

## Obtención de fermentados de chía con actividad antihipertensiva

H. Atonal-Sánchez\*<sup>1</sup> y S. Luna-Suárez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada – Instituto Politécnico Nacional, Carretera estatal Santa Inés Tecuexcomac – Tepetitla km 1.5, C.P. 90700, Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala, México.

\*[silvials2004@yahoo.com.mx](mailto:silvials2004@yahoo.com.mx)

### RESUMEN

La presencia de compuestos bioactivos en los alimentos ha tomado una gran relevancia, ya que se ha visto que contienen propiedades antioxidantes, antihistamínicas, anticancerígenas, antihipertensivas, etc., que podemos aprovechar para mejorar la salud. Sin embargo, es necesario extraerlos de la fuente original. En este trabajo vamos a mostrar como una fermentación de harina de chía con bacterias del género *Lactococcus* ayuda a liberar compuestos con actividad antihipertensiva ya que tienen la facultad de inhibir la actividad de la enzima convertidora de angiotensina ECA (una de las enzimas responsables de elevar la presión arterial).

**Palabras clave:** Antihipertensivo, ECA, *Lactococcus*, *Salvia hispánica*, Chía.

### ABSTRACT

The presence of bioactive compounds in food has taken relevance, since it has been seen that they contain antioxidant, antihistamine, anticancer, antihypertensive, etc., properties that we can take advantage to improve health. However, it is necessary to extract them from the original source. In this work we are going to show how a fermentation of chia flour with bacteria of the *Lactococcus* gender helps to release compounds with antihypertensive activity. Because they could inhibit the activity of the angiotensin converting enzyme (ACE) (one of the enzymes responsible for raising up the blood pressure).

### INTRODUCCIÓN

La semilla de la chía ha sido considerada por miles de años como un alimento, contiene una gran cantidad de omega 3 (ácidos  $\alpha$ -linolenico), proteínas, fosforo, magnesio, potasio, hierro, cobre y zinc, con concentraciones tres veces mas altas que alimentos como las espinacas, vegetales y leche, además de antioxidantes, vitaminas y fibra (Segura-campos et al., 2016), lo que la convierte en un alimento multifacético. También es considerada una fuente capaz de controlar la glucosa en el organismo por su contenido de ácido rosmarínico, compuesto relacionado con efectos hipoglucémicos (Enes et al., 2020). La liberación de compuestos bioactivos específicos es muy compleja, ya que se requiere de una herramienta tan habil para distinguir de entre todos los compuestos que existen naturalmente en la fuente de obtención. Esto no se podría lograr por métodos puramente químicos o físicos, es decir, liberación por medios ácidos, altas presiones o temperaturas. Sin embargo, la naturaleza misma nos brinda esta herramienta. Nos referimos a los microorganismos, los cuales son capaces de liberar estos compuestos de interés, sin la necesidad de recurrir a realizar pasos tan costosos para su liberación. Las bacterias ácido lácticas son comúnmente usadas en el tratamiento de alimentos ya que se caracterizan por tener un sistema proteolítico capaz de poder liberar dichos compuestos. Esta propiedad de las bacterias ya ha sido probada y una gran variedad de productos fermentados las usan en su producción (Raveschot et al., 2020). Esto las convierte en mejor alternativa para realizar esta tarea.

Así, en este trabajo se hicieron fermentaciones de harina de chía utilizando *Lactococcus* sp y se analizó la actividad inhibitoria sobre la enzima convertidora de angiotensina.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Obtención de harina de chía**

Una muestra de chía comprada en la región Puebla, México, se trituró con ayuda de un molino de aspas a alta velocidad por 5 minutos, posteriormente se tamizó usando un tamiz Mont Inox® de 841µm de tamaño de poro.

#### **Determinación proximal de la composición de la harina de chía**

Este análisis se realizó con el objetivo de conocer principalmente la cantidad de proteína y carbohidratos presentes en esta harina para emular las características que los medios comerciales como el medio de Man Rogosa & Sharpe tienen (Aguirre et al., 2014). Los compuestos a evaluar fueron: ceniza, humedad, lípidos, fibra, proteína y por diferencia, carbohidratos. Para estos se utilizaron las técnicas del AOAC (AOAC, 1984).

#### **Fermentación de la harina de chía con *Lactococcus* sp.**

Una vez conocida la composición de la harina, se buscó semejar la cantidad de proteína y carbohidratos presente en el medio comercial MS o en el medio M17.

Se preparó el medio de cultivo utilizando harina de chía, sacarosa y agua.

Posteriormente se inoculó el medio con el 5.5% de un preinóculo fresco de 12h de crecimiento de *Lactococcus* sp en medio M17.

La fermentación se llevó a cabo en matraz Erlenmeyer de 2L a 37°C por 48h con una agitación de 150rpm, se tomaron muestras a las 0, 24 y 48 h de fermentación.

A las diferentes muestras tomadas de la fermentación se les determinó la concentración de proteínas, y se evaluó la actividad inhibitoria sobre la ECA.

#### **Cuantificación de proteína presente en el fermentado de harina de chía**

Para este ensayo utilizamos el ácido bicinonónico (BCA) que nos ayuda a cuantificar la cantidad de proteína total presente, es una prueba colorimétrica donde la muestra con BCA tiene un color purpura que cambia en función de la concentración de proteína total. Se usó la técnica reportada por (Cortés-Ríos et al., 2020). Para ello se realizó una curva de calibración con concentraciones conocidas de BCA y se compararon las lecturas obtenidas por espectrofotometría medidas a 562nm.

#### **Determinación de la actividad inhibitoria sobre la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) en fermentados de harina de chía**

En esta técnica se usó como sustrato HHL el cual en presencia de la enzima (ECA) libera ácido hipúrico, en presencia de algún inhibidor la actividad disminuye. Se utilizó la técnica reportada por (Cushman & Cheung, 1971). La absorbancia se leyó a 492nm

Se utilizó la siguiente ecuación para determinar el porcentaje de inhibición.

$$\% \text{inhibición} = 100 * \left( \frac{B-A}{B-C} \right)$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición bromatológica general de la semilla de chía se muestra en la tabla 1.

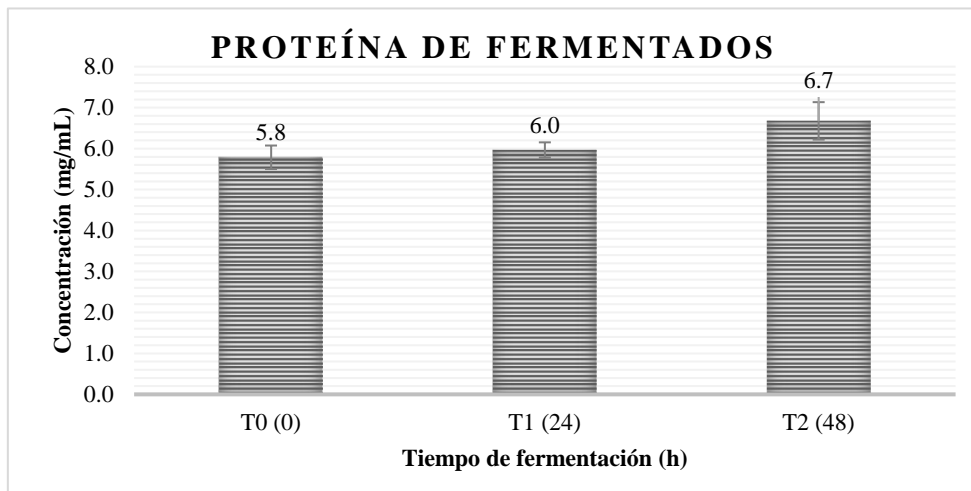
**Tabla I.** Composición general de la semilla de chía utilizada

Componente	%	(+/-)
Proteína	23.3	0.5
Lípidos	8.3	0.3
Fibra	12.3	1.2
Humedad	3.6	0.2
Cenizas	4.3	0.1
Carbohidratos	48.0	2.2

Los resultados obtenidos son similares a lo reportado por (Ding et al., 2018) quienes reportan 56% de carbohidratos en la semilla, similares a (Ayerza et al., 2002) que reportan 10% de contenido de lípidos totales. Estos datos nos indican también que esta semilla tiene un aporte proteico mayor que la leche, ya que (El Khoury et al., 2019) reporta solo un 3.1%.

### **Proteína de fermentados de chía.**

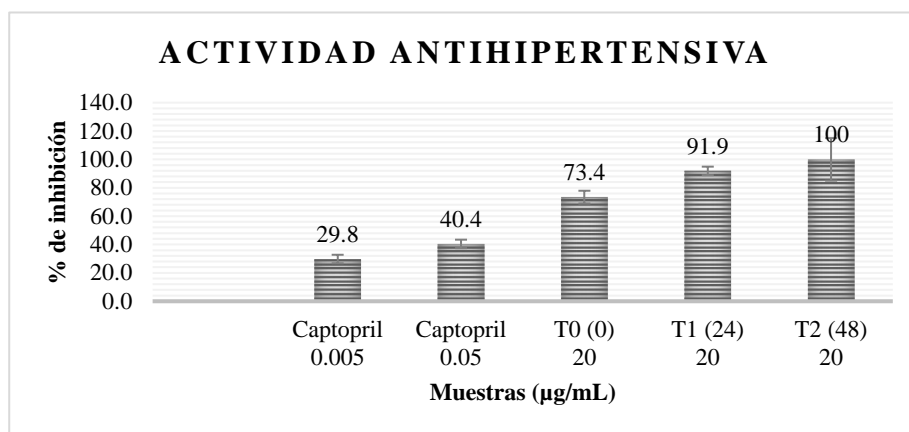
En la figura 1 se muestran los resultados de la concentración obtenida en los tres tiempos de fermentación que se muestrearon. Se puede observar que éste contenido se mantiene constante a lo largo del tiempo, lo que nos puede indicar que la proteína no está siendo consumida en gran medida por la bacteria.



**Figura 1.** Concentración de proteína en los diferentes tiempos de fermentación de la harina de chía.

### Actividad antihipertensiva de fermentados

En la figura 2 se muestran los resultados de la actividad inhibitoria de los diferentes tiempos de fermentación de la harina de chía. Se tomó como control el medicamento captopril. Los resultados indican que, al pasar el tiempo de fermentación aumenta la actividad inhibitoria frente a la ECA, esto nos puede indicar que la bacteria utilizada (*Lactococcus* sp) posee enzimas que pueden escindir algunos enlaces peptídicos de secuencias de proteínas de la semilla de chía y que probablemente se estén liberando algunos péptidos que tienen la capacidad de inhibir a la ECA. Los resultados encontrados son similares a los reportados por o mejores a los reportados por (Segura-campos et al., 2016) que reportan un IC50 de 8.86µg/mL, esto utilizando enzimas comerciales para la obtención de los hidrolizados de chía. Los valores obtenidos son mejores a los reportados por (Baba et al., 2021) que reportó un IC50 de 197µg/mL para hidrolizados de proteína de camello con pepsina.



**Figura 2.** Actividad antihipertensiva in vitro de los fermentados de chía mediante *Lactococcus* sp

## CONCLUSIÓN

La fermentación de semillas de chía con *Lactococcus* sp tiene efecto positivo en la actividad antihipertensiva. En las muestras tomadas a las 24 y 48 horas de fermentación se obtiene la mejor actividad, incluso en la muestra a las 48 horas se logra inhibir por completo la actividad de la enzima, Otro punto importante a destacar es que, no solamente este producto fermentado tiene actividad antihipertensiva, además de ello contiene otros compuestos como proteína, vitaminas, antioxidantes, entre otros. Lo que convierte a este producto en un alimento nutracéutico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, L., Hebert, E. M., Garro, M. S., & Savoy de Giori, G. (2014). Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains on soybean proteins. *LWT - Food Science and Technology*, *59*(2P1), 780–785. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.061>
- Ayerza, R., Coates, W., & Lauria, M. (2002). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) as an  $\omega$ -3 fatty acid source for broilers: Influence on fatty acid composition, cholesterol and fat content of white and dark meats, growth performance, and sensory characteristics. *Poultry Science*, *81*(6), 826–837. <https://doi.org/10.1093/ps/81.6.826>
- Baba, W. N., Baby, B., Mudgil, P., Gan, C. Y., Vijayan, R., & Maqsood, S. (2021). Pepsin generated camel whey protein hydrolysates with potential antihypertensive properties: Identification and molecular docking of antihypertensive peptides. *Lwt*, *143*(February), 111135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111135>
- Bradstreet, R. B. (1940). A review of the kjeldahl determination of organic nitrogen. *Chemical Reviews*, *27*(2), 331–350. <https://doi.org/10.1021/cr60087a002>
- Cortés-Ríos, J., Zárate, A. M., Figueroa, J. D., Medina, J., Fuentes-Lemus, E., Rodríguez-Fernández, M., Aliaga, M., & López-Alarcón, C. (2020). Protein quantification by bicinchoninic acid (BCA) assay follows complex kinetics and can be performed at short incubation times. *Analytical Biochemistry*, *608*(July). <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113904>
- Cushman, D. W., & Cheung, H. S. (1971). Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, *20*(7), 1637–1648. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(71\)90292-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(71)90292-9)
- Ding, Y., Lin, H. W., Lin, Y. L., Yang, D. J., Yu, Y. S., Chen, J. W., Wang, S. Y., & Chen, Y. C. (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*, *26*(1), 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.012>
- El Khoury, D., Vien, S., Sanchez-Hernandez, D., Kung, B., Wright, A., Goff, H. D., & Anderson, G. H. (2019). Increased milk protein content and whey-to-casein ratio in milk served with breakfast cereal reduce postprandial glycemia in healthy adults: An examination of mechanisms of action. *Journal of Dairy Science*, *102*(8), 6766–6780. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16358>
- Enes, B. N., Moreira, L. de P. D., Toledo, R. C. L., Moraes, É. A., Moreira, M. E. de C., Hermsdorff, H. H. M., Noratto, G., Mertens-Talcott, S. U., Talcott, S., & Martino, H. S. D. (2020). Effect of different fractions of chia (*Salvia hispanica* L.) on glucose metabolism, in vivo and in vitro. *Journal of Functional Foods*, *71*(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104026>
- Fitzpatrick, J. J., & Bremenkamp, I. (2019). Investigation of the effect of time on the humidity caking of food powder binary mixes using a cake strength tester and visual techniques. *Journal of Food Engineering*, *263*(June), 195–203. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.06.021>
- Lee, S. C., Prosky, L., & Vries, J. W. De. (1992). Determination of Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fiber in Foods—Enzymatic-Gravimetric Method, MES-TRIS Buffer: Collaborative Study.

- Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 75(3), 395–416. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.395>
- Leng, L., Bogush, A. A., Roy, A., & Stegemann, J. A. (2019). Characterisation of ashes from waste biomass power plants and phosphorus recovery. *Science of the Total Environment*, 690, 573–583. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.312>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Deracinois, B., Frémont, M., Vaeremans, M., Dugersuren, J., Demberel, S., Drider, D., Dhulster, P., Coutte, F., & Flahaut, C. (2020). Proteolytic activity of *Lactobacillus* strains isolated from Mongolian traditional dairy products: A multiparametric analysis. *Food Chemistry*, 304(April 2019), 125415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125415>
- Schmid, M., Guihéneuf, F., & Stengel, D. B. (2016). Evaluation of food grade solvents for lipid extraction and impact of storage temperature on fatty acid composition of edible seaweeds *Laminaria digitata* (Phaeophyceae) and *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Food Chemistry*, 208, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.123>
- Segura-campos, M. R., Chel-guerrero, L. A., Rosado-rubio, J. G., & Betancur-ancona, D. A. (2016). Functional Properties of Traditional Foods. *Functional Properties of Traditional Foods*, 199–206. <https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7662-8>