

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS**  
**MAESTRÍA EN BROMATOLOGÍA**

**DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL, CONTENIDO  
DE FENOLES Y ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN UNA BEBIDA NO LÁCTEA A  
BASE DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)**



**POR: ALEJANDRA PATRICIA RIOJA ANTEZANA**  
**TUTOR: J. MAURICIO PEÑARRIETA LORIA Ph. D**

**LA PAZ-BOLIVIA**  
**Octubre, 2018**

## **CALIFICACIONES**

## **DEDICATORIA**

*Para mi Camila, el motor de mi vida*

*Con infinito amor le dedico todo mi esfuerzo*

*Para mi Chachito, mi ángel en el cielo*

*Por haber creído siempre en mí*

## **AGRADECIMIENTOS**

A través de estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que con su aporte humano y académico han colaborado en la realización de este trabajo de investigación.

Quiero agradecer en primer lugar a las instituciones que han hecho posible mi formación y mi trabajo. A la Unidad de Postgrado de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, a la carrera de Química y al Instituto de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Mayor de San Andrés. Gracias por la ayuda y confianza depositada en mí.

Muy especialmente a mi tutor de Tesis, al Dr. Mauricio Peñarrieta por la oportunidad brindada, acertada orientación, inestimable ayuda y paciencia, que me hizo posible un buen aprovechamiento en el trabajo realizado y en su culminación.

Agradezco a la Dra. Romina Segurondo y a todos los profesores y colaboradores de la Maestría en Bromatología, por su constante apoyo y por hacer que la experiencia de cursar la maestría haya sido memorable.

A mis amigos y compañeros de Laboratorio les agradezco todos los buenos momentos compartidos, por su amistad y por el apoyo moral y colaboración.

Finalmente, agradezco de corazón a mi familia por su permanente apoyo y esfuerzo para que me haya sido posible vivir esta experiencia. De manera especial a mi abuela, por todo su cariño y fe. A mi adorada hija, por ser el motivo de superarme día a día y darme las fuerzas para seguir adelante.

## TABLA DE CONTENIDOS

**DEDICATORIA II**

**AGRADECIMIENTOS III**

**RESUMEN VIII**

**CAPÍTULO 1 1**

<b>1.1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2.</b>	<b>ANTECEDENTES Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>2</b>
<b>1.3.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
1.3.1.	..... OBJETIVO GENERAL	4
1.3.2.	..... OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
<b>1.4.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>5</b>
1.4.1.	..... Justificación técnica	5
1.4.2.	..... Justificación económica	5
1.4.3.	..... Justificación social	6
1.4.4.	..... Justificación Ambiental	7
<b>1.5.</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>7</b>

**CAPÍTULO 2 8**

<b>2.1. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>8</b>
2.1.1. PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LA QUINUA .....	8
2.1.2. ANTIOXIDANTES: COMPUESTOS FENÓLICOS .....	12
2.1.3. ENZIMAS.....	38

2.1.4. ALMIDÓN .....	43
----------------------	----

**CAPÍTULO 3            47**

<b>3.1. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS .....</b>	<b>47</b>
3.1.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS.....	47
3.1.2. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL POR MEDIO DE LOS MÉTODOS COLORIMÉTRICOS ESTANDARIZADOS FRAP Y ABTS .....	47
3.1.2.1. Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	48
3.1.2.2. Método ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)].....	49
3.1.3. FENOLES TOTALES (TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS TPH).....	51
3.1.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE A-AMILASA .....	52
3.1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54

**CAPITULO 4            55**

<b>4.1. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>55</b>
4.1.1. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS.....	55
4.1.2. DISCUSIÓN .....	62
4.1.3. CONCLUSIONES .....	64

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS    66**

**ANEXO 1: RESUMEN DE RESULTADOS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y FENOLES TOTALES 73**

## INDICE DE ILUSTRACIONES Y TABLAS

### FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Superficie cosechada de quinua en tres países Andinos en cinco años referenciales	2
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de peroxidación de lípidos	12
<b>Figura 3.</b> Ruta del ácido shikimico.	14
<b>Figura 4.</b> Estructura química del fenol	15
<b>Figura 5.</b> Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.	16
<b>Figura 6.</b> Ácidos Hidroxibenzoicos	16
<b>Figura 7.</b> Ácidos Hidroxicinámicos	17
<b>Figura 8.</b> Umbeliferona.	18
<b>Figura 9.</b> Xantonas, estilbenos y benzofenonas.	18
<b>Figura 10.</b> Quinonas.	19
<b>Figura 11.</b> Betanidina	20
<b>Figura 12.</b> Lignanos.	21
<b>Figura 13.</b> Ligninas	22
<b>Figura 14.</b> Estructura básica de un flavonoide	23
<b>Figura 15.</b> Chalconas.	24
<b>Figura 16.</b> Estructura de una aurona común	24
<b>Figura 17.</b> Flavononas y flavonoles	25
<b>Figura 18.</b> Estructuras de flavonoles y flavonas	26
<b>Figura 19.</b> Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides.	27
<b>Figura 20.</b> Catequinas	29
<b>Figura 21.</b> Estructuras de leucoantocianinas.	30
<b>Figura 22.</b> Antocianidinas	31
<b>Figura 23.</b> Estructuras de deoxiantocianidinas.	31
<b>Figura 24.</b> Antocianina 3-glucosido.	32
<b>Figura 25.</b> Procyanidina B <sub>2</sub>	33
<b>Figura 26.</b> Ejemplos de galotaninos	34
<b>Figura 27.</b> Elagitaninos.	35
<b>Figura 28.</b> Acutissimina A.	36
<b>Figura 29.</b> Flobafenos.	37
<b>Figura 30.</b> Reacción del ácido dinitrosalicílico.	40
<b>Figura 31.</b> El DNS	41
<b>Figura 32.</b> Hidrólisis del enlace $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)	42
<b>Figura 33.</b> Estructuras químicas de amilosa y amilopectina	43
<b>Figura 34.</b> Evolución de la viscosidad del almidón en función al tiempo y tratamiento térmico	46
<b>Figura 35.</b> Método FRAP	48

<b>Figura 36.</b> Método ABTS	50
<b>Figura 37.</b> Fenoles Totales	51

## TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química de la quinua y otros cereales (g/100 g peso seco)	6
<b>Tabla 2.</b> Balance de Producción y Consumo de la Quinua, datos en TM.	9
<b>Tabla 3.</b> Aminoácidos esenciales en la quinua y otros alimentos (g/100 g proteína)	10
<b>Tabla 4.</b> Curva estándar de Trolox FRAP	49
<b>Tabla 5.</b> Curva estándar de Trolox ABTS	50
<b>Tabla 6.</b> Curva estándar de Ácido Gálico	52
<b>Tabla 7.</b> Procedimiento del método de la $\alpha$ -amilasa	53
<b>Tabla 8.</b> Curva de Calibración de la Maltosa	53
<b>Tabla 9.</b> Curva de Calibración del Método FRAP	56
<b>Tabla 10.</b> Curva de Calibración del Método ABTS	57
<b>Tabla 11.</b> Curva de Calibración del Método Fenoles Totales	58
<b>Tabla 12.</b> Curva de Calibración de la Maltosa	59
<b>Tabla 13.</b> Muestra con adición de enzima (BQ1)	61
<b>Tabla 14.</b> Muestra sin adición de enzimas (BQ2)	61
<b>Tabla 15.</b> Valores de TAC y TPH en distintas muestras	63

## GRAFICAS

<b>Grafica 1.</b> Curva de Calibración del método FRAP	56
<b>Grafica 2.</b> Curva de Calibración del método ABTS	57
<b>Grafica 3.</b> Curva de Calibración del método Fenoles Totales	59
<b>Grafica 4.</b> Curva de Calibración de la Maltosa	60
<b>Gráfica 5.</b> Comparación de la formación de maltosa vs. Tiempo con y sin adición de $\alpha$ -amilasa	62



## RESUMEN

Actualmente, existe una tendencia mundial a la elaboración y consumo de bebidas de origen vegetal como alternativa para grupos de personas que presentan problemas digestivos, de alergia y de intolerancia a la lactosa por el consumo tradicional de la leche de vaca. Otro problema importante de salud es la intolerancia al gluten, que produce la celiaquía. Por otro lado, existen también segmentos de personas con una alimentación de tipo vegetariano y/o vegano que buscan alimentos funcionales para complementar su dieta. Las bebidas de origen vegetal producidas a partir de alimentos altamente nutritivos y con propiedades benéficas para el organismo entonces se convierten en una opción muy interesante para todas aquellas personas que buscan un estilo de vida saludable; podemos mencionar por ejemplo a la quinua como un alimento potencial por su calidad nutricional y funcional con respecto a otros cereales para su inserción como materia prima innovadora en la elaboración y comercialización de una “leche vegetal”.

Junto a las vitaminas, los compuestos fenólicos son considerados importantes componentes antioxidantes, en alimentos como frutas, vegetales, tubérculos y cereales. Los antioxidantes son de vital importancia para la prevención de la actuación de los radicales libres sobre el organismo. Los radicales libres son moléculas muy reactivas e inestables, generados por factores externos y metabólicos. Los antioxidantes disminuyen los procesos oxidativos de radicales, retardando el proceso de envejecimiento.

La  $\alpha$ -amilasa es una enzima proteica que se encuentra en la saliva humana y cataliza la degradación del almidón, que es un polisacárido de reserva vegetal. Se encuentra presente en los granos de quinua en proporciones del 52-60%. La  $\alpha$ -amilasa actúa sobre el almidón, dando como producto azúcares reductores.

El presente proyecto pretende estudiar una bebida no láctea a base de quinua (*Chenopodium quinoa var. Pandela*) con componentes bioactivos, tales como los

compuestos fenólicos como una alternativa a la leche de vaca, otorgando importancia y revalorización de granos andinos que antiguamente formaban parte de la dieta diaria de los pueblos originarios y de un tiempo a esta parte han sido relegados.

## ABSTRACT

Currently, there is a worldwide trend to the development and consumption of beverages of vegetable origin as an alternative for groups of people who have digestive problems, allergy and lactose intolerance due to the traditional consumption of cow's milk. Another important health problem is gluten intolerance, which causes celiac disease. On the other hand, there are also segments of people with a vegetarian and / or vegan type of food that look for functional foods to supplement their diet. Beverages of vegetable origin produced from highly nutritious foods and with beneficial properties for the organism then become a very interesting option for all those people looking for a healthy lifestyle. All the known properties of quinoa make it a potential food for its nutritional and functional quality with respect to other cereals for its insertion as an innovative raw material in the elaboration and commercialization of a "vegetable milk".

Along with vitamins, phenolic compounds are considered important antioxidant components in foods such as fruits, vegetables, tubers and cereals. Antioxidants are of vital importance for the prevention of the action of free radicals on the organism. Free radicals are very reactive and unstable molecules, generated by external and metabolic factors. Antioxidants decrease the oxidative processes of radicals, slowing down the aging process.

$\alpha$ -amylase is a protein enzyme found in human saliva and catalyzes the degradation of starch, which is a plant reserve polysaccharide. It is present in the quinoa grains in proportions of 52-60%. The  $\alpha$ -amylase acts on this substrate, giving as product reducing sugars.

This project aims to study a non-dairy beverage based on quinoa (*Chenopodium quinoa* var. *Pandela*) with bioactive components, such as phenolic compounds as an alternative

to cow's milk, giving importance and revaluation of Andean grains that were formerly part of the daily diet of indigenous people and for some time now they have been relegated.

## **PALABRAS CLAVE**

Quinoa, bebida no láctea de origen vegetal, compuestos fenólicos, antioxidantes, enzima  $\alpha$ -amilasa, almidón.

## **KEYWORDS**

Quinoa, non diary vegetable beverage, phenolic compounds, antioxidants,  $\alpha$ -amylase enzyme, starch

## **CAPÍTULO 1**

### **1.1. INTRODUCCIÓN**

Existe una tendencia a nivel mundial de consumir productos alternativos a la leche de vaca, debido principalmente a problemas de salud tales como la intolerancia a la lactosa y al gluten, reacciones alérgicas a proteínas de la leche, hinchazón, indigestión, celiaquía y también formas alternativas de alimentación como el vegetarianismo y el veganismo. Se producen y se consumen actualmente las llamadas “leches vegetales”, producidas a partir de cereales como el arroz, la soja y la avena y frutos como las almendras y el coco.

El creciente interés por adoptar una dieta saludable, y la prevención de enfermedades a través de la alimentación, abre paso al estudio de los componentes nutricionales y su actividad en los procesos bioquímicos en el organismo humano. Esto nos da una gran oportunidad para el estudio de nuevos productos a partir alimentos que crecen en nuestro territorio, tales como la quinua.

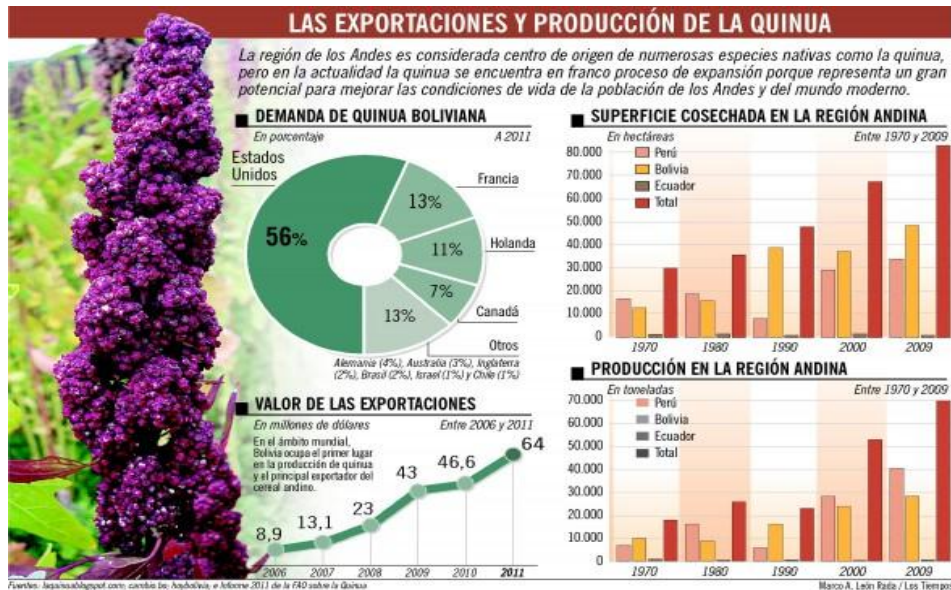
La quinua ha formado parte de nuestra alimentación remontándose su producción inclusive antes de la cultura Incaica, donde se tiene reportes de registros de su siembra y cosecha en pisos arqueológicos en lugares donde existía poca vegetación a causa de condiciones adversas de clima y suelo, esto por las propiedades de adaptabilidad de la quinua (Bojanic, 2011).

El grano de quinua, debido a sus numerosas propiedades nutricionales, constituye una excelente alternativa para su uso como materia prima en la elaboración de una bebida no láctea. Estos granos son ricos en compuestos fenólicos y fibra dietaria, minerales como calcio, hierro y zinc, fundamentales en funciones fisiológicas y bioquímicas del cuerpo humano.

El objetivo del presente estudio es realizar la medición de componentes antioxidantes beneficiosos y la actividad enzimática en la bebida no láctea a base de quinua.

## 1.2. ANTECEDENTES Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años la quinua ha ido ganando mercado y la producción nacional por lo tanto se ha incrementado, como se aprecia en la Figura 1, todo ello debido a la alta calidad de sus propiedades nutricionales. Sin embargo a partir del año 2015, la sobreoferta de quinua en el mercado internacional ha hecho que los precios de la quinua sufran una apreciable baja, ocasionando una disminución en la producción nacional. Esta delicada situación nos obliga a investigar la manera de darle un valor agregado a la quinua, a través del desarrollo de productos elaborados a partir de ésta.



**Figura 1.** Superficie cosechada de quinua en tres países Andinos en cinco años referenciales.

Fuente: informe de la FAO con datos de FAOSTAT (2011). La razón, 5 de agosto de 2015

Desde el 2005, el grupo de investigación del Instituto de Investigación en Productos Naturales (IIPN) en el Área de Alimentos de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales ha venido desarrollando la determinación de la actividad antioxidante, contenido de polifenoles, fibra soluble, almidón lento en digestión presentes en granos de altura (quinua, cañahua, avena, cebada, etc.); considerándolos como alimentos funcionales, que

son definidos como todo aquel alimento que tiene componentes fisiológicamente activos y que proveen beneficios, tanto por el aporte nutricional, así como por su función protectora contra enfermedades crónicas. Cada día es mayor la investigación interdisciplinaria para determinar los componentes químicos que tienen efectos positivos en la salud, así como las fuentes alimentarias disponibles (Sedó, 2001).

La comunidad Chojñacota de la provincia Gualberto Villarroel del departamento de La Paz, es un centro productor de tubérculos andinos y alimentos por muchos años, cuenta con más de 150 familias productoras. Se puede mencionar que esta comunidad como otras son consideradas centros de origen de muchas variedades, entre ellas papa, oca, ulluco, avena, quinua y cañahua además de amañeque (*Ombrophytum subterraneum*), conservan intactas tradiciones tales como la producción de chuño, tunta y caya (oca deshidratada), (Peñarrieta et al., 2011, 2010, 2005).

En el año 2009, se presentó una Tesis Doctoral en Capacidad Antioxidante, Flavonoides y otros Compuestos Fenólicos en alimentos seleccionados de origen Boliviano, como parte del Proyecto “Capacidad Antioxidante en vegetales del Departamento de La Paz” en el marco de un programa de colaboración entre la Universidad Mayor de San Andrés y la Universidad de Lund (Suecia), apoyado por la Agencia Sueca Internacional de Desarrollo (SIDA). Estos estudios realizados en diversos tubérculos y granos andinos sientan precedentes para el posterior estudio de presencia de antioxidantes en otros alimentos andinos, como la quinua.

Desde el 2011, tanto la comunidad de Chojñacota, el IIPN, las empresa suecas Aventure AB y SweBol Biotech AB, han estado desarrollando bebidas no lácteas con componentes bioactivos a partir de alimentos bolivianos, además de pretender asegurar con ello el mercado de la quinua producida en Bolivia y revalorizarla ante la demanda que ofrece Perú; estableciendo los derechos intelectuales y la producción de Quinua y Cañahua, en base a la investigación científica que es fundamental para que sea reconocido por sus propiedades funcionales, y más propiamente bebidas para el consumo local y para el mercado internacional ([www.aventureab.com](http://www.aventureab.com)).



Con todos estos antecedentes, es necesario proponer productos alimenticios con valor agregado desde el campo de la ciencia y la investigación que puedan impactar en el mercado local e internacional con posibilidades de patentes nacionales e internacionales y realizar estudio en producto final.

Por un lado, en el mercado nacional existe la posibilidad de introducir este alimento nutritivo a niños en edad preescolar y escolar como un suplemento y refuerzo alimenticio para su desarrollo y crecimiento. Puede llegar a ser una buena alternativa para niños sanos, intolerantes a la lactosa o intolerantes al gluten. Otro posible mercado nacional es el de mujeres en gestación, por medio del subsidio de Natalidad estatal.

Por otro lado la exportación de alimentos bolivianos como materia prima sin valor agregado es un problema para los productores que al no tener dichas alternativas pierden la posibilidad de tener mayores ingresos y mejorar su calidad de vida.

### **1.3.OBJETIVOS**

#### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Medir la capacidad Antioxidante Total, el contenido de Fenoles y actividad enzimática en una bebida no láctea a base de quinua.

#### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Determinar la capacidad Antioxidante Total por medio de los métodos colorimétricos estandarizados FRAP y ABTS
- 2) Determinar el contenido de Polifenoles en la bebida no láctea por el método Folin Ciocalteu
- 3) Determinación de la actividad de  $\alpha$ -Amilasa por medio de la presencia de azúcares reductores

## **1.4.JUSTIFICACIÓN**

### **1.4.1. Justificación técnica**

La experiencia científica combinada con la experiencia de empresas internacionales en el diseño y el mercado de alimentos funcionales, dio paso a la elaboración de productos con valor agregado en alianza con productores locales, como es el caso de la bebida no láctea de quinua en protección intelectual. Es por este motivo que resulta necesario el estudio de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles, y actividad enzimática en dicho producto.

### **1.4.2. Justificación económica**

La Organización Mundial de la Salud recomienda un consumo per cápita de 160 litros de leche al año; sin embargo, en Bolivia solo se consumen cerca de 60 habiéndose incrementado de manera rápida en los últimos 6 años, debido al impulso que el Estado Boliviano le dio con la normativa implementada en el 2011, con la creación del Fondo Proleche que ha permitido garantizar los precios a los productores primarios, fomentar la producción lechera a nivel industrial e implementar campañas intensivas de promoción. Otro mecanismo ha sido sin lugar a dudas el incremento del presupuesto para el Desayuno Escolar. Pese a los esfuerzos realizados, sin embargo, aún se tiene una brecha muy amplia entre el consumo actual y el considerado como deseable para nuestra población.

La bebida no láctea a base de quinua es un alimento con la capacidad de comportarse como la leche de vaca denominándosele, desde un punto de vista mercadotécnico como “leche de quinua”. Por las operaciones unitarias que intervienen y los controles en las diferentes etapas, este producto se podría constituir en el derivado de quinua con alto valor agregado, dentro de aquellos que se producen en nuestro país.

En lo que respecta a la producción de quinua, en las siguientes tablas se muestra cual ha sido la evolución de la misma en los últimos años:

**Tabla 1. Balance de Producción y Consumo de la Quinua, datos en TM.**

<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>2015</b>	<b>2016 (p)</b>	<b>2017 (e)</b>
PRODUCCIÓN	75.449	64.874	61.522
<b>OFERTA TOTAL</b>	<b>75.449</b>	<b>64.874</b>	<b>61.522</b>
CONSUMO INTERNO	15.493	16.419	17.332
EXPORTACIÓN	25.355	26.737	23.000 (datos a octubre)
<b>DEMANDA TOTAL</b>	<b>40.849</b>	<b>43.156</b>	<b>17.332</b>
<b>SUPERÁVIT(+)</b> / <b>DÉFICIT</b> <b>(-) APARENTE</b>	<b>34.601</b>	<b>21.718</b>	<b>21.190</b>

**Fuente:** Ministerio de Desarrollo Productivo y Economía Plural, ajustados con datos del MDPyEP.

Se plantea entonces un posible mercado para la bebida no láctea a base de quinua, dada la descripción del producto. Se podría considerar a la bebida no láctea a base de quinua como una alternativa que pueda competir con la leche de vaca así como un producto competidor con los denominados suplementos alimenticios o alimentos para regímenes especiales.

### **1.4.3. Justificación social**

En Bolivia existe un gran potencial de granos andinos y otros cultivos dada su amplia biodiversidad. Esta puede ser una oportunidad para que las comunidades productoras, como es en este caso particular la comunidad Chojñacota, puedan ofrecer al mercado

nacional o internacional productos únicos en su calidad nutricional. Este tipo de propuestas pueden contribuir a mejorar la calidad de vida de sus habitantes a través de mayores ingresos y brindándoles sustentabilidad, estabilidad y crecimiento económico a largo plazo. (INE,2012).

#### **1.4.4. Justificación ambiental**

La producción agrícola de tipo intensiva trae consigo un deterioro acelerado del medio ambiente. La propuesta del proyecto es producir materia prima de una manera amigable con el medio ambiente, respetando los ciclos del suelo y el ecosistema. Existen en el país normas legales que están relacionadas con una mejor conservación y manejo de los recursos productivos, como es la Ley 1333 del Medio Ambiente (Ley 1333, Ley del medio ambiente, 2009), cuya finalidad básica es la de proteger y conservar el medio ambiente y los recursos naturales, regulando las acciones del hombre con relación a la naturaleza y promoviendo el desarrollo sostenible cuya finalidad es mejorar la calidad de vida de la población.

### **1.5.HIPÓTESIS**

La bebida no láctea a base de quinua formulada contiene antioxidantes y también azúcares no adicionados producto de la actividad enzimática, siendo una buena opción como complemento alimenticio para personas que no consumen la leche de vaca por enfermedad o por propia elección.

## CAPÍTULO 2

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LA QUINUA

Desde el punto de vista nutricional, la quinua (*Chenopodium quinoa*) es un alimento con muchos componentes beneficiosos para la salud.

La quinua constituye una buena fuente de vitamina E y vitaminas de complejo B (riboflavina folato y tiamina); minerales tales como sodio, calcio, magnesio, potasio, fósforo, hierro y zinc. Tiene un alto contenido de fibra dietética. En cuanto a su perfil lipídico, contiene principalmente ácidos grasos poliinsaturados (ácido linoleico) seguido de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico). (Abugoch-James, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Brady *et al.*, 2007, Chauhan *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2002).

El mayor componente en los granos de quinua son los carbohidratos, que varían en un rango de 67-74% del peso seco. El almidón está presente en un rango de 52-60% del total de carbohidratos. El almidón se localiza en el perisperma de los granos y puede estar presente en unidades simples o en agregados esféricos. La cantidad de amilosa va alrededor del 11%, que en comparación a otros cereales, es una fracción más baja; por ejemplo, el arroz contiene un 17%, la cebada contiene 22% y el trigo va alrededor del 26%. (Valencia-Chamorro, 2003). Los diámetros de los gránulos de almidón son menores a los gránulos de maíz reportados (1-23 $\mu$ m) o aquellos del trigo (2-40  $\mu$ m). (Valencia-Chamorro, 2003).

Los gránulos de almidón de menor tamaño requieren una mayor temperatura de gelatinización, que en la quinua este rango está entre los 57-64° C. Otros carbohidratos encontrados en los granos de quinua en pequeñas cantidad son monosacáridos (2%), disacáridos (2,3%), fibra cruda (2,5-3,9%) y pentosas (2,9-3,6%). (Valencia-Chamorro, 2003).

Constituye una buena fuente de proteínas; el contenido proteico en los granos de quinua varían entre el 8% y el 22%, que es en promedio, un contenido más alto que aquel contenido en cereales como el arroz, trigo y la cebada (Tabla 2).

**Tabla 2.** Composición química de la quinua y otros cereales (g/100 g peso seco)

	<b>Quinua</b>	<b>Cebada</b>	<b>Maíz</b>	<b>Arroz</b>	<b>Trigo</b>	<b>Avena</b>
<b>Proteína</b>	16,5	10,8	10,22	7,6	14,3	11,6
<b>Grasas</b>	6,3	1,9	4,7	2,2	2,3	5,2
<b>Fibra</b>	3,8	4,4	2,3	6,4	2,8	10,4
<b>Cenizas</b>	3,8	2,2	11,7	3,4	2,2	2,9
<b>Carbohidratos</b>	69,0	80,7	81,1	80,4	78,4	69,8

Fuente: Valencia- Chamorro, 2003. Adaptación

En los granos andinos como la quinua, las globulinas y las albúminas constituyen la mayor fracción proteica (44-77% de la proteína total), que es mayor a la fracción de prolaminas (0,5-7%). La quinua es considerada como un grano libre de gluten porque contiene mínimas cantidades de prolamina. La quinua constituye un alimento muy accesible y adecuado para la gente que sufre intolerancia al gluten y celiacía. (Valencia- Chamorro, 2003).

La quinua contiene un buen balance proteico; su contenido en lisina es excepcionalmente alto. La lisina generalmente no es una proteína abundante en vegetales. El contenido proteico de los granos está en rangos de 14-20%, particularmente ricos en aminoácidos esenciales como lisina y metionina (Tabla 3).

**Tabla 3.** Aminoácidos esenciales en la quinua y otros alimentos (g/100 g proteína)

	Quinua	Maíz	Arroz	Trigo	Leche de vaca	FAO*
<b>Histidina</b>	3,2	2,6	2,1	2,0	2,7	2,6
<b>Isoleucina</b>	4,9	4,0	4,1	4,2	10,0	4,6
<b>Leucina</b>	6,6	12,5	8,2	6,8	6,5	9,3
<b>Lisina</b>	6,0	2,9	3,8	2,6	7,9	6,6
<b>Metionina<sup>a</sup></b>	5,3	4,0	3,6	3,7	2,5	4,2
<b>Fenilalanina<sup>b</sup></b>	6,9	8,6	10,5	8,2	1,4	7,2
<b>Treonina</b>	3,7	3,8	3,8	2,8	4,7	4,3
<b>Triptófano</b>	0,9	0,7	1,1	1,2	1,4	1,7
<b>Valina</b>	4,5	5,0	6,1	4,4	7,0	5,5

\*como lo reportado por Koziol (1992); <sup>a</sup>metionina + cistina; <sup>b</sup>fenilalanina + tirosina  
Fuente: Koziol, 1992. Adaptación

Los granos de quinua tienen alto contenido en fitosteroles y escualeno, que son compuestos que ayudan a reducir niveles de colesterol. (Abugoch-James, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Brady *et al.*, 2007, Chauhan *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2002).

Tienen un alto grado de digestibilidad con efecto prebiótico. Tienen un índice glucémico bajo, lo que le otorga propiedades gluco regulatorias. Aporta beneficios hipocolesterolémicos ejerciendo un efecto de protección contra enfermedades cardiovasculares. Adicionalmente, la quinua tiene efectos anti tumorales, por lo que puede jugar un rol importante contra algunos tipos de cáncer, como el cáncer de colon. Tiene también propiedades antiinflamatorias y antianémicas. (Abugoch-James, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Brady *et al.*, 2007, Chauhan *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 2002).

### **2.1.1.1. Utilización de la quinua como materia prima para una bebida no láctea**

Las bebidas no lácteas de origen vegetal son productos obtenidos por emulsificación.

En general, las bebidas elaboradas a partir de nueces, almendras y otros frutos secos son emulsiones en las que las grasas contenidas en estos frutos son dispersadas en una fase acuosa. El resto de los componentes juegan distintos papeles en la estabilidad del producto. En el caso de la quinua, al no contener un gran porcentaje de grasas, debe ser emulsionada con pequeñas proporciones de aceite vegetal.

Para la elaboración de la bebida no láctea a base de quinua, se realiza un pretratamiento de los granos. Éstos son remojados previamente en agua atemperada por un lapso de tiempo y luego son llevados a su homogenización. Una vez obtenida una mezcla homogénea, ésta es tamizada para retirar las partículas más grandes y obtener una preparación con menor espesor. Este líquido obtenido es emulsionado con aceite vegetal, sometido a tratamiento térmico y enfriado. Para la preparación de la bebida no láctea con enzimas añadidas, una vez obtenida la mezcla de granos y agua homogenizados, se procede a incubar la bebida por un tiempo y a una temperatura determinados. Pasado el tiempo de incubación, se procede al tamizado y a la emulsificación, tratamiento térmico y enfriado de la bebida no láctea.

Las diferentes etapas del proceso de elaboración de la bebida no láctea a base de quinua, como la homogenización, los tratamientos térmicos y especialmente la actividad enzimática usualmente producen cambios estructurales en los componentes, por lo que se modifica el color y el tamaño de la partícula de quinua, la viscosidad y la estabilidad del producto. Estos cambios fisicoquímicos deben ser estudiados e identificados para poder controlar eficientemente el proceso de elaboración y para poder implementar mejoras que sean necesarias en las líneas de producción. (Bernat, 2013).

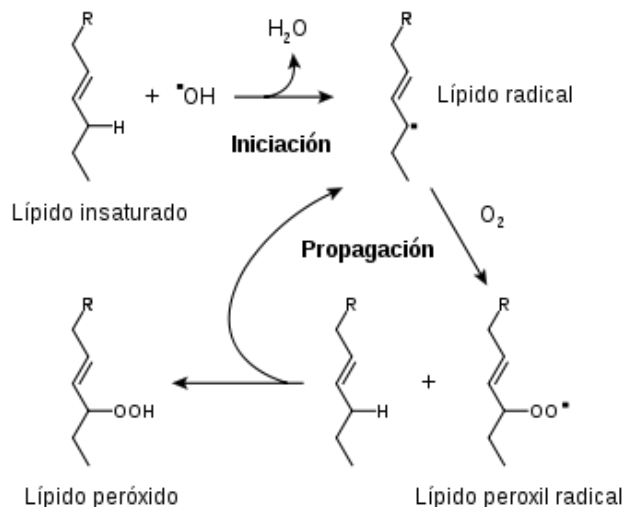
En cuanto a los beneficios que pueden aportar la quinua al ser incorporada a la dieta, se pueden citar varios; los granos son libres de lactosa, gluten y colesterol, por lo que son aconsejables para el consumo de personas celiacas, diabéticas e intolerantes a la lactosa.



### 2.1.2. ANTIOXIDANTES: COMPUESTOS FENÓLICOS

Los antioxidantes son compuestos químicos presentes en la naturaleza en muchas variedades de plantas y alimentos pero también pueden ser sintetizados. Tienen la propiedad de retrasar la oxidación de un sustrato oxidable por medio de varios mecanismos como la quelación de radicales libres e interceptación de oxígeno libre. Los antioxidantes sintéticos han sido usados como aditivos alimentarios por décadas con el fin de mantener la calidad de productos, básicamente al prevenir la degradación de lípidos. (Peñarrieta, 2009).

La peroxidación de lípidos comienza cuando un ácido graso poliinsaturado libera radicales libres debido a la influencia de luz UV, calentamiento o catálisis metálica, etc. Los radicales libres luego forman radicales peroxi, junto a otros compuestos radicales y peróxidos. (Figura 2)



**Figura 2.** Mecanismo de peroxidación de lípidos

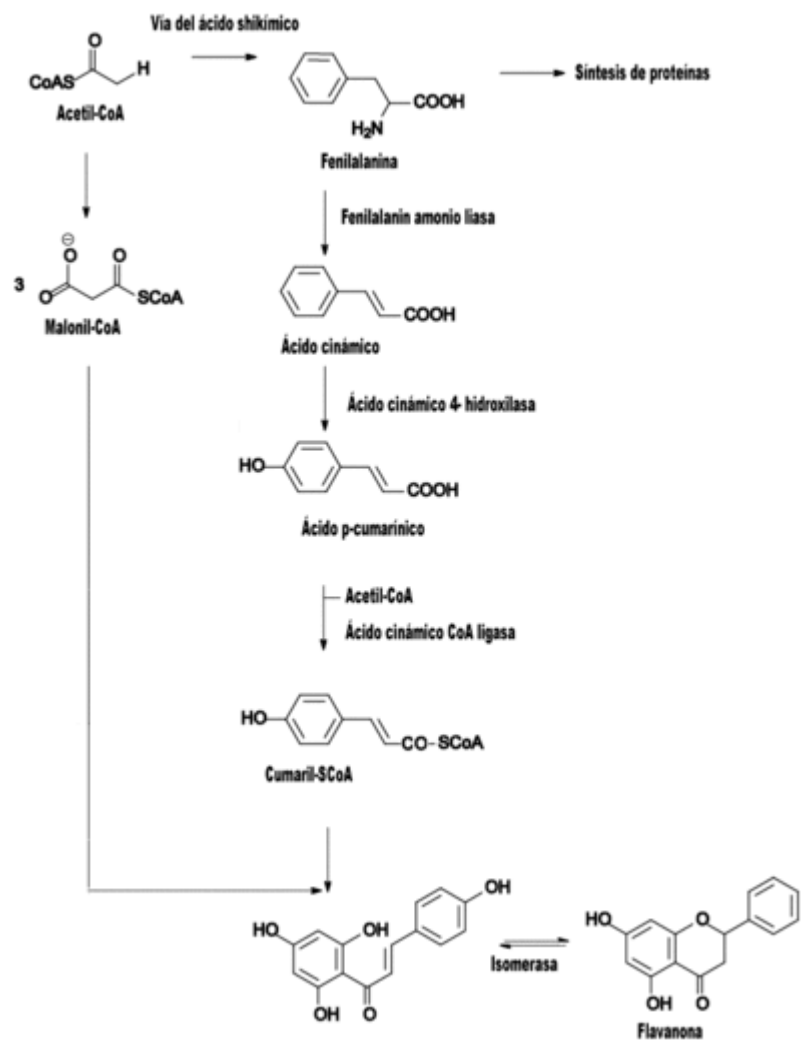
**Fuente:** Marnet, 1999

La hipótesis concerniente a los compuestos antioxidantes es que previenen la oxidación debido a su capacidad de atrapar radicales libres y retardar la peroxidación lipídica,

reduciendo de esta forma daño celular por inhibición de la oxidación de lipoproteína de baja densidad y protegiendo el ADN. Las vitaminas E y C, junto a compuestos fenólicos, son los principales antioxidantes que encontramos en alimentos de origen vegetal. La capacidad antioxidante de compuestos fenólicos está basada en su habilidad de acomplejar radicales libres. (Peñarrieta, 2009)

#### **2.1.2.1. Biosíntesis de compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se forman en las plantas por medio de la ruta metabólica del ácido shikímico. El proceso enzimático en la planta comienza con la producción de fenilalanina y tirosina. La fenilalanina es el sustrato sobre el que actúa la fenilalanina amonio-liasa, una enzima clave que conduce a la formación de la mayor parte de compuestos fenólicos. Otros compuestos fenólicos como el ácido gálico y sus derivados son formados a partir del 3-dehidroshiquimato por medio de la catálisis de la dehidroshiquimato dehidrogenasa. El metabolismo central de la ruta del fenilpropanoide comienza cuando la fenilalanina amonio-liasa convierte la fenilalanina en ácido cinámico y es hidroxilada por la ácido cinámico 4-hidroxilasa. Finalmente, el ácido 4-cumárico es esterificado por la coenzima A de la ácido 4-cumárico:CoA ligasa. La biosíntesis de flavonoides continúa por la ruta del fenilpropanoide, comenzando con la formación de chalconas a través de una reacción catalizada por la chalcona sintetasa utilizando el ácido 4-cumárico:CoA y la malonil-CoA como sustratos. Los diferentes grupos de flavonoides son formados en reacciones enzimáticas específicas. (Paiva, 2000; Anttonen, 2007). (Figura 3)



**Figura 3.** Ruta del ácido shikímico. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.2. Compuestos fenólicos y su importancia biológica

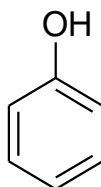
Los compuestos fenólicos son moléculas que contienen uno o más grupos hidroxilo enlazados a un anillo aromático. Junto a las vitaminas, los compuestos fenólicos son considerados importantes componentes antioxidantes, en alimentos como frutas, vegetales, tubérculos y cereales. Miles de compuestos fenólicos son encontrados en plantas y son clasificados en diferentes tipos de grupos funcionales (Vermerris y

Nicholson, 2008). Juegan un importante papel en funciones metabólicas en plantas, como el crecimiento y la reproducción, protección contra patógenos y factores externos de estrés como la radiación UV y depredadores (Bravo, 1998). Estos compuestos son también responsables por los colores y características sensoriales, como la astringencia de frutas y vegetales (Alasalvar et al., 2001).

### **2.1.2.3. Clasificación de compuestos fenólicos presentes en alimentos**

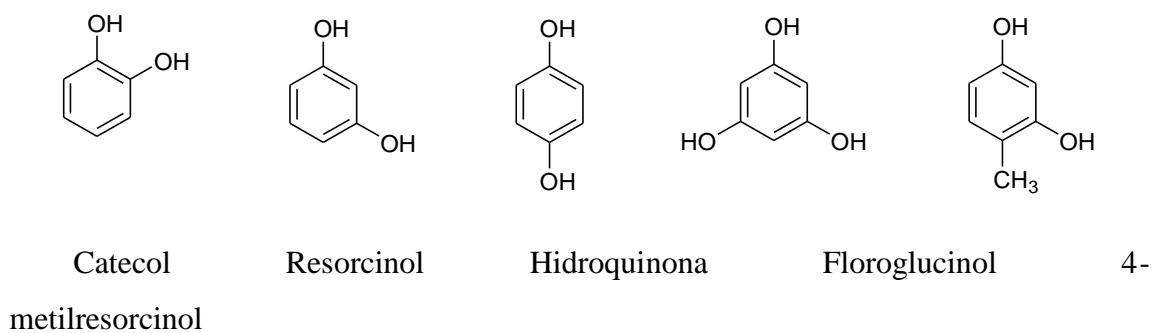
#### **2.1.2.3.1. Fenoles simples**

Presentes en variedad de cereales (Ross et al., 2003), particularmente el resorcinol y el 4-metilresorcinol son encontrados en varios alimentos bolivianos (Peñarrieta, 2009). (Figura 4)



**Figura 4.** Estructura química del fenol. Fuente: Peñarrieta, 2009

En este grupo también se encuentran: el catecol, hidroquinonas, floroglucinol. Existe evidencia de que aparte de sus propiedades antioxidantes, estos compuestos fenólicos tienen una importante actividad biológica como la antimicrobial, antiparasitaria y citotóxica (Kozubek y Tyman, 1999). (Figura 5)

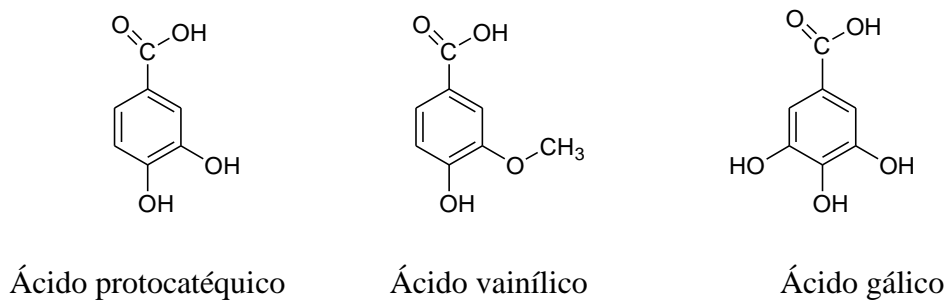


**Figura 5.**Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.  
**Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.3.2. Ácidos fenólicos

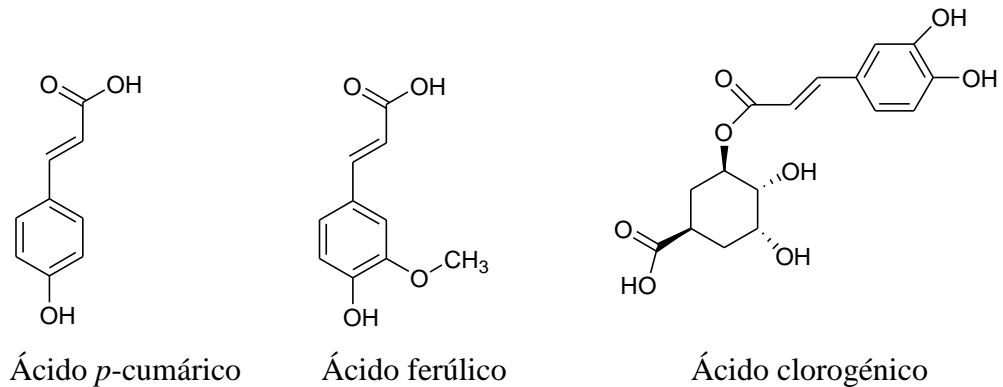
Estos ácidos se constituyen en 2 grupos:

- **Ácidos hidroxibenzoicos:** ácido protocatéquico, ácido vainílico y ácido gálico (Figura 6)



**Figura 6.**Acidos Hidroxibenzoicos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

- **Ácidos hidroxicinámicos:** ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido clorogénico. (Figura 7)



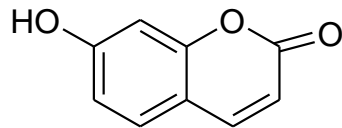
**Figura 7.** Ácidos hidroxicinámicos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

Los ácidos hidroxibenzoicos están presentes en frutas, vegetales y cereales. Muchos estudios reportaron la actividad biológica de los ácidos hidroxibenzoicos, como la del ácido protocatechuico, que tiene un efecto protector contra lesiones hepáticas en modelos animales (Liu et al., 2002). Ejemplos de fuentes alimenticias de ácido hidroxicinámico son las uvas, manzanas, moras, espinaca, brócoli, col rizada, café y cereales (Clifford et al., 2000). Sumada a la actividad antioxidante de los ácidos hidroxicinámicos, se ha demostrado que tienen actividad antígenotóxica y antiproliferativa a nivel celular. (Ferguson et al., 2005; Janicke, et al., 2005).

### 2.1.2.3.3. Cumarinas

Las cumarinas están ampliamente distribuidas en frutas y vegetales (Hoult y Paya, 1996). El compuesto más representativo de este grupo es la umbeliferona, que tiene una

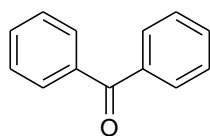
considerable actividad antioxidante (Ramesh y Pugalendi, 2006), como también propiedades antibacteriales (Taechowisan et al., 2008). (Figura 8)



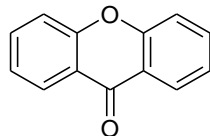
**Figura 8.** Umbeliferona. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.3.4. Xantonas, estilbenos y benzofenonas

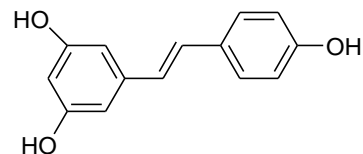
Estos tres compuestos son hallados naturalmente en muchas variedades vegetales. Por ejemplo, las xantonas y las benzofenonas han sido halladas en tubérculos y frutos exóticos (Dua et al., 2009; Masullo et al., 2008), mientras que los estilbenos han sido hallados en diferentes tipos de frutas, en particular en uvas (Shakibaei et al., 2009; Versari et al., 2001). En cuanto a la actividad biológica de estos compuestos, se puede mencionar que el resveratrol (estilbeno) actúa previniendo varias enfermedades crónicas tales como las inflamaciones y la artritis, enfermedad cardiovascular y en el retardar el envejecimiento. (Shakibaei et al., 2009), mientras que las xantonas tienen una actividad antiprotozoaria, incluyendo actividad contra la Leishmania (Dua et al., 2009). (Figura 9)



Benzofenona



Xantona

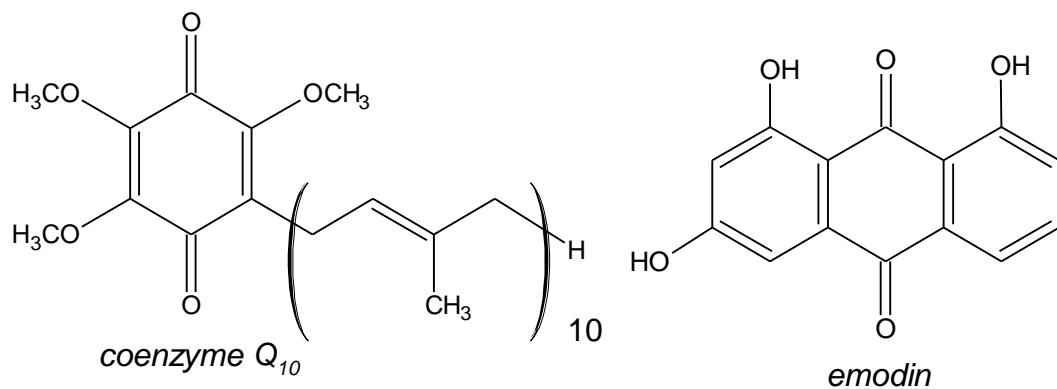


Resveratrol

**Figura 9.** Xantonas, estilbenos y benzofenonas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.3.5. Quinonas

Pueden ser también clasificadas como ubiquinonas, con la coenzima Q10 como el máximo representante. Estas moléculas han demostrado tener propiedades redox y la coenzima Q10 es considerada un potente antioxidante (Petillo y Hultin, 2009). (Figura 10)

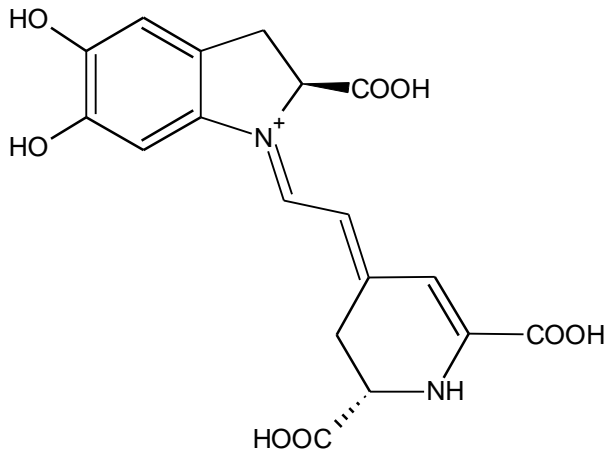


**Figura 10.** Quinonas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.3.6. Betacianinas

Estos compuestos son pigmentos presentes en alimentos como la remolacha. La betanidina y la isobetanidina han sido identificadas como las moléculas responsables de proporcionarle el color rojizo a la remolacha (Kujala et al., 2000). Las betacianinas también han sido halladas en tunas (Felker et al., 2008) y en el ulluco (Campos et al., 2006). Se ha demostrado en ensayos *in vitro* que la betanidina de la remolacha tiene una alta capacidad antioxidante (Kanner et al., 2001). (Figura 11)

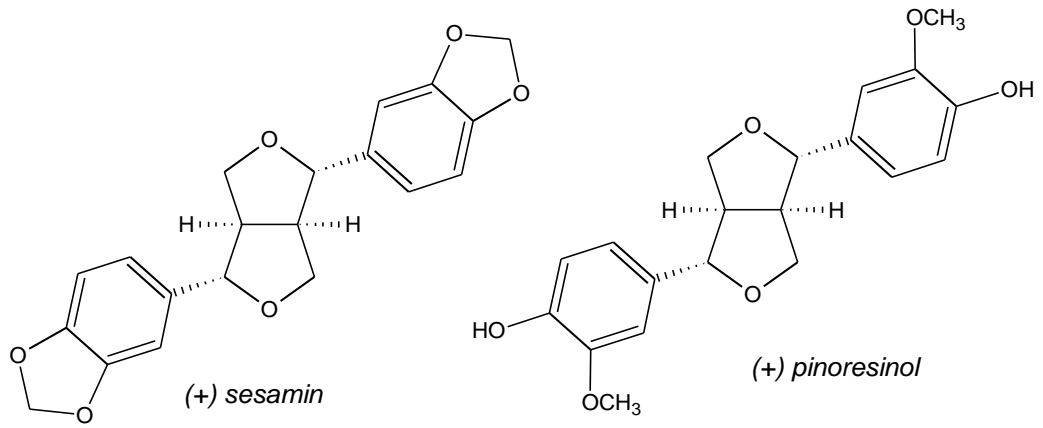




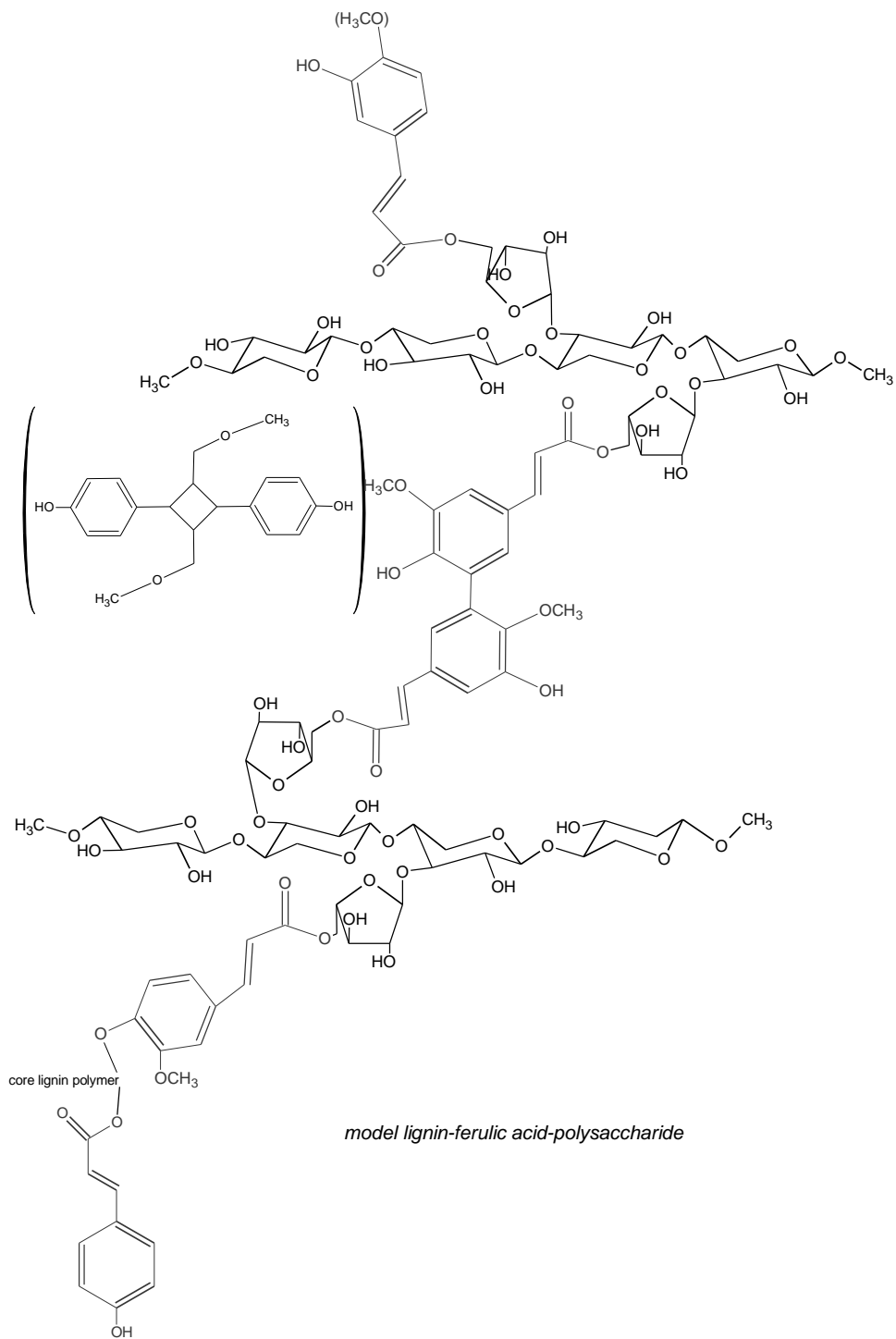
**Figura 11.**Betanidina. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.3.7. Lignanos y ligninas

Los lignanos son compuestos presentes en muchos alimentos como granos, vegetales y uvas (Milder et al., 2005). Se ha demostrado que tienen una capacidad antioxidante significativa y son considerados como fuente de fitoestrógenos, en particular el sesamol. (Sadeghi et al., 2009). Por otro lado, las ligninas son polímeros fenólicos complejos considerados en ser los segundos biopolímeros más abundantes en el reino vegetal después de la celulosa. La función biológica que cumplen estas moléculas es la de proveer soporte estructural a las plantas. (Vermerris y Nicholson, 2008). Sus estructuras químicas son heterogéneas ya que se componen de polímeros complejos y constituyen parte de la fibra dietaria presente en alimentos. Están formados por compuestos fenólicos polimerizados con azúcares. Están presentes en varios alimentos de origen vegetal, particularmente en cereales integrales y han demostrado una considerable capacidad antioxidante a nivel de glóbulos rojos en sangre humana (Vinardell et al., 2007). (Figuras 12 y 13)



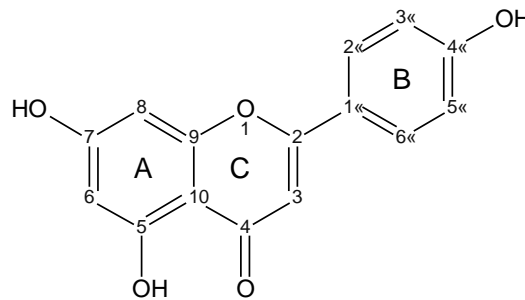
**Figura 12.** Lignanos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009



**Figura 13.** Ligninas (modificada de Mongeau and Brooks, 2001). **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4. Compuestos polifenólicos: los Flavonoides

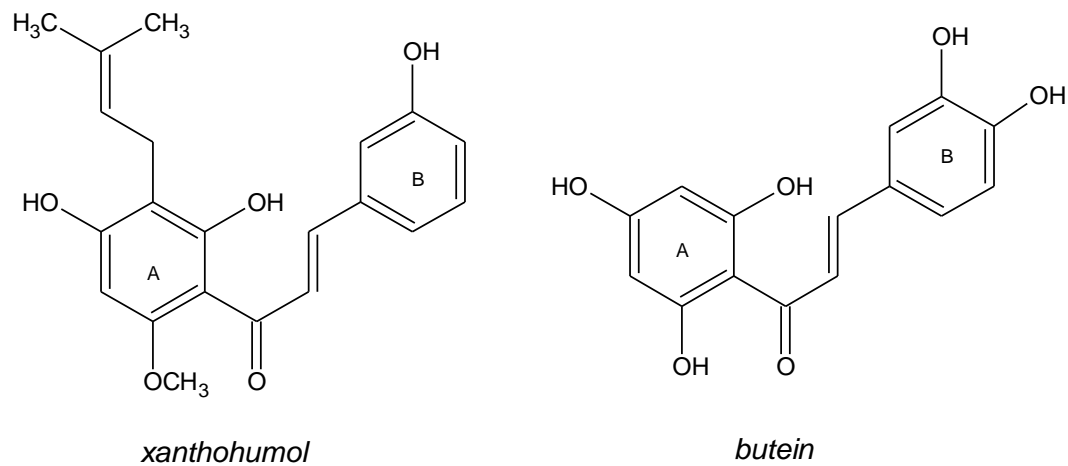
Los flavonoides son un tipo particular de polifenoles presentes en plantas y son los compuestos responsables de la coloración de flores y frutas. El término flavonoide viene del latín “*flavus*” que significa amarillo, ya que varios flavonoides purificados son de color amarillo (Peñarrieta, 2009). (Figura 14)



**Figura 14.**Estructura básica de un flavonoide. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

##### 2.1.2.4.1. Chalconas

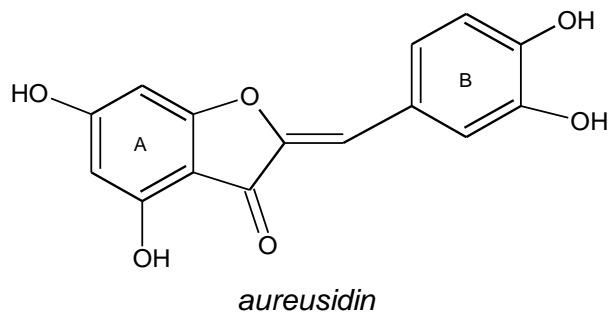
Las chalconas son pigmentos amarillos en parte responsables por la coloración de flores y frutas. Por ejemplo, la buteína es una chalcona aislada a partir de flores (Davie et al., 1998). Otros tipos de chalconas de interés han sido halladas en cerveza, como el xantohumol, presente en el lúpulo y posee propiedades antibacteriales. (Yamaguchi et al., 2009). (Figura 15)



**Figura 15.**Chalconas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.2. Auronas

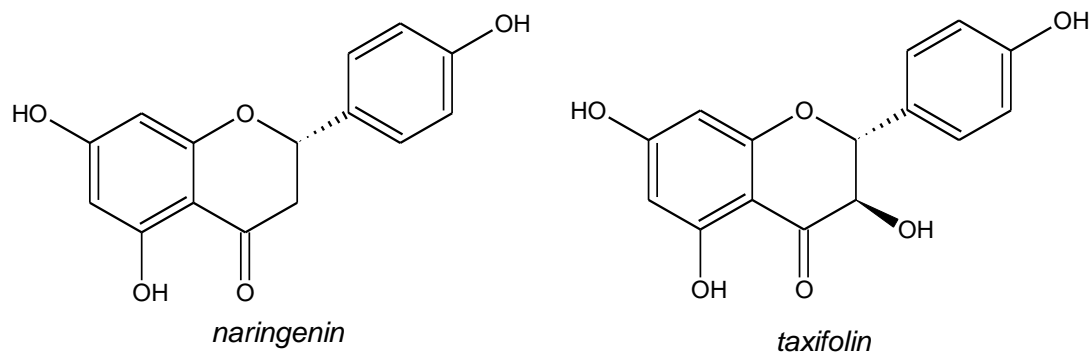
Al igual que las chalconas, las auronas son también pigmentos de color amarillo, como la aureusidina que está presente en flores (Eiichiro et al., 2006). Se ha descubierto que tienen varios tipos de actividad biológica; citotóxica, antiparasitaria y antifúngica. (Morimoto et al., 2009). (Figura 16)



**Figura 16.** Estructura de una aurona común. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.4.3. Flavononas y flavonoles

Este tipo de flavonoides están presentes en la dieta a través de las frutas. Por ejemplo, la naringenina es uno de los compuestos responsables por la acidez de las frutas cítricas, mientras la taxifolina ha sido encontrada en frutos de acai (Pacheco-Palencia et al., 2009). Con respecto a su actividad biológica, se ha hallado que la taxifolina inhibe la síntesis y secreción de una gran cantidad de lípidos en carcinoma hepatocelular en células humanas hepáticas (HepG2), mientras que las flavononas incluida la naringenina demuestran tener propiedades antiinflamatorias. (Vafeiadou et al., 2009). (Figura 17)



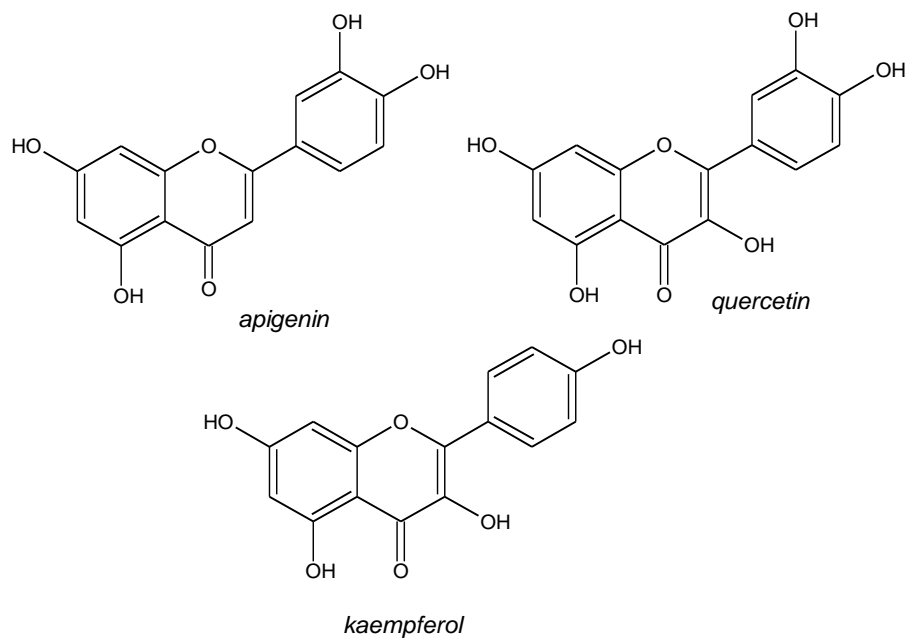
**Figura 17.**Flavononas y flavonoles. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### 2.1.2.4.4. Flavonas y flavonoles

Las flavonas y flavonoles están usualmente presentes en alimentos en forma de O-glicósidos y C-glicósidos. Los flavonoides sin azúcares ligados son llamados aglicones y no están presentes en alimentos frescos, pero sí pueden resultar después de su procesamiento (Hollman y Arts, 2000).

Una de las flavonas más comunes es la apigenina, hallada en alimentos como la oca (Chirinos et al., 2009). En el caso particular de flavonoles, la quercetina y el kaempferol

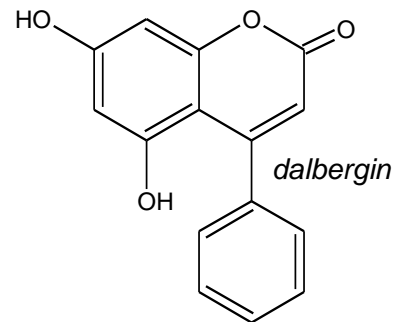
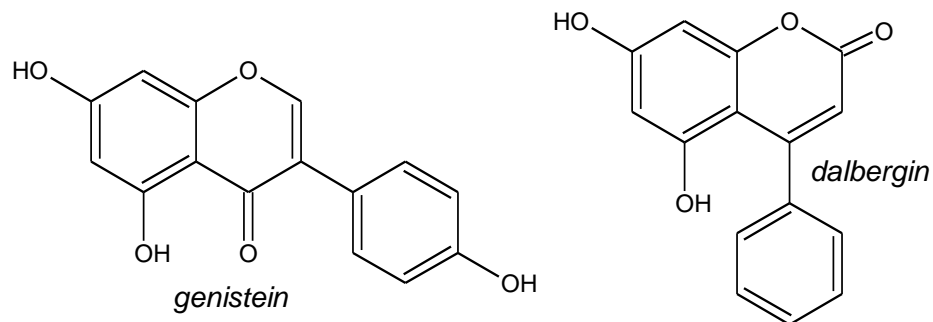
son los compuestos más comúnmente encontrados en alimentos como glicósidos (Hertog et al., 1992). Con respecto a sus propiedades alimenticias, se ha demostrado en extractos que los flavonoles y flavonas exhiben varios tipos de actividad biológica, tales como propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antigenotóxicas y antihiperglucemiantes (Singh et al., 2009; Benavente-García y Castillo, 2008; Ani y Naidu, 2008). (Figura 18)



**Figura 18.**Estructuras de flavonoles y flavonas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.5. Isoflavonas y neoflavonoides

En alimentos, las isoflavonas están presentes en habas de soja y lupino andino (Babaoglu et al., 2004) mientras que los neoflavonoides son compuestos poco comunes que solo pueden ser encontrados en especies como *Dalbergia sp.*, que son plantas medicinales originarias de China (Li et al., 2007). Las isoflavonas son clasificadas como fitoestrógenos debido a sus efectos estrogénicos; por otra parte también presentan efectos en la salud al consumirlos como protección contra cáncer de próstata y seno, contra enfermedades cardiovasculares, contra cáncer relacionado a hormonas, contra síntomas de la menopausia. También tienen efectos antioxidantes, antiinflamatorios y vasodilatadores (Steiner et al., 2008; Schwartz et al., 2009). (Figura 19)



**Figura 19.** Estructuras de isoflavonas y neoflavonoides. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

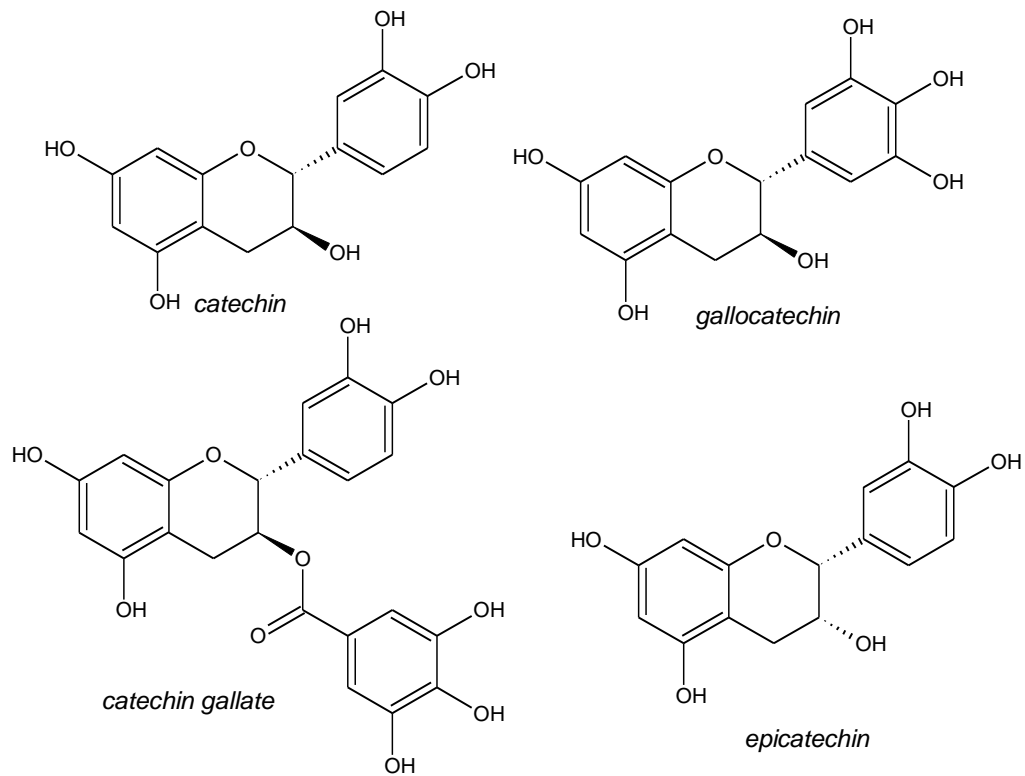


#### **2.1.2.4.6. Flavan-3-oles**

Los flavan-3-oles o flavanos son un grupo de flavonoides que contienen los siguientes compuestos:

#### **2.1.2.4.7. Catequinas**

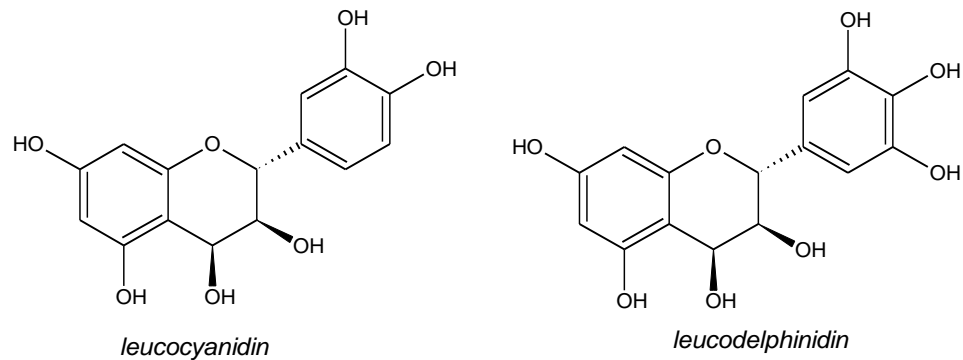
Presentes en la naturaleza como agliconas. Son el tipo más común de flavan-3-oles. El término catequina es derivado de la mimosa (*Cassia catecú*) de la cual el catecol fue aislado por primera vez (Zheng et al., 2008). Están presentes en muchos alimentos de origen vegetal, las fuentes más populares son las pepas de cacao, té, arándanos y vino. El efecto astringente en la boca después de comer un chocolate, de tomar té verde o vino, es en parte debido a la presencia de estos compuestos. Son considerados bioactivos, ya que su consumo es asociado con la inhibición de la trombosis en sangre, actividad antiinflamatoria, reducción del colesterol total y lipoproteína de baja densidad *in vivo* como parte de su alta capacidad antioxidante (Aron y Kennedy, 2008). (Figura 20)



**Figura 20.** Catequinas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.8. Leucoantocianinas

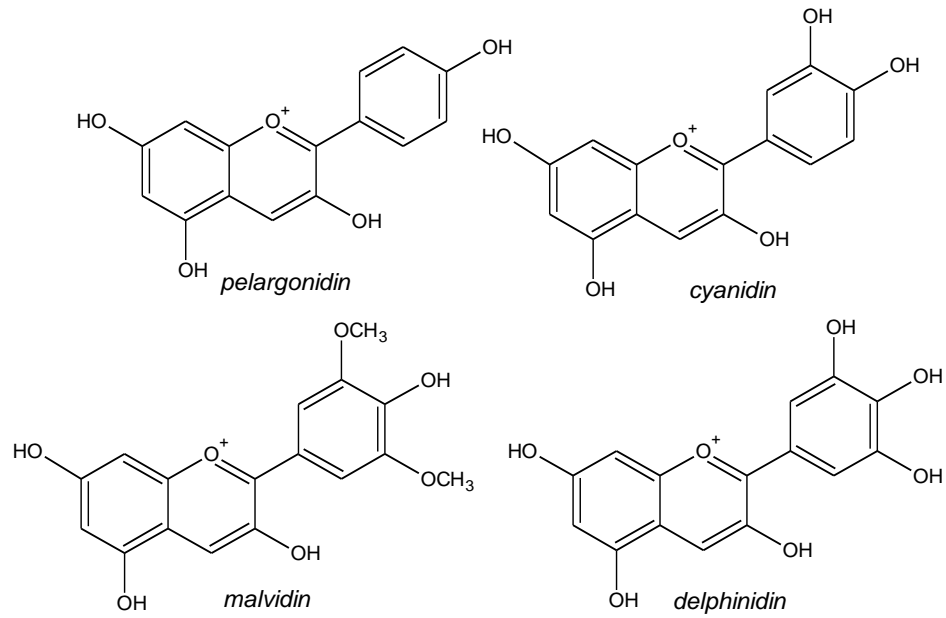
Las leucoantocianinas están presentes en plantas y son precursoras de las antocianinas, catequinas y taninos. Por ejemplo, se descubrió que la leucocianidina es precursora en la biosíntesis de flavonoides en frutillas (Almeida et al., 2007). (Figura 21)



**Figura 21.**Estructuras de leucoantocianinas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.9. Antocianidinas

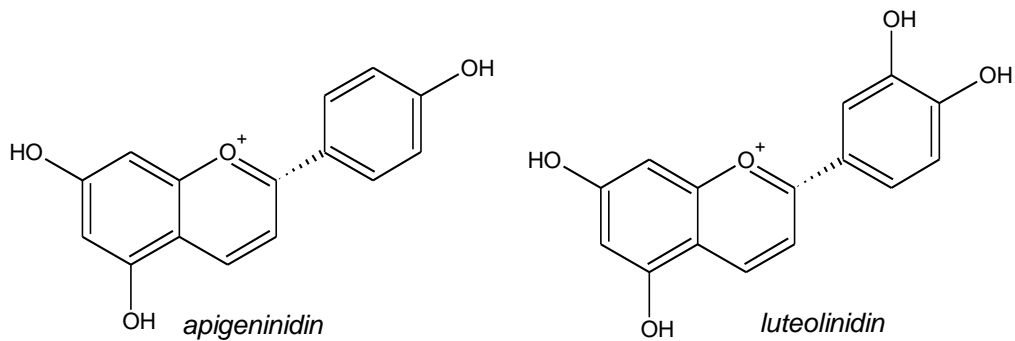
Son agliconas de antocianinas y están ampliamente distribuidas, las principales antocianidinas son: cianidina, pelargonidina, peonidina, delfinidina, petunidina y malvidina (Vermerris y Nicholson, 2008). Como sus nombres lo indican, son las responsables por las coloraciones rojas, naranjas, azules, violetas y moradas en frutas, flores y otras partes de las plantas. Su color depende del pH, de los iones metálicos presentes y de la combinación de diferentes antocianidinas. La cianidina es la antocianidina más común en alimentos. Las antocianidinas están ampliamente distribuidas en alimentos de origen vegetal, como las ocas. (Peñarrieta, 2009). Algunos de estos compuestos fueron identificados y cuantificados en frutillas silvestres (*Fragaria vesca*) colectadas entre 2650 y 3200 metros sobre el nivel del mar en Bolivia, donde se mostró el contenido de cianidina en frutillas silvestres decrece en función a la altura.(Peñarrieta et al., 2009) (Figura 22)



**Figura 22.**Antocianidinas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.10. Deoxiantocianidinas

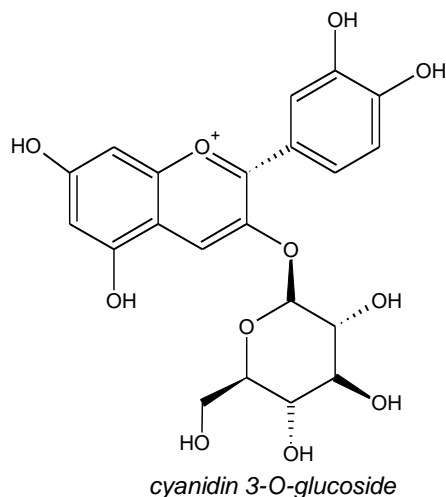
Estos son también compuestos coloridos como las antocianidinas, han sido hallados en cereales como el sorgo (Dykes et al., 2009). (Figura 23)



**Figura 23.**Estructuras de deoxiantocianidinas. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.11. Antocianinas

Las antocianinas son glicósidos de antocianidinas. Como las antocianidinas, están presentes en gran variedad de alimentos y son responsables de la coloración de frutas y flores. Junto a los taninos, son responsables de la coloración rojiza de vino añejados (Rovner, 2006). Las antocianinas son utilizadas en la industria alimenticia como colorantes naturales y están mencionadas en el *Codex alimentarius* como el aditivo E169. Debido a su capacidad antioxidante, las antocianidinas y las antocianinas están asociadas a beneficios de la salud. Por ejemplo, su consumo ha sido asociado a la prevención de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo como lo son las enfermedades coronarias y el cáncer (Lazze et al., 2006; Pascual-Teresa y Sanchez-Ballesta, 2008). (Figura 24)



**Figura 24.**Antocianina 3-glucosido. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

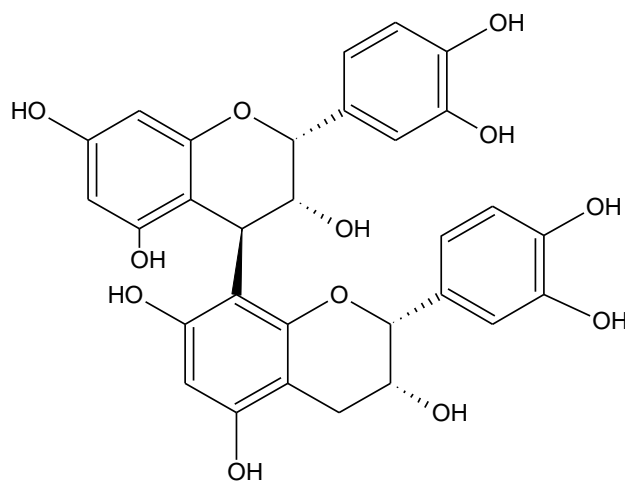
#### 2.1.2.4.12. Taninos

Los taninos son compuestos fenólicos diversos con la particularidad de ligar y precipitar proteínas. El nombre de taninos se refiere al proceso de “tanning” (curtido de cueros). Originalmente, los taninos extraídos de las plantas fueron utilizados para dicho proceso

hasta que fueron remplazados por minerales durante el siglo pasado. Los taninos están presentes en hojas, frutos y cortezas. Se encuentran en el roble (*Quercus* sp.), Castaño (*Castanea* sp.), entre otros (Peñarrieta, 2009). Estos compuestos complejos actúan en mecanismos de protección de plantas contra infecciones y herbívoros (Vermerris y Nicholson, 2008). Los taninos están clasificados en 3 grupos de acuerdo a su estructura química:

#### 2.1.2.4.13. Taninos condensados

Son derivados de flavan-3-oles encontrados como monómeros así como unidades estructurales en cadenas de proantocianidinas que van desde catequinas y/o dímeros de derivados de catequinas a polímeros más grandes (Peñarrieta, 2009). (Figura 25)



**Figura 25.** Procyanidina B<sub>2</sub>. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

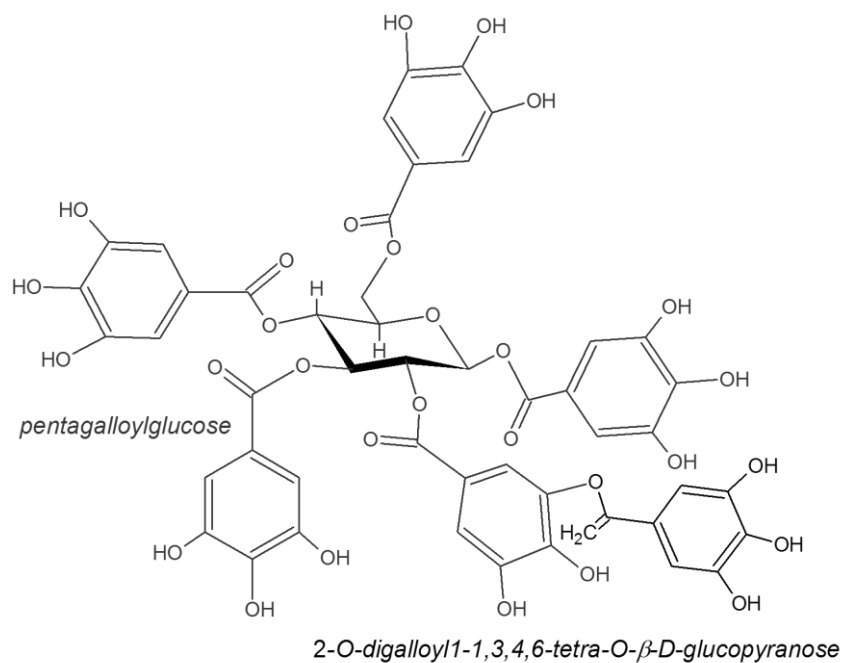
#### 2.1.2.4.14. Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables consisten principalmente en elagitaninos, galotaninos y ácido elágico conjugados o formas conjugadas de ácido gálico hallados en frutillas y otras plantas (Salminen et al., 1999).

##### - Galotaninos

Estos complejos compuestos consisten básicamente en un núcleo de glucosa u otro azúcar, esterificado con ácido gálico y sus derivados, que los hace solubles en agua. Están presentes en varias frutas como uvas, frutillas y frambuesas.

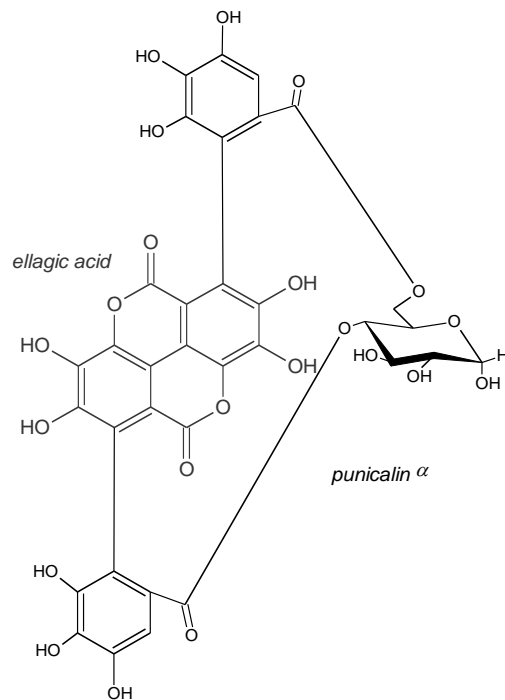
Se ha demostrado que tienen una actividad antioxidante y antibacterial y son considerados productos prometedores para su uso como aditivos naturales en procesamiento de alimentos (He et al., 2006). (Figura 26)



**Figura 26.** Ejemplos de galotaninos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

## - Elagitaninos

Los elagitaninos están compuestos por un núcleo poliol (glucosa o ácido quínico) y ésteres de ácido hexahidroxifenólico. En presencia de de ácidos o bases, el ácido hexahidroxifenólico espontáneamente se reordena para formar el ácido elágico, razón por la que son llamados elagitaninos (Clifford y Scalbert, 2000). Los elagitaninos son encontrados principalmente en frutas como el mango y las bayas. Aparte de su actividad antioxidante, el ácido elágico ha demostrado actividad antibacterial *in vitro*. Sin embargo, así como tiene efectos benéficos en la salud, también se ha detectado hepatotoxicidad asociada a su consumo en roedores y rumiantes (Clifford y Scalbert., 2000). (Figura 27)

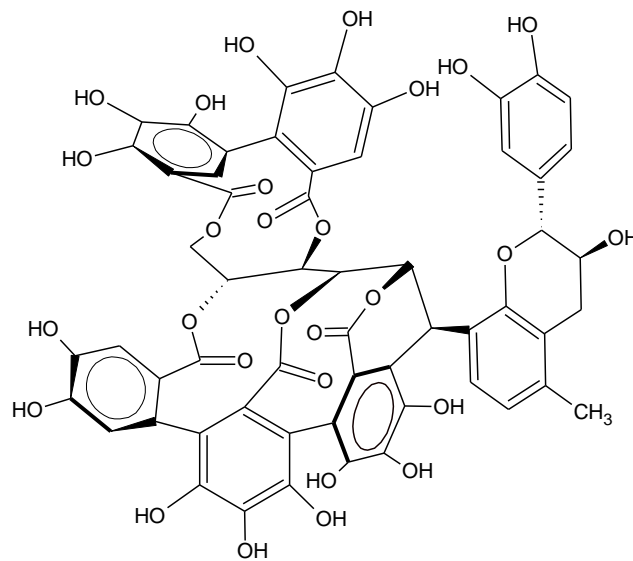


**Figura 27.**Elagitaninos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009



#### 2.1.2.4.15. Taninos complejos

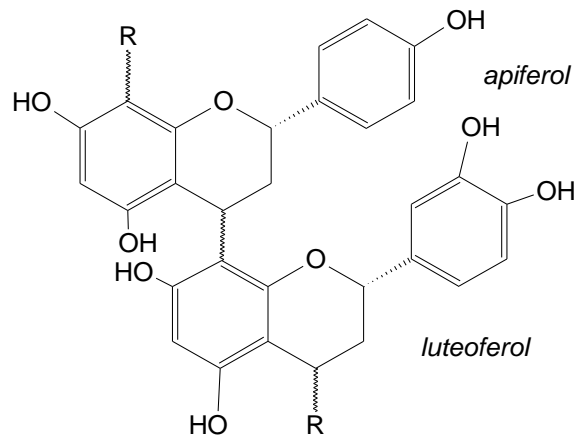
Los taninos complejos contienen unidades de catequina enlazadas a galotaninos o elagitaninos, han sido hallados como productos del añejado de vinos tintos, debido a la reacción entre las catequinas presentes en las uvas y galotaninos contenidos en los barriles de roble. La acutissimina A es un ejemplo de tanino complejo encontrado en el vino tinto. Esta sustancia es capaz de inhibir el crecimiento de células cancerígenas y es un posible ingrediente activo para un medicamento nuevo (Quideau et al., 2003). (Figura 28)



**Figura 28.** Acutissimina A. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

#### 2.1.2.4.16. Flobafenos

La estructura química de flobafenos (phlobaphenes) es poco conocida. Se les describe como polímeros de flavan-4-oles. Como ejemplo se pueden tomar las estructuras monómero básicas que corresponden a apiferol y luteoferol (Figura 29). Estos compuestos están presentes en el maíz (*Zea mays*) y sorgo (*Sorghum bicolor*) y pueden ser parcialmente responsables del color rojo de algunas variedades de estos cultivos (Vermerris y Nicholson, 2008).



**Figura 29.**Flobafenos. **Fuente:** Peñarrieta, 2009

### **2.1.3. ENZIMAS**

#### **2.1.3.1. Definición de enzima y actividad enzimática**

Por definición, las enzimas son proteínas que catalizan reacciones biológicas específicas con una extraordinaria eficacia. Las dos características sobresalientes de las enzimas son la aceleración de las velocidades de reacción (sin afectar su equilibrio) y la especificidad de acción.

La especificidad de las enzimas son la principal diferencia con los catalizadores no biológicos; las enzimas muestran varios grados de especificidad, como:

- Baja especificidad. La enzima no discrimina entre sustratos, sino que se muestra específica únicamente para el enlace a atacar.
- Especificidad de grupo. La enzima es específica para un enlace químico particular adyacente a un grupo determinado.
- Especificidad absoluta. La enzima solo ataca un sustrato y lo cataliza solo una reacción. La mayor parte de las enzimas pertenecen a esta categoría.
- Especificidad estereoquímica. Por regla general, las enzimas muestran una infalible y completa estereoespecificidad en la catálisis y pueden distinguir entre isómeros ópticos o geométricos.

La catálisis se caracteriza por facilitar una reacción mediante la reducción de su energía de activación.

Los ensayos enzimáticos son métodos de ensayo químico para medir actividades enzimáticas. Son vitales para el estudio de las cinéticas enzimáticas y la inhibición enzimática. (Fennema, 1993)

Las cantidades de enzima pueden ser expresadas en moles, como las de cualquier otro compuesto químico, o pueden ser cuantificadas en términos de actividad enzimática. La actividad enzimática es una medida de la cantidad de enzima activa presente y del nivel de actividad de la misma, por lo que la medida de la actividad es

dependiente de las condiciones, que deben ser especificadas cuando se dan valores de actividad. La actividad expresa la cantidad de sustrato convertido por unidad de tiempo, teniendo en cuenta el volumen de reacción (Fennema, 1993) Todos los ensayos enzimáticos miden el sustrato consumido o el producto generado en la reacción durante un tiempo. Existe un gran número de métodos diferentes para medir la concentración de sustratos y productos, y muchas enzimas pueden ser ensayadas de diferentes maneras (Fennema, 1993)

Los ensayos enzimáticos pueden dividirse en dos grupos según la manera en que se sigue la medición. Por una parte están los ensayos continuos, en los que el método ofrece una lectura continua de la actividad monitorizando a tiempo real el sustrato consumido o el producto generado. Por otra parte existen ensayos discontinuos, en los que la reacción se detiene en un punto y se mide la concentración de los sustratos o los productos (Fennema, 1993)

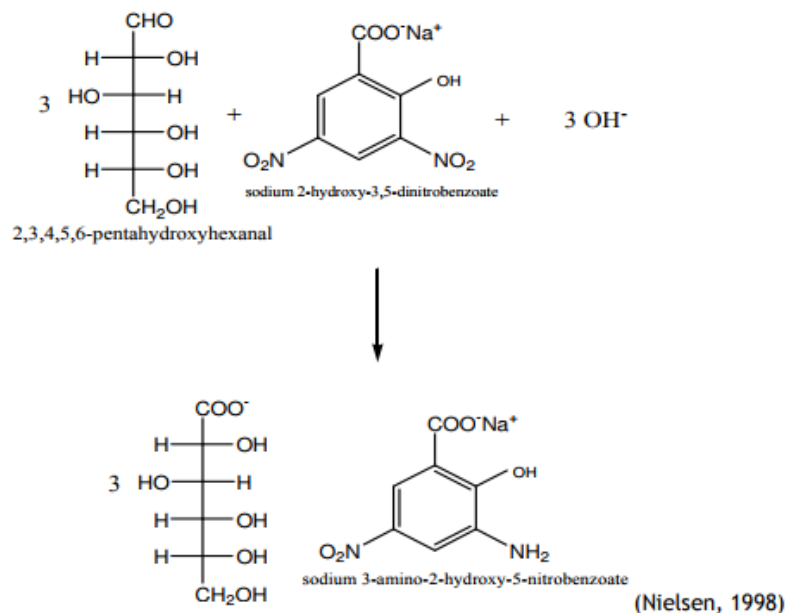
Dentro de los ensayos continuos, los ensayos espectrofotométricos son muy utilizados. Puede seguirse el curso de una reacción observando cómo cambia la luz absorbida por la solución en la que se está dando la reacción. Para poder utilizar un ensayo de este tipo debe haber entre los sustratos o los productos alguno que absorba luz a una longitud de onda determinada, y que sea la única molécula de la mezcla de reacción que lo hace a la misma; de esta forma, se puede observar el aumento o la disminución de la absorbancia a dicha longitud de onda (Fennema, 1993)

Cuando la luz absorbida se encuentra en el espectro visible es posible observar un cambio en el color de la muestra, y entonces hablamos de método colorimétrico (Ley de Lambert y Beer)

### Determinación de actividad enzimática por presencia de azúcares reductores

Uno de los métodos más acordes y con mejor resultados en la determinación de los azúcares con carácter reductor, es el método (DNS), método que ha sufrido varias modificaciones a través de los años para adecuarse al análisis de diferentes materiales y su principal ventaja radica en su alta sensibilidad y productividad debido a que es un método espectrofotométrico; el procedimiento se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra.

En disolución alcalina el azúcar se hidroliza produciendo un compuesto que se reduce a un grupo nitro del DNS, para dar el producto monoamino correspondiente. Esta reacción da un producto colorido en solución alcalina. (Figura 30)



**Figura 30.** Reacción del ácido dinitrosalicílico. **Fuente:** Nielsen, 1998

La determinación de azúcares reductores se obtiene a partir de una solución patrón de maltosa de concentración 0,2%, que permitirá realizar y ajustar una curva de calibración, soluciones de almidón de papa y maíz, ambas al 1% (patrones de comparación) y una

solución de almidón de quinua al 1%. Estas soluciones son tratadas con una solución de  $\alpha$ -Amilasa en concentración inicial conocida (1 U/ml).

Todas las soluciones preparadas, luego de ser procesadas, son leídas en espectrofotómetro a 540 nm. (Figura 31)

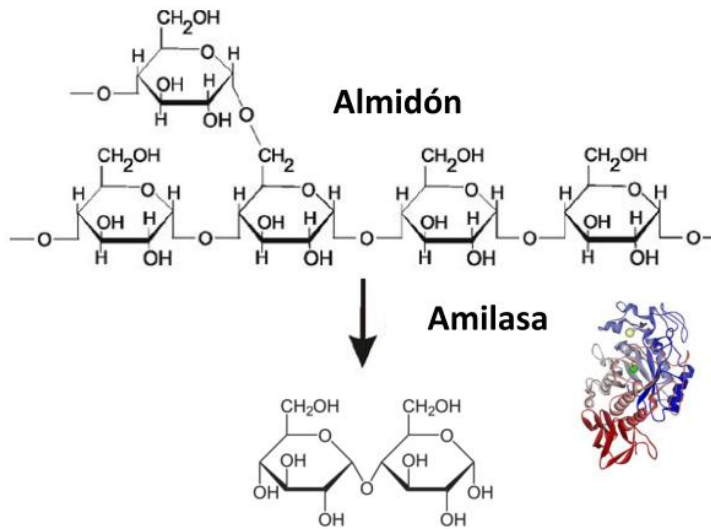
Los valores de absorbancia de las muestras sirven para el cálculo de mg de maltosa obtenidos por hidrólisis de los almidones, y posteriormente se calculan las U/ml de  $\alpha$ -Amilasa finales comparadas a las U/ml de  $\alpha$ -Amilasa iniciales.



**Figura 31.** El DNS, de color amarillo en medio básico, se reduce a 3-amino-5-nitrosalicilato, de color rojo ladrillo. Fuente propia.

### 2.1.3.2. Enzima $\alpha$ -Amilasa

La  $\alpha$ -Amilasa es una enzima proteica que se encuentra en la saliva humana y la de otros mamíferos y cataliza la degradación del almidón, que es un polisacárido de reserva vegetal. Cataliza la hidrólisis de los enlaces alfa-glucosídicos, de los polisacáridos alfa glucosídicos de alto peso molecular, tales como el almidón y el glucógeno, liberando glucosa y maltosa. Es la principal amilasa encontrada en humanos y otros mamíferos. También se encuentra presente en semillas que contienen almidón como reserva alimenticia, y es secretada por muchos hongos. (Figura 32)



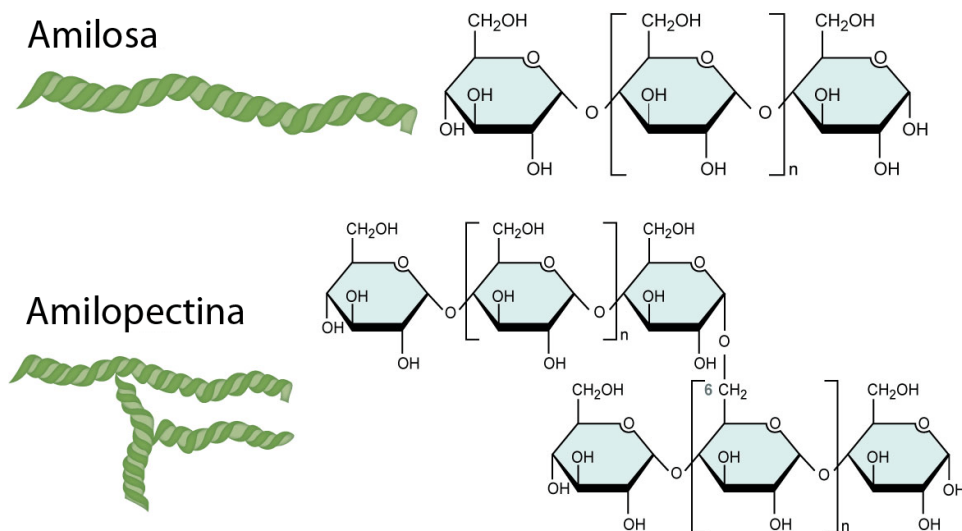
**Figura 32.** Hidrólisis del enlace  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4)  
**Fuente:** Villagomez, 2015

## 2.1.4. ALMIDÓN

### 2.1.4.1. Generalidades

El almidón está constituido por dos compuestos de diferente estructura:

- **Amilosa:** Está formada por  $\alpha$ -D-glucopiranosas unidas por centenares o miles (normalmente de 300 a 3000 unidades de glucosa) mediante enlaces  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4) en una cadena sin ramificar, o muy escasamente ramificada mediante enlaces  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6). Esta cadena adopta una disposición helicoidal y tiene seis monómeros por cada vuelta de hélice. Suele constituir del 25 al 30 % del almidón.
- **Amilopectina:** Representa el 70-75 % restante. También está formada por  $\alpha$ -D-glucopiranosas, aunque en este caso conforma una cadena altamente ramificada en la que hay uniones  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4), como se indicó en el caso anterior, y muchos enlaces  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6) que originan lugares de ramificación cada doce monómeros. Su peso molecular es muy elevado, ya que cada molécula suele reunir de 2000 a 200 000 unidades de glucosa. (Figura 33)



**Figura 33.** Estructuras químicas de amilosa y amilopectina

**Fuente:** Villagomez, 2015



Los almidones de los cereales contienen pequeñas cantidades de grasas. Los lípidos asociados al almidón son, generalmente, lípidos polares, que necesitan disolventes polares tales como metanol-agua, para su extracción. Generalmente el nivel de lípidos en el almidón cereal, está entre 0,5 y 1 %. Los almidones no cereales no contienen esencialmente lípidos.

Desde el punto de vista químico, es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina; contienen regiones cristalinas y no cristalinas en capas alternadas. Puesto que la cristalinidad es producida por el ordenamiento de las cadenas de amilopectina, los gránulos de almidón céreo tienen parecido grado de cristalinidad que los almidones normales. La disposición radial y ordenada de las moléculas de almidón en un gránulo resulta evidente al observar la cruz de polarización (cruz blanca sobre un fondo negro) en un microscopio de polarización cuando se colocan los polarizadores a 90° entre sí. El centro de la cruz corresponde con el hilum, el centro de crecimiento de gránulo.

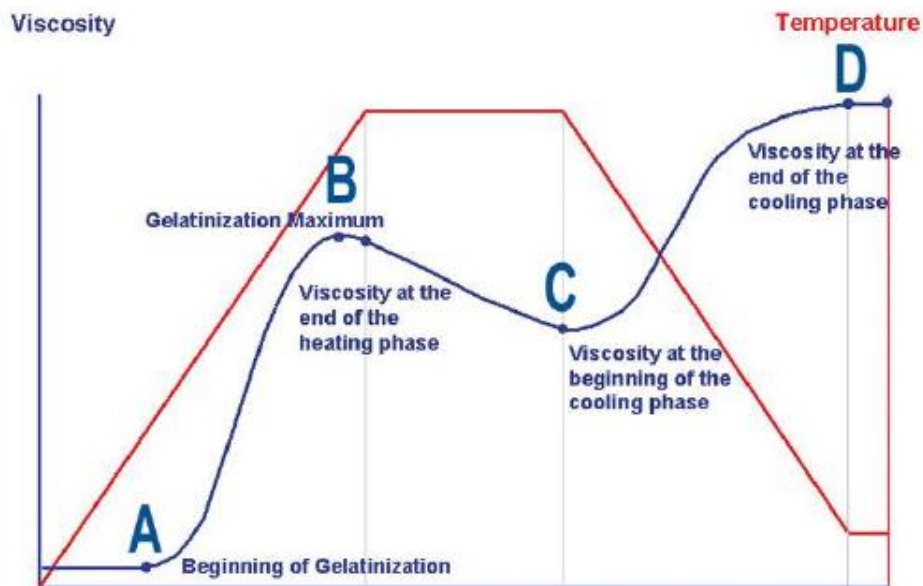
La amilosa es el producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos a(1,4), que establece largas cadenas lineales con 200-2500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una a-D-(1,4)-glucana cuya unidad repetitiva es la a-maltosa. Tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal, en la que cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa. El interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno, y es por tanto lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. La mayoría de los almidones contienen alrededor del 25 % de amilosa. Los dos almidones de maíz comúnmente conocidos como ricos en amilosa que existen comercialmente poseen contenidos aparentes de masa alrededor del 52 % y del 70-75 %.

La amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces a-D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. Su peso molecular es muy alto ya que algunas fracciones llegan a alcanzar

hasta 200 millones de daltones. La amilopectina constituye alrededor del 75 % de los almidones más comunes. Algunos almidones están constituidos exclusivamente por amilopectina y son conocidos como céreos. La amilopectina de papa es la única que posee en su molécula grupos éster fosfato, unidos más frecuentemente en una posición O-6, mientras que el tercio restante lo hace en posición O-3. (Fennema, 1993)

#### **2.1.4.2. Influencia de tratamientos térmicos en el almidón**

El almidón de quinua puede ser modificado por medio de tratamientos térmicos. Es posible modificar especialmente su viscosidad. Puede gelatinizarse a una temperatura de 65° C. A esta temperatura, los gránulos de almidón se hinchan de manera irreversible y se solubilizan debido a la ruptura de enlaces de hidrógeno. La solución de almidón se caracteriza por ser una solución de dos fases; una fase dispersa y una fase continua. Este fenómeno de dispersión aumenta la viscosidad de la solución. El mayor grado de viscosidad es obtenido cuando la solución es calentada y los gránulos de almidón alcanzan el máximo de hinchamiento. Al aumentar la temperatura alrededor de los 100° C, aumenta la solubilidad de los gránulos y la viscosidad de la solución disminuye, por el contrario, cuando la temperatura desciende, el almidón experimenta la retrogradación, disminuyendo su solubilidad y aumentando la viscosidad (Pradere, 2017) (Figura 34)



**Figura 34.** Evolución de la viscosidad del almidón en función al tiempo y tratamiento térmico. **Fuente:** Brabender, 2017

#### 2.1.4.3. Degradación del almidón

El almidón puede ser también modificado por la actividad enzimática cuando ha sido gelatinizado (Pradere, 2017). Para la hidrólisis del almidón, las enzimas más usadas son la  $\alpha$ -amilasa y la  $\beta$ -amilasa. La primera, la más eficiente en degradación del almidón, permite la hidrólisis de  $\alpha$ -1,4-glucanos, dando como producto una mezcla de maltosa y dextrinas.

## **CAPÍTULO 3**

### **3.1. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS**

#### **3.1.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA ANÁLISIS**

Una vez preparada la bebida no láctea, se procede a dejarla reposar o en su defecto, centrifugarla para obtener el sobrenadante. El sobrenadante es separado del sedimento y refrigerado para la realización de los análisis. En caso de que el sobrenadante presentara turbidez, se procede a filtrarlo. Se realizan todos los análisis en la fase hidrofílica de la bebida.

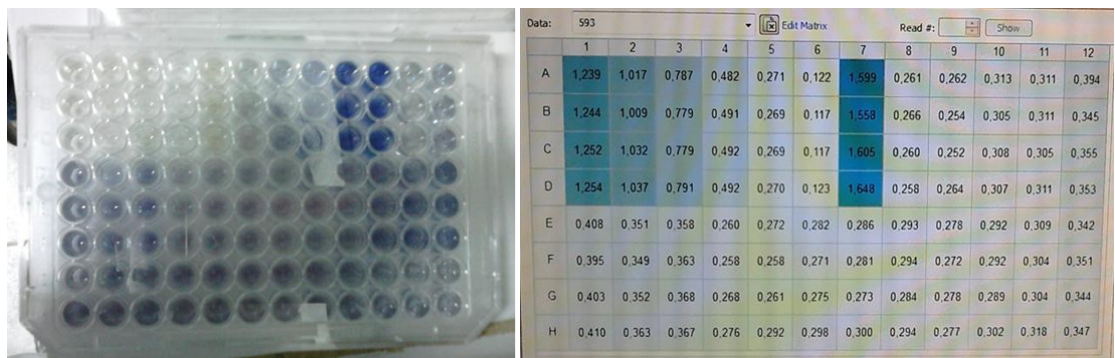
Para los ensayos de actividad enzimática, se preparan dos muestras de bebida no láctea a base de quinua (BQ1 y BQ2) y a una de ellas se le adiciona  $\alpha$ -amilasa en una concentración de 1 U/ml (BQ 1). Para ello, es necesario gelatinizar la bebida no láctea, calentándola a temperaturas de 60-65° C e incubando por un lapso de 30 minutos. Para la desactivación de la enzima, se calienta hasta ebullición. Luego de enfriar, se deja reposar o centrifugar para la obtención del sobrenadante.

#### **3.1.2. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL POR MEDIO DE LOS MÉTODOS COLORIMÉTRICOS ESTANDARIZADOS FRAP Y ABTS**

Las pruebas de actividad antioxidante se realizan con los extractos por los métodos estandarizados colorimétricos ABTS, FRAP. Ambos métodos se emplean por tener una cinética de determinación más rápida que permite ahorrar tiempo en comparación con otros métodos de determinación de la Capacidad Antioxidante Total.

### 3.1.2.1. Método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Para la lectura de las muestras se utilizaron 900  $\mu\text{L}$  de solución FRAP, 30  $\mu\text{L}$  de muestra y 120  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La solución FRAP está compuesta por 25 ml de solución *buffer* ácido acético-acetato de sodio (pH 3,6), 2,5 ml de solución 10 [mM] TPTZ diluida con HCl 40 [mM] y solución 20 [mM]  $\text{FeCl}_3$ . Se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm en un lector multi-modal Cytation 3, marca BioTek (Vermont, USA). Para cada lectura se tuvo en cuenta la lectura de la absorbancia de la muestra testigo. La absorbancia final de las muestras se comparó con la curva estándar de Trolox (100-1000  $\mu\text{mol/L}$ ) disuelto con etanol al 96% (Peñarrieta et al., 2008). La Figura 35 muestra la placa con las distintas muestras y los resultados de una lectura del método FRAP.



**Figura 35. Método FRAP. Fuente: Vásquez, 2017**

Para la curva estándar se preparó una la solución de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil chroman-2-ácido carboxílico) de concentración 5 mmol/L y se diluyó en etanol en proporciones como se muestra en la tabla 4:

**Tabla 4.** Curva estándar de Trolox FRAP

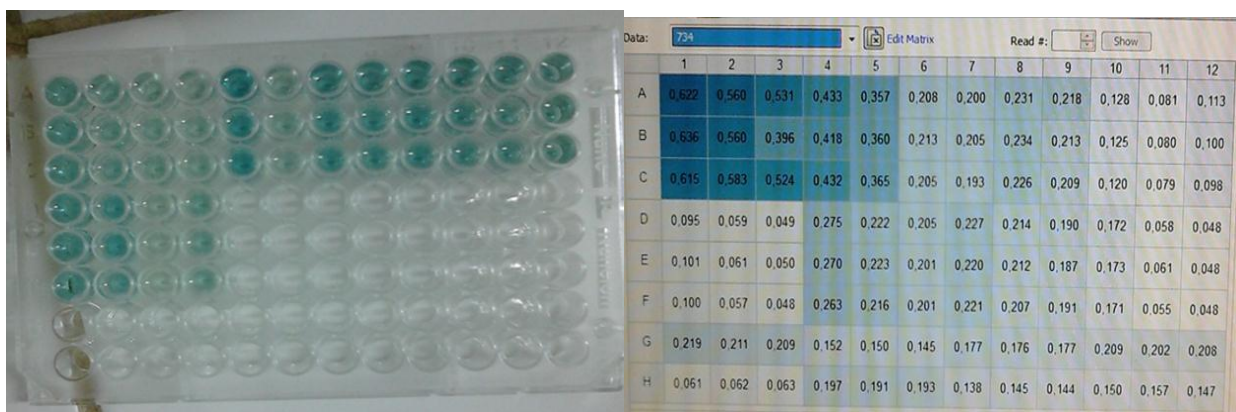
<b>Concentración [<math>\mu\text{M}</math>]</b>	<b>1000</b>	<b>750</b>	<b>500</b>	<b>250</b>	<b>100</b>
Volumen de estándar [ $\mu\text{l}$ ]	200	150	100	50	20
Volumen de etanol [ $\mu\text{L}$ ]	800	850	900	950	980

**Fuente:** Elaboración propia.

### 3.1.2.2. Método ABTS [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)]

Este método se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical  $\text{ABTS}^+$ , debido a su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico  $\text{ABTS}^+$  es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical  $\text{ABTS}^+$  está determinado en función a la concentración.

En el análisis se utilizaron 100  $\mu\text{L}$  de la muestra y 1 mL de la solución del radical  $\text{ABTS}^+$ . La solución del radical  $\text{ABTS}^+$  se preparó mezclando 5 ml de solución ABTS 7 [mM] con 88  $\mu\text{L}$  de solución de persulfato de potasio 140 [mM], posteriormente se diluyó en *buffer* ácido acético-acetato de sodio (pH 5) hasta obtener una absorbancia de 0,7 nm aproximadamente. Las mediciones se realizaron a una longitud de onda de 734 nm a los 3 min de reacción y a temperatura ambiente. Se utilizó un lector multi-modal Cytation 3, marca BioTek (Vermont, USA). Los resultados se expresaron mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante trolox (0-200  $\mu\text{mol/L}$ ) (Peñarrieta et al., 2008) como se muestra en la tabla 5. La Figura 3.15 muestra la placa con las distintas muestras y los resultados de una lectura del método FRAP. La Figura 3.16 muestra la placa y los resultados de una lectura de antioxidantes por el método ABTS.



**Figura 36.** Método ABTS. **Fuente:** Vásquez, 2017

**Tabla 5.** Curva estándar de Trolox ABTS

Trolox 200[ $\mu$ M]	Acetato pH=5 ( $\mu$ L)	Conc. Trolox ( $\mu$ mol/L)
0	1000	0
100	900	20
250	750	50
500	500	100
750	250	150
1000	0	200

**Fuente:** Elaboración propia

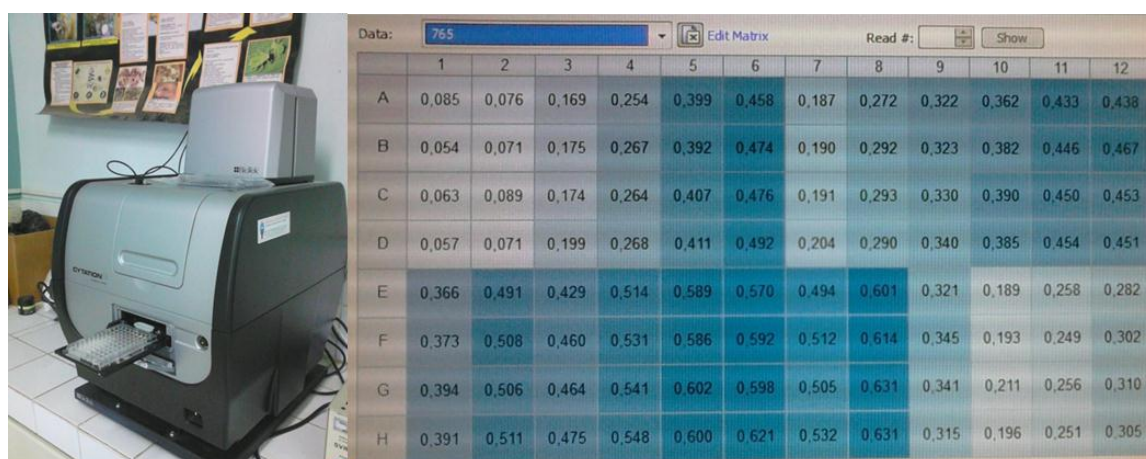
El % Inhibición se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{Abs_{Bco} - Abs_m}{Abs_{Bco}} \times 100$$

### 3.1.3. FENOLES TOTALES (TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS TPH)

El análisis se realizó por el método de Folin–Ciocalteu. Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, el ácido fosfomolibdotúngstico formado, de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.

Para la determinación de Fenoles Totales se mezclaron 50  $\mu\text{L}$  de muestra, 1000  $\mu\text{L}$  solución Folin-Ciocalteu (1:10 V/V) y 500  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio (7,5 %). La mezcla se homogenizó y calentó a 45  $^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos, se midió la absorbancia a 765 nm en un lector multi-modal Cytation 3, marca BioTek (Vermont, USA). La absorbancia final de cada muestra se comparó con una curva estándar de calibración de ácido gálico (40-200 mg/l) como se muestra en la tabla 6 (Peñarrieta et al., 2009). En la Figura 37 se ve el equipo Cytation utilizado para la medición de la absorción.



**Figura 37.**Fenoles Totales. Fuente: Vásquez, 2017



**Tabla 6.** Curva estándar de Ácido Gálico

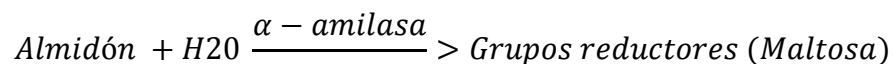
Vol. Ác. gálico ( $\mu\text{L}$ )	Vol Agua dest. ( $\mu\text{L}$ )	Conc. Ácido gálico ( $\mu\text{mol/L}$ )
0	500	0
20	480	53
40	460	106
60	440	159
80	420	212
100	400	266

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.1.4. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE $\alpha$ -AMILASA

La enzima  $\alpha$ -Amilasa es utilizada para hidrolizar enlaces  $\alpha$  de polisacáridos, como almidones y glicógeno. La enzima cataliza la amilólisis de almidón gelatinizado para la producción de azúcares reductores. Este procedimiento puede ser usado para la determinación de actividad de  $\alpha$ -Amilasa (ver Tabla 7).

La determinación de reacción espectrofotométrica está basada en:



Definición de Unidad: Una Unidad liberará 1,0 mg de maltosa a partir del almidón en 3 minutos a pH 6,9 a 20° C.

El método consiste en determinar el  $\Delta A_{540}$  para cada prueba estándar vs. Blanco.  $\Delta A_{540(\text{Standard})} = A_{540(\text{Standard})} - A_{540(\text{Blanco})}$ . Se preparó una curva estándar graficando el  $\Delta A_{540}$  de los estándares vs. los mg de maltosa utilizando regresión lineal (ver Tabla 8). De la misma manera, se preparó una curva estándar para determinar el  $\Delta A_{540}$  de las

muestras de almidón de quinua vs. el blanco de muestras.  $\Delta A_{540(\text{Muestra})} = A_{540(\text{Muestra})} - A_{540(\text{Blanco muestra})}$

**Tabla 7.** Procedimiento del método de la  $\alpha$ -amilasa

	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Blanco</b>
<b>Solución de almidón</b>	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
		Agitar		
<b>Sol. <math>\alpha</math>-Amilasa</b>	0,25 ml	0,35 ml	0,5 ml	0 ml
		Incubar por 3 min a 20 ° C		
<b>Reactivo color</b>	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
		Baño de agua hirviendo		
<b>Sol. <math>\alpha</math>-Amilasa</b>	0,25 ml	0,15 ml	0,5 ml	
		Hervir por 15 min y enfriar en hielo aprox 3 min		
<b>Agua purificada</b>	4,5 ml	4,5 ml	4,5 ml	4,5 ml
		Agitar y leer		

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 8.** Curva de Calibración de la Maltosa

<b>Solución (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>Blanco</b>
<b>Maltosa</b>	25	100	200	300	400	500	1000	0
<b>Agua</b>	975	900	800	700	600	500	0	1000
<b>Rvo color</b>	500	500	500	500	500	500	500	500
		Llevar a baño de agua hirviendo						
<b>Agua</b>	4500	4500	4500	4500	4500	4500	4500	4500
		Leer						

**Fuente:** Elaboración propia

## Cálculos

Determinar los mg de maltosa formados utilizando la curva estándar.

$$\text{Unidades/mL enzima} = \frac{(\text{mg de maltosa liberados})(df)}{(\text{mL de enzima})}$$

Dónde:

df = factor de dilución

mL enzima = mL de muestra añadidos

$$\text{Unidades/mg sólido} = \frac{\text{Unidades/mL enzima}}{\text{mg sólido/mL enzima}}$$

### 3.1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron expresados como valores promedios con sus respectivos cálculos de Desviación Estándar de dos lecturas por triplicado en un lapso de siete días para los ensayos de Fenoles Totales, FRAP y ABTS. Los coeficientes de correlación lineal fueron calculados por medio del método de Pearson.

De la misma manera, se calcularon los promedios, desviaciones estándar de los valores obtenidos en el ensayo de actividad enzimática. Se realizaron siete ensayos consecutivos, modificando la concentración de enzima a adicionar.

## CAPITULO 4

### 4.1. RESULTADOS Y DISCUSIONES

#### 4.1.1. RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

##### Capacidad Antioxidante Total

La capacidad Antioxidante Total, TAC por sus siglas en ingles Total Antioxidant Capacity, se midió por el método FRAP y por el método ABTS. Ambos métodos requieren realizar curvas de calibración tal como se muestran en las Tablas 9 y 10 y en las Gráficas 1 y 2.

Para el cálculo de TAC de las muestras por FRAP y ABTS se usaron las ecuaciones:

$$TAC (\mu mol/g) = \frac{Abs}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times f.d. \times 0.001 \quad (\text{FRAP})$$

$$TAC (\mu mol/g) = \frac{\%I}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times f.d. \times 0.001 \quad (\text{ABTS})$$

Dónde:

- Abs= Absorbancia de la muestra (FRAP)
- % I = Porcentaje de inhibición (ABTS)
- Pend = Pendiente de la curva de calibración ( $\mu\text{mol/L}$ )
- S = Peso de la muestra inicial
- B = Peso del metanol añadido (obtenido por diferencia de pesos)
- H = Peso del sobrenadante
- P = Peso del sedimento seco
- f.d. = Factor de dilución de la muestra
- 0.001 = Factor de conversión de [L] a [g]

La lectura de la absorbancia se realizó dos veces por triplicado y el análisis se repitió siete días consecutivos para obtener resultados con la suficiente robustez estadística. Los

resultados promedios de cada análisis y sus correspondientes desviaciones estándares se muestran en el Anexo 1.

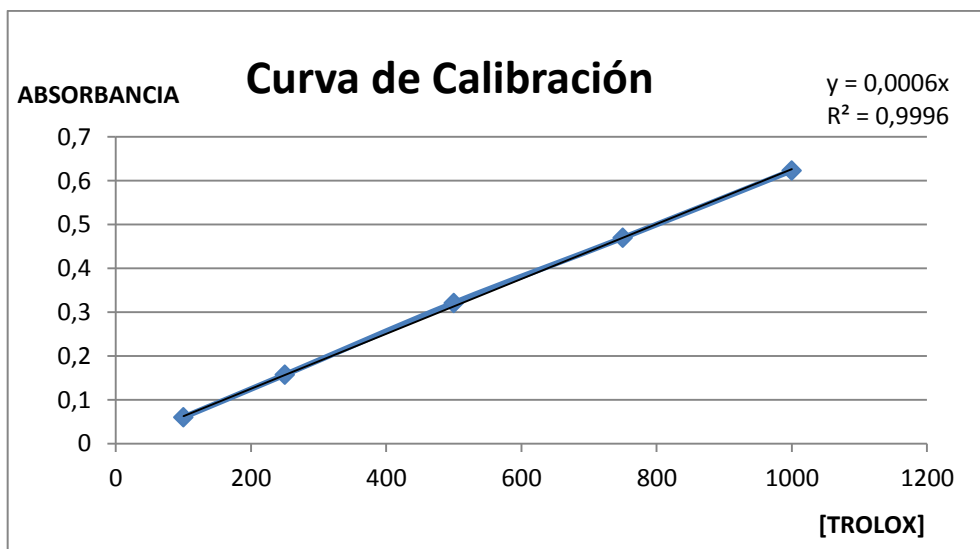
La capacidad antioxidante total final de la bebida no láctea a base de quinua es 232.8  $\mu\text{mol TE/L}$  (Trolox Equivalente por Litro) según el método FRAP y 176.1  $\mu\text{mol TE/L}$  por el método ABTS. Los valores más altos reportados son 244.4  $\mu\text{mol TE/L}$  (FRAP) y 182.7  $\mu\text{mol TE/L}$  (ABTS).

### Método FRAP

**Tabla 9.** Curva de Calibración del Método FRAP

Curva	Concentracion de Trolox ( $\mu\text{M}$ )	Abs					Abs Promedio	
1	1000	1,25	1,243	1,248	1,254	1,247	1,251	1,249
2	750	1,025	1,025	1,012	1,02	1,025	1,037	1,024
3	500	0,727	0,718	0,715	0,733	0,714	0,717	0,721
4	250	0,422	0,427	0,433	0,435	0,438	0,438	0,432
5	100	0,28	0,289	0,299	0,303	0,295	0,283	0,292

**Fuente:** Elaboración propia



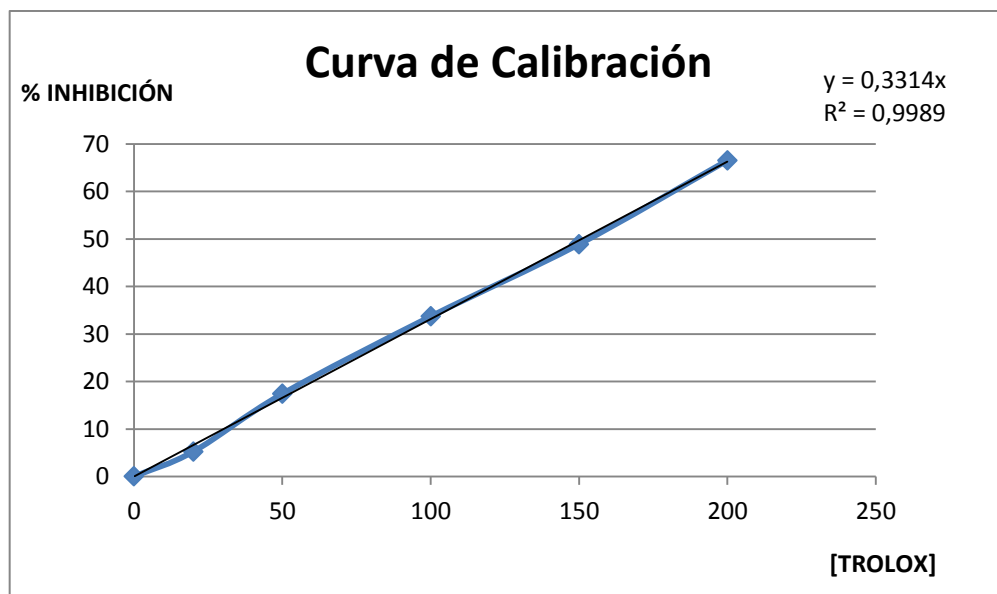
**Grafica 1.** Curva de Calibración del método FRAP **Fuente:** Elaboración propia

## Método ABTS

**Tabla 10.** Curva de Calibración del Método ABTS

Curva	Concentracion de Trolox ( $\mu\text{M}$ )	Abs						Abs Promedio
1	0	0,626	0,645	0,632	0,626	0,648	0,621	0,633
2	20	0,574	0,564	0,56	0,556	0,557	0,575	0,564
3	50	0,497	0,493	0,503	0,507	0,501	0,49	0,499
4	100	0,353	0,347	0,354	0,348	0,352	0,359	0,352
5	150	0,247	0,254	0,242	0,253	0,246	0,241	0,247
6	200	0,147	0,148	0,139	0,131	0,149	0,141	0,143

**Fuente:** Elaboración propia



**Grafica 2.** Curva de Calibración del método ABTS **Fuente:** Elaboración propia

## Fenoles Totales

El contenido de fenoles totales, TPC por sus siglas en ingles Total Phenolic Content, se midió por el método Folin-Ciocalteu. Se construyó una curva de calibración del método como se muestra en la Tabla 11 y en la Gráfica 3.

Para el cálculo de TPC de las muestras se usó la siguiente ecuación:

$$TAC [\mu mol/g] = \frac{Abs}{pend} \times \left(\frac{S+B}{H}\right) \times \left(\frac{H-P}{S}\right) \times \frac{f.d.}{P.M.}$$

Dónde:

- P.M. = Peso molecular del ácido gálico 170,12 [g/mol]

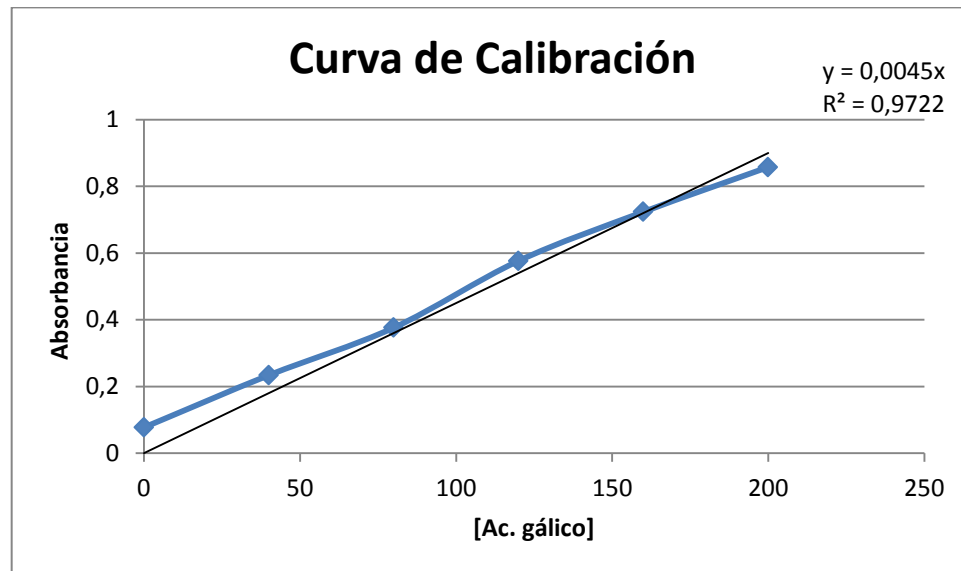
El promedio del contenido de Fenoles Totales en muestras de la bebida no láctea a base de quinua trabajadas es de 393 mg GAE/g de muestra seca.

Al igual que para el análisis TAC la lectura de la absorbancia se realizó dos veces por triplicado y el análisis se repitió siete días consecutivos. Los resultados promedios y sus correspondientes desviaciones estándares se muestran en el Anexo 1.

**Tabla 11.** Curva de Calibración del Método Fenoles Totales

Curva	Acido Galico(mg)	Abs						Abs Promedio
1	0	0,102	0,103	0,109	0,11	0,108	0,108	0,107
2	20	0,2	0,212	0,212	0,205	0,211	0,209	0,208
3	40	0,4	0,409	0,4	0,397	0,399	0,401	0,401
4	60	0,546	0,541	0,553	0,549	0,545	0,549	0,547
5	80	0,739	0,734	0,736	0,741	0,739	0,735	0,737
6	100	0,907	0,9	0,904	0,905	0,906	0,899	0,904

**Fuente:** Elaboración propia



**Gráfica 3.** Curva de Calibración del método Fenoles Totales  
**Fuente:** Elaboración propia

### Actividad Enzimática

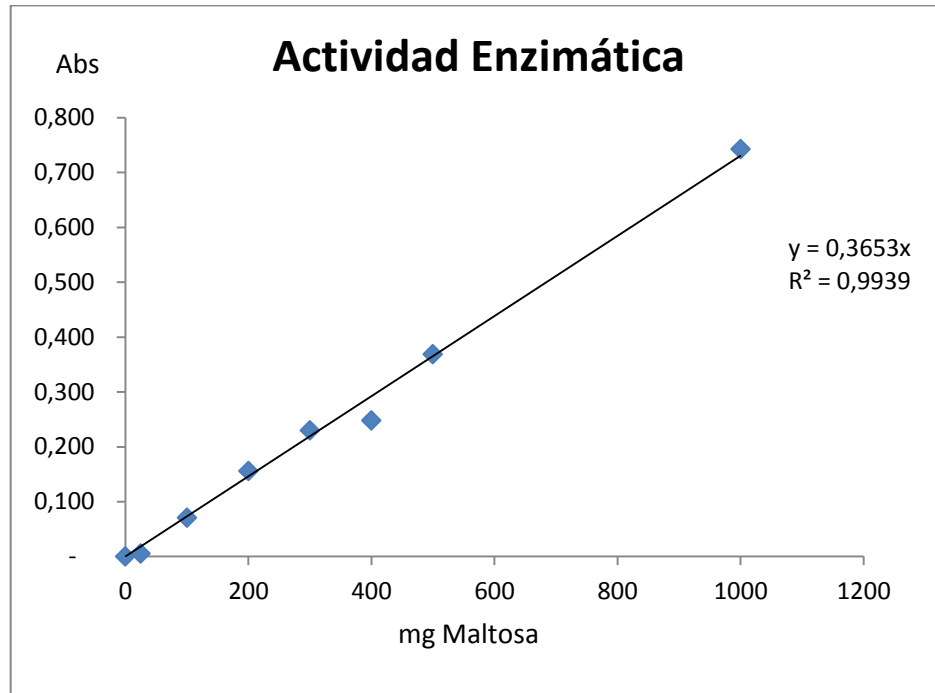
Para el método de Actividad enzimática, se realizó en primer lugar una curva de calibración, como se muestra en la Tabla 12 y en la Gráfica 4.

**Tabla 12.** Curva de Calibración de la Maltosa

Maltosa St (µL)	Abs						Abs Promedio
0	0,052	0,055	0,059	0,058	0,053	0,052	0,055
100	0,122	0,124	0,131	0,13	0,12	0,125	0,125
200	0,214	0,216	0,209	0,21	0,209	0,206	0,211
300	0,285	0,281	0,29	0,285	0,28	0,285	0,284
400	0,305	0,301	0,304	0,306	0,3	0,299	0,303
500	0,425	0,412	0,421	0,422	0,427	0,432	0,423

**Fuente:** Elaboración propia





**Grafica 4.** Curva de Calibración de la Maltosa **Fuente:** Elaboración propia

En la muestra de bebida no láctea adicionada con enzima  $\alpha$  amilasa (BQ1) se pudo apreciar la formación de la maltosa de una manera progresiva y uniforme en función del tiempo. Simultáneamente, las Unidades enzimáticas disminuyen también de manera progresiva y uniforme como se puede ver en la Tabla 13:

**Tabla 13.** Muestra con adición de enzima (BQ1)

<b>Cant. enzima (μL)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Abs Promedio</b>	<b>Ajuste Abs</b>	<b>Formación de Maltosa (mg)</b>	<b>Unidades /ml enzima</b>	<b>Unidades /mg sólido</b>
<b>0</b>	0	0,060	-	-	0	0
<b>100</b>	10	0,210	0,150	214,3	2142,9	0,21
<b>200</b>	15	0,190	0,130	185,7	928,6	0,05
<b>300</b>	20	0,230	0,170	242,9	809,5	0,03
<b>400</b>	30	0,240	0,180	257,1	642,9	0,02
<b>500</b>	40	0,250	0,190	271,4	542,9	0,01

**Fuente:** Elaboración propia

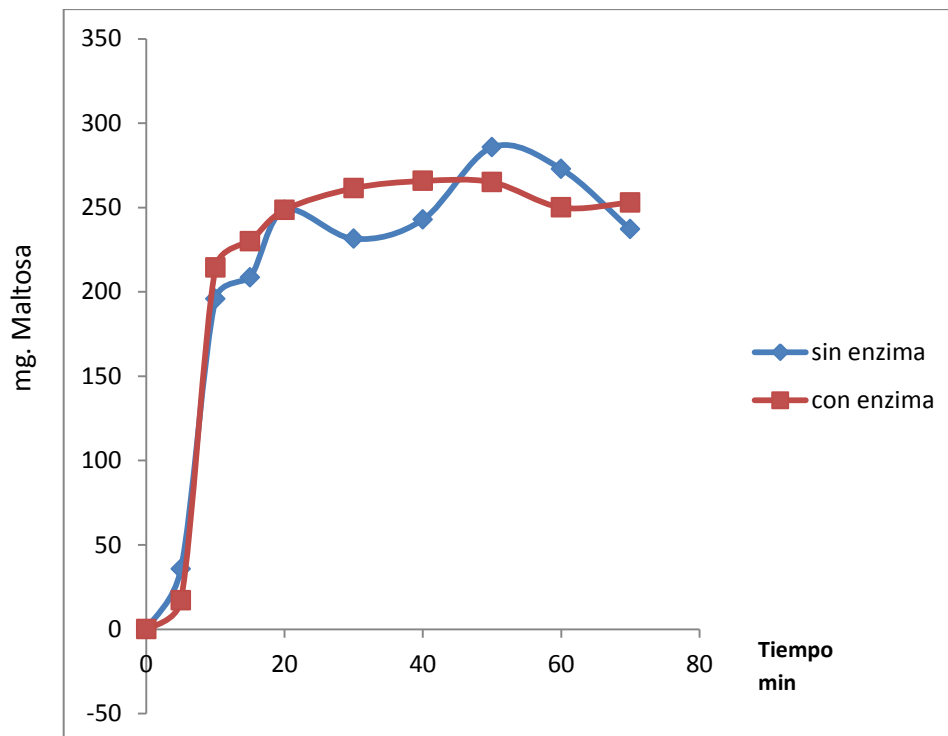
En la muestra de bebida no láctea sin  $\alpha$  amilasa adicionada (BQ2) se pudo apreciar la formación de azúcares, demostrándose así la presencia de enzimas nativas capaces de degradar el almidón contenido en el grano de quinua. A diferencia de la muestra añadida con  $\alpha$  amilasa, la formación de la maltosa fue mucho menos uniforme en función del tiempo como se puede apreciar en la Tabla 14:

**Tabla 14.** Muestra sin adición de enzimas (BQ2)

<b>Tiempo (min)</b>	<b>Abs Promedio</b>	<b>Ajuste Abs</b>	<b>Formación de Maltosa (mg)</b>	<b>Unidades /ml enzima</b>	<b>Unidades /mg sólido</b>
<b>0</b>	0,060	-	-	0	0
<b>10</b>	0,230	0,170	242,9	2428,6	0,24
<b>15</b>	0,210	0,150	214,3	1071,4	0,05
<b>20</b>	0,199	0,139	198,6	661,9	0,02
<b>30</b>	0,220	0,160	228,6	571,4	0,01
<b>40</b>	0,230	0,170	242,9	485,7	0,01

**Fuente:** Elaboración propia

Los valores obtenidos de actividad enzimática son graficados a continuación:



**Gráfica 5.** Comparación de la formación de maltosa vs. Tiempo con y sin adición de  $\alpha$ -amilasa

#### 4.1.2. DISCUSIÓN

Existen pocos trabajos reportados en literatura acerca del estudio de la capacidad antioxidante en productos no lácteos, lácteos y similares, lo que convierte al presente trabajo en una contribución importante en ese campo.

Los valores determinados de la Capacidad Antioxidante y contenido de Fenoles Totales a lo largo de este estudio pueden servir como parámetros a ser comparados con valores analizados en otro tipo de productos lácteos o similares, tanto de origen vegetal como

animal. Lo que se quiere demostrar en este caso, son los beneficios nutricionales que aporta la quinua como materia prima óptima para el aporte a la dieta de compuestos tales como los antioxidantes, aparte de los ya conocidos.

**Tabla 15.** Valores de TAC y TPH en distintas muestras

<b>Muestra Analizada</b>	<b>TAC (<math>\mu\text{mol TE/L}</math>)</b>		<b>TPH mg GAE/g</b>
	<b>ABTS</b>	<b>FRAP</b>	
<b>Leche materna<sup>1</sup></b>	50-100	-	-
<b>Leche de vaca<sup>2</sup></b>	235-287	127-219	-
<b>Leche de cabra<sup>3</sup></b>	400-600	150-300	58-38
<b>“Leche” de soja<sup>4</sup></b>	400	180	700-1000
<b>“Leche” de quinua</b>	176	233	393

**Fuente:** Adaptación. <sup>1</sup> Martysiak-Zurowska et al, 2012; <sup>2</sup> Chen et al., 2003; <sup>3</sup> Yilmaz-Ersan et al 2016; <sup>4</sup> Gan et al., 2017

La Tabla 15 presenta un resumen de los valores obtenidos en literatura y los resultados obtenidos por los métodos ABTS y FRAP para la determinación de antioxidantes y los valores de Fenoles Totales obtenidos en el presente trabajo.

Si comparamos los valores de ABTS entre la leche materna (Martysiak-Zurowska et al, 2012;) y los la bebida no láctea a base de quinua, podemos llegar a la conclusión de que la quinua presenta un valor superior. Los valores de ABTS de la leche de vaca (Chen et al., 2003) son ligeramente más altos que los de la quinua, mientras que los de FRAP son superiores a la leche de vaca.

En la leche de cabra (Yilmaz-Ersan et al 2016) se puede apreciar que los valores de ABTS son significativamente más altos, el valor de FRAP de la bebida no láctea a base de quinua se halla dentro del rango de los de la leche de cabra y por último los Fenoles Totales presentes en la bebida no láctea a base de quinua son significativamente mayores a los de la leche de cabra.

Finalmente, al comparar la bebida no láctea a base de quinua con otra bebida no láctea de origen vegetal, tal como es la “leche” de soja (Gan et al., 2017), podemos deducir que los valores de la quinua son menores.

De todas estas comparaciones, se puede observar que la bebida no láctea a base de quinua constituye una buena fuente de compuestos antioxidantes, esto se puede confirmar con otros trabajos de investigación, particularmente en panificación donde el tiempo de vida de anaquel de panes elaborados con quinua es mayor y esto es atribuido a su contenido de compuestos fenólicos. (Wang, 2016).

En la determinación de actividad enzimática de la  $\alpha$ -amilasa por medio del método colorimétrico DNS se obtuvieron valores muy cercanos entre la muestra sin  $\alpha$ -amilasa y la que contenía  $\alpha$ -amilasa. Los resultados sugieren que al incluir  $\alpha$ -amilasa en la preparación la actividad del producto es más homogénea en la producción de maltosa, sugiriendo un producto más estable. Sin embargo, se puede comprobar la presencia de enzimas nativas en el grano de quinua, por la formación de azúcares en la muestra que no contenía  $\alpha$ -amilasa añadida. La naturaleza de las enzimas nativas presentes no fue determinada ni estudiada en este trabajo pero se podría realizar un trabajo exclusivamente para identificarlas y estudiarlas. No se encontró en bibliografía trabajos similares con quinua.

#### **4.1.3. CONCLUSIONES**

Se midió la capacidad Antioxidante Total, el contenido de Fenoles Totales y actividad enzimática en una bebida no láctea a base de quinua.

Se determinó la capacidad Antioxidante Total de la bebida no láctea a base de quinua por medio de los métodos colorimétricos estandarizados FRAP y ABTS. La capacidad antioxidante total final de la bebida no láctea a base de quinua es 232.8  $\mu\text{mol TE/L}$

según el método FRAP y 176.1  $\mu\text{mol TE/L}$  por el método ABTS. Los valores más altos reportados son 244.4  $\mu\text{mol TE/L}$  (FRAP) y 182.7  $\mu\text{mol TE/L}$  (ABTS).

Se determinó también el contenido de Polifenoles en la bebida no láctea por el método Folin Ciocalteu. El promedio del contenido de Fenoles Totales en muestras de la bebida no láctea a base de quinua trabajadas es de 393,4 mg GAE/g de muestra seca.

Se determinó la actividad enzimática de la  $\alpha$ -amilasa por el método colorimétrico DNS; en el que se pudo observar y cuantificar los mg de azúcares reductores formados, en este caso, los mg de maltosa. A partir de los mg de maltosa que se forman, se pudo calcular las Unidades de  $\alpha$ -amilasa que son necesarias para hidrolizar el almidón en maltosa. Esta maltosa liberada mediante la catálisis de la  $\alpha$ -amilasa, puede tener un potencial poder edulcorante en la bebida, lo que significa que se pueden encontrar azúcares originados a partir del almidón contenido en la quinua sin necesidad de añadirlos.

La bebida no láctea a base de quinua formulada tiene un buen contenido en antioxidantes y azúcares no adicionados, siendo una buena opción como complemento alimenticio para personas que no consumen la leche de vaca por enfermedad o por propia elección.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUGOCH LE (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional and functional properties. *Advances in Food and Nutrition Research* 58:1-31
- ALASALVAR, C., GRIGOR, J. M., ZHANG, D., QUANTICK, P. C. AND SHAHIDI, F. (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1410–1416.
- ALMEIDA, J.R.M., D'AMICO, E., PREUSS, A., CARBONE, F., DE VOS, C.H.R., DEIML, B., MOURGUES, F., PERROTTA, G., FISCHER, T.C., BOVY, A.G., MARTENS, S. AND ROSATI, C. (2007). Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 465, 61-71.
- ALVAREZ-JUBETE L., ARENDT EK., GALAGHER, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21(2): 106-113.
- ANI, V. AND NAIDU, K.A. (2008). Antihyperglycemic activity of polyphenolic components of black/bitter cumin *Centrathurmantheminticum* (L.) Kuntze seeds. *European Food Research and Technology*, 226, 897-903.
- ANTTONEN, M.J. (2007). Evaluation of means to increase the content of bioactive phenolic compounds in soft fruits. Doctoral thesis, University of Kuopio, Kuopio, Finland.
- ARON, P.M. AND KENNEDY, J.A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52, 79-104.
- BABAOGLU, M., DAVEY, M.R., POWER, J.B., SPORER, F. AND WINK, M. (2004). Transformed roots of *Lupinus mutabilis*: Induction, culture and isoflavone biosynthesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78, 29-36.
- BAZILE D, (2014). “Estado del arte de la quinua en el mundo 2013”: FAO (Santiago de Chile) y CIRAD (Montpellier, Francia), 724 pág.
- BENAVENTE-GARCÍA, O. AND CASTILLO, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: New findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6185- 6205.
- BOJANIC, A. (2011). La Quinoa: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. *Journal of Food Engineering*, 65(4): 489-495.

- BRADY, K., HO, CT., ROBERT, TR., SHENGMIN, S., KARWE, MV. (2007). Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. *Food Chemistry*, Volume 100 (3): 1209-1216.
- BRAVO, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
- CAMPOS, D., NORATTO, G., CHIRINOS, R., ARBIZU, C., ROCA, W. AND CISNEROS-ZEBALLOS, L. (2006). Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potatoes (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Journal of the Science Food and Agriculture*, 86, 1481-1488.
- CHAUHAN, GS., ESKIN, NAM., MILLS, PA. (1999). Effect of saponin extraction on the nutritional quality of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) proteins. *Journal of Food Science and Technology*, 36 (2): 123-126.
- CHEN, J., LINDMARK-MANSSON, L., GORTON, L., AKESSON, B. (2003) Antioxidant capacity of bovine milk as assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *International Dairy Journal* (13) 927-935.
- CHIRINOS, R., BETALLELUZ-PALLARDEL, I., HUAMÁN, A., ARBIZU, C., PEDESCHI, R. AND CAMPOS D. (2009). HPLC-DAD characterisation of phenolic compounds from Andean oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) tubers and their contribution to the antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 113, 1243-1251.
- CLIFFORD, M.N. AND SCALBERT, A. (2000). Ellagitannins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1118-1125.
- CODEX ALIMENTARIUS, FAO, Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Rome, Italy. Retrieved September 2009. Retrieved September 2009 <[http://www.codexalimentarius.net/web/more\\_info.jsp?id\\_sta=7](http://www.codexalimentarius.net/web/more_info.jsp?id_sta=7)>.
- DAVIE, K.M, BLOOR, S.J., SPILLER, G B. AND DEROLE S.C. (1998). Production of yellow colour in flowers: redirection of flavonoid biosynthesis in *Petunia*. *Plant Journal*, 13, 259-266.
- DUA, V.K., VERMA, G. AND DASH, A. P. (2009). In vitro antiprotozoal activity of some xanthenes isolated from the roots of *Andrographis paniculata*. *Phytotherapy Research*, 23, 126-128.
- DYKES, L., SEITZ, L.M., ROONEY, W.L. AND ROONEY, L.W. (2009). Flavonoid composition of red sorghum genotypes. *Food Chemistry*, 116, 313-317.
- DZIEDZIC, S.Z. AND HUDSON, B.J.F. (1984). Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 14, 45-51.



FELKER, P., STINTZING, F.C., MÜSSIG, E., LEITENBERGER, M., CARLE, R., VOGT, T. AND BUNCH, R. (2008). Colour inheritance in cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) fruits. *Annals of Applied Biology*, 152, 307-318.

FENNEMA, O. (1993). *Química de los alimentos*. Zaragoza, editorial Acribia S.A. Pp 102-128; 416-467.

FERGUSON, L.R., ZHU, S. AND HARRIS, P.J. (2005). Antioxidant and antigenotoxic effects of plant cell wall hydroxycinnamic acids in cultured HT-29 cell. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49, 585- 693.

GAN, R., SHAH, N., WANG, M., LIU, W., CORKE, H. *Lactobacillus plantarum* WCFS1 fermentation differentially affects antioxidant capacity and polyphenol content in mung bean (*Vigna radiata*) and soya bean (*Glycine max*) milks. *Journal of Food Processing and Preservation*. ISSN 1745-4549.

GROSS R., KOCH F., MALAGA I., DE MIRANDA A.F., SCHOENEBERGER H., TRUGO L.C (1989).: Chemical Composition and Protein Quality of Some Local Andean Food Sources.

HE, Q., SHI, B. AND YAO, K. (2006). Interactions of gallotannins with proteins, amino acids, phospholipids and sugars. *Food Chemistry*, 95, 250-254.

HERTOG, M.G.L., HOLLMAN, P.C.H. AND VENEMA, D. P. (1992). Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1591-1598.

HOLLMAN, P.C.H. AND ARTS, C.W. (2000). Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1081-1093.

HOULT, J.R.S. AND PAYÁ, M. (1996). Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *General Pharmacology*, 27, 713-722.

JANICKE, B., ÖNNING, G. AND OREDSSON, S.M. (2005). Differential effects of ferulic acid and p-coumaric acid on S phase distribution and length of S phase in the human colonic cell line Caco-2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6658-6665.

KANNER, J., HAREL, S. AND GRANIT, R. (2001). Betalains—A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178-5185.

KOZIOL M.J. (1992): Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Food Composition Analysis*, 5:35–68.

- KOZUBEK, A. AND TYMAN, J.H.P. (1999). Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity, *Chemical Reviews*, 99, 1-26.
- KUJALA, T.S. LOPONEN, J.M., KLIKA, K.D. AND PIHLAJA, K. (2000) .Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: Distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5338-5342.
- LAZZE, M.C., PIZZALA, R., PERUCCA, P., CAZZALINI, O., SAVIO, M., FORTI, L., VANNINI, V. AND BIANCHI, L. (2006). Anthocyanidins decrease endothelin-1 production and increase endothelial nitric oxide synthase in human endothelial cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50, 44-51.
- LI, S.R., CHEN, L.Y., TSAI, J.C., TZENG, J.Y., TSAI, I.L. AND WANG, E.C. (2007). New syntheses of dalbergichromene and dalbergin from vanillin via neoflavene intermediate. *Tetrahedron Letters*, 48, 2139 -2141.
- LUI, C.L., WANG, J.M., CHU, C.Y.; CHENG, M.T. AND TSENG T.H. (2002). In vivo protective effect of protocatechuic acid on tertbutylhydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food Chemistry and Toxicology*, 40, 635-641.
- MACHADO, T. B., LEAL, I.C.R., AMARAL, A.C.F., DOS SANTOS, K.R.N., DA SILVA, M.G. AND KUSTER, R.M. (2002). Antimicrobial ellagitannin of *Punicagranatum* fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 13, 606-610.
- MARNETT, LJ (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research*, Mar 8. 424(1-2): 83-95.
- MARTYSIAK-ZUROWSKA, D., WENTA, W.(2012) A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the Total Antioxidant Capacity of human milk. Department of Food Chemistry, Technology and Biotechnology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 11(1), 83-89.
- MASULLO, M., BASSARELLO, C., SUZUKI, H., PIZZA, C. AND PIACENTE, S. (2008). Polyisoprenylated benzophenones and an unusual polyisoprenylated tetracyclic xanthone from the fruits of *Garcinia cambogia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 5205-5210.
- MILDER, I.E., ARTS, I.C., VAN DE PUTTE, B., VENEMA, D.P. AND HOLLMAN, P.C. (2005). Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition*, 93, 393–402.
- MONGEAU, R. BROOKS, S.P.J. (2001). In *Handbook of dietary fiber: Chemistry and analysis of lignin*; Chao, S.S. and Dreher, M.K. Ed. Taylor & Francis, New York.

- MORIMOTO, M., FUKUMOTO, H., NOZOE, T., HAGIWARA, A. AND KOMAI, K. (2007). Synthesis and insect antifeedant activity of aurones against *Spodopteralitura* Larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 700-705.
- ONO, E., FUKUCHI-MIZUTANI, M., NAKAMURA, N., FUKUI, Y., YONEKURA-SAKAKIBARA, K., YAMAGUCHI, M., TNAKAYAMA, T., TANAKA, T., KUSUMI, T. AND TANAKA, Y. (2006). Yellow flowers generated by expression of the aurone biosynthetic pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 103, 11075-11080.
- PACHECO-PALENCIA, L.A., DUNCAN, C.E. AND TALCOTT, S.T. (2009). Phytochemical composition and thermal stability of two commercial acai species, *Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*. *Food Chemistry*, 115, 1199-1205.
- PAIVA, N. (2000). An introduction to the biosynthesis of chemicals used in plant-microbe communication. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19, 131-143.
- PASCUAL-TERESA, S. AND SANCHEZ-BALLESTA, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 281-299.
- PEÑARRIETA, J. M., ALVARADO, J. A., ÅKESSON, B. AND BERGENSTÅHL, B. (2008). Total antioxidant capacity and content of flavonoids and other phenolic compounds in canihua (*Chenopodium pallidicaule*): An Andean pseudocereal. *Molecular Nutrition and Food Research*. 52: 708-717.
- PEÑARRIETA, J. M., ALVARADO, J. A., BERGENSTÅHL, B. AND ÅKESSON, B. (2009). Total antioxidant capacity and content of phenolic compounds in wild Strawberries (*Fragaria vesca*) collected in Bolivia. *International Journal of Fruit Science*, 9, 344-359.
- PETILLO, D. AND HULTIN, H.O. (2008). Ubiquinone-10 as an antioxidant. *Journal of Food Biochemistry*, 32, 173-181.
- PRADERE, M. (2017). Optimization of a quinoa drink with and without chocolate and the development of a drink based on Canihua. Internship report. Montpellier. Polytech Montpellier, GBA Department.
- QUIDEAU, S., JOURDES, M., SAUCIER, C., GLORIES, Y., PARDON, P. AND BAUDRY C. (2003). DNA topoisomerase inhibitor acutissimin A and other flavanone-ellagitannins in red wine. *Angewandte Chemie*, 42, 6012-6014.
- RAMESH, B. AND PUGALENDI, K.V. (2006). Antioxidant role of umbelliferone in STZ-diabetic rats. *Life Sciences*, 79, 306-310.
- ROOS, A.B., KAMAL-ELDIN, A., LUNDIN, E.A., ZHANG, J.K., HALLMANS, G. AND ÅMAN, P. (2003). Cereal alkylresorcinols are absorbed by humans. *Journal of Nutrition*, 133, 2222-2224.

- ROVNER, S.L. (2006). Vintage chemistry. *Chemical & Engineering News*, 84, 30-34.
- RUALES J. AND NAIR B. (1994) Properties of starch and dietary fibre in raw and processed quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Plant Foods Hum Nutr* 45:223-246.
- SADEGHI, N., OVEISI, M.R., HAJIMAHMOODI, M., JANNAT, B., MAZAHERI, M. AND MANSOURI, S. (2009). The contents of sesamol in Iranian sesame seeds. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8, 101-105.
- SEDÓ P. (2001). Alimentos funcionales: análisis general acerca de las características químicas - nutricionales, desarrollo industrial y legislación alimentaria. *Revista Costarricense de salud pública*, 10: 34-39.
- SHAKIBAEI, M., HARIKUMAR, K.B. AND AGGARWAL, B.B. (2009). Resveratrol addiction: To die or not to die. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53, 115-128.
- SCHWARTZ, H., SONTAG, G. AND PLUMB, J. (2009). Inventory of phytoestrogen databases. *Food Chemistry*, 113, 736-747.
- SINGH, B.N., SINGH, B.R., SINGH, R.L., PRAKASH, D., SINGH, D.P., SARMA, B.K., UPADHYAY, G. AND SINGH, H.B. (2009). Polyphenolics from various extracts/fractions of red onion (*Allium cepa*) peel with potent antioxidant and antimutagenic activities. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1161-1167.
- STEINER, C., ARNOULD, S., SCALBERT, A. AND MANACH, C. (2008). Isoflavones and the prevention of breast and prostate cancer: new perspectives opened by nutrigenomics. *British Journal of Nutrition*, 99, ES78-ES108.
- TAECHOWISAN, T., CHUAYCHOT, N., CHANAPHAT, S., WANBANJOB, A. AND SHEN, Y. (2008). Biological activity of chemical constituents isolated from *Streptomyces* sp. Tc052, an endophyte in *Alpinia galanga*. *International Journal of Pharmacology*, 4, 95-101.
- VAFEIADOU, K., VAUZOUR, D., LEE, H.Y., RODRIGUEZ-MATEOS, A. WILLIAMS, R.J. AND SPENCER, J.P.E. (2009). The citrus flavanone naringenin inhibits inflammatory signalling in glial cells and protects against neuroinflammatory injury. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 484, 100-109.
- VALENCIA-CHAMORRO S.A (2003): Quinoa. In: Caballero B.: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*. Vol. 8. Academic Press, Amsterdam: 4895–4902.
- VASQUEZ, P. (2017). Análisis comparativo de la relación azúcar-resveratrol en la elaboración de vinos de altura. Proyecto de Grado. La Paz. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ingeniería. 115p.
- VERMERRIS, W. AND NICHOLSON, R. (2008) *Phenolic compound biochemistry*, Springer Science+Business Media B.V., Berlin.

VERSARI, A., PARPINELLO, G. P., TORNIELLI, G. B., FERRARINI, R. AND GIULIVO, C. (2001). Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in Grape cv. Corvina. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 49, 5531-5536.

VILLAGOMEZ, O (2015). Carbohidratos. <<https://bioquimicadental.wordpress.com/2015/10/07/carbohidratos/>> [consulta: 20 septiembre 2017]

VINARDELL, M.P., UGARTONDO, V. AND MITJANS, M. (2007). Potential applications of antioxidant lignins from different sources. *Industrial Crops and Products*, 27, 220-223.

WANG, S., ZHU, F. (2016) Formulation and Quality Attributes of Quinoa Food Products. *Food Bioprocess Technol.* 9:49-68.

YAMAGUCHI, N., SATOH-YAMAGUCHI, K. AND ONO, M. (2008). In vitro evaluation of antibacterial, anticollagenase, and antioxidant activities of hop components (*Humulus lupulus*) addressing acne vulgaris. *Phytomedicine*, 16, 369-376.

YILMAZ-ERZAN, L., OZCAN, T., AKPINAR-BAYIZIT, A., SAHIN, S. (2016). The antioxidative capacity of Kefir produced from goat milk. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 1(7).

ZHENG, L.T, RYU, G.M, KWON, B.M, LEE, W.H. AND SUK, K. (2008). Anti-inflammatory effects of catechols in lipopolysaccharide-stimulated microglia cells: inhibition of microglial neurotoxicity. *European Journal of Pharmacology*, 588, 106–113.

ZHU, N., SHENG, S., SANG, S., JHOO, JW., BAI, N., KARWE, MV., ROSEN, RT., HO, CT. (2002). Triterpene saponins from Debittered Quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50(4): 865-867.

ZULUETA, A., ESTEVE, M.J. AND FRIGOLA, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114, 310-316.

**ANEXO 1**

**RESUMEN DE RESULTADOS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL Y  
FENOLES TOTALES**

## MÉTODO FRAP

Día	MUESTRA	DILUCION	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Dato 4	Dato 5	Dato 6	Desviacion Estandar	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACION [μmol TE/L]
1	LQ	1	0,27	0,27	0,28	0,28	0,27	0,28	0,005	0,28	225,0
2	LQ	1	0,28	0,28	0,28	0,27	0,28	0,28	0,001	0,28	225,6
3	LQ	1	0,29	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,002	0,28	236,4
4	LQ	1	0,28	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29	0,005	0,29	241,7
5	LQ	1	0,28	0,28	0,28	0,29	0,27	0,28	0,006	0,28	233,3
6	LQ	1	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29	0,29	0,005	0,29	244,4
7	LQ	1	0,27	0,27	0,28	0,27	0,28	0,27	0,005	0,27	222,2
											<b>232,7</b>

## METODO ABTS

Día	MUESTRA	DILUCION	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Dato 4	Dato 5	Dato 6	Desviacion Estandar	ABSORBANCIA PROMEDIO	% Inhibicion	CONCENTRACION [µmol TE/L]
1	LQ	1	0,19	0,19	0,19	0,2	0,19	0,2	0,005	0,19	54,51	181,7
2	LQ	1	0,2	0,2	0,2	0,21	0,21	0,21	0,005	0,21	51,76	172,5
3	LQ	1	0,21	0,21	0,21	0,22	0,21	0,20	0,006	0,21	50,59	168,6
4	LQ	1	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,004	0,19	54,82	182,7
5	LQ	1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,21	0,004	0,20	52,55	175,2
6	LQ	1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,21	0,004	0,20	52,55	175,2
7	LQ	1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,000	0,20	52,94	176,5
												176,1



## FENOLES TOTALES

Día	MUESTRA	DILUCION	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Dato 4	Dato 5	Dato 6	Desviacion Estandar	ABSORBANCIA PROMEDIO	CONCENTRACION [mg GAE/g]
1	LQ	1	0,26	0,26	0,26	0,25	0,26	0,25	0,005	0,26	377,5
2	LQ	1	0,29	0,29	0,30	0,30	0,30	0,30	0,005	0,30	435,3
3	LQ	1	0,26	0,27	0,27	0,27	0,27	0,26	0,004	0,27	392,2
4	LQ	1	0,26	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,005	0,26	387,3
5	LQ	1	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,26	0,008	0,27	399,5
6	LQ	1	0,24	0,25	0,25	0,26	0,24	0,24	0,008	0,25	362,7
7	LQ	1	0,26	0,28	0,27	0,28	0,27	0,27	0,008	0,27	399,5
											<b>393,4</b>