días, con 1) quinua roja, 2) quinua negra, 3) dieta estándar (DE) + fármaco antihipertensivo (FA) y 4) DE sin FA, respectivamente. Finalizada la fase experimental, los animales fueron sacrificados y los resultados obtenidos fueron sometidos a ANOVA bajo un DCA y la prueba de comparación de medias se calculó mediante Duncan, usando el software estadístico Statgraphics. Se determinó que el consumo de quinua roja incrementó significativamente ($p < 0.05$) los niveles de HDL-c y la inhibición de la ACE en riñón. Además, indistintamente de la variedad de quinua, se vio que su consumo aumentó la actividad antioxidante *in vivo* y redujo los niveles de glucosa. La inhibición de la ACE en sangre fue mayor tras el consumo de quinua negra. Asimismo, la quinua negra presentó mayor capacidad antioxidante y antihipertensiva *in vitro*. En conclusión, el consumo de quinua roja mejoró los niveles de HDL-c, mientras que el consumo de ambas variedades incrementó la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas y la inhibición de la ACE. Además, a nivel *in vitro* es la quinua negra la que presenta mayor bioactividad antioxidante y antihipertensiva.

Palabras clave: quinua, hipertensión, actividad antioxidante, actividad antihipertensiva

ABSTRACT

Hypertension is one of the key risk factors involved in the development of chronic non-communicable diseases (CNCD), being quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) a good source of bioactive compounds that could reduce the risk of suffering said CNCD. The aim of this work was to determine both antihypertensive and antioxidant bioactivities, by inhibiting the angiotensin-converting enzyme (ACE), and by changes in oxidative stress, glucose levels and lipid profile, respectively, of two varieties of quinoa (Negra Collana and Roja Pasankalla) in *Holtzman* rats induced to hypertension. 30 rats randomly distributed in 5 treatments were used, and with the exception of the negative control, the remaining 4 treatments were induced to hypertension. Those 4 treatments were fed, for 21 days, with 1) red quinoa, 2) black quinoa, 3) standard diet (SD) + antihypertensive drug (AD) and 4) SD without AD, respectively. At the end of the experimental phase, the animals were sacrificed and the obtained data were submitted to ANOVA under a completely randomized design and the mean comparison test was calculated using Duncan, by Statgraphics statistical software. It was observed that the consumption of red quinoa significantly increased both, the levels of HDL-c and the inhibition of the ACE in the kidney ($p < 0.05$). In addition, regardless of the variety of quinoa, it was seen that its consumption not only increased antioxidant activity *in vivo* but also reduced glucose levels. The inhibition of ACE in blood was greater after the consumption of black quinoa. Also, black quinoa showed greater antioxidant and antihypertensive capacity *in vitro*. To sum up, the consumption of red quinoa improved HDL-c levels while both varieties improved the activity of endogenous antioxidant enzymes and the inhibition of ACE. In addition, at an *in vitro* level, black quinoa has the highest antioxidant and antihypertensive bioactivity.

Keywords: quinoa, hypertension, antioxidant activity, antihypertensive activity

I. INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un pseudocereal andino reconocido por muchos autores como el grano del siglo XXI. Las proteínas presentes en él tienen alto valor nutricional debido a su buen balance aminoacídico y al nivel elevado de lisina que contiene comparado con cereales como el arroz y trigo (Nongonierma *et al.* 2015).

Por otro lado, los radicales libres son moléculas que están en formación continua en las células y que son neutralizados de manera natural por las defensas antioxidantes del organismo. Sin embargo, existen factores que producen un desequilibrio en el número de radicales libres, y un exceso de éstos puede dar lugar al desarrollo de estrés oxidativo, pudiendo conllevar al desarrollo de enfermedades tales como aterosclerosis o, incluso, diabetes. Todo esto ha llevado a la búsqueda de compuestos antioxidantes naturales para la prevención de la oxidación por parte de los radicales libres, impidiendo que éstos se unan al oxígeno (Mulero *et al.* 2011). Ante esto, existen reportes que demuestran la bioactividad de la quinua frente al estrés oxidativo. Por ejemplo, se menciona que este grano posee efecto antiinflamatorio y antioxidante debido a los compuestos fenólicos, péptidos bioactivos y fitoesteroles presentes en él (Pellegrini *et al.* 2018, Varli y Sanlier 2016, Cisneros 2017), presentando mayor bioactividad cuando son sometidos a una cocción previa (Bernuy 2018, Repo-Carrasco *et al.* 2011).

Asimismo, la hipertensión arterial es la principal causa de enfermedad en los países industrializados donde ocasiona el 35 por ciento de mortalidad. Debido a esto, los alimentos que presentan bioactividad antihipertensiva son de gran interés, siendo la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) el mecanismo *in vitro* antihipertensivo más estudiado. La ACE cataliza la conversión de la angiotensina I (decapéptido) en angiotensina II (octapéptido), el cual es un compuesto de elevada potencia vasoconstrictora (Mulero *et al.* 2011). Actualmente, se usan inhibidores sintéticos de la ACE (tales como captopril, enalapril y lisinopril); sin embargo, se ha reportado el uso de compuestos bioactivos provenientes de fuentes alimenticias que cumplen la misma

actividad (Du *et al.* 2013). Por ejemplo, en la literatura se reporta la capacidad antihipertensiva de los péptidos bioactivos y flavonoides en diversas matrices alimentarias (Zouari *et al.* 2011), los cuales compiten con el sustrato por el sitio activo de la ACE, siendo la quinua el grano con mayor capacidad de inhibición de esta enzima en comparación con la kiwicha, el trigo sarraceno y diversos cereales (Gomes *et al.* 2016).

No obstante, la mayoría de estudios disponibles han sido realizados a un nivel *in vitro*, los cuales no son concluyentes debido a que el organismo es un sistema complejo. Por ello, son los estudios *in vivo* los que determinan la utilidad y eficacia en el individuo, teniendo en cuenta la actividad selectiva o específica sobre los órganos o sistemas fisiológicos (Galicia *et al.* 2013). A la fecha, existe en la literatura escasa información acerca de la bioactividad antioxidante y antihipertensiva *in vivo* de la quinua (Bernuy 2018, Paško *et al.* 2010, Takao *et al.* 2005), estando la mayoría de éstos enfocados en una sola variedad del grano (generalmente quinua blanca).

Por lo tanto, la presente investigación busca dar a conocer la bioactividad antioxidante y antihipertensiva de dos variedades de quinua a un nivel *in vivo* en ratas inducidas a hipertensión. Dichas bioactividades fueron medidas sobre el estrés oxidativo, perfil lipídico, niveles de glucosa y capacidad de inhibición de la ACE, con lo que se pretende demostrar la potencialidad de este pseudocereal andino en el campo de la prevención de enfermedades.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Quinua

2.1.1. Generalidades

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un cereal andino cultivado en los Andes Sudamericanos desde tiempos ancestrales, y se ha difundido especialmente en Bolivia, Perú y Ecuador, siendo estos países los principales productores a nivel mundial. Actualmente, es cultivada en muchas regiones de la zona andina, África, Asia, Australia, Europa y Norteamérica. La posibilidad de expansión que posee la quinua se debe a su capacidad de adaptación en un amplio rango de zonas agroecológicas con condiciones ecológicas extremas (Valencia-Chamorro 2016).

La quinua tiene la siguiente clasificación taxonómica (Gandarillas 1979):

Reino	: Vegetal
División	: <i>Angiospermophyla</i>
Clase	: <i>Dicotyledonea</i>
Sub clase	: <i>Archichlamydeae</i>
Orden	: <i>Centrospermales</i>
Familia	: <i>Chenopodaceae</i>
Género	: <i>Chenopodium</i>
Especie	: <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.

2.1.2. Composición nutricional

Tal como los cereales, la quinua contiene carbohidratos, proteína, grasa, minerales, fibra y vitaminas. La composición química de la quinua dependerá de la variedad, prácticas de cultivo y el ambiente de éste. Se han reportado valores entre 10.21-18.39 por ciento de

proteína, 2.05-10.88 por ciento de grasa, 3.46-9.68 por ciento de fibra dietaria, 2.12-5.12 por ciento de ceniza y 52.31-72.98 por ciento de carbohidratos en 555 accesiones de quinua (Valencia-Chamorro 2016).

El contenido proteico de la quinua es alto y varía en un rango de 8 al 22 por ciento, dependiendo del cultivo. El balance aminoacídico es altamente recomendable para el consumo humano, principalmente por su alto contenido de lisina, el cual es un aminoácido esencial normalmente deficitario en los cereales (Hager *et al.* 2012). Por su parte, Escuredo *et al.* (2014) reportan un total de doce aminoácidos en la quinua, entre los cuales figuran: arginina (R), cisteína (C), isoleucina (I), leucina (L), lisina (K), fenilalanina (F), prolina (P), serina (S), treonina (T), triptófano (W), tirosina (Y) y valina (V).

El fraccionamiento de la proteína de quinua muestra la presencia de albúmina 2S, representando el 35 por ciento del total de la proteína y cuyo peso molecular es de 9 kDa; así como de una globulina llamada Chenopodina 11S, que representa 37 por ciento de la proteína total y está formada por polipéptidos de bajo peso molecular (22-33 kDa y 32-39 kDa). Existen reportes donde se menciona la toxicidad de la albúmina 2S presente en matrices alimentarias como leguminosas y nueces de Brasil (Moreno y Clemente 2008); sin embargo, para el caso de pseudocereales como el amaranto se evaluó la alergenicidad de dicha proteína y no se encontró respuesta de inmunoglobulinas E (IgE), por lo que no se considera tóxica en este tipo de matrices (Chakraborty *et al.* 2000, mencionados por Orona-Tamayo y Paredes-López 2017). Por otro lado, la Chenopodina presente en la quinua se caracteriza por su bajo contenido de aminoácidos azufrados con relación a las otras proteínas de la quinua. Por su parte, la albúmina 2S de la quinua es rica en cisteína, pero no en metionina (Abugoch *et al.* 2009). Brinegar y Goundan (1993) mostraron mediante electroforesis que las proteínas de almacenamiento de la quinua pueden ser clasificadas como albúminas y globulinas. Asimismo, la quinua es considerada un grano libre de gluten, debido a su escaso contenido de prolaminas (Valencia-Chamorro 2016).

2.2. Bioactividad de la quinua

2.2.1. Compuestos bioactivos sobre el estrés oxidativo

Una de las consecuencias inevitables de la respiración en organismos aeróbicos es la

creación de radicales libres, tales como el superóxido (O_2^-) y el hidroxilo ($OH\cdot$), entre otras especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). Estos radicales son muy inestables y reaccionan rápidamente con otros grupos de sustancias en el organismo, causando así, daño celular y tisular. Asimismo, también pueden dañar proteínas, causar mutaciones en el ADN, oxidar la membrana fosfolipídica y modificar las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Sarmadi & Ismail 2010).

Sin embargo, hasta cierta medida los radicales libres son favorables, debido a que ejercen funciones de señalización y defensa ante las infecciones. El cuerpo humano está diseñado para contrarrestar las consecuencias de la formación de éstos mediante mecanismos de defensa (acción de las enzimas endógenas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa). No obstante, cuando la producción de radicales libres supera su inhibición o ésta se da de manera inadecuada, los mecanismos de defensa no se dan abasto, generando lo que se conoce como estrés oxidativo, siendo esta condición la que promueve la aparición de enfermedades crónicas. Además, el estrés oxidativo puede contribuir al desarrollo de la diabetes tipo II, debido a que la generación incontrolada de radicales libres da pie a factores de inflamación que favorecen el aumento de la resistencia a la insulina o daño en la secreción de la misma (Escudero 2012, Sarmadi & Ismail 2010). Los pacientes con diabetes generalmente presentan mayor estrés oxidativo que las personas sin esta condición. Asimismo, las complicaciones de la diabetes no son solo debido a los efectos tóxicos de la hiperglicemia crónica, sino también al incremento del estrés oxidativo, debido a que podría darse el desarrollo de disfunción endotelial. Es por ello, que el consumo de antioxidantes y un cambio en el estilo de vida ayuda tanto a la mejora de dicho estrés oxidativo como al control de la glicemia (Dasgupta y Klein 2014).

Asimismo, el estrés oxidativo tiene una función importante en el inicio o progreso de complicaciones cardiovasculares (ateroesclerosis y alteraciones en el metabolismo de lípidos) en pacientes con síndrome metabólico. Por ejemplo, los sujetos con bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) muestran un estrés oxidativo elevado y poseen subespecies de partículas HDL con actividad antioxidante intrínseca disminuida, lo cual está íntimamente relacionado con su composición química alterada. Es por todo ello que dada la estrecha relación entre el estrés oxidativo y la incidencia de enfermedad, el control del primero parece ser uno de los pasos cruciales para controlar el progreso de estas

enfermedades o prevenir sus complicaciones (Sarmadi & Ismail 2010, Kontush *et al.* 2005).

Así, los antioxidantes provenientes de la dieta son importantes debido a que captan dichos radicales libres o inhiben/activan ciertas enzimas pro/antioxidativas, respectivamente. La ingesta de éstos se relaciona con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y de ciertos tipos de cáncer. En este sentido, un extenso número de antioxidantes han sido aislados e identificados de fuentes naturales con el objeto de estudiar su efecto *in vivo*. Entre ellos se tienen a la vitamina C y E, polifenoles, flavonoides, carotenoides y selenio, siendo este último además de antioxidante, cofactor de la enzima glutatión peroxidasa (Escudero 2012). El contenido de flavonoides de la quinua y kañihua es excepcionalmente alto, con valores promedio de 59 y 90 mg/100 g, respectivamente; reconociéndose así estos granos andinos como una excelente fuente potencial de compuestos bioactivos (Repo-Carrasco *et al.* 2010). Asimismo, se reportó que la quinua proveniente de Japón presenta una mayor capacidad antioxidante en comparación con las variedades sudamericanas (Hirose *et al.* 2010). La capacidad antioxidante de la quinua se debe principalmente a su contenido de polifenoles totales, los cuales están presentes en mayor concentración en aquellos granos sometidos a una previa cocción, en comparación con los granos tostados y crudos. Además, dichos compuestos bioactivos se encuentran en mayor proporción en las variedades de quinua coloreadas (Bernuy 2018).

Por otro lado, los compuestos antioxidantes derivados de alimentos son de gran interés también por su relación con las propiedades organolépticas alimenticias, debido a que la oxidación lipídica mediada por radicales libres genera sabores rancios, decoloración y compuestos tóxicos indeseables, disminuyendo la calidad y el tiempo de vida útil. Ante esto, la adición de antioxidantes sintéticos en el procesamiento de alimentos es una práctica común para evitar los problemas mencionados; sin embargo, su uso es limitado debido a la carcinogenicidad y los peligros para la salud que podrían ocasionar (García *et al.* 2013, Halim *et al.* 2016). La quinua presenta cantidades importantes de tocoferoles, los cuales se conocen por evitar la rancidez oxidativa de los aceites insaturados (Alvarez-Jubete *et al.* 2009).

2.2.2. Compuestos bioactivos sobre la hipertensión arterial

La hipertensión se define como un aumento persistente de la presión arterial (fuerza ejercida por unidad de área sobre las paredes de las arterias), y para ser considerada como tal, la presión arterial sistólica (PAS) o presión de la sangre durante la fase de contracción del ciclo cardíaco, tiene que ser de 140 mm Hg o superior; y la presión arterial diastólica (PAD) o presión durante la fase de relajación del ciclo cardíaco, tiene que ser de 90 mm Hg o superior. La lectura se expresa como 140/90 mm Hg. El individuo normotenso tiene una PAS inferior a 120 y una PAD inferior a 80 mm Hg, lo que se expresa como 120/80 mm Hg (Couch y Krummel 2008).

Actualmente, la hipertensión arterial afecta aproximadamente a un 25 por ciento de la población adulta en el mundo y se predice que alcanzará al 29 por ciento para el año 2025. A pesar de ser una enfermedad controlable, la hipertensión se asocia con enfermedades, tales como la aterosclerosis, infarto al miocardio y accidentes cerebro vasculares (ACV) (Soares de Castro y Sato 2015). Asimismo, la hipertensión no tratada conduce a enfermedades degenerativas como insuficiencia cardíaca, enfermedad renal en fase terminal y enfermedad vascular periférica. Se le conoce como el asesino silente, debido a que las personas que la padecen pueden permanecer asintomáticas durante años y después sufrir un ataque cardíaco mortal (Couch y Krummel 2008).

La influencia de los factores dietéticos sobre los niveles de presión arterial ha sido reconocida desde hace muchos años. Existe una clara relación entre el consumo de sal, ingesta excesiva de alcohol y sobrepeso con la presión arterial. Por ejemplo, en sociedades donde se añade sal a los alimentos, las presiones son mayores que en las que no lo hacen (a cualquier edad que se considere). Asimismo, se ha observado una relación inversa entre la ingesta de calcio y potasio con los niveles de presión arterial. Se reporta que dos poblaciones con similar ingesta de sodio presentaron diferencias en la presión arterial, siendo menor en aquella donde adicionalmente se consumía una mayor cantidad de potasio (Hernández y Sastre 1999). En relación al sobrepeso, el mismo autor señala que la reducción de éste es la principal medida no farmacológica en el tratamiento del paciente hipertenso.

Los fármacos antihipertensivos actúan a través de mecanismos de acción muy variados, lo que les otorga un perfil de efectos adversos y utilidad terapéutica a cada uno de ellos. En muchas ocasiones se usan de forma combinada, con la finalidad de minimizar las reacciones adversas que puedan aparecer. El tratamiento farmacológico para la hipertensión incluye diuréticos, β -bloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE, por sus siglas en inglés), antagonistas del calcio y bloqueantes de los receptores α . La decisión de iniciar tratamiento farmacológico va a depender siempre de la respuesta a las modificaciones dietéticas (disminución de consumo de sal, aumento del consumo de frutas y verduras) y a los cambios en el estilo de vida (aumento de actividad física), así como de los valores de presión arterial y de la presencia de otras enfermedades (Couch y Krummel 2008, Mestres y Duran 2012).

Los inhibidores de la ACE constituyen una de las primeras opciones para el tratamiento de la hipertensión, debido a su buena tolerabilidad y eficacia, especialmente si existe insuficiencia cardíaca u otros trastornos cardiovasculares. Al inhibir la ACE, se impide la síntesis de angiotensina-II y, por tanto, su acción hipertensiva directa y la secreción de aldosterona. Los fármacos más representativos son enalapril, lisonopril y captopril ((S)-1-(3-mercapto-2-metil-1-oxopropil)-L-prolina), siendo este último el más empleado en el control de la hipertensión. Sin embargo, estos inhibidores sintéticos pueden causar efectos adversos como alergias y angioedemas. Su efecto adverso más relevante es la tos, la cual suele ser muy molesta y resistente al tratamiento farmacológico habitual (Erdmann *et al.* 2008, Halim *et al.* 2016, Mestres y Duran 2012, Mulero *et al.* 2011, Soares de Castro y Sato 2015). Es justamente debido a dichos efectos adversos que se está propiciando la búsqueda de fuentes naturales de inhibidores de la ACE, como pueden ser derivados de proteínas vegetales y animales (Herrera *et al.* 2014).

La ACE (EC 3.4.15.1) es una Zn-metalopeptidasa y pertenece al grupo de proteasas de Zn, necesitando de este metal y cloruro para poder realizar su actividad. Además, actúa como una exopeptidasa que escinde dipéptidos a partir del extremo C-terminal del decapeptido angiotensina-I (Couch y Krummel 2008, Korhonen y Pihlanto 2006). La Figura 1 muestra el mecanismo de acción de la esta enzima.

La ACE se encuentra localizada en múltiples zonas del organismo como pulmón, riñón,

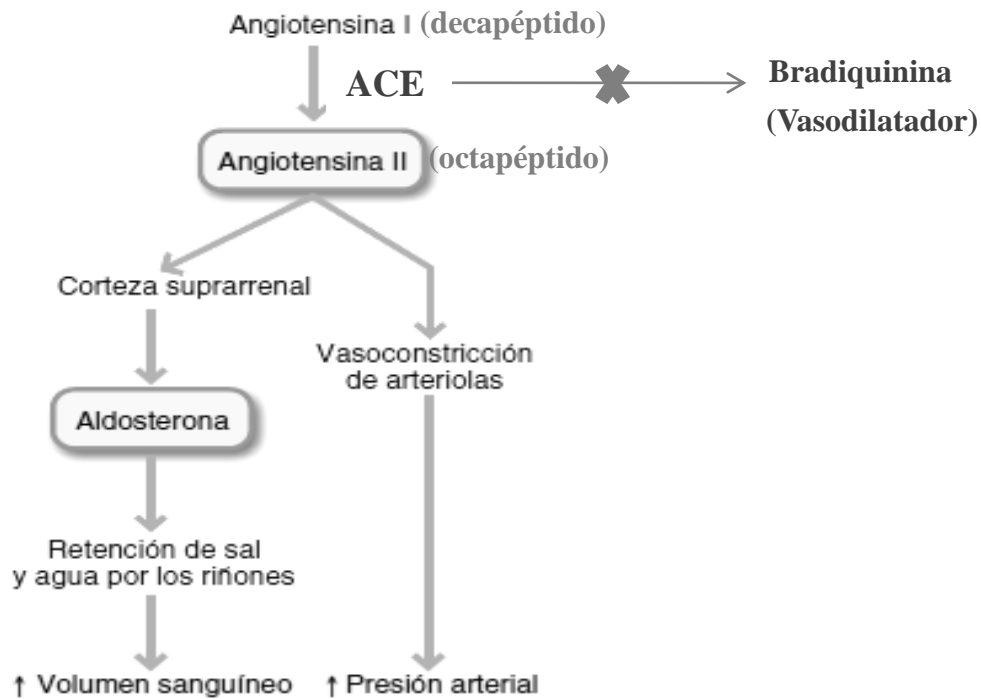


Figura 1: Mecanismo de acción de la enzima convertidora de angiotensina (ACE)

El decapeptido angiotensina-I se hidroliza mediante la ACE, produciendo el potente octapéptido vasoconstrictor angiotensina-II. Además, dicha ACE inactiva la bradiquinina (vasodilatador) originando un incremento de la presión arterial y volumen sanguíneo (por la secreción de aldosterona).

FUENTE: Adaptado de Couch y Krummel 2008

corazón, músculos, páncreas, cerebro, arterias, útero e intestino y, en el ser humano, se aprecian dos isoformas. La primera ha sido denominada ACE somática (sACE), la cual presenta un peso molecular entre 150-180 kDa, con una secuencia de aproximadamente 1277 aminoácidos y se localiza en las zonas antes descritas. La otra isoforma, denominada ACE germinativa o testicular (tACE), es una enzima más pequeña con un peso entre 90-100 kDa y solamente se localiza en células germinativas en el testículo. Su acción está relacionada con la maduración del espermatozoide. El sitio catalítico de la sACE consiste en tres sub sitios, los cuales tienen afinidad con los tres aminoácidos hidrofóbicos de la angiotensina-I, contados desde el extremo C-terminal (Domínguez 2009, Korhonen y Pihlanto 2006, Zhang *et al.* 2009).

Por otro lado, se reporta a los péptidos bioactivos como aquellos alimentos funcionales que poseen mayor relación con la inhibición de la ACE. Los péptidos bioactivos representan un menor costo para el cuidado de la salud, debido a que no presentan los efectos adversos de los inhibidores sintéticos, presentan mayor afinidad por el tejido y están sujetos a una eliminación más lenta que los inhibidores sintéticos, es decir, permanecen durante más tiempo en el organismo. Estas dos últimas características, junto con una posible modificación del péptido en el intestino, parecen ser las razones por las cuales ciertos péptidos muestran poca actividad inhibidora *in vitro*, pero un significativo descenso de la presión sanguínea sistólica *in vivo*. Cabe recordar que los péptidos bioactivos deben ser absorbidos fácilmente por el intestino y además ser resistentes a la degradación por parte de peptidasas plasmáticas para alcanzar los sitios diana y ejercer su efecto antihipertensivo (Du *et al.* 2013, García *et al.* 2013, Korhonen y Pihlanto 2006, Vermeirssen *et al.* 2004).

Sin embargo, algunos de los péptidos que han sido identificados como inhibidores de la ACE presentan poco o ningún efecto en la presión sanguínea de personas normotensas, sugiriendo de esta forma que no ejercen efectos hipotensivos agudos. Así, los péptidos bioactivos inhibidores de la ACE pueden ser aplicados como un tratamiento inicial en individuos con hipertensión leve o como uno complementario. Además, podrían representar un tratamiento alternativo y de bajo costo para la hipertensión (Erdmann *et al.* 2008, García *et al.* 2013).

El mecanismo de inhibición de la ACE que presentan los péptidos de proteínas derivadas de alimentos es de vía competitiva. Sin embargo, algunos pueden inhibir la ACE de forma no competitiva (por ejemplo, LW e IY) y acompetitiva (por ejemplo IW y FY) (Udenigwe y Aluko 2012). En la inhibición competitiva se compete con el sustrato por el centro activo de la enzima. Así, un aumento en la concentración de éste da lugar a una disminución de la capacidad de competencia del inhibidor. Los inhibidores no competitivos y acompetitivos se unen a la enzima en una zona diferente al centro activo, causando su deformación e impidiendo la unión con el sustrato. Estos tipos de inhibición son independientes de la concentración de sustrato (Vioque *et al.* 2000).

Se ha reportado que los péptidos de quinua poseen capacidad antihipertensiva y que ésta es mayor al de la proteína de quinua aislada (Nongonierma *et al.* 2015). Además, existen estudios que indican que los péptidos con actividad inhibitoria de la ACE también

presentan actividad antioxidante en productos fermentados y en péptidos de quinua (Mulero *et al.* 2011, Udenigwe y Aluko 2012). Por otro lado, hay revisiones donde se menciona acerca de la factibilidad de los compuestos fenólicos y flavonoides como inhibidores de metaloproteasas, tales como la ACE, siendo la quinua una fuente potencial de dichos compuestos bioactivos (Agić *et al.* 2018).

2.3. Relación entre hipertensión y estrés oxidativo

El estrés oxidativo está asociado con la patogénesis de hipertensión, siendo la disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico uno de los mecanismos involucrados en dicha patogénesis (Korsager-Larsen y Matchkov 2016). Las enfermedades cardiovasculares, tales como la aterosclerosis e hipertensión tienen como origen una falla en la función del endotelio, debido a que éste es un factor clave para el mantenimiento de una buena salud vascular. El endotelio tiene como rol clave la modulación de la inflamación en el desarrollo de la aterosclerosis (Chakrabarti y Wu 2016). La inflamación y estrés oxidativo están vinculados en un ciclo de auto perpetuación que contribuye de forma significativa a la disfunción vascular y daño renal asociado a hipertensión. Además, se conoce que un incremento en las ROS estimula las vías de señalización proinflamatorias (Small *et al.* 2018). Por otro lado, estudios previos hacen hincapié en que el desbalance redox por la sobreproducción de radicales libres podría estar asociado con la patogénesis de la hipertensión, aunque no es la única causante de la elevación de la presión arterial (Korsager-Larsen y Matchkov 2016).

El endotelio vascular es considerado el órgano endocrino más largo del cuerpo y secreta una variedad de agentes vasoactivos, tales como el óxido nítrico y el vasoconstrictor endotelina I, angiotensina II y tromboxano. El proceso conocido como disfunción endotelial implica una disminución en la disponibilidad de óxido nítrico, la cual es atribuida a las ROS. Estos ROS son causantes de inflamación, hiperactividad del sistema nervioso simpático y disturbios del sistema renina-angiotensina. La disminución de óxido nítrico trae como consecuencia la reducción de su potencial antioxidante, lo que favorece al estrés oxidativo, y a la hipertensión, puesto que el óxido nítrico actúa como vasodilatador (Korsager-Larsen y Matchkov 2016).

Además, la disfunción endotelial está involucrada en el síndrome metabólico y en enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis, hipertensión y falla cardíaca. Se conoce que mecanismos patológicos como el estrés oxidativo y la sobreactividad del sistema renina-angiotensina son mediadores de la disfunción endotelial en general. Por tanto, la función endotelial es un proceso central donde convergen las interacciones entre el estrés oxidativo y la inflamación (Chakrabarti y Wu 2016; Small *et al.* 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución y duración

La investigación se llevó a cabo en las siguientes locaciones:

- Laboratorio de Análisis Biológico Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).
- Laboratorio de Biotecnología Industrial del Instituto de Biotecnología (IBT) de la UNALM.

La parte experimental tuvo una duración de 5 semanas distribuidas de la siguiente manera:

- Fase de crecimiento: Este período tuvo una duración de 2 semanas con la finalidad de homogenizar el peso de los animales. Éstos fueron alimentados con una dieta única: Dieta estándar.
- Fase experimental: En este período se les asignaron los tratamientos a los animales y tuvo una duración de 3 semanas.

3.2. Materia prima e insumos

- Las variedades de quinua: Roja Pasankalla y Negra Collana
- Dieta estándar comercial para ratas elaborada por la Planta piloto de alimentos balanceados de la UNALM, cuya composición se describe en el Anexo 1.

3.3. Animales experimentales

Se utilizaron 30 ratas albinas machos de la raza *Holtzman* con un peso promedio de 180 ± 20 g, procedentes del Laboratorio de Análisis Biológico Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la UNALM (Lima, Perú). Dichos animales fueron distribuidos aleatoriamente

en 5 tratamientos con 6 repeticiones cada uno.

3.4. Materiales, equipos y reactivos

3.4.1. Materiales

- Cánula 17G
- Jaulas individuales con bebedero y bandeja de alimentación.
- Materiales de plástico diversos: Tubos para centrífuga, falcons de 15 mL y 50 mL, tips, jeringas, etc.
- Materiales de vidrio diversos: Beakers, matraces, fiolas, homogenizador, etc.
- Micropipetas (20-200 μ L, 100-1000 μ L y 0.5-5 mL) (Brand, Alemania)
- Tamiz W. S. Tyler Mesh N° 35 (500 μ m)
- Tubos colectores de suero REF 367815 (BD Vacutainer, Becton Dickinson and Company, USA).

3.4.2. Equipos

- Agitador magnético (Cat[®], Modelo M6, Alemania)
- Agitador Vortex (VELP[®] scientific, modelo F202A0175, Alemania)
- Balanza analítica (OHAUS[®], modelo AR2140, USA)
- Balanza digital (Digital[®], modelo BS-3000^a, China)
- Centrífuga (Heltrich[®], modelo Mikro 220 R, Alemania)
- Cocina eléctrica (Ingesa[®], Perú)
- Congelador (Electrolux[®], modelo GLFC1326FW1, Canadá)
- Cromatógrafo UPLC (Waters Associates[®], modelo 2996, USA) con detector de arreglo de diodos (Waters Associates[®], modelo 2996, USA)
- Espectrofotómetro (Thermo Scientific[®], Genesys 10 UV, USA)
- Medidor de nivel de glucosa (ACON[®], modelo On Call[®] Advanced Blood Glucose Monitoring System, USA)
- Medidor de perfil lipídico (ACON[®] modelo Mission[®] Cholesterol Monitoring System, USA)
- Molino (IKA[®], modelo A11 Basic, USA)
- Refrigeradora (LG[®], modelo GR-482BEF, Corea)

3.4.3. Reactivos

- 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) (ABTS) (Sigma Aldrich, USA)
- 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico (Trolox) (Sigma Aldrich, India)
- Captopril (PHR1307, Sigma Aldrich, USA)
- Enzima convertidora de angiotensina (ACE) (EC 3.4.15.1) (1 U/mL) (Sigma Aldrich, USA)
- Etanol absoluto 96% (Sigma Aldrich, USA)
- Folin-Ciocalteu 2N (Merck, Alemania)
- L-N^G-nitroarginina metil éster (Sigma Aldrich, USA)
- Metanol 99.8% (Sigma Aldrich, USA)
- N-Hipuril-histidil-leucina hidratado 98% (Sigma Aldrich, India)

3.5. Métodos de análisis

3.5.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó por el método 930.15 de la AOAC (2007), que se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa de la muestra deseada hasta masa constante en estufa al vacío. Los resultados se expresaron en porcentaje.

3.5.2. Determinación del contenido de proteína total

Para la determinación de proteínas total en el concentrado proteico de quinua se realizó la metodología Kjeldahl, según el método 984.13 (AOAC 1995). El factor de conversión de proteína usado fue 5.85 (Schoenlechner *et al.* 2008).

3.5.3. Determinación de proteína soluble en quinua e hígado de ratas

Las proteínas solubles se determinaron bajo la metodología propuesta por Lowry *et al.* (1951). Este es un método colorimétrico donde las proteínas reaccionan con el reactivo de Folin - Ciocalteu, el cual es reducido por los restos de tirosina y triptófano presentes en un

complejo cuproproteico para dar otro complejo de color azul violáceo, cuya intensidad es proporcional a la concentración de aminoácidos aromáticos presentes y cambiará según la clase de proteínas.

Este análisis se realizó mezclando 400 μL del extracto de quinua con 2 mL de la solución de reacción de Na_2CO_3 al 2 por ciento en 0.1 M de NaOH, $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ al 0.5 por ciento en agua destilada y tartrato de sodio al 1 por ciento en agua destilada, en la proporción 100:1:1. A esta mezcla se le añadió 200 μL del reactivo Folin - Ciocalteu 1N y el conjunto se agitó e incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego, se leyó la absorbancia a 650 nm. Los resultados se determinaron con la ayuda de una curva estándar utilizando una solución de BSA como patrón, en un rango de concentración de 0.5 - 3 mg/mL (Anexo 2) y fueron expresados en mg/mL. El blanco se preparó sustituyendo el extracto de quinua por 400 μL de una solución acuosa de cloruro de sodio al 0.9 por ciento.

Por otro lado, para la medición de proteínas en la muestra de hígado de ratas, se realizó una dilución 1/20 del homogenizado de dicho órgano al 10 por ciento y luego se procedió a realizar el siguiente protocolo de trabajo, tal como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Procedimiento para la determinación de proteína soluble en muestras de hígado

Tubos	Tubo blanco (μL)	Albúmina (μL)	Homogenizado al 10 % (μL)
Agua destilada	40		
Albúmina		40	
Muestra diluida			40
Tampón alcalino	400	400	400
Reactivo cúprico	160	160	160
Mezclar y dejar en reposo 5 minutos			
Reactivo Folin- Ciocalteu	300	300	300

Luego, se dejó en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente y se llevó a leer a 700 nm. La concentración de proteína se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Proteínas} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Estándar de proteína. Abs de la muestra. Factor de dilución}}{\text{Abs del estándar}}$$

3.5.4. Determinación de la actividad antioxidante ABTS

Se utilizó el método reportado por Torruco *et al.* (2009) y Re *et al.* (1999) adaptado para los fines de la presente investigación. Este ensayo se basa en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS⁺, debido a la interacción con especies donantes de electrones o hidrógeno. El radical catiónico ABTS⁺ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del reactivo ABTS con persulfato de potasio (K₂S₂O₈). El ensayo se realizó preparando la solución A: 7 mM de ABTS y la solución B: 25.4 mM de K₂S₂O₈, ambas diluidas en agua desionizada. Estas fueron mezcladas en una proporción de 9:1 y se almacenaron por 12 - 16 horas en oscuridad antes de su uso. Cabe mencionar que dichas condiciones son necesarias para la formación del radical ABTS⁺. A esta solución se le denominó solución madre.

Luego del tiempo transcurrido, se preparó la solución diluida de ABTS⁺ en buffer fosfato salino (PBS), el cual está compuesto por 8.18 g/L de NaCl, 0.27 g/L de KH₂PO₄, 1.42 g/L de Na₂HPO₄, y 0.15 g/L de KCl disueltos en agua desionizada hasta alcanzar un pH de 7.4 (usando NaOH 1M). Luego, la solución diluida de ABTS y el PBS fueron mezclados en una proporción 1:50, respectivamente, hasta alcanzar una absorbancia de 0.70 ± 0.03 a 734 nm. Para la medición de la actividad antioxidante se tomaron 40 µL de extracto de quinua previamente diluida en PBS y se mezcló con 4 mL de la solución diluida de ABTS. Después de una hora de reacción (en oscuridad, debido a la sensibilidad a la luz por parte de los antioxidantes) se determinó la absorbancia a 734 nm. Los resultados se determinaron mediante una curva estándar utilizando una solución de trolox en un rango de concentración de 0.5-2.0 mM (Anexo 3) y fueron expresados en µmol de trolox equivalente (TE)/g de muestra en base seca (b.s). Asimismo, se preparó el blanco usando PBS en reemplazo de la muestra.

3.5.5. Determinación de compuestos fenólicos totales

Se utilizó el método reportado por Singleton y Rossi (1965), el cual se basa en la cuantificación espectrofotométrica del complejo coloreado formado por la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo Folin - Ciocalteu, el cual presenta este color a pH alcalino. Este ensayo se realizó mezclando 500 μL de extracto de muestra de quinua apropiadamente diluida en agua destilada, 250 μL de solución Folin-Ciocalteu (1 N) y 1,250 μL de solución de carbonato de sodio al 7.5 por ciento en agua destilada en un tubo de ensayo. Después de 30 minutos de reacción en oscuridad se leyó la absorción a 755 nm. El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó utilizando una curva estándar de ácido gálico (Anexo 4). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico/ 100 g muestra en b.s. Asimismo, se preparó el blanco usando agua destilada en reemplazo de la muestra.

3.5.6. Determinación de flavonoides

Se utilizó el método propuesto por Chang *et al.* (2002). El método estima la cantidad de flavonoides del tipo flavonoles y flavonas presentes en una muestra. El cloruro de aluminio reacciona y forma complejos estables con el grupo keto C_4 y con los grupos hidroxil que se encuentran en los carbonos C_3 o C_5 de las flavonas y flavonoles. El procedimiento fue el siguiente: Para la determinación del contenido de flavonoides se mezclaron 250 μL del extracto de quinua diluido en una solución acuosa de etanol al 80 por ciento, 750 μL de una solución acuosa de etanol al 96 por ciento, 50 μL de una solución acuosa de cloruro de aluminio al 10 por ciento, 50 μL de acetato de potasio 1M y por último 1,400 μL de agua destilada; el conjunto se homogenizó y se dejó reposar por unos 30 minutos en oscuridad. Luego, se procedió a la lectura de la absorbancia a 415 nm. El contenido de flavonoides se estimó a partir de una curva estándar elaborada con una solución de quercitina como patrón (Anexo 5). Los resultados se expresaron como mg de quercitina/ 100 g muestra en b.s. Asimismo, se preparó un blanco para cada muestra, reemplazando la solución acuosa de cloruro de aluminio al 10 por ciento por agua destilada.

3.5.7. Determinación de la actividad antihipertensiva de la harina de quinua cocida

Se determinó por el método de Wu *et al.* (2002), el cual emplea el compuesto Hipuril-

histidil-leucina (HHL) como sustrato de la ACE, liberándose el dipéptido HL y ácido hipúrico. La cantidad de ácido hipúrico se cuantifica a 228 nm mediante una determinación cuantitativa por UPLC. Este ensayo se realizó preparando 2.17 mM de HHL en buffer borato salino (BBS) 0.2 M (pH 8.3), el cual contiene 300 mM de NaCl. La ACE fue disuelta en 0.5 mL de BBS. La reacción se realizó mezclando en tubos de reacción de 250 μ L, 50 μ L de solución de HHL 2.17 mM, 10 μ L del extracto de quinua (1mg de proteína/mL) y 10 μ L de solución de ACE. Se incubó con agitación durante 30 minutos a 37 °C. La reacción fue detenida con la adición de 80 μ L de HCl 1N. Las muestras fueron comparadas con un control y un blanco. El control consiste en la determinación de la actividad absoluta de ACE sobre el sustrato HHL, que resulta en la formación de ácido hipúrico (HA), para lo cual se reemplazaron los 10 μ L de extracto de quinua por 10 μ L de BBS y la reacción se realizó en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Para la preparación del blanco se usó la ACE previamente inactivada con HCl 1N y se siguió el mismo procedimiento usado para la muestra. Todas las muestras fueron filtradas empleando filtros Millipore® de 0.22 μ M y analizadas mediante UPLC, usando una columna Kinetex C₁₈ en RP. Se inyectaron 10 μ L y la corrida se realizó a 40 °C, a un flujo de 1 mL/min, en un gradiente de solvente A (0.05 por ciento de TFA en agua) y solvente B (0.05 por ciento de TFA en acetonitrilo). El tiempo de corrida fue de 7 minutos.

La actividad inhibitoria ACE fue calculada con la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad inhibitoria ACE (\%)} = \frac{(Ac - As)}{(Ac - Ab)} \times 100$$

Donde:

Ac: concentración de ácido hipúrico (HA) en el control

As: concentración de HA de la muestra

Ab: concentración HA del blanco

3.5.8. Determinación del IC₅₀

Se determinó según lo propuesto por Barbana y Boye (2011). El valor de IC₅₀ se define como la concentración de inhibidor requerida para reducir 50 por ciento de la actividad de la ACE. Se evaluaron concentraciones de extracto de quinua en un rango de 0.1 a 1

mg/mL. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g/mL}$ y se obtienen plotando la inhibición de la ACE (en porcentaje) versus el log de la concentración proteica (mg/mL).

3.5.9. Determinación de la actividad antihipertensiva en riñón y sangre

Se determinó por el método de Wu *et al.* (2002), el cual emplea el compuesto Hipuril-histidil-leucina (HHL) como sustrato de la ACE, liberándose el dipéptido HL y ácido hipúrico. La cantidad de ácido hipúrico se cuantifica a 228 nm mediante una determinación cuantitativa por UPLC. Este ensayo se realizó preparando 2.17 mM de HHL en buffer borato salino (BBS) 0.2 M (pH 8.3), el cual contiene 300 mM de NaCl. La ACE fue disuelta en 0.5 mL de BBS. La reacción se realizó mezclando en tubos de reacción de 250 μL , 50 μL de solución de HHL 2.17 mM y 20 μL de la muestra biológica previamente homogenizada y centrifugada (1 mg de proteína/mL), la cual contiene la ACE de forma natural. Se incubó con agitación durante 30 minutos a 37 °C. La reacción fue detenida con la adición de 80 μL de HCl 1N. Las muestras fueron comparadas con un control y un blanco. El control consiste en la determinación de la actividad absoluta de ACE sobre el sustrato HHL, que resulta en la formación de ácido hipúrico (HA), para lo cual se reemplazaron los 20 μL de muestra biológica previamente homogenizada y centrifugada por 20 μL de ACE y la reacción se realizó en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Para la preparación del blanco se usó la ACE previamente inactivada con HCl 1N y se siguió el mismo procedimiento usado para la muestra. Todas las muestras fueron filtradas empleando filtros Millipore® de 0.22 μM y analizadas mediante UPLC, usando una columna Kinetex C₁₈ en RP. Se inyectaron 10 μL y la corrida se realizó a 40 °C, a un flujo de 1 mL/min, en un gradiente de solvente A (0.05 por ciento de TFA en agua) y solvente B (0.05 por ciento de TFA en acetonitrilo). El tiempo de corrida fue de 7 minutos.

La actividad inhibitoria de la ACE fue calculada con la fórmula descrita en el acápite 3.5.7.

3.5.10. Determinación del perfil lipídico

Se evaluó el nivel sanguíneo de triglicéridos (TG) y lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) mediante la metodología de fotometría de reflexión, a través de kits comerciales de medición, tal como lo propuso Ma *et al.* (2016). La reflectometría está relacionada con la

llamada química seca. Este método analítico mide los cambios en la intensidad de coloración de una tira por reflexión de luz a una determinada longitud de onda. Los detalles del kit comercial empleado se muestran en el Anexo 6.

3.5.11. Determinación de glucosa sanguínea

Se evaluó el nivel de glucosa en sangre a través de kits comerciales de medición, de la misma manera que hicieron Bagul *et al.* (2012). Las tiras de examen para glucosa en sangre usadas en el análisis cuentan con un sistema químico que trabaja conjuntamente con el analizador de glucosa para medir la concentración de dicho azúcar en sangre. Luego de colocar la tira en el analizador, se aplica la muestra de sangre en la tira de examen y, automáticamente, ésta será absorbida dentro de la celda de reacción donde tendrá lugar. Una corriente eléctrica transitoria se forma durante la reacción y la concentración de glucosa en sangre será calculada teniendo como base la corriente eléctrica detectada por el analizador, luego el resultado se mostrará en la pantalla. Cabe mencionar que el medidor está calibrado para mostrar resultados de concentración a base de muestras de plasma. El detalle del kit comercial se muestra en el Anexo 7.

3.5.12. Determinación de la actividad catalasa

El ensayo consiste en la descomposición del H_2O_2 hasta agua, observándose un decrecimiento en la absorbancia a 240 nm. La reacción se realizó en buffer fosfato 50 mM a pH 7.0 y se midió durante 3 minutos. La diferencia de absorbancia por unidad de tiempo es la medida de la actividad de catalasa (Aebi 1984).

Una unidad de catalasa (U) equivale a la cantidad de enzima que cataliza la descomposición de un micromol de peróxido de hidrógeno por minuto, bajo las condiciones de ensayo. Se usó el coeficiente de extinción (ϵ_{240}) = $39.4 M^{-1}.cm^{-1}$.

Para la medición de la actividad catalasa se realizó una dilución 1/1000 del homogenizado de hígado al 10 por ciento. El peróxido de hidrógeno preparado en el mismo buffer de dilución tuvo una concentración de 30 mM y se preparó antes de realizar la prueba para evitar su descomposición. En la cubeta de 1 mL se agregó la muestra diluida en buffer y se puso a baño maría a 30°C. Luego se colocó en el espectrofotómetro y se agregó el

peróxido de hidrógeno en una relación 2:1 (muestra/peróxido) e inmediatamente se procedió a realizar la lectura a 240 nm. La actividad de la catalasa se determinó con la siguiente fórmula:

$$U \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta\text{Absorbancia}/\text{min. volumen total (mL).factor de dilución}}{\varepsilon(\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}).\text{longitud de la cubeta (cm).volumen de muestra (mL)}}$$

Los resultados fueron expresados en U/mg de proteína.

3.5.13. Determinación de la actividad superóxido dismutasa

Este método mide la actividad de la superóxido dismutasa mediante la inhibición de la autooxidación del pirogalol a pH alcalino con formación del radical superóxido, proceso que se mide a 420 nm. Esta reacción sigue una cinética lineal y es inhibida por la enzima superóxido dismutasa (SOD) (Marklund y Marklund 1974). Para la medición de la actividad, se realizó una dilución 1/5 del homogenizado de hígado al 10 por ciento. En la cubeta de 1 mL se colocó 950 μL de buffer tris HCl 0.05 M a pH 8.2 y 50 μL de pirogalol 2 mM, produciéndose un cambio de absorbancia de 0.02 ± 10 por ciento por minuto, leído a 420 nm. Para la lectura de las muestras, se colocó una cantidad de homogenizado al 10 por ciento para que disminuyera el cambio de absorbancia a la mitad. Una unidad SOD es igual al 50 por ciento del cambio de absorbancia del pirogalol por minuto. La actividad de la SOD se determinó con la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad SOD} = \frac{\left(\frac{A_0 - A_t}{50\%} \right)}{A_0} \cdot \frac{\text{Volumen total (mL).factor de dilución}}{\text{Volumen de muestra (mL)}}$$

Los resultados se expresaron en U/mg de proteína.

3.6. Metodología experimental

3.6.1. Obtención de harina cocida de quinua

Las dos variedades de quinua fueron sometidas al proceso mostrado en la Figura 2, siguiéndose la metodología de Dini *et al.* (2010), con ligeras modificaciones, donde se muestra el flujo de operaciones indicando los factores que fueron estudiados.

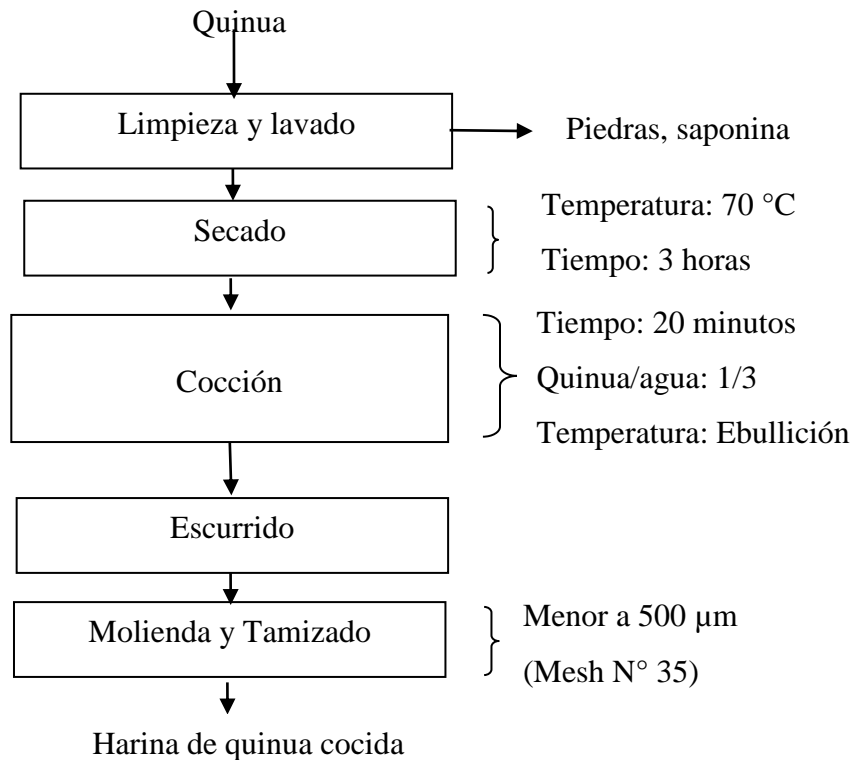


Figura 2: Flujo de operaciones para la obtención de harina de quinua negra y roja cocida

Limpieza y lavado: Se extrajo todo material extraño como hojas, piedras, pajas y saponina.

Secado: Los granos de quinua limpia y lavada se procedieron a secar a una temperatura de 70 °C por un tiempo de 3 horas.

Cocción: La quinua fue cocida por 20 minutos en agua hervida una vez que llegó al punto de ebullición.

Ecurrido: Se procedió a escurrir el agua de cocción de la quinua para su posterior molienda y tamizado.

Molienda y Tamizado: El grano de quinua cocido se molió en un molino de laboratorio.

Luego se procedió a tamizar con la ayuda de un tamiz Tyler N° 35 (500 µm), eliminando las partículas de mayor tamaño.

A la harina de quinua cocida obtenida se le determinó el contenido de humedad y proteína total.

3.6.2. Preparación del extracto metanólico de quinua

Una vez obtenida la harina de quinua cocida de acuerdo al acápite 3.6.1, se procedió a preparar el extracto metanólico para realizar la caracterización fisicoquímica del producto. Para esto se pesó 1 g de harina de quinua cocida, la cual fue mezclada con 22.5 mL de una solución acuosa de metanol al 80 por ciento. La mezcla fue homogenizada durante 1 hora, protegiéndose de la luz. Luego, se centrifugó a 4,000 RPM durante 10 minutos y el sobrenadante fue reservado. La torta obtenida fue sometida a una segunda extracción con 10 mL de una solución acuosa de metanol al 80 por ciento. Dicha mezcla fue homogenizada durante media hora en oscuridad y, transcurrido ese tiempo, se centrifugó a 4,000 RPM durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se mezcló con el anterior y luego se procedió a concentrar el metanol para la obtención final del extracto.

3.6.3. Evaluación *in vitro* de la harina de quinua roja y negra cocida

El extracto final obtenido de acuerdo al acápite 3.6.2 fue analizado para determinar el contenido de proteína soluble, compuestos fenólicos totales, flavonoides, la actividad antioxidante ABTS, la actividad antihipertensiva y el valor IC₅₀.

3.6.4. Evaluación *in vivo* de la harina de quinua roja y negra cocida

Esta parte del trabajo fue realizada utilizando un estudio *in vivo* con animales de laboratorio (modelo rata), donde se respetaron los procedimientos y protocolos de ética, de acuerdo al título IV de la Ley Peruana de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres mantenidos en cautiverio (Ley N° 11794-2000). La investigación comprendió de una fase de crecimiento (2 semanas), seguida de la fase experimental (3 semanas).

En la fase de crecimiento se seleccionaron 30 ratas machos cepa *Holtzman* provenientes del Bioterio de la Facultad de Zootecnia de la UNALM, tratando que la selección implique que los animales presenten homogeneidad tanto en peso, tamaño y salud. Durante esta fase,

cada una de las ratas fue ubicada en una jaula individual, alimentadas con la dieta estándar (DE) y agua *ad libitum*, con ciclo luz día de 12 horas y temperatura de 22-26°C durante dos semanas para su adaptación a dicho ambiente. Luego de las dos semanas, los animales alcanzaron un peso de 180 ± 20 g.

Posteriormente, durante la fase experimental, las ratas de todos los tratamientos, excepto el control, fueron inducidas a hipertensión y recibieron durante 21 días la DE con o sin inclusión de dos variedades de harina de quinua cocida al 30 por ciento. El Cuadro 2 muestra la composición de las diferentes dietas y, además, tal como sucedió en la fase de crecimiento, tanto las dietas como el agua fueron suministrados de forma *ad libitum*, siendo renovados diariamente durante todo el experimento.

Cuadro 2: Composición porcentual y valor nutricional calculado de la dieta para ratas

Ingredientes	Alimento comercial para rata (%)	Quinua (%) (Arzapalo <i>et al.</i> 2015)	
Proteína	20	12.5	
Fibra	3.47	4.13	
Grasa	7.48	6.1	
Fórmula	70%	30%	Mezcla final (%)
Proteína	14.00	3.75	17.75
Fibra	2.43	1.239	3.669
Grasa	5.24	1.83	7.07

Por otro lado, para la inducción a hipertensión, las ratas seleccionadas fueron distribuidas en cinco grupos, considerando seis animales por tratamiento. El primer grupo fue el control, el cual recibió 1 mL de solución salina (SS) al 0.9 por ciento de NaCl. A los demás grupos se les indujo a hipertensión con L-N^G-nitroarginina metil éster (L-NAME), administrando 40 mg L-NAME/kg peso en 1 mL de SS vía oral por medio de una cánula 17G. Luego de dos horas, al grupo L-NAME + captopril se le administró una solución de

captopril a una dosis de 10 mg/kg de peso corporal en 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl, mientras que a los grupos restantes se le suministró 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl, tal como se observa en el Cuadro 3, tomando como referencia los estudios de Hayes *et al.* (2016), García *et al.* (2014), Lin *et al.* (2011), Huang *et al.* (2011), Metchi *et al.* (2013) y Ahrén *et al.* (2014).

Cuadro 3: Descripción de los tratamientos suministrados a los animales

Tratamiento	Descripción
	1 mL de solución salina (SS) al 0.9 por ciento de NaCl
Control	Luego de dos horas : 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl
	Alimentación : DE
L-NAME	Agente inductor : Solución de 40 mg L-NAME/kg peso en 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl
	Luego de dos horas : 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl
	Alimentación : DE
L-NAME +	Agente inductor : Solución de 40 mg L-NAME/kg peso en 1 mL de SS
Captopril	Luego de dos horas : Solución de 10 mg/kg de peso corporal en 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl
	Alimentación : DE
L-NAME +	Agente inductor : Solución de 40 mg L-NAME/kg peso en 1 mL de SS
Quinoa roja	Luego de dos horas : 1 mL de SS al 0.9 por ciento de NaCl
L-NAME +	Alimentación : Harina de quinoa cocida al 30 %
Quinoa negra	

Terminada la fase experimental, las ratas en un estado de ayuno de 12 horas fueron anestesiadas usando ketamina (60 mg/kg peso) y xilacina (15 mg/kg peso), cuyo procedimiento fue realizado por un médico veterinario hasta la sedación completa del

animal. Una vez anestesiadas, se procedió a determinar el perfil lipídico y los niveles de glucosa, tal como se menciona en los acápites 3.5.10 y 3.5.11, respectivamente.

a. Procesamiento para la obtención de muestra biológica

Los animales previamente anestesiados fueron sacrificados mediante el método de punción cardiaca empleando Halatal, cuyas dosis usadas estuvieron en relación con el pesocorporal, de acuerdo a las normas éticas para experimentación animal. Dicho procedimiento fue realizado por un médico veterinario. Durante la punción cardiaca, se colectaron muestras de sangre del corazón, las cuales fueron empleadas en el análisis de la actividad antihipertensiva, tal como se indica en el acápite 3.5.9.

Luego de constatarse la muerte del animal, se procedió a abrir el abdomen con la finalidad de remover el hígado y riñones. Dichos órganos fueron lavados con suero fisiológico y secados sobre papel secante para proceder a realizar el pesado. Una vez obtenido el peso de los órganos, se procedió a la homogenización de éstos. Se separó 1 g de hígado, el cual fue lavado con suero fisiológico y llevado al homogeneizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem con émbolo de teflón. Se preparó un homogeneizado al 10 por ciento en buffer fosfato de sodio 50 mmol/L a pH 7.4. Cabe mencionar que todo este procedimiento se trabajó en baño de hielo a 4 °C. Posteriormente, se centrifugó a 2,500 RPM por 15 minutos a 4°C y se reservó el sobrenadante para los análisis de proteína soluble y actividad antioxidante, tal como se indica en los acápites 3.5.3, 3.5.12 y 3.5.13, respectivamente. Asimismo, se trabajó del mismo modo con las muestras de riñón para el análisis de la actividad antihipertensiva, tal como se indica en el acápite 3.5.9.

3.7. Diseño experimental

El diseño experimental que se siguió durante toda la etapa experimental de esta investigación se muestra en la Figura 3.

3.8. Análisis estadístico

Los datos de perfil lipídico, niveles de glucosa, capacidad antioxidante *in vitro*, actividad de las enzimas SOD y catalasa, capacidad antihipertensiva *in vitro* e *in vivo*, contenido de

Etapas	Materia Prima	Prueba <i>in vivo</i>	
		Bioactividad antioxidante, Antihipertensiva, hipolipemiante e hipoglucemiante	
Tratamientos	Harina de quinua cocida	<ul style="list-style-type: none"> - T1: Control negativo (Dieta Estándar) - T2: Dieta Estándar + L-NAME + quinua roja - T3: Dieta Estándar + L-NAME + quinua negra - T4: Dieta Estándar + L-NAME + captopril - T5: Control positivo (Dieta Estándar + L-NAME) 	
Variables respuesta	<ul style="list-style-type: none"> - Humedad - Proteína total - Inhibición de la ACE - Determinación de compuestos fenólicos - Determinación de flavonoides 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibición de la ACE en sangre y riñón - Perfil lipídico sanguíneo - Nivel de glucosa sanguíneo 	<ul style="list-style-type: none"> - Actividad de la SOD - Actividad de la catalasa

Figura 3: Diseño experimental para la bioactividad antioxidante y antihipertensiva en dos variedades de harina de quinua cocida

compuestos fenólicos y flavonoides fueron analizados bajo el diseño completamente al azar. Además, se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias mediante Duncan, a un nivel de significancia del 5 por ciento usando el software estadístico Statgraphics Centurión XVI versión 16.02.04.

$$Y_{ij} = \mu + D_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Valor estadístico de cada observación en cada unidad experimental.

μ = Media general.

D_i = Efecto del tratamiento D (Dieta).

$(\varepsilon)_{ij}$ = Efecto aleatorio o error en la obtención de Y_{ij}

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización y bioactividad de la harina de quinua cocida

La presente investigación partió de granos de quinua roja (QR) y negra (QN), de los cuales se obtuvo harina de quinua cocida, tal como se menciona en el acápite 3.6.1. El contenido proteico total de ambas harinas fue de 14.16 y 14.92 por ciento en base seca (b.s.) para QR y QN, respectivamente (usándose un factor de conversión de 5.85). Ambos valores son mayores a los obtenidos por Pellegrini *et al.* (2018), quienes reportaron un contenido proteico de 12.52 y 12.44 por ciento para QR y QN, respectivamente. Sin embargo, Repo-Carrasco *et al.* (2011) obtuvieron valores ligeramente más altos cuando evaluaron quinua blanca. Por su parte, Campos *et al.* (2018) mencionan en su revisión que el contenido proteico encontrado en quinua procedente de los Andes varía en un rango entre 11.1 y 16.2 por ciento. Cabe mencionar que dichos valores fueron reportados en el grano de quinua crudo; sin embargo, cuando éstos son lavados, el contenido proteico disminuye (Fischer *et al.* 2017). Pese a ello, los valores de la presente investigación son mayores a los reportados en maíz amarillo (9.42 por ciento), arroz crudo (6.61 por ciento) y trigo (11.31 por ciento) (Campos *et al.* 2018). En lo que respecta a la digestibilidad de la proteína de quinua, Graf *et al.* (2015) mencionan en su revisión que ésta es de 91.6 por ciento en el grano crudo; sin embargo, la cocción incrementa este parámetro, llegando a un valor de 95.3 por ciento. La alta digestibilidad de la proteína de quinua se debe en parte a su bajo contenido de inhibidores de tripsina, los cuales están involucrados en la reducción de la digestión enzimática proteica además de su absorción.

Las proteínas de quinua corresponden mayormente a albúminas y globulinas (44 - 77 por ciento de la proteína total), una pequeña fracción de prolaminas (0.5 - 7 por ciento) y, es considerada libre de gluten justamente por su escaso contenido de prolaminas (Valencia-Chamorro 2016). Este cereal andino presenta un buen balance aminoacídico y es rico en aminoácidos azufrados y lisina, contrariamente a las leguminosas y cereales, respectivamente (Varli y Sanlier 2016).

El Cuadro 4 reporta la capacidad antioxidante (CAO) y antihipertensiva, medida como la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), de la harina de QR y QN cocida (Anexo 8). Se aprecia que tanto la CAO total como la específica en proteína son mayores en la QN que en la QR, presentándose diferencia significativa solo para la CAO total, mas no para la específica.

Cuadro 4: Características de la harina de quinua roja y negra cocida

Parámetros	Quinua roja	Quinua negra
Capacidad antioxidante total (µmol TE/g muestra)*	21.10 ^b ± 0.24	24.96 ^a ± 0.92
Capacidad antioxidante específica (µmol TE/g proteína)*	3,075.74 ^a ± 124.53	3,283.67 ^a ± 101.95
Inhibición de la ACE (%)**	15.99 ^b ± 0.36	17.94 ^a ± 0.89
Valor IC ₅₀ (mg/mL)	0.3796	0.2924

*promedio de tres repeticiones ± DS

**A una concentración proteica de 1 mg/mL

Los valores medios con letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencia significativa (p < 0.05).

Pellegrini *et al.* (2018) mencionan que la CAO de la quinua cruda se atribuye en su mayoría a los compuestos fenólicos (CF) y flavonoides presentes en el grano, por lo que reportaron mayores valores ABTS en QR y QN con 31.00 y 22.85 µmol TE/g en b.s, respectivamente. Dichos valores se encuentran muy cercanos a los reportados en la presente investigación. Por su parte, Ayyash *et al.* (2018) encontraron valores de CAO en quinua casi 50 por ciento menores que los reportados en el Cuadro 4; sin embargo, éstos fueron mayores a los hallados en lupino y trigo. Respecto a la QR, se menciona que su CAO podría ser atribuida su contenido de betalaínas, tal como reportaron Escribano *et al.* (2017) en 29 variedades de quinua peruana.

Los resultados expresados en el Cuadro 4 fueron obtenidos luego de cocinar la quinua, lo que involucró una exposición al calor; al respecto, Repo-Carrasco *et al.* (2011) mencionan que los valores de CAO de la quinua incrementan luego de someter los granos a un proceso

de exposición térmica, tal como la extrusión. Por su parte, Nickel *et al.* (2016) y Teixeira-Guedes *et al.* (2019) obtuvieron mayores valores tanto de CAO como de CF luego de lavar y cocinar los granos de quinua y semillas de frejol, respectivamente. Dicho incremento se dio especialmente bajo presión; sin embargo, también se obtuvo esta tendencia luego de una cocción a presión atmosférica. Bernuy (2018) reportó que la CAO de la quinua es mayor en aquellos granos sometidos a una previa cocción, en comparación con los granos tostados y crudos. Asimismo, Sanchiz *et al.* (2019) reportaron la misma tendencia al someter la harina de diversos frutos secos, tales como cashews y castañas a tratamientos combinados de calor y presión. Además, dichos compuestos bioactivos se encuentran en mayor proporción en las variedades de quinua coloreadas (Bernuy 2018). Puesto que la CAO está relacionada al contenido de CF y flavonoides, la Figura 4 muestra el contenido de éstos obtenido en la harina de QR y QN cocida (Anexo 9).

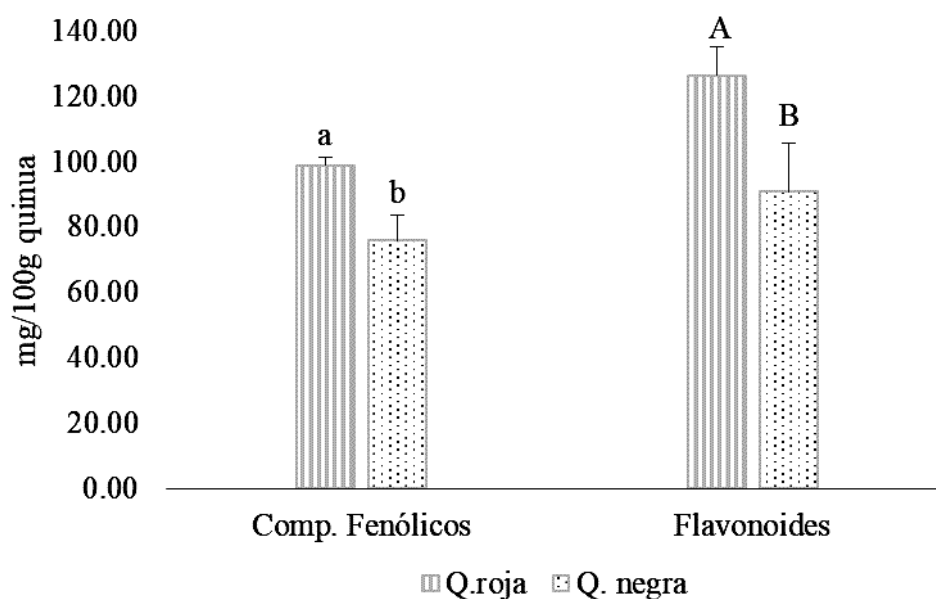


Figura 4: Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en harina de quinua roja y negra cocida

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Contrariamente a lo reportado para la CAO, tanto la mayor cantidad de CF como la de flavonoides fueron atribuidas a la QR (99.02 ± 2.50 mg ácido gálico/100 g en b.s. y 126.49 ± 8.89 mg quercitina/100 g en b.s., respectivamente), superando dichos valores de forma significativa a aquellos obtenidos en la QN (76.02 ± 7.84 mg ácido gálico/100 g en b.s y 90.92 ± 14.79 mg quercitina/100 g en b.s, respectivamente). Esta tendencia coincide con lo

mencionado por Pellegrini *et al.* (2018), quienes encontraron valores más altos en la QR en comparación con QN y quinua blanca, esta diferencia de valores de CF entre las investigaciones puede deberse al tipo de procedimiento de extracción y también a la reactividad del Folin-Ciocalteu (reactivo usado en la determinación de CF) con algunos compuestos no fenólicos, tales como vitaminas, aminoácidos y proteínas.

Asimismo, Pellegrini *et al.* (2018) reportaron un mayor contenido de flavonoides que de CF en la quinua, tal como se reporta en la Figura 4 para los resultados de la presente investigación. Dentro de los CF reportados en QR y QN se pueden mencionar en orden descendente al 4-hidroxibenzoico, ácido gálico y quercitina (el cual es el flavonoide con la CAO más potente). Por su parte, Hirose *et al.* (2010) mencionan que el contenido de quercitina (aglicón) en la quinua procedente de Japón es mayor que el de los granos de Sudamérica, lo que justificaría que los primeros presenten una mayor bioactividad, debido a que ésta es atribuida a las estructuras de aglicón y no a los residuos de azúcar. Sin embargo, la cantidad de quercitina de ambas regiones supera a la reportada en otros cereales, tales como el trigo. Además, dichos autores encontraron que los granos de quinua de Sudamérica poseen mayor contenido de kaempferol, el cual es otro tipo de flavonoide, en comparación a la quinua de Japón. De acuerdo a la revisión de Campos *et al.* (2018), el contenido de ácidos fenólicos (un tipo de CF) de la quinua es similar al de la avena, cebada, maíz y arroz; sin embargo, es menor en comparación a otros cereales como el trigo y centeno.

Por otro lado, de acuerdo a lo reportado por Repo-Carrasco *et al.* (2011), el incremento de la CAO de la quinua luego de una extrusión se debe a la liberación de los CF solubles. Al respecto, Nickel *et al.* (2016) mencionan que la mayoría de CF son liberados en el agua de cocción, por lo que es recomendable cocinar la quinua con la cantidad necesaria de agua para así disminuir la pérdida de dichos compuestos bioactivos. Al respecto, Teixeira-Guedes *et al.* (2019) indican que al drenar el agua de cocción se disminuye la cantidad de ácidos fenólicos, flavonoides y CAO en soya y frijol. Estos autores también mencionan que la cocción aumenta la accesibilidad del compuesto bioactivo, debido a que se facilita su liberación. El incremento de los CF luego de un proceso térmico también fue observado en otros productos, tales como las hojas de papa luego de ser sometidas a hervido.

Los CF encontrados en la quinua son hidrosolubles, bajo la forma libre en su mayoría. Sin

embargo, algunos estudios reportaron CF ligados, especialmente en quinuas coloreadas (Gammoh *et al.* 2018 y Abderrahim *et al.* 2015). Asimismo, la investigación de Rocchetti *et al.* (2019) hizo hincapié en que la fermentación incrementa el contenido de CF y flavonoides de forma más significativa en aquellos granos de quinua previamente cocidos, acotando que se favorece la liberación de ácidos fenólicos y tirosoles. Respecto a los flavonoides presentes en la quinua, se reportó que la cantidad de éstos tiende a incrementar cuando el grano germina; sin embargo, se da una disminución significativa cuando se emplea la quinua en la elaboración de pan (Álvarez-Jubete y Wijngaard *et al.* 2010, mencionados por Campos *et al.* 2018). Así, tanto el contenido de CF como el de flavonoides son influenciados por el tipo de proceso al que es sometida la matriz alimentaria.

De acuerdo a los resultados reportados en la presente investigación, se aprecia una correlación negativa entre la CAO y el contenido de CF (y flavonoides) en QR y QN (Anexo 10 y Anexo 11), lo cual concuerda con lo mencionado por Orsavová *et al.* (2019) y Chirinos *et al.* (2010), quienes atribuyen la CAO de sus respectivas materias primas estudiadas a otros componentes además de los CF y flavonoides, tales como ciertas vitaminas. Además, Gammoh *et al.* (2018) evaluaron que al remover los CF de las fracciones proteicas del trigo aún se reportaba CAO y otras bioactividades de forma significativa, lo que lleva a pensar que existen otros compuestos importantes involucrados en éstas.

Sin embargo, al evaluar la correlación entre el contenido proteico y la CAO total, se pudo apreciar un coeficiente de Pearson de 87.8 por ciento, lo que indica un alto grado de asociación entre ambas variables (Anexo 12). Es por ello que en el Cuadro 4 también se reporta la CAO específica, donde se aprecia un mayor valor en la QN con $3,283.67 \pm 101.95 \mu\text{mol TE/g proteína}$ que en la QR ($3,075.74 \pm 124.53 \mu\text{mol TE/g proteína}$). Al respecto de la bioactividad de las proteínas, se menciona que éstas por sí solas, en su forma nativa, presentan CAO debido a que inactivan las especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), atrapan radicales libres y quelan metales de oxidación prooxidativos. Esto debido a la presencia y secuencia de aminoácidos específicos que presentan dicha propiedad, reportando como ejemplos a las proteínas caseína, β -lactoglobulina y lactoferrina; sin embargo, a raíz del alto peso molecular que las proteínas presentan, no pueden atravesar la membrana celular, siendo incapaces de actuar biológicamente, por lo

que tienen que pasar por un proceso de hidrólisis, ya sea de forma natural mediante digestión gastrointestinal, a través de enzimas de grado alimentario (Samaranayaka & Li-Chan 2011) o mediante fermentación, tal como reportaron Ayyash *et al.* (2018), quienes lograron incrementar la CAO de la quinua en un 80 por ciento, debido a la liberación de péptidos bioactivos.

Respecto a la liberación de péptidos bioactivos, Bax *et al.* (2013) encontraron que las temperaturas de cocción alrededor de 70 °C permiten que la desnaturalización conlleve a cambios conformacionales en la proteína, favoreciendo de esta manera la accesibilidad de las proteasas digestivas a sus sitios activos. Así, se vio incrementada la liberación de péptidos y aminoácidos al plasma. En la presente investigación se usó como materia prima harina de quinua cocida, por lo que se presume que se dio la liberación de ciertos péptidos bioactivos durante la cocción. Esto será corroborado posteriormente en la discusión del análisis *in vivo*. Asimismo, Hernández-Ledesma *et al.* (2011) mencionan que temperaturas de proceso muy elevadas y la deshidratación podrían afectar de forma negativa la bioactividad de los péptidos liberados. Sin embargo, reconocen a la encapsulación como una tecnología apropiada en aras de mejorar la estabilidad de dichos compuestos bioactivos dentro de sus matrices alimentarias. Por otro lado, Tang *et al.* (2015) hacen mención en su investigación que además de los CF, flavonoides y péptidos bioactivos, otros componentes de la quinua relacionados con la CAO pueden ser los carotenoides, junto con tocoferoles y tocotrienoles detectados en variedades QN y QR, los cuales presentaron una alta correlación con la CAO lipofílica *in vitro*.

En lo que respecta a la actividad antihipertensiva, también reportada en el Cuadro 4, se aprecia que la QN es la que presenta significativamente un mayor porcentaje de inhibición de la ACE frente a la QR, con un valor de 17.94 ± 0.89 por ciento. La ACE conduce a un aumento de la presión sanguínea a través de la producción del péptido vasoconstrictor angiotensina II y por la degradación del péptido vasodilatador bradiquinina. Por lo tanto, se utilizan a los inhibidores de la ACE como agentes terapéuticos contra la hipertensión. Por un lado, se sabe que los péptidos derivados de proteínas de los alimentos presentan actividad inhibidora de la ACE y se considera que son más seguros en comparación a las drogas sintéticas (Hartman y Meisel 2007). Por otro lado, Zouari *et al.* (2011) mencionan que los flavonoides inhiben a la ACE por competencia con el sustrato por el sitio activo de la enzima y, también, que el efecto inhibitorio de este compuesto bioactivo se debe a la

formación de quelatos complejos con el átomo de zinc dentro del sitio activo de la ACE, la cual es una metalopeptidasa dependiente de este mineral. Por su parte, Gomes *et al.* (2016) reportan que la quinua presenta mayor inhibición de la ACE que la kiwicha, el trigo sarraceno y diversos cereales.

Asimismo, otro valor asociado con la capacidad antihipertensiva es el valor IC_{50} , el cual se define como la concentración de péptido (mg/mL) requerida para producir una inhibición del 50 por ciento de la ACE. Este valor se determina mediante un análisis de regresión de la inhibición de la ACE (%) frente al log de la concentración de péptidos. Los valores IC_{50} tanto de QR como de QN del presente trabajo son de 0.3796 y 0.2924 mg/mL, respectivamente (Anexo 13), observándose que se requiere menor concentración de QN para llevarse a cabo una inhibición del 50 por ciento de la ACE. Es decir, la acción de la QN es más potente que la QR. Sin embargo, ambos valores son menores a los reportados por Nongonierma *et al.* (2015), quienes obtuvieron 0.88 mg/mL (en proteína de quinua hidrolizada con papaína). Esto indica que tanto la QN como la QR del presente trabajo tienen un mayor efecto en la capacidad de inhibir la ACE. Se puede considerar una potente actividad de inhibición de la ACE con valores menores a 0.2 mg/mL (Nongonierma *et al.* 2015), los cuales son cercanos a los obtenidos en la presente investigación. Asimismo, Hong *et al.* (2005) mencionados por Ruiz *et al.* (2011), reportan valores de IC_{50} entre 0.200-0.246 mg/mL para hidrolizados provenientes de diferentes fuentes proteicas.

Además, cabe resaltar que tanto los CF y flavonoides como las proteínas/péptidos presentes en diferentes matrices alimentarias tienen efectos sobre la salud, ayudando a prevenir enfermedades degenerativas tales como la enfermedad coronaria, aterosclerosis y diabetes a través de la acción antioxidante, la modulación de una gran cantidad de funciones proteicas y la inhibición de la ACE (Hirose *et al.* 2010). Es más, se dice que posiblemente los constituyentes individuales de la quinua interactúan entre ellos e incrementan la bioactividad del grano mediante un efecto sinérgico potenciador (Schmidt *et al.* 2008), por lo que resulta más conveniente investigar los efectos del grano entero que los de sus constituyentes individuales. Tal es el caso de la CAO específica en proteína, donde se apreció que, a pesar de que la QN presentó mayores valores, no se obtuvo diferencia significativa; sin embargo, al evaluar la CAO total de la harina de quinua (aquella donde quizá actúen los CF y flavonoides, además de los péptidos liberados

durante la digestión gastrointestinal) se confirmó que la QN es la que presenta un mayor valor de forma significativa en comparación con la QR.

Por lo tanto, a un nivel *in vitro*, es la QN la que presenta mejor CAO y capacidad antihipertensiva, estando ambas variables altamente correlacionadas (Anexo 14). Mine *et al.* (2010) mencionaron que, contrariamente a lo que sucede con otros compuestos antioxidantes (vitaminas, carotenoides, flavonoides, etc.), los péptidos que presentan dicha capacidad no son capaces de solo estabilizar radicales libres, sino que también tienden a ser multifuncionales, pudiendo ser antihipertensivos y antiinflamatorios. Por ejemplo, Bernuy (2018) reportó que además de presentar CAO, la quinua también contribuye a reducir la inflamación en el intestino delgado, la cual fue generada por un prolongado consumo de dieta alta en grasa en ratas obesas. Por su parte, Power *et al.* (2014), encontraron péptidos de trigo que presentaban tanto CAO como antihipertensiva; al igual que Nongonierma *et al.* (2015), quienes reportaron que los péptidos de quinua presentan ambas propiedades.

Asimismo, González-García *et al.* (2015) y He *et al.* (2013), citados por Wu *et al.* (2016) mencionan que los péptidos que presentan tanto CAO como antihipertensiva están compuestos por aminoácidos hidrofóbicos y aromáticos. Por su parte, Agyei *et al.* (2016) indican que son los grupos sulfhidriilo hidrofóbicos los que imparten propiedades antioxidantes a los péptidos. Por ejemplo, You *et al.* (2010) reportaron una alta CAO en la secuencia peptídica hidrofóbica prolina (P)-serina (S)-tirosina (Y)-valina (V) y Nongonierma *et al.* (2015) atribuyeron la CAO de los péptidos de quinua a residuos hidrófobos como P, Y, histidina y triptófano o a residuos sulfurados (cisteína y metionina). Cabe mencionar que según lo reportado por Repo-Carrasco (1992) y Gross *et al.* (1989), la quinua es rica tanto en aminoácidos aromáticos (F e Y) como en aminoácidos hidrofóbicos, por ejemplo: I, V y L.

Por otro lado, Vermeirssen *et al.* (2004) mencionan que la hidrofobicidad del péptido es importante para poder ser inhibidores de la ACE, debido a que presentan gran afinidad por los sitios activos de esta enzima, a diferencia de los péptidos hidrofílicos. Esto último es respaldado por Connolly *et al.* (2014), quienes indican que los péptidos de carácter hidrofóbico presentan mejores probabilidades de inhibir dicha enzima. Sin embargo,

Marco (2013) indica que la arginina, la cual es un aminoácido hidrofílico, es considerada como cardioprotector, debido a que previene eventos de hipertensión arterial.

Posteriormente de la caracterización de la materia prima usada en la presente investigación, tanto la harina de QR y QN cocida fueron empleadas en la realización de la prueba biológica en ratas *Holtzman* inducidas a hipertensión, con la finalidad de evaluar la bioactividad de dicho grano andino sobre el perfil lipídico, estrés oxidativo, niveles de glucosa e hipertensión arterial.

4.2. Ensayos biológicos en ratas inducidas a hipertensión

4.2.1. Efecto de la harina de quinua cocida sobre el perfil lipídico y estrés oxidativo

La Figura 5 muestra los niveles de triglicéridos (TG) y lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) reportados en los animales de experimentación luego de la administración de los tratamientos (Anexo 15).

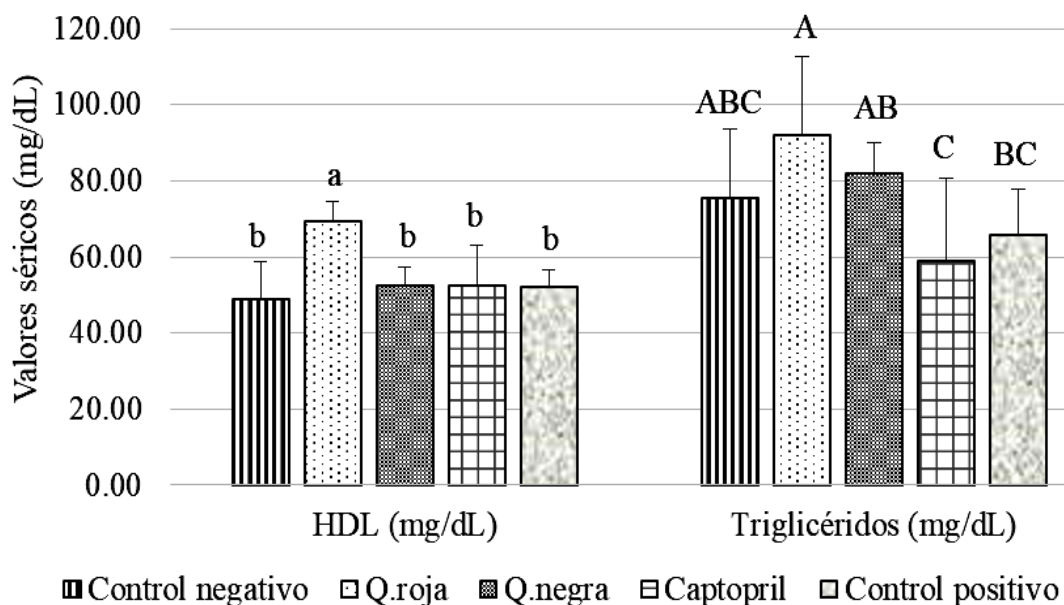


Figura 5: Perfil lipídico en ratas tras la administración de los tratamientos

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

De acuerdo a lo reportado en la Figura 5 no se observó que el consumo de quinua influya de forma significativa en la reducción de TG séricos. Al contrario, se pudo apreciar un

aumento de 22.35 y 8.85 por ciento de dicho parámetro (respecto al control negativo), luego del consumo de QR y QN, respectivamente. De todos los tratamientos, fue la dieta con inclusión de QR la que presentó un mayor valor de TG, llegando a 92.17 ± 20.33 mg/dL, mientras que el valor más bajo se obtuvo en el tratamiento donde se incluyó el fármaco antihipertensivo captopril (58.83 ± 21.89 mg/dL), viéndose una posible relación entre el tratamiento antihipertensivo y la disminución de TG, tal como se discutirá más adelante. Sin embargo, a pesar de que la QR incrementó los valores séricos de TG, no llega a superar los valores límite para ratas, el cual es de 60.4–92.7 mg/dL, de acuerdo a lo reportado por Ihedioha *et al.* (2011) para ratas Wistar.

Por su parte, Takao *et al.* (2005) y Escudero *et al.* (2006) reportaron una mejora sobre la concentración de TG en sangre luego del consumo de un aislado proteico y semillas de amaranto, respectivamente. Además, Paško *et al.* (2010) indicaron que mediante el consumo de quinua se logró una disminución del 11 por ciento de los TG totales en ratas alimentadas con fructosa; sin embargo, estos resultados no fueron significativos en su estudio. Resulta importante encontrar la manera de controlar el perfil lipídico durante la hipertensión arterial, puesto que Chaudhari & Patil (2019) indican que en este estado predomina la probabilidad de incrementar los niveles de TG séricos, además de la circunferencia de cintura y los niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c), la cual es un indicador de diabetes.

Por otro lado, el consumo de QR incrementó de forma significativa los niveles de HDL-c en un 42.32 por ciento, respecto al control negativo. Paško *et al.* (2010) encontraron en su investigación que mediante el consumo de quinua se inhibió la disminución de HDL-c que inicialmente provocó una dieta alta en fructosa. Por otro lado, la investigación de Takao *et al.* (2005) dio a conocer que la quinua producía una disminución de los valores HDL-c séricos, resultado opuesto a lo reportado en el presente trabajo. Escudero *et al.* (2006) indicaron que el consumo de semillas de amaranto incrementó los niveles séricos de HDL-c en ratas, tal como se reportó con el consumo de QR de la presente investigación. Todos los valores de HDL-c obtenidos en la Figura 5 se encuentran dentro del rango normal de 45.5 a 56.9 mg/dL, de acuerdo con Ihedioha *et al.* (2011), a excepción de aquellas ratas alimentadas con QR, quienes reportaron una concentración sérica de 69.50 ± 5.17 mg/dL. Graf *et al.* (2015) mencionan en su revisión que la quinua posee 10 por ciento de fibra dietaria, la cual promueve la sensación de saciedad y reduce la absorción de colesterol y

otros lípidos. Además, existen estudios epidemiológicos que encontraron una relación inversa entre el consumo de fibra dietaria y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y obesidad. Otro compuesto que llama la atención en la quinua es el fitoesterol, el cual está involucrado en la disminución de los niveles de colesterol sérico mediante la competencia con éste por la absorción intestinal, además de disminuir la producción de lipoproteínas aterogénicas en el hígado e intestino y su efecto antioxidante (Marangoni y Poli 2010, Ho y Pal 2005, Ryan *et al.* 2007).

Por su parte, Touyz (2004), indicó que la hipertensión está relacionada con un incremento en el estrés oxidativo. Dicho autor reportó un incremento en la concentración del anión superóxido y del peróxido de hidrógeno, así como una disminución en la síntesis de óxido nítrico y una menor biodisponibilidad de antioxidantes endógenos en personas hipertensas. Es así que en el Cuadro 5 se muestra la actividad de diversos sistemas antioxidantes, luego de la administración de los tratamientos en ratas inducidas a hipertensión arterial (Anexo 16).

Cuadro 5: Actividad antioxidante en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Grupo	Superóxido dismutasa (U/mg proteína)	Catalasa (U/mg proteína)
Control negativo	19.02 ^b ± 1.37	0.52 ^b ± 0.20
Quinua roja	32.92 ^a ± 6.21	0.89 ^{ab} ± 0.15
Quinua negra	32.73 ^a ± 9.46	1.03 ^a ± 0.32
Captopril	21.36 ^b ± 2.85	0.66 ^b ± 0.08
Control positivo	20.09 ^b ± 2.07	0.73 ^{ab} ± 0.02

*promedio de tres repeticiones ± DS. Los valores medios con letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

De acuerdo al Cuadro 5, se obtuvo un aumento significativo de la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en las ratas alimentadas con QR y QN, luego de la inducción a hipertensión. Se vio un incremento de dicha actividad en 73.07 por ciento (de 19.02 ± 1.37 a 32.92 ± 6.21 U/mg proteína) y 72.08 por ciento (de 19.02 ± 1.37 a 32.73 ± 9.46 U/mg proteína), luego del consumo de QR y QN, respectivamente, tomando como

referencia al control negativo. Dicho resultado se encuentra muy cercano al encontrado por Bopda *et al.* (2014), quienes reportaron un incremento de 86 por ciento en la actividad de la SOD en el hígado, luego del suministro de *Kalanchoe pinnata* en ratas inducidas a hipertensión. Cabe mencionar que la bioactividad del *Kalanchoe pinnata* fue atribuida a su contenido de flavonoides. La SOD es la enzima que cataliza la disociación del radical libre O_2^- en agua y peróxido de hidrógeno. Kitiyakara (2003) menciona que un proceso de inducción a hipertensión genera a su vez un incremento en el estrés oxidativo, lo cual conlleva a la destrucción del sistema SOD, disminuyendo su concentración. A su vez, un incremento en la presión arterial (debido a un aumento en el consumo de sal, por ejemplo) promueve la generación del radical O_2^- . Ante esto, los antioxidantes provenientes de la dieta surgen como potenciales compuestos bioactivos que previenen dicha caída del sistema SOD.

De la misma forma, la actividad de la catalasa aumentó con la inclusión de QN en la dieta (incrementó en 96.88 por ciento con respecto al control), siendo mayor al del grupo de ratas alimentadas con QR, pero solo numéricamente, puesto que no se halló diferencia estadística significativa. Esto demuestra una correlación entre la actividad de las enzimas SOD y catalasa, encontrándose un grado de asociación de 88.24 por ciento (Anexo 17). Fu *et al.* (2018) observaron un incremento de la actividad de las enzimas SOD y catalasa luego de suministrar el compuesto fenólico resveratrol a sus tratamientos inducidos previamente a estrés oxidativo. Por su parte, Safaeian *et al.* (2018) reportaron un incremento de la actividad de la catalasa en aquellos animales administrados con ácido protocatéquico (un tipo de ácido fenólico), previamente inducidos a hipertensión. Dicho ácido fenólico es conocido por ser un inhibidor de la ruta seguida por el hipertensor nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa en el endotelio, la cual es una enzima que tiene un rol importante en la generación de ROS.

Por otro lado, de acuerdo al Cuadro 5, el incremento de la actividad antioxidante ocasionado por el consumo de quinua, es mayor a aquel producido por el captopril, demostrando que el tratamiento antihipertensivo con dicho fármaco no tiene efecto sobre el estrés oxidativo, a diferencia de la quinua, la cual protege a las ratas de dicho daño oxidativo generado por la inducción a hipertensión arterial. Sin embargo, Adedara *et al.* (2018) reportaron que la reducción de la actividad antioxidante de la SOD y catalasa generada por la administración del L-NAME se vio frenada cuando se suministró

indistintamente taurina o un fármaco antihipertensivo en ratas como modelo animal. Por su parte, De Carvalho *et al.* (2013) reportaron un incremento de la actividad del glutatión (péptido endógeno antioxidante) luego del consumo de hojuelas de quinua, mientras que esta variable no sufrió ninguna alteración durante el consumo de hojuelas de maíz. Además, Paško *et al.* (2010) mencionaron que el consumo de quinua ofrece una protección moderada de las enzimas antioxidantes en el plasma, corazón, riñón y páncreas.

Asimismo, Vinson *et al.* (2005) reportaron que el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de ciertos frutos secos inhibe la oxidación de las lipoproteínas a un nivel *in vitro*. Así, se encontró una relación entre la CAO y la mejora de los valores del perfil lipídico, tal como se aprecia en la presente investigación, donde los mayores valores de CAO se reportaron en las ratas alimentadas con quinua, las cuales también presentaron mejores niveles de HDL-c en sangre.

Diversos estudios clínicos sugieren que la bioactividad presente en la quinua sobre los niveles de colesterol y el estrés oxidativo se debe principalmente al contenido de proteínas, fibra, vitaminas (tocoferoles y carotenoides), CF y fitoesteroles; sin embargo, también se reportó que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) y las betalainas ejercen roles importantes (Farinazzi-Machado *et al.* 2012, De Carvalho *et al.* 2013). Por su parte, Takao *et al.* (2005) reportaron que el efecto hipocolesterolémico *in vivo* de un aislado proteico de quinua se debe a la inhibición de la reabsorción de la bilis en el intestino delgado y a la regulación de la síntesis del colesterol, debido a que se suprime la expresión de la HMG-CoA reductasa, enzima responsable de la síntesis de dicho lípido. Además de la quinua, Paško *et al.* (2010) mencionaron que otros cereales tales como el amaranto y el trigo sarraceno ejercen funciones sobre el colesterol sérico.

Adicionalmente, Graf *et al.* (2015) indican que la quinua posee ácidos grasos esenciales, mayormente ácido linoleico y linolénico (presenta un perfil similar al aceite de maíz y soya), además de otros ácidos como el oleico y palmítico. Dichos ácidos grasos son protegidos de la oxidación, especialmente en el grano molido, por la vitamina E y otros antioxidantes presentes en el grano y ejercen roles importantes en el desarrollo cerebral, sensibilidad a la insulina y salud cardiovascular (Tang *et al.* 2015 y Ng *et al.* 2007).

La CAO atribuida al contenido proteico se debe principalmente a la presencia de péptidos bioactivos, los cuales son liberados en parte durante el proceso de cocción, tal como se

mencionó en el acápite anterior; sin embargo, también se liberan durante la digestión gastrointestinal. Al respecto, Wada y Lönnerdal (2015) compararon la bioactividad de péptidos de leche liberados exclusivamente mediante digestión gastrointestinal con la de aquellos previamente hidrolizados con la ayuda de enzimas comerciales, reportando una mayor bioactividad en el primer caso. Así, dichos autores plantearon que la hidrólisis industrial podría atenuar la bioactividad antioxidante; sin embargo, tanto la bioactividad hipocolesterolemica como la antihipertensiva se vieron favorecidas luego de dicha hidrólisis, debido a que ésta facilita la exposición de zonas hidrofóbicas de los péptidos, las cuales están vinculadas a las mencionadas bioactividades. Al respecto, Hernández-Ledesma *et al.* (2011) indican que tanto la digestión como la absorción juegan un rol en la formación y degradación de los péptidos bioactivos, mientras que las peptidasas plasmáticas determinan su estabilidad en sangre.

Asimismo, Vilcacundo *et al.* (2018) evaluaron de forma *in vitro* si la digestión de la proteína de quinua libera péptidos bioactivos antioxidantes, sugiriendo que tanto los péptidos y aminoácidos presentes en la quinua ejercen una leve actividad antioxidante antes de ser digeridos; sin embargo, ésta se ve incrementada a lo largo del proceso de digestión por la acción de las enzimas gastrointestinales. Dichos autores también reportaron que los péptidos bioactivos presentes en la quinua son resistentes a las enzimas gastrointestinales, manteniendo su bioactividad hasta el final de la digestión y, además, atribuyeron la bioactividad a aquellas fracciones con un peso molecular menor a 5 kDa ricas en residuos hidrofóbicos y aromáticos. Los restos hidrofóbicos permiten que la cadena peptídica presente mayor solubilidad en lípidos, facilitando de esta forma una mejor interacción con los radicales libres. Asimismo, los aminoácidos aromáticos podrían donar electrones a los radicales libres, volviéndolos estables (Escudero, 2012).

4.2.2. Efecto de la harina de quinua cocida sobre los niveles de glucosa

La diabetes es un desorden metabólico que ha alcanzado proporciones epidémicas en todo el mundo, especialmente en las poblaciones de países en vías de desarrollo, por lo que se requieren estrategias de intervención efectivas, sostenibles y asequibles dirigidas al control glucémico (Graf *et al.* 2014). Es por ello que se viene estudiando el efecto de ciertos alimentos y compuestos bioactivos sobre esta pandemia. En este sentido, la Figura 6 muestra los niveles de glucosa en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la

administración de los tratamientos (Anexo 18). Los menores valores de glucosa sanguínea fueron encontrados en aquellas ratas alimentadas con QR y QN, quienes alcanzaron 101.33 ± 7.66 y 96.17 ± 8.64 mg/dL, respectivamente, presentando diferencia estadísticamente significativa en comparación con los otros tratamientos.

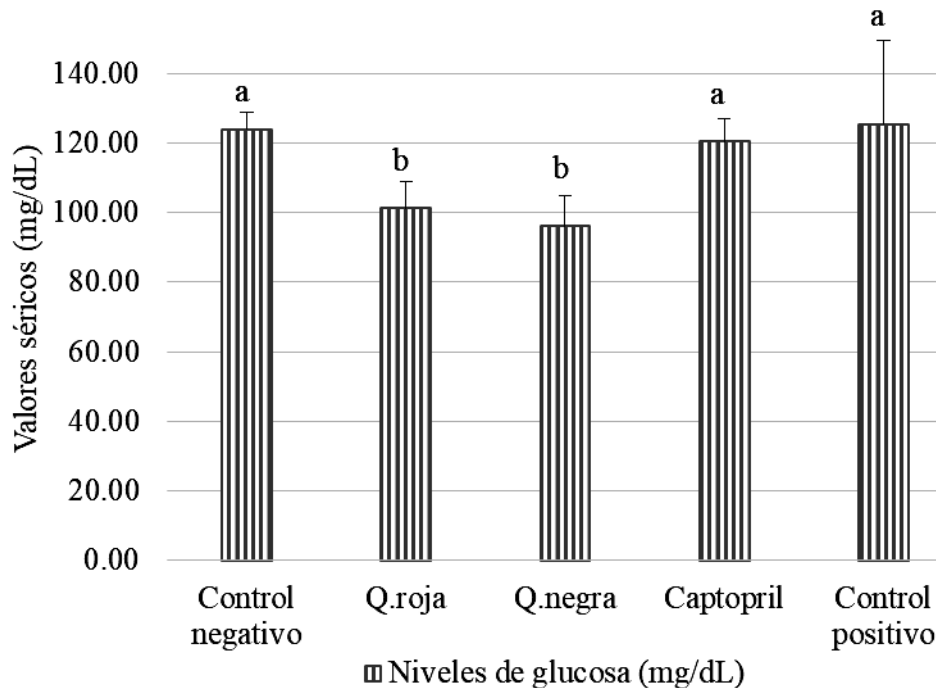


Figura 6: Niveles de glucosa en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Al respecto, Graf *et al.* (2015) mencionan en su revisión que la fibra presente en la quinua podría modular la respuesta postprandial de la insulina, debido a que genera saciedad. Además, existen estudios epidemiológicos que encontraron una relación inversa entre el consumo de fibra dietaria y el desarrollo de diabetes tipo II, los cuales justificarían el efecto hipoglicémico reportado en la Figura 6. Cabe mencionar que al respecto de la actividad hipoglicémica de la quinua, Graf *et al.* (2014) reportaron que ésta se debe principalmente al contenido de ciertos esteroides polihidroxilados.

Por su parte, Farinazzi-Machado *et al.* (2012) observaron una disminución de los niveles de glucosa en sangre luego del consumo diario de una barra de cereal a base de quinua; sin embargo esa disminución no se dio de forma significativa. Además, Pasko *et al.* (2010), indicaron que el consumo de quinua redujo el estrés oxidativo y los niveles séricos de

glucosa, en un 10 por ciento, en ratas Wistar, debido principalmente a la presencia de CF y tocoferoles. Cabe mencionar que dicho valor fue menor al reportado en la presente investigación, puesto que de acuerdo a la Figura 6, las ratas alimentadas con QR y QN lograron disminuir significativamente sus niveles de glucosa en 18.28 y 22.45 por ciento, respectivamente, con respecto al control negativo. Ardiansyah *et al.* (2006) obtuvieron un resultado similar luego de añadir salvado de arroz a la dieta, logrando una disminución de glucosa sérica de aproximadamente 23 por ciento. Por otro lado, Baldeón *et al.* (2012) mencionaron la importancia de la cocción en la actividad hipoglicémica, puesto que observaron una mayor disminución del valor de glucosa en sangre cuando se suministró tarwi cocido que cuando éste se encontraba crudo. Asimismo, Shin *et al.* (2013), mencionados por Pineli *et al.* (2015), indicaron que probablemente, la quinua presenta un bajo índice glicémico debido a su contenido proteico, puesto que este macronutriente hace más lenta la digestión y el vaciado del estómago.

4.2.3. Efecto de la harina de quinua cocida sobre la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina

El acápite 4.1 demostró la bioactividad antihipertensiva de la quinua, medida por su capacidad para inhibir la ACE a un nivel *in vitro*. Dicha ACE se encuentra presente en diferentes tejidos, pudiendo influir en los distintos sistemas regulatorios del organismo (Wang *et al.* 2012). Es así que resulta importante conocer el efecto antihipertensivo de las dietas suministradas a las ratas en los diferentes tejidos donde la ACE está presente de forma natural, determinando el porcentaje de inhibición de la mencionada enzima a un nivel *in vivo*. Es por ello que la Figura 7 muestra la inhibición de la ACE reportada, tanto en sangre como en riñón, en ratas inducidas a hipertensión arterial, tras la administración de los tratamientos (Anexo 19).

De acuerdo a la Figura 7, el consumo de QN incrementó significativamente la inhibición de la ACE en sangre en 7.14 por ciento con respecto al control negativo (demostrando mayor capacidad antihipertensiva). Dicho valor es muy cercano al indicado por Ardiansyah *et al.* (2006), quienes reportaron un incremento en la inhibición de la ACE de aproximadamente 10 por ciento, en comparación con el control, en sangre de ratas hipertensas luego del consumo de salvado de arroz. La inhibición de la ACE reportada luego del consumo de QN fue significativamente mayor al encontrado en la QR; sin

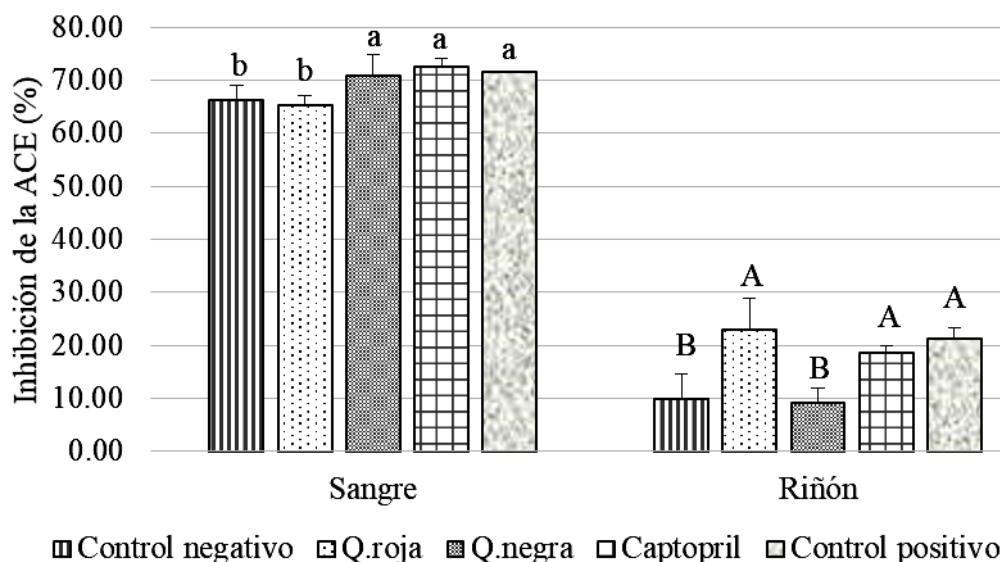


Figura 7: Inhibición de la ACE en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

embargo no se encontró diferencia significativa cuando se comparó con el fármaco captopril. Asimismo, para el caso de la QR, ésta presentó mejores valores de inhibición de la ACE en riñón, siendo significativamente mayor al control negativo, no coincidiendo con lo evaluado previamente *in vitro*, donde fue la QN la que presentó los mejores valores de inhibición de la ACE. Al respecto, Hernández-Ledesma *et al.* (2011) mencionan que existe una falta de correlación entre los resultados de capacidad antihipertensiva hallados de forma *in vivo* e *in vitro*. Esto se debe a que existen diversos mecanismos responsables de la inhibición de la ACE, los cuales se dan a conocer cuando la matriz alimentaria es digerida y absorbida, ya sea por el modelo animal o el ser humano en el caso de un estudio clínico.

Por su parte, Wang *et al.* (2012) reportaron una menor actividad de la ACE, tanto en sangre como en riñón, al usar proteína hidrolizada de trigo en la dieta y, además, encontraron una alta correlación entre la inhibición de la ACE y la disminución de la presión arterial sistólica y diastólica. Asimismo, según la Figura 7, se aprecia que se dio una mayor inhibición de la ACE en plasma que en riñón, debido a que dicha enzima se encuentra en mayor proporción en el riñón, por lo que lograr su inhibición en ese órgano resultaría clave en el objetivo de disminuir los niveles de presión arterial. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, además de la inhibición de la ACE, existen más rutas involucradas en la regulación de la presión arterial. Por ejemplo, Bhagani *et al.* (2018)

indican que la mayoría de pacientes con hipertensión requieren una combinación de por lo menos dos medicamentos con distintos principios activos y mecanismos de acción.

Por otro lado, se tiene a los péptidos bioactivos como los principales responsables de la actividad antihipertensiva. Al respecto, Tagliacruz *et al.* (2017) reportaron la liberación de péptidos bioactivos antihipertensivos, tales como VPP e IPP, luego de una digestión gastrointestinal *in vitro*. Sin embargo, se requieren futuras investigaciones, puesto que la digestión gastrointestinal *in vitro* no toma en consideración las peptidasas presentes en los cepillos del borde intestinal ni las del citoplasma de los enterocitos. Por su parte, Majumder y Wu (2009), citados por Hernández-Ledesma *et al.* (2011) mencionan que el método empleado en la cocción también influye en la capacidad de los péptidos para inhibir la ACE. Así, dichos autores encontraron que para el caso del huevo, la fritura libera más péptidos bioactivos inhibidores de la ACE que el hervido, puesto que la menor desnaturalización en este último proceso conlleva a una menor digestibilidad proteica.

Asimismo, los CF de la quinua pueden ser significativos en la bioactividad antihipertensiva, tal como reportaron Akinyemi *et al.* (2015), quienes encontraron una disminución de la actividad de la ACE en sangre y riñón al alimentar a las ratas con jengibre y cúrcuma. Dichos autores indicaron que la disminución de la actividad de la ACE está relacionada a los efectos individuales y sinérgicos de los CF presentes en sus materias primas estudiadas. Balasuriya y Rupasinghe (2012) mencionaron en su investigación que aquellos extractos ricos en flavonoides son eficientes inhibidores de la ACE a un nivel *in vitro* e *in vivo*, debido a los grupos hidroxilo de estos compuestos bioactivos.

4.3. Relación entre hipertensión, estrés oxidativo, niveles de glucosa y perfil lipídico

En los acápites anteriores se observó cómo el consumo de quinua mejora los niveles de glucosa, perfil lipídico, enzimas antioxidantes e inhibición de la ACE en ratas inducidas a hipertensión, sugiriendo que existe una relación entre todas estas variables estudiadas. Al respecto, el estudio de Chaudhari y Patil (2019) menciona que existe una fuerte relación entre el perfil lipídico y los niveles de HbA1c en pacientes hipertensos. Cabe mencionar que la HbA1c está relacionada con los niveles de glucosa en sangre.

Además, el estrés oxidativo juega un rol fundamental en la iniciación y progresión de las enfermedades cardiovasculares, incluyendo la hipertensión, diabetes tipo II, hipercolesterolemia, aterosclerosis y falla cardíaca. La excesiva producción de ROS está implicada en el desarrollo de la hipertensión o de la enfermedad coronaria en sus diferentes etapas, incluyendo el daño de las células endoteliales vasculares (Ardiansyah *et al.* 2006). Del Pino-García *et al.* (2016) mencionan que la diabetes generalmente se acompaña de un ambiente pro oxidativo, dislipidemia y disfunción endotelial, conllevando a complicaciones micro y macro vasculares. Asimismo, Bitkin Eda *et al.* (2013) indican que algunos individuos están genéticamente predispuestos a presentar insulinoresistencia, la cual junto con un estilo de vida irregular, inactividad física y una alimentación desbalanceada podría desencadenar al desarrollo del síndrome metabólico (SM). Los componentes característicos de dicho SM son: obesidad abdominal, dislipidemia aterogénica, elevada presión arterial, insulinoresistencia/intolerancia a la glucosa y un estado protrombótico y pro inflamatorio, siendo la obesidad el factor más importante en la patofisiología del mencionado síndrome. Además, la insulinoresistencia es detectada en cerca del 50 por ciento de pacientes hipertensos, y como consecuencia de dicha insulinoresistencia, la hiperinsulinemia contribuye a la elevación de la presión arterial por la promoción del sistema nervioso simpático y de la actividad renina-angiotensina.

Por otro lado, De Almeida Pinheiro *et al.* (2017) reportaron que la asociación entre el resveratrol y enalapril (uno de los fármacos antihipertensivos inhibidores de la ACE más conocidos) mejora los niveles de glucosa y perfil lipídico simultáneamente, debido a la modulación de la expresión de genes lipogénicos, los cuales son reguladores críticos de la homeostasis metabólica. Por su parte, Bitkin Eda *et al.* (2013) encontraron un efecto positivo de los fármacos inhibidores de la ACE sobre la hipertrigliceridemia y sobre la resistencia a la insulina en niños con SM, demostrando su capacidad hipoglucémica por el incremento de la vía bioquímica de la insulina. Esto podría permitir presentarlos como fármacos de primera línea en el tratamiento del SM; sin embargo, aún se necesitan más estudios al respecto. En la presente investigación, tal como se vio en el acápite 4.2.1, las ratas que recibieron captopril disminuyeron sus niveles de TG séricos; sin embargo, no se reportó el efecto de dicho fármaco en la disminución de los niveles de glucosa en sangre (acápites 4.2.2).

Asimismo, Min *et al.* (2017) indicaron en su investigación que son los niveles séricos de angiotensina-II (el cual es un potente vasoconstrictor) los que se correlacionan con los niveles de insulinoresistencia, relacionando de esta forma la diabetes con la hipertensión. Por otro lado, Puchalska *et al.* (2014) indican que la producción de angiotensina-II a nivel tisular hace que se incremente el estrés oxidativo, y el incremento de éste produce disfunción endotelial, lo que origina vasoconstricción y la liberación de noradrenalina (Wagner-Grau 2010). Esto pudo ser apreciado en el acápite 4.2.1, donde la inducción a hipertensión produjo una mayor producción de radicales libres y por ende, la actividad de los sistemas antioxidantes se incrementó como parte de nuestro mecanismo de defensa endógeno (Sarmadi e Ismael 2010); sin embargo, si dicho sistema no es ayudado por fuentes externas de antioxidantes, no se puede controlar el estrés oxidativo. Es por ello que aquellas ratas alimentadas con quinua presentaron niveles más altos de actividad de las enzimas antioxidantes SOD y catalasa. Además, la relación entre hipertensión (medida como actividad de la ACE) y estrés oxidativo se demostró en la presente investigación, debido a que se encontró una correlación de 76.14 por ciento entre la inhibición de la actividad de la ACE en riñón y el incremento en la actividad de la actividad de la enzima antioxidante SOD (Anexo 20). Por su parte, Marco (2013) recalca que la hipertensión arterial puede ser controlada a partir de modificaciones en la dieta, donde se destaca la suplementación con antioxidantes porque promueven la síntesis de óxido nítrico (vasodilatador). Cabe mencionar que los radicales libres inactivan el óxido nítrico, generando la constricción de los vasos sanguíneos. Así, los antioxidantes ayudarían a controlar los radicales libres, mejorando de esta manera la síntesis de óxido nítrico.

El presente estudio confirma que el consumo de QN y QR contribuye con la reducción de los niveles séricos de glucosa, así como también con la disminución del daño oxidativo mediante el incremento de la actividad de diversas enzimas antioxidantes al llevarse a cabo una inducción a hipertensión. Además, se aprecia un incremento significativo en los niveles de HDL-c luego del consumo de QR, mostrando ésta un mayor efecto que la QN. El mecanismo exacto involucrado en la acción hipolipemiente aún no está totalmente esclarecido; sin embargo, en el acápite anterior se discuten posibles explicaciones.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se desarrolló la investigación se concluye que:

1. La quinua negra presenta mayor capacidad antioxidante y antihipertensiva, mientras que la quinua roja presenta un mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides a un nivel *in vitro*.
2. El consumo de quinua roja incrementó significativamente los valores de lipoproteína de alta densidad (HDL-c) en ratas inducidas a hipertensión.
3. El menor valor de triglicéridos se apreció en aquellas ratas hipertensas que recibieron el fármaco antihipertensivo captopril, mientras que el consumo de quinua no influyó en esta variable.
4. La actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa aumentó de forma significativa en aquellas ratas alimentadas con quinua, no encontrándose diferencia entre ambas variedades, mientras que la actividad de la enzima catalasa se vio incrementada significativamente solo con el consumo de quinua negra, en referencia al control.
5. Los niveles de glucosa se redujeron de forma significativa cuando las ratas fueron alimentadas con quinua roja y negra, en comparación con los otros tratamientos, no encontrándose diferencia estadística entre ambas variedades.
6. En comparación al tratamiento control, el porcentaje de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE) mejoró con la inclusión de quinua en la dieta, obteniéndose un mayor valor en quinua negra y roja cuando se inhibió la ACE en sangre y riñón, respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda lo siguiente:

1. Evaluar otros mecanismos antihipertensivos, además de la inhibición de la ACE, involucrados en la bioactividad de la quinua.
2. Determinar el perfil de compuestos fenólicos y flavonoides involucrados en las bioactividades antioxidante y antihipertensiva de la quinua de forma más precisa que el análisis espectrofotométrico.
3. Evaluar la bioactividad de la quinua durante inducción a hipertensión, tomando en cuenta el nivel de actividad física.
4. Determinar la bioactividad antioxidante y antihipertensiva de la quinua en condiciones normotensas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDERRAHIM, F; HUANATICO, E; SEGURA, R; ARRIBAS, S; GONZALEZ, M; CONDEZO-HOYOS, L. 2015. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chemistry* 183:83-90.
- ABIRAMI, A; NAGARANI, G; SIDDHURAJU, P. 2015. Hepatoprotective effect of leaf extracts from *Citrus hystrix* and *C. maxima* against paracetamol induced liver injury in rats. *Food science and human Wellness* 4:35-41.
- ABUGOCH, L. 2009. Chapter 1 Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Advances in Food and Nutrition Research* 2009:1-31.
- ADEDARA, I; ALAKE, S; ADEYEMO, M; OLAJIDE, L; AJIBADE, T; FAROMBI, E. 2018. Taurine enhances spermatogenic function and antioxidant defense mechanisms in testes and epididymis of L-NAME-induced hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 97:181-189.
- AEBI, H. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology* 105:102-126.
- AGIĆ, D; ABRAMIĆ, M; RASTIJA, V; VUKOVIĆ, R. 2018. Polyphenolic Flavonoids and Metalloprotease Inhibition: Applications to Health and Disease. *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* 2018:33-40.
- AGYEI, D; ONGKUDON, C; WEI, C; CHAN, A; DANQUAH, M. 2016. Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides. *Food and Bioprocess Processing* 98:244-256.

- AHRÉN, I; XU, J; ÖNNING, G; OLSSON, C; AHRÉN, S; MOIN, G. 2014. Antihypertensive activity of blueberries fermented by *Lactobacillus plantarum* DSM 15313 and effects on the gut microbiota in healthy rats. *Clinical Nutrition* 34:719-726.
- AKINYEMI, A; THOME, G; MORSCH, V; STEFANELLO, N; GOULARTE, J; BELLÓ-KLEIN, A; OBOH, G; SCHETINGER, M. 2015. Effect of dietary supplementation of ginger and turmeric rhizomes on angiotensin-1 converting enzyme (ACE) and arginase activities in L-NAME induced hypertensive rats. *Journal of Functional Foods* 17:792-801.
- ALVAREZ-JUBETE, L; HOLSE, M; HANSEN, Á; ARENDT, E; GALLAGHER, E. 2009. Impact of baking on vitamin E content of pseudocereals amaranth, quinoa, and buckwheat. *Cereal Chemistry* 86(5): 511-515.
- AOAC. 1995. The Assn. of Analytical Chemists. Official methods of analysis. 15th ed. Washinton, DC. 1298p.
- AOAC. 2007. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th edition.
- ARDIANSYAH; SHIRAKAWA, H; KOSEKI, T; OHINATA, K; HASHIZUME, K; KOMAI, M. 2006. Rice Bran Fractions Improve Blood Pressure, Lipid Profile, and Glucose Metabolism in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(24):9277-9277.
- ARZAPALO, D; HUAMÁN, K; QUISPE, M; ESPINOZA, S. 2015. Extracción y caracterización del almidón de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) negra collana, pasankalla roja y blanca junín. *Revista de la Sociedad Química del Perú* 81(1):4-10.
- AYYASH, M; JOHNSON, S; LIU, S; AL-MHEIRI, A; ABUSHELAIBI, A. 2018. Cytotoxicity, antihypertensive, antidiabetic and antioxidant activities of solid-state fermented lupin, quinoa and wheat by *Bifidobacterium* species: *In-vitro* investigations. *LWT* 95: 295-302.

- BAGUL, P; MIDDELA, H; MATAPALLY, S; PADIYA, R; BASTIA, T; MADHUSUDANA, K; REDDY, B; CHAKRAVARTY, S; BANERJEE, S. 2012. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacological Research* 66:260-268.
- BALASURIYA, N; RUPASINGHE, H. 2012. Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract. *Food Chemistry* 135(4):2320-2325.
- BALDEÓN, M; CASTRO, J; VILLACRÉS, E; NARVÁEZ, L; FORNASINI, M. 2012. Hypoglycemic effect of cooked *Lupinus mutabilis* and its purified alkaloids in subjects with type-2 diabetes. *Nutrición Hospitalaria* 27(4):1261-1264.
- BARBANA, C; BOYE, J. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of lentil protein hydrolysates: Determination of the kinetics of inhibition. *Food Chemistry* 127(1):94-101.
- BAX, M; BUFFIÈRE, C; HAFNAOUI, N; GAUDICHON, C; SAVARY-AUZELOUX, I; DARDEVET, D; SANTÉ-LHOUELIER, V; RÉMOND, D. 2013. Effects of Meat Cooking, and of Ingested Amount, on Protein Digestion Speed and Entry of Residual Proteins into the Colon: A Study in Minipigs. *PLoS ONE* 8(4):e61252.
- BERNUY, N. 2018. Influencia del consumo de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en tejido adiposo e histomorfometría intestinal en ratas obesas. Tesis Doctoral. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. s.p.
- BHAGANI, S; KAPIL, V; LOBO, M. 2018. Hypertension. *Medicine* 46(9):509-515.
- BITKIN EDA, Ç; MEHMET, B; NECATI, T; ARZU, A; KORKUT, U; MEHMET BEDIR, A; TEOMAN, A. 2013. Effects of ACE inhibitors on insulin resistance and lipid profile in children with metabolic syndrome. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology* 5(3):164-169.
- BOPDA, O; LONGO, F; BELLA, T; EDZAH, P; TAÏWE, G; BILANDA, D; TOM, E; KAMTCHOUING, P; DIMO, T. 2014. Antihypertensive activities of the aqueous

- extract of *Kalanchoe pinnata* (*Crassulaceae*) in high salt-loaded rats. *Journal of Ethnopharmacology* 153(2):400-407.
- BRINEGAR, C; GOUNDAN, S. 1993. Isolation and characterization of chenopodin, the 11S seed storage protein from quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41:182-185.
- CAMPOS, D; CHIRINOS, R; GÁLVEZ RANILLA, L; PEDRESCHI, R. 2018. Bioactive Potential of Andean Fruits, Seeds, and Tubers. *Advances in Food and Nutrition Research* 2018:287-343.
- CHAKRABARTI, S; WU, J. 2016. Bioactive peptides on endothelial function. *Food Science and Human Wellness* 5:1-7.
- CHANG, C; HUNG, W; HUANG, M; HSU, H. 2002. Extract from the leaves of (*Toona sinensis*) romero exerts potent antiproliferative effect on human lung cancer cells. *The American Journal of Chinese Medicine* 30:307-314.
- CHAUDHARI, H; PATIL, S. 2019. Assessment of hazardous elements of metabolic syndrome in hypertensive patients to defend them from cardiovascular risk in tribal region. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* 13(2):925-931.
- CHIRINOS, R; GALARZA, J; BETALLELUZ-PALLARDEL, I; PEDRESCHI, R; CAMPOS, D. 2010. Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry* 120(4):1019-1024.
- CISNEROS, M. 2017. Purificación de péptidos bioactivos de quinua (*Chenopodium quinoa*) con actividad antioxidante y antihipertensiva. Tesis pregrado. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina. s.p.
- CONNOLLY, A; O'KEEFFE, M; PIGGOTT, C; NONGONIERMA, A; FITZGERALD, R. 2014. Generation and identification of angiotensin converting enzyme (ACE)

- inhibitory peptides from a brewers' spent grain protein isolate. *Food Chemistry* 176(1): 64-71.
- COUCH, S; KRUMMEL, D. 2008. *Krause Dietoterapia*. Doceava edición. Barcelona, España, Elsevier Masson. s.p.
- DASGUPTA, A; KLEIN, K. 2014. Diabetes and Oxidative Stress. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements* 2014:151-166.
- DE ALMEIDA PINHEIRO, T; DE ALMEIDA PINHEIRO, T; FELTENBERGER, J; ANDRADE, J; NEVES FERREIRA, E; DE FARIAS LELIS, D; GUIMARAES, A; DE PAULA, A; CALDEIRA, A; SOUSA SANTOS, S. 2017. Effects of resveratrol and ACE inhibitor enalapril on glucose and lipid profiles in mice. *Protein & Peptide Letters* 24(9).
- DE CARVALHO, F; OVÍDIO, P; PADOVAN, G; JORDÃO JUNIOR, A; MARCHINI, J; NAVARRO, A. 2013. Metabolic parameters of postmenopausal women after quinoa or corn flakes intake – a prospective and double-blind study. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 65(3):380-385.
- DEL PINO-GARCÍA, R; RIVERO-PÉREZ, M; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M; CASTILLA-CAMINA, P; CROFT, K; MUÑIZ, P. 2016. Attenuation of oxidative stress in Type 1 diabetic rats supplemented with a seasoning obtained from winemaking by-products and its effect on endothelial function. *Food & Function* 7(10):4410-4421.
- DINI, I; TENORE, G; DINI, A. 2010. Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *LWT - Food Science and Technology* 43(3):447-451.
- DOMÍNGUEZ, M. 2009. Aislamiento de biopéptidos con actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina-I a partir de hidrolizados de *P. lunatus*. Tesis Ph.D. México D.F, México, Instituto Politécnico Nacional. s.p

- DU, L; FANG, M; WU, H; XIE, J; WU, Y; LI, P; ZHANG, D; HUANG, Z; XIA, Y; ZHOU, L; WEI, D. 2013. A novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from *Phascolosoma esculenta* water-soluble protein hydrolysate. *Journal of Functional Foods* 5:465-483.
- ERDMANN, K; CHEUNG, B; SCHRÖDER, H. 2008. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 19:643-654.
- ESCRIBANO, J; CABANES, J; JIMÉNEZ-ATIÉNZAR, M; IBAÑEZ-TREMOLADA, M; GÓMEZ-PANDO, L; GARCÍA-CARMONA, F; GANDÍA-HERRERO, F. 2017. Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties. *Food Chemistry* 234: 285-294.
- ESCUADERO, E. 2012. Estudios de pequeños péptidos (<1500 Da) con actividad antihipertensiva y antioxidante generados en el jamón curado. Tesis Ph.D. Valencia, España, Universidad Politécnica de Valencia. s.p.
- ESCUADERO, N; ZIRULNIK, F; GOMEZ, N; MUCCIARELLI, S; MUCCIARELLI, S; GIMÉNEZ, M. 2006. Influence of a protein concentrate from *Amaranthus cruentus* seeds on lipid metabolism. *Experimental Biology and Medicine* 231(1):50-59.
- ESCUREDO, O; INMACULADA, M; WELLS, G; FISCHER, S; HERNÁNDEZ, J. 2014. Amino acid profile of the quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) using near infrared spectroscopy and chemometric techniques. *Journal of Cereal Science* 60(1):1-8.
- FARINAZZI-MACHADO, F; BARBALHO, S; OSHIWA, M; GOULART, R; PESSAN JUNIOR, O. 2012. Use of cereal bars with quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) to reduce risk factors related to cardiovascular diseases. *Food Science and Technology* 32(2):239-244.
- FISCHER, S; WILCKENS, R; JARA, J; ARANDA, M; VALDIVIA, W; BUSTAMANTE, L; GRAF, F; OBAL, I. 2017. Protein and antioxidant composition of quinoa

(*Chenopodium quinoa* Willd.) sprout from seeds submitted to water stress, salinity and light conditions. *Industrial Crops and Products* 107:558-564.

FU, S; LV, R; WANG, L; HOU, H; LIU, H; SHAO, S. 2018. Resveratrol, an antioxidant, protects spinal cord injury in rats by suppressing MAPK pathway. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25(2):259-266.

GALICIA, S; TORRUCO, J; NEGRETE, E; CADENA, M; ACEVEDO, J; ANGELES, J; SANTA OLALLA, J; PETRICEVICH, V. 2013. Actividad de los hidrolizados proteínicos de *Mucuna pruriens* en modelos *in vivo* que revierten enfermedades incluidas dentro del síndrome metabólico. *Omnia Science*: 155-173.

GAMMOH, S; ALU'DATT, M; ALHAMAD, M; RABABAH, T; AL-MAHASNEH, M; QASAIMEH, A; JOHARGY, A; KUBOW, S; HUSSEIN, N. 2018. The effects of protein-phenolic interactions in wheat protein fractions on allergenicity, antioxidant activity and the inhibitory activity of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Food Bioscience* 24:50-55.

GANDARILLAS, H. 1979. *Genética y origen de la quinua*. Bogotá, Colombia, IICA. s.p

GARCÍA, A; CASTELLÓ, M; GIMENO, J; MANZANARES, P. 2014. *In vivo* antihypertensive mechanism of lactoferrin-derived peptides: Reversion of angiotensin I and angiotensin II-induced hypertension in Wistar rats. *Journal of Functional Food* 15:294-300.

GARCÍA, M; PUCHALSKA, P; ESTEVE, C; MARINA, M. 2013. Vegetables foods: A cheap source of proteins and peptides with antihypertensive, antioxidant, and other less occurrence bioactivities. *Talanta* 106:328-349.

GOMES, A; CARDOSO, C; MANÓLIO, S. 2016. *Encyclopedia of Food and Health: Amaranth*. USA, Elsevier. s.p

- GRAF, B; POULEV, A; KUHN, P; GRACE, M; LILA, M; RASKIN, I. 2014. Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds with anti-diabetic properties. *Food Chemistry* 163:178-185.
- GRAF, B; ROJAS-SILVA, P; ROJO, L; DELATORRE-HERRERA, J; BALDEÓN, M; RASKIN, I. 2015. Innovations in Health Value and Functional Food Development of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14(4): 431-445.
- GROSS, R; KOCH, F; MALAGA, I; MIRANDA, A; SCHOENEBERGER, H; TRUGO, L. 1989. Chemical Composition and Protein Quality of Some Local Andean Food Sources. *Food Chemistry* 34:25-34.
- HAGER, A; WOLTER A., JACOB, F; ZANNINI, E; ARENDT, E. 2012. Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours. *Journal of Cereal Science* 56:239-247.
- HALIM, N; YUSOF, H; SARBON, N. 2016. Functional and Bioactive Properties of Fish Protein Hydrolysates and Peptides: A Comprehensive Review. *Trends in Food Science & Technology* 51:24-33.
- HARTMAN, R; MEISEL, H. 2007. Food derived peptides with biological activity: From research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology* 18:163–169.
- HAYES, M; MORA, L; HUSSEY, K; ALUKO, R. 2016. Boarfish protein recovery using the pH-shift process and generation of protein hydrolysates with ACE-I and hypertensive bioactivities in spontaneously hypertensive rats. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 37:253-260.
- HERNÁNDEZ, R; SASTRE, A. 1999. *Tratado de nutrición*. Madrid, España, Díaz de Santos. s.p.

- HERNÁNDEZ-LEDESMA, B; DEL MAR CONTRERAS, M; RECIO, I. 2011. Antihypertensive peptides: Production, bioavailability and incorporation into foods. *Advances in Colloid and Interface Science* 165(1):23-35.
- HERRERA, F; BETANCUR, D; SEGURA, M. 2014. Compuestos bioactivos de la dieta con potencial en la prevención de patologías relacionadas con sobrepeso y obesidad. *Nutrición Hospitalaria* 29(1):10-20.
- HIROSE, Y; FUJITA, T; ISHII, T; UENO, N. 2010. Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. *Food Chemistry* 119(4): 1300-1306.
- HO, S; PAL, S. 2005. Margarine phytosterols decrease the secretion of atherogenic lipoproteins from HepG2 liver and Caco2 intestinal cells. *Atherosclerosis* 182(1):29–36.
- HUANG, W; SUN, J; HE, H; DONG, H; LI, J. 2011. Antihypertensive effect of corn peptides, produced by a continuous production in enzymatic membrane reactor, in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry* 128:968-973.
- IHEDIOHA, J; NOEL-UNEKE, O; IHEDIOHA, T. 2011. Reference values for the serum lipid profile of albino rats (*Rattus norvegicus*) of varied ages and sexes. *Comparative Clinical Pathology* 22(1):93-99.
- KITIYAKARA, C. 2003. Salt Intake, Oxidative Stress, and Renal Expression of NADPH Oxidase and Superoxide Dismutase. *Journal of the American Society of Nephrology* 14(11):2775-2782.
- KONTUSH, A; DE FARIA, E; CHANTEPIE, S; CHAPMAN, M. 2005. A normotriglyceridemic, low HDL-cholesterol phenotype is characterised by elevated oxidative stress and HDL particles with attenuated antioxidative activity. *Atherosclerosis* 182(2): 277-285.
- KORHONEN, H; PIHLANTO, A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal* 16:945-960.

- KORSAGER LARSEN, M; MATCHKOV, V. 2016. Hypertension and physical exercise: The role of oxidative stress. *Medicina* 52(1): 19-27.
- LIN, F; CHEM, L; CHIANG, R; ZHANG, Z; WANG, J; CAI, M; LI, Y. 2011. Pilot-scale production of low molecular weight peptides from corn wet milling byproducts and the antihypertensive effects *in vivo* and *in vitro*. *Food Chemistry* 124:801-807.
- LOWRY, O; ROSEBOUGH, N; LEWISTARR, Y; RANDALL, R. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal Biological Chemical* 193:265 – 275.
- MA, S; GE, Y; GAI, X; XUE, M; LI, N; KANG, J; WAN, J; ZHANG, J. 2016. Transgenic n-3 PUFAs enrichment leads to weight loss via modulating neuropeptides in hypothalamus. *Neuroscience Letters* 611: 28-32.
- MARANGONI, F; POLI, A. 2010. Phytosterols and cardiovascular health. *Pharmacological Research* 61(3): 193-199.
- MARCO, A. 2013. *Medicina Ortomolecular*. Alicante, España, Club Universitario. s.p
- MARKLUND, S; MARKLUND, G. 1974. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47: 469 - 474.
- MESTRES, M; DURAN, M. 2012. *Farmacología en Nutrición*. Madrid, España, Médica Panamericana. s.p.
- METCHI, F; NGUEMFO, E; NANA, P; TEMDIÉ, J; LEMBA, E; NKENG-EFOUET, P; DONGMO, A; DIMO, T. 2013. Cardioprotective effects of methanol/methylene chloride extract of *Vitex cienkowskii* (Verbeceae) in L-NAME induced hypertension in rats. *European Journal of Integrative Medicine* 5:519-526.
- MIN, S; KONG, S; LEE, J; LEE, D; OH, T; KIM, K; PARK, K; JANG, H; LIM, S. 2017. Association of angiotensin-II levels with albuminuria in subjects with normal glucose

- metabolism, prediabetes, and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications* 31(10):1499-1505.
- MINE, Y; LI-CHAN, E ; JIANG, B. 2010. *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals*. Iowa, USA, Blackwell Publishing. s.p
- MORENO, F; CLEMENTE, A. 2008. 2S Albumin Storage Proteins: What makes them Food Allergens? *The Open Biochemistry Journal* 2: 16-28.
- MULERO, J; ZAFRILLA, P; MARTÍNEZ-CACHÁ, A; LEAL, M; ABELLÁN, J. 2011. Péptidos bioactivos. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis* 23 (5): 219-227.
- NG, S; ANDERSON, A; COKER, J; ONDRUS, M. 2007. Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chemistry* 101(1):185-192.
- NICKEL, J; SPANIER, L; BOTELHO, F; GULARTE, M; HELBIG, E. 2016. Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of *Chenopodium quinoa* Willd grains. *Food Chemistry* 209: 139-143.
- NONGONIERMA, A; LE, M; DUBRULLE, C; BARRE, C; FITZGERALD, R. 2015. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein hydrolysates with *in vitro* dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory and antioxidant properties. *Journal of Cereal Science* 65:112-118.
- ORONA-TAMAYO, D; PAREDES-LÓPEZ, O. 2017. Amaranth Part 1—Sustainable Crop for the 21st Century. *Sustainable Protein Sources 2017*: 239-256.
- ORSAVOVÁ, J; HLAVÁČOVÁ, I; MLČEK, J; SNOPEK, L; MIŠURCOVÁ, L. 2019. Contribution of phenolic compounds, ascorbic acid and vitamin E to antioxidant activity of currant (*Ribes* L.) and gooseberry (*Ribes uva-crispa* L.) fruits. *Food Chemistry* 284:323-333.
- PASKO, P; BARTON, H; ZAGRODZKI, P; IZEWSKA, A; KROSNIAK, M; GAWLIK, M; GAWLIK, M; GORINSTEIN, S. 2010. Effect of diet supplemented with quinoa

- seeds on oxidative status in plasma and selected tissues of high fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 65(2):146-151.
- PAŠKO, P; ZAGRODZKI, P; BARTOŃ, H; CHŁOPICKA, J; GORINSTEIN, S. 2010. Effect of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa*) in diet on some biochemical parameters and essential elements in blood of high fructose-fed rats. *Plant Foods for Human Nutrition* 65(4):333-338.
- PELLEGRINI, M; LUCAS-GONZALES, R; RICCI, A; FONTECHA, J; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J; PÉREZ-ÁLVAREZ, J; VIUDA-MARTOS, M. 2018. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Industrial Crops and Products* 111:38-46.
- PINELI, L; BOTELHO, R; ZANDONADI, R; SOLORZANO, J; DE OLIVEIRA, G; REIS, C; TEIXEIRA, D. 2015. Low glycemic index and increased protein content in a novel quinoa milk. *LWT - Food Science and Technology* 63(2):1261-1267.
- PLANTA PILOTO DE ALIMENTOS BALANCEADOS (PPAB). s.f. Dieta estándar para ratas. Lima, Perú.
- POWER, O; FERNÁNDEZ, A; NORRIS, R; RIERA, F; FITZGERALD, R. 2014. Selective enrichment of bioactive properties during ultrafiltration of a tryptic digest of β -lactoglobulin. *Journal of Functional Foods* 9:38-47.
- PUCHALSKA, P; GARCÍA, M; MARINA, M. 2014. Identification of native angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides in commercial soybean based infant formulas using HPLC-Q-ToF-MS. *Food Chemistry* 157:62-69.
- RE, R; PELLEGRINI, N; PROTEGGENTE, A; PANNALA, A; YANG, M; RICE, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical and Biological Medicine* 26:1231–1237.

- REPO-CARRASCO, R; HELLSTROM, J; PIHLAVA, J; MATTILA, P. 2010. Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). Food Chemistry 120(1): 128-133.
- REPO-CARRASCO, R; SERNA, L. 2011. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. Ciência e Tecnologia de Alimentos 31(1):225-230.
- ROCCHETTI, G; MIRAGOLI, F; ZACCONI, C; LUCINI, L; REBECCHI, A. 2019. Impact of cooking and fermentation by lactic acid bacteria on phenolic profile of quinoa and buckwheat seeds. Food Research International 119:886-894.
- RUIZ, J; DÁVILA, G; CHEL, L; BETANCUR, A. 2011. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory and antioxidant peptide fractions from hard-to-cook bean enzymatic hydrolysates. Journal of Food Biochemistry 37(1):26-35.
- RYAN, E; GALVIN, K; O'CONNOR, T; MAGUIRE, A; O'BRIEN, N. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. Plant Foods for Human Nutrition 62(3):85– 91.
- SAFAEIAN, L; EMAMI, R; HAJHASHEMI, V; HAGHIGHATIAN, Z. 2018. Antihypertensive and antioxidant effects of protocatechuic acid in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Biomedicine & Pharmacotherapy 100:147-155.
- SAMARANAYAKA, A ; LI-CHAN, E. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. Journal of Functional Foods 3:229-254.
- SANCHIZ, A; PEDROSA, M; GUILLAMÓN, E; ARRIBAS, C; CABELLOS, B; LINACERO, R; CUADRADO, C. 2019. Influence of boiling and autoclave processing on the phenolic content, antioxidant activity and functional properties of pistachio, cashew and chestnut flours. LWT 105:250-256.

- SARMADI, B; ISMAIL, A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides* 31:1949-1956.
- SCHMIDT, B; RIBNICKY, D; POULEV, A; LOGENDRA, S; CEFALU, W; RASKIN, I. 2008. A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism* 57:S3- S9.
- SCHOENLECHNER, R; SIEBENHANDL, S; BERGHOFER, E. 2008. Pseudocereals. In: Arendt, E.K., Bello, F.D. Editors. *Gluten-free cereal products and beverages*. Academic Press. Chapter 7. 149-190.
- SINGLETON, V; ROSSI, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture* 16: 2349-2351.
- SMALL, H; MIGLIARINO, S; CZESNIKIEWICZ-GUZI, M; GUZI, T. 2018. Hypertension: Focus on autoimmunity and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 125: 104-115.
- SOARES DE CASTRO, R; SATO, H. 2015. Biologically active peptides: Processes for their generation, purification, identification, and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Research International* 74:185-198.
- TAGLIAZUCCHI, D; SHAMSIA, S; HELAL, A; CONTE, A. 2017. Angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from goats' milk released by *in vitro* gastrointestinal digestion. *International Dairy Journal* 71:6-16.
- TAKAO, T; WATANABE, N; YUHARA, K; ITOH, S; SUDA, S; TSURUOKA, Y; NAKATSUGAWA, K; KONISHI, Y. 2005. Hypocholesterolemic effect of protein isolated from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Food Science and Technology Research* 11(2):161-167.
- TANG, Y; LI, X; CHEN, P; ZHANG, B; HERNANDEZ, M; ZHANG, H; MARCONE, M; LIU, R; TSAO, R. 2015. Characterisation of fatty acid, carotenoid, tocopherol/tocotrienol compositions and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry* 174:502-508.

- TEIXEIRA-GUEDES, C; OPPOLZER, D; BARROS, A; PEREIRA-WILSON, C. 2019. Impact of cooking method on phenolic composition and antioxidant potential of four varieties of *Phaseolus vulgaris* L. and *Glycine max* L. LWT 103:238-246.
- TORRUCO, J; CHEL, L; MARTÍNEZ, A; DÁVILA, G; BETANCUR, D. 2009. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. Food Science and Technology 42:1597-1604.
- TOUYZ, R. 2004. Reactive Oxygen Species, Vascular Oxidative Stress, and Redox Signaling in Hypertension. Hypertension 44(3):248-252.
- UDENIGWE, C; ALUKO, E. 2012. Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. Journal of Food Science 71(1):11-24.
- VALENCIA-CHAMORRO, S. 2016. Encyclopedia of Food Grains: Quinoa, Overview. Second Edition. Gran Bretaña, Elsevier. s.p.
- VARLI, S; SANLIER, N. 2016. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of Cereal Science 69:371-376.
- VERMEIRSEN, V; CAMP, J; VERSTRAETE, W. 2004. Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. British Journal of Nutrition 92:357-366.
- VILCACUNDO, R; MIRALLES, B; CARRILLO, W; HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. 2018. *In vitro* chemopreventive properties of peptides released from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) protein under simulated gastrointestinal digestion. Food Research International 105:403-411.
- VINSON, J; ZUBIK, L; BOSE, P; SAMMAN, N; PROCH, J. 2005. Dried Fruits: Excellent *in vitro* and *in vivo* antioxidants. Journal of the American College of Nutrition 24(1):44-50.

- VIOQUE, J; SANCHEZ V; CLEMENTE, A; PEDROCHE, J; YUST, M; MILLAN, F. 2000. Péptidos bioactivos en proteínas de reserva. *Grasas y Aceites* 51(5):361-365.
- WADA, Y; LÖNNERDAL, B. 2015. Bioactive peptides released by in vitro digestion of standard and hydrolyzed infant formulas. *Peptides* 73:101-105.
- WAGNER-GRAU, P. 2010. Fisiopatología de la hipertensión arterial. *Anales de la Facultad de Medicina* 71:225-229.
- WANG, X; WANG, L; CHENG, X; ZHOU, J; TANG, X; MAO, X. 2012. Hypertension-attenuating effect of whey protein hydrolysate on spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry* 134(1):122-126.
- WU, J; ALUKO, R; MUIR, A. 2002. Improved method for direct high-performance liquid chromatography assay of angiotensin-converting enzyme-catalyzed reactions. *Journal of Chromatography A* 15:125-130.
- WU, Q; DU, J; JIA, J; KUANG, C. 2016. Production of ACE inhibitory peptides from sweet sorghum grain protein using alcalase: Hydrolysis kinetic, purification and molecular docking study. *Food Chemistry* 199:140-149.
- YOU, L; ZHAO, M; REGENSTEIN, J; REN, J. 2010. Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Research International* 43:1167-1173.
- ZHANG, F; WANG, Z; XU, S. 2009. Macroporous resin purification of grass carp fish (*Ctenopharyngodon idella*) scale peptides with *in vitro* angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory. *Food Chemistry* 117:387-392.
- ZOUARI, N; FAKHFAKH, N; ZOUARI, S; BOUGATEF, A; KARRAY, A; NEFFATI, M; AYADI, M. 2011. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus*

algeriensis Boiss. et Reut. (Lamiaceae). Food and Bioproducts Processing 89(4):257-265.

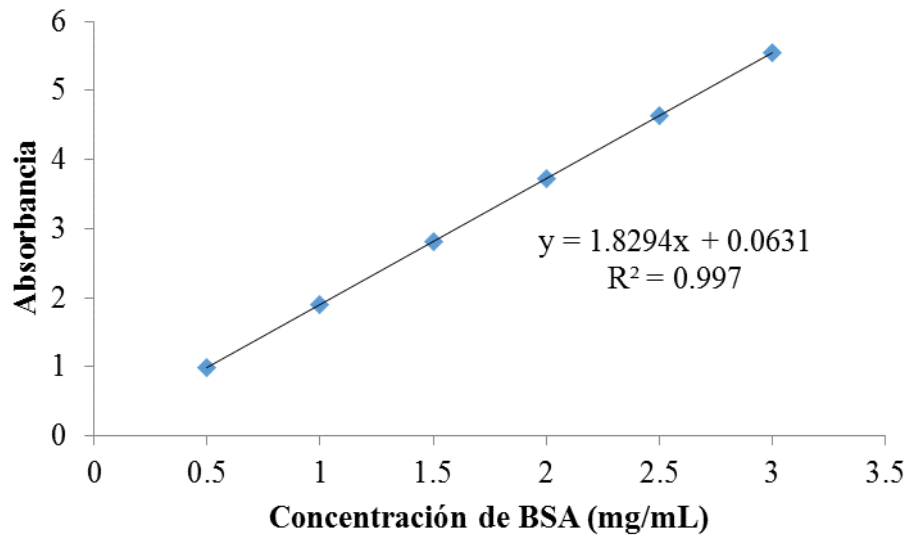
VIII. ANEXOS

Anexo 1: Composición de dieta estándar para ratas

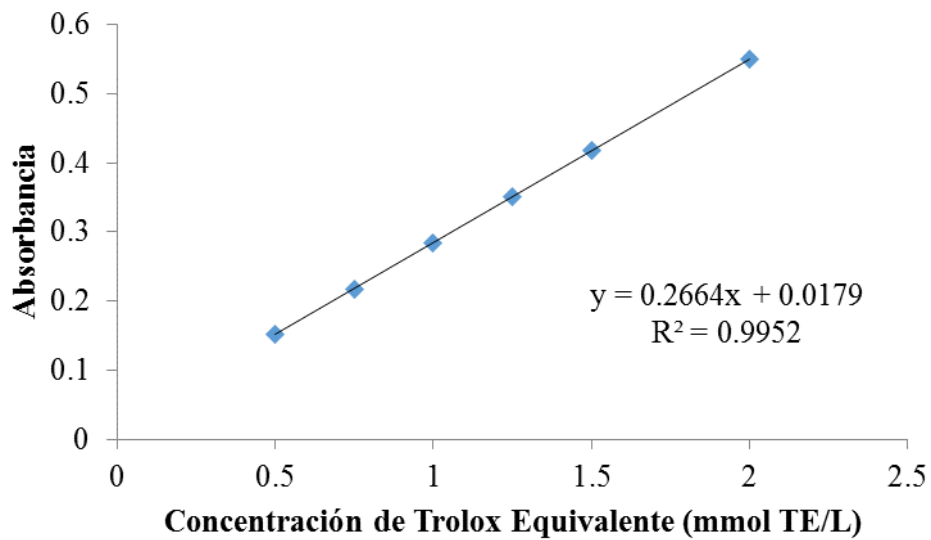
PPAB-UNALM	Porcentaje (%)
Materia seca	88.33
Proteína	20.00
Fibra	3.47
Grasa	7.48
Lisina	1.05
Metionina	0.51
Met-cys	0.86
Arginina	1.18
Treonina	0.77
Triptófano	0.28
Glicina	0.86
Gli-Ser	1.86
Histidina	0.52
Leucina	1.72
Isoleucina	0.84
Fenilalanina	0.97
Phe-Tyr	1.82
Valina	0.97
Fosf. Total	0.50
Fosf. Disponible	0.20
Calcio	0.60
Sodio	0.08
Ácido linoleico	3.70

Fuente: Planta Piloto de Alimentos Balanceados (s.f.)

Anexo 2: Curva estándar de proteína soluble

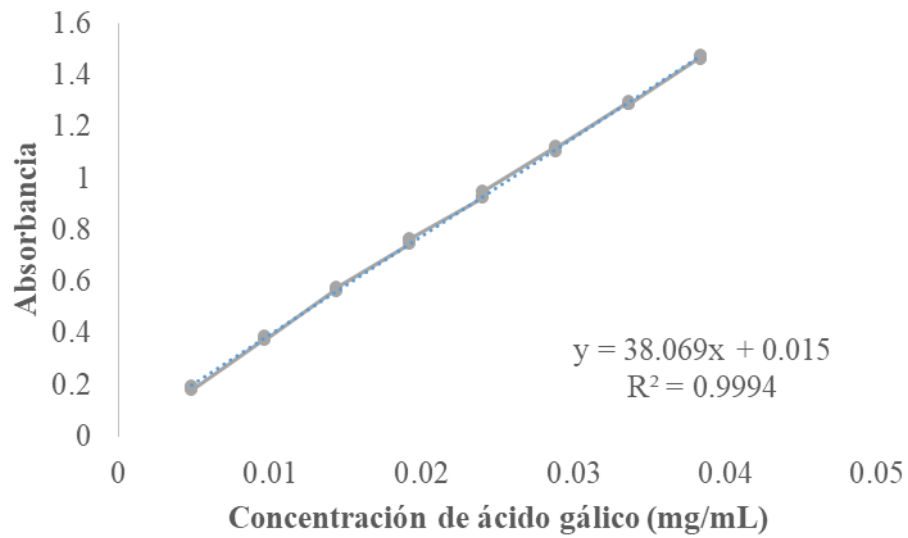


Anexo 3: Curva estándar de capacidad antioxidante ABTS

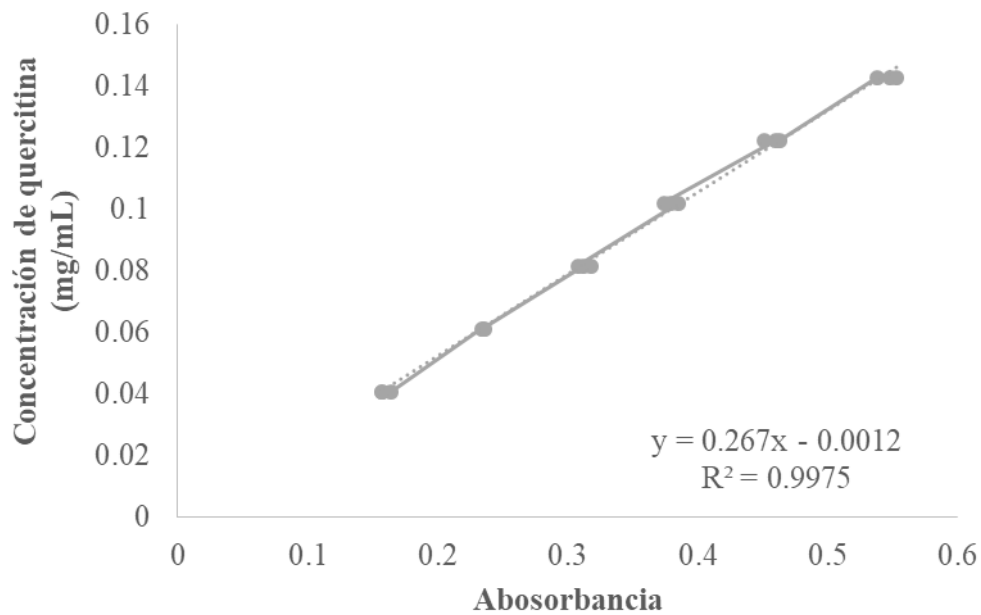


$$y = (\text{Absorbancia de blanco} - \text{Absorbancia de muestra})$$

Anexo 4: Curva estándar de compuestos fenólicos totales



Anexo 5: Curva estándar de flavonoides



$$y = (\text{Absorbancia de muestra} - \text{Absorbancia de blanco})$$

Anexo 6: Kit comercial para determinación de perfil lipídico

1. Características:

Análisis completo de Perfil Lipídico en tan solo 45 segundos (45 - 120 seg.), Colesterol Total (COL), Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL), Triglicéridos (TRIG), Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL), Relación entre Colesterol y HDL (COL / HDL) y Evaluación de Riesgo coronario (CHD).

2. Eficiente:

Análisis del Perfil Lipídico completo, 6 parámetros con una sola gota de sangre, en tan solo 45 segundos: 3 pruebas medidas directamente (COL, TRI, HDL) y 3 por cálculo de software (LDL, COL/HDL y Riesgo Coronario), todo esto con la tira Panel de Lípidos 3 en 1.

Mission Cholesterol Monitoring System



Anexo 7: Kit comercial para determinación de glucosa

Características:

Dispositivo de medición que se utiliza para obtener la concentración de glucosa en la sangre de manera instantánea, sin necesidad de tener que ir a un centro especializado.

Seguro y conveniente:

- Eyector de la tira que permite la eliminación de la tira fácil y suave para evitar la contaminación
- Disponible para sangre capilar, venosa, y los análisis de sangre neonatales
- Lancet eyector diseñado para la liberación de la lanceta
- Prueba simple y rápida con una pequeña muestra de sangre
- Pruebas múltiples, incluyendo la yema del dedo, la palma y el antebrazo
- Los resultados exactos disponibles en tan sólo 5 segundos
- Sólo 0.8 ml muestra de sangre necesaria

On Call Advanced



Anexo 8: Resultados de los análisis en la harina de quinua roja y negra cocida

Análisis		Quinua roja	Quinua negra
Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)	R1	21.36	25.33
	R2	21.07	23.92
	R3	20.88	25.64
Capacidad antioxidante específica ($\mu\text{mol TE/g}$ proteína)	R1	2,931.95	3,376.15
	R2	3,147.05	3,174.36
	R3	3,148.24	3,300.51
Inhibición de la ACE* (%)	R1	16.27	17.13
	R2	15.57	17.79
	R3	16.12	18.88
Valor IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	R1	0.3796	0.2924

*ACE= Enzima convertidora de Angiotensina. Inhibición realizada a 1 mg/mL de concentración proteica.
 ND: No detectado

Anexo 9: Compuestos fenólicos y flavonoides obtenidos en la harina de quinua roja y negra cocida

Análisis		Quinua roja	Quinua negra
Compuestos fenólicos (mg ácido gálico/ 100 g quinua)	R1	96.13	136.35
	R2	100.51	119.09
	R3	100.40	124.03
Flavonoides (mg quercitina/ 100 g quinua)	R1	67.00	73.89
	R2	79.90	98.21
	R3	81.16	100.65

Anexo 10: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos

Correlaciones

	Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)	Compuestos fenólicos (mg ácido gálico/100 g muestra)
Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)		-0.9224
		(6)
		0.0088
Compuestos fenólicos (mg ácido gálico/100g muestra)	-0.9224	
	(6)	
	0.0088	

Correlación
(Tamaño de Muestra)
Valor-P

Anexo 11: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de flavonoides

Correlaciones

	Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)	Flavonoides (mg quercitina/100 g muestra)
Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)		-0.8533
		(6)
		0.0307
Flavonoides (mg quercitina/100 g muestra)	-0.8533	
	(6)	
	0.0307	

Correlación
(Tamaño de Muestra)
Valor-P

Anexo 12: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante total y el contenido de proteína soluble

Correlaciones

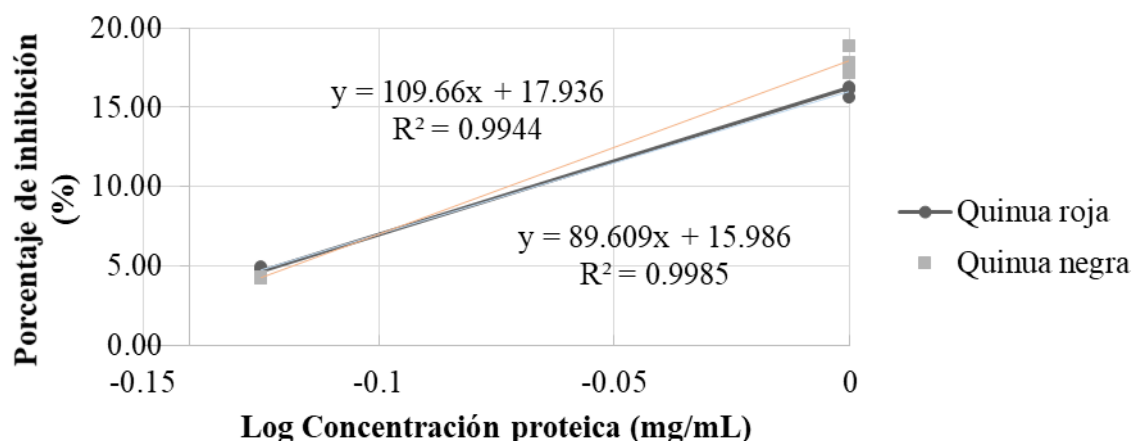
	Proteína soluble (mg/g muestra)	Capacidad antioxidante total (μ mol TE/g muestra)
Proteína soluble (mg/g muestra)		0.8780
		(6)
		0.0214
Capacidad antioxidante total (μ mol TE/g muestra)	0.8780	
	(6)	
	0.0214	

Correlación

(Tamaño de Muestra)

Valor-P

Anexo 13: Cálculo de valores IC₅₀ de la harina de quinua roja y negra cocida



Anexo 14: Prueba de correlación entre la capacidad antioxidante y la inhibición de la ACE de la harina de quinua roja y negra cocida

Correlaciones

	Inhibición de la ACE (%)	Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)
Inhibición de la ACE (%)		0.8775
		(6)
		0.0216
Capacidad antioxidante total ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra)	0.8775	
	(6)	
	0.0216	

Correlación

(Tamaño de Muestra)

Valor-P

Anexo 15: Perfil lipídico en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Grupo	Repetición	HDL-c en sangre (mg/dL)*	TG en sangre (mg/dL)*
T1: Control negativo	R1	68.00	106.00
	R2	45.00	59.00
	R3	50.00	76.00
	R4	42.00	56.00
	R5	42.00	83.00
	R6	46.00	72.00
T2: Quinoa roja	R1	69.00	90.00
	R2	66.00	93.00
	R3	69.00	66.00
	R4	70.00	75.00
	R5	79.00	121.00
	R6	64.00	108.00
T3: Quinoa negra	R1	54.00	86.00
	R2	46.00	75.00
	R3	61.00	94.00
	R4	51.00	82.00
	R5	50.00	83.00
	R6	52.00	72.00
T4: Captopril	R1	41.00	45.00
	R2	54.00	47.00
	R3	46.00	45.00
	R4	51.00	56.00
	R5	72.00	102.00
	R6	50.00	58.00
T5: Control positivo	R1	48.00	68.00
	R2	50.00	63.00
	R3	61.00	85.00
	R4	49.00	47.00
	R5	51.00	67.00
	R6	53.00	64.00

* HDL-c = Lipoproteínas de alta densidad

TG = Triglicéridos

Anexo 16: Actividad antioxidante en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Grupo	Repetición	Superóxido dismutasa (U/mg proteína)	Catalasa (U/mg proteína)
T1: Control negativo	R1	19.99	0.66
	R2	18.05	0.39
	R3	19.02	0.52
T2: Quinoa roja	R1	24.88	0.88
	R2	38.51	1.01
	R3	31.24	0.68
	R4	37.03	0.97
T3: Quinoa negra	R1	36.48	1.15
	R2	39.74	1.27
	R3	21.97	0.67
T4: Captopril	R1	25.54	0.77
	R2	20.73	0.65
	R3	19.32	0.61
	R4	19.85	0.61
T5: Control positivo	R1	21.55	0.74
	R2	18.62	0.72
	R3	20.09	0.73

Anexo 17: Prueba de correlación entre la actividad de la enzima superóxido dismutasa y catalasa tras la administración de los tratamientos

Correlaciones

	Catalasa (U/mg proteína)	Superóxido dismutasa (U/mg proteína)
Catalasa (U/mg proteína)		0.8824
		(11)
		0.0003
Superóxido dismutasa (U/mg proteína)	0.8824	
	(11)	
	0.0003	

Correlación

(Tamaño de Muestra)

Valor-P

Anexo 18: Nivel de glucosa en ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Grupo	Repetición	Glucosa en sangre (mg/dL)
T1: Control negativo	R1	127.00
	R2	120.00
	R3	132.00
	R4	123.00
	R5	120.00
	R6	122.00
T2: Quinoa roja	R1	100.00
	R2	114.00
	R3	102.00
	R4	100.00
	R5	90.00
	R6	102.00
T3: Quinoa negra	R1	90.00
	R2	102.00
	R3	94.00
	R4	86.00
	R5	95.00
	R6	110.00
T4: Captopril	R1	120.00
	R2	123.00
	R3	124.00
	R4	126.00
	R5	109.00
	R6	-
T5: Control positivo	R1	85.00
	R2	143.00
	R3	136.00
	R4	110.00
	R5	130.00
	R6	149.00

Anexo 19: Inhibición de la ACE en sangre y riñón de ratas inducidas a hipertensión arterial tras la administración de los tratamientos

Grupo	Repetición	Inhibición de la ACE en sangre (%)*	Inhibición de la ACE en riñón (%)*
T1: Control negativo	R1	64.88	13.23
	R2	65.36	6.47
	R3	63.95	9.85
	R4	70.39	9.85
T2: Quinoa roja	R1	67.89	22.98
	R2	65.11	16.42
	R3	64.14	25.26
	R4	64.00	27.26
T3: Quinoa negra	R1	74.35	7.22
	R2	73.37	11.21
	R3	70.54	9.22
	R4	65.22	9.22
T4: Captopril	R1	72.45	17.63
	R2	70.21	19.50
	R3	72.69	18.57
	R4	74.49	18.57
T5: Control positivo	R1	71.71	20.12
	R2	71.40	19.95
	R3	71.57	23.54

*ACE= Enzima convertidora de Angiotensina.

Anexo 20: Prueba de correlación entre la actividad de la enzima superóxido dismutasa y la inhibición de la ACE tras la administración de los tratamientos

	Inhibición de la ACE en riñón (%)	Inhibición de la ACE en sangre (%)	Superóxido dismutasa (U/mg proteína)
Inhibición de la ACE en riñón (%)		0.6333	0.7614
		(7)	(7)
		0.1268	0.0468
Inhibición de la ACE en sangre (%)	0.6333		0.6290
	(7)		(7)
	0.1268		0.1302
Superóxido dismutasa (U/mg proteína)	0.7614	0.6290	
	(7)	(7)	
	0.0468	0.1302	

Correlación

(Tamaño de Muestra)

Valor-P

Los siguientes pares de variables tienen valores-P por debajo de 0.05:

Inhibición de la ACE en riñón (%) y Superóxido dismutasa (U/mg proteína)