

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

Evaluación de la biodisponibilidad y el efecto de la suplementación de péptidos antihipertensivos de proteína de amaranto en la presión arterial de un modelo murino bajo un régimen de actividad física



TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

(Químico Biológicas y de la Salud)

Presenta

Giovanni Isaí Ramírez Torres

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



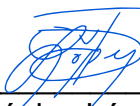
Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de **Giovanni Isai Ramírez Torres** la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias (Químico Biológicas y de la Salud).



Dr. Francisco Cabrera Chávez
Director de tesis



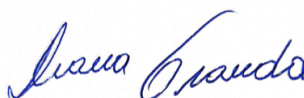
Dra. Verónica López Teros
Secretario (Co-Director)



Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Sinodal



Dra. Alma Rosa Islas Rubio
Sinodal



Dra. Diana María Granda Restrepo
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por seleccionarme y darme la oportunidad de estudiar un doctorado PNPC con una beca de manutención durante este proceso.

A la Universidad de Sonora, por su espacio para el crecimiento y desarrollo en el área de la investigación.

Al posgrado en Ciencias de la Salud por la oportunidad de estudiar un posgrado de calidad dentro del PNPC .

A mis directores de Tesis Dr. Francisco Cabrera Chávez por sus valiosas mentorías y sus consejos que siempre fueron oportunos, por la oportunidad de asignarme un proyecto el cual representa una gran responsabilidad, además por su compañerismo durante estos 6 años que he venido trabajando como su tesista. A la Dra. Verónica López Teros por sus asesorías, por sus correcciones, por siempre exigirme más, lo cual estoy seguro me ha hecho un mejor investigador y por su confianza para ser su tesista.

A mi comité de tesis: la Dra. Alma Rosa Islas Rubio por sus aportes en conocimiento que fueron claves para obtener resultados. Al Dr. Humberto Astiazarán quien siempre me cuestionó para que profundizara más en el conocimiento y a la Dra. Diana María Granda Restrepo quien me brindó el espacio y los recursos para realizar una estancia de la cual aprendí mucho y también disfruté.

A mi familia: mi esposa Karla Verónica por su paciencia y apoyo en este proceso que no fue fácil y por siempre creer en mi; a mi hija Gianna Paula por ser mi motivación para seguir adelante.

A mi madre Rosa Armida y mis hermanos: Jonathan, Luis Guillermo y Omar Elí que siempre han estado para apoyarme.

A mis compañeros de Laboratorio: Noé, Gilberto, Feliznando, Aristeo, Ana Isabel, Carlos, Mora, Paty, César, Oscar, Fernando, Daniel, Dana, Aurelio y Eduardo.

A mis compañeras de generación: Elena y Karla por su compañerismo.

Al coordinador del programa, Dr. Carlos Arturo Velázquez Contreras y a la M. A. Denia Abril Montes quien siempre estuvo con la mejor disposición de ayudarme.

DEDICATORIA

Le dedico esta tesis a la memoria de mi Padre Guillermo Ramírez, quien siempre me motivó a continuar preparándome.

A mi hija Gianna Paula.

CONTENIDO

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	ix
SINOPSIS	1
REFERENCIAS.....	4
HIPÓTESIS.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	7
Objetivos Específicos.....	7
HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO CON ENZIMA ALCALASA EN CODICIONES DE REACCIÓN OPTIMIZADAS Y SU EFECTO ANTIHIPERTENSIVO.....	8
EFECTO DE LAS MATRICES ALIMENTARIAS SOBRE LOS PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS	17
EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE UNA PASTA CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO.....	23
EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE UNA GALLETA CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO	34
EFECTO ANTIHIPERTENSIVO COMBINADO DE UNA RUTINA DE EJERCICIO FÍSICO DE BAJA INTENSIDAD CON LA SUPLEMENTACIÓN CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO DIGERIDO CON ALCALASA	39
CONCLUSIÓN	50

RESUMEN

ANTECEDENTES: La hipertensión arterial puede ser controlada/combatida tanto con fármacos y suplementos dietarios que contengan inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA-I), así como con actividad física de baja intensidad. Ambos abordajes pueden modular la presión sanguínea con diferentes mecanismos.

OBJETIVO: Evaluar en un modelo animal espontáneamente hipertenso el efecto sinérgico de péptidos antihipertensivos de proteína de amaranto con un programa de actividad física de baja intensidad.

MÉTODOS: Se hidrolizó proteína de amaranto bajo condiciones optimizadas (análisis de superficie de respuesta). La biodisponibilidad del hidrolizado se evaluó en los sueros de ratones BALB/c (extraídos desde los 0 min hasta los 120 min); El efecto hipotensor se evaluó en ratas espontáneamente hipertensas (desde las 0h hasta las 7h) a las que se les administró el hidrolizado intragástricamente y usando como controles captopril y agua. Posteriormente, se elaboró una galleta (formulación estándar) y una pasta (con tres diferentes contenidos de proteína total) incorporando el hidrolizado. La biodisponibilidad de los compuestos antihipertensivos en las matrices alimentarias (galletas y pastas) y su efecto hipotensor se evaluaron en ratones BALB/c y ratas espontáneamente hipertensas, respectivamente. Se realizó un bioensayo de 20 semanas con 4 grupos de ratas espontáneamente hipertensas: 1) dieta estándar y condiciones sedentarias; 2) dieta estándar y régimen de actividad física (5 días/semana, 16 m/min, sin inclinación, 60 min/día); 3) suplementación del hidrolizado de amaranto y condiciones sedentarias; 4) suplementación del hidrolizado de amaranto y régimen de actividad física.

RESULTADOS: Las condiciones óptimas de hidrólisis de proteína de amaranto para obtener péptidos antihipertensivos fueron: pH=7.01, temperatura 52°C, concentración de enzima 0.04 mU/mg y tiempo 6.16 h. El hidrolizado optimizado mostró un 93.5 % de inhibición de la ECA-I. El hidrolizado estaba biodisponible en el suero de ratones de 5 a 60 min, y el efecto hipotensor se mantuvo desde las 4h hasta la 7h post-suplementación. Las galletas enriquecidas, pero no los controles sin hidrolizado, redujeron la presión arterial en ratas hipertensas de 195 a 159 mmHg(p<0.05). Las pastas con hidrolizado mostraron propiedades antihipertensivas después de 3h de

suplementación ($p < 0.05$) de 210 a 175 mmHg. Este efecto fue sostenido después de 7h, y se incrementó hasta 9h en las pastas con contenidos proteicos totales mayores. La presión arterial sistólica de las ratas sometidas a la evaluación de 20 semanas se redujo ($p < 0.05$) después de la administración de hidrolizado de 195 a 176 mmHg (en los grupos donde se realizó la suplementación) o después de 8 semanas de llevar el régimen de actividad física con dieta estándar de 196 a 160 mmHg. La presión arterial de los animales del grupo suplementado y bajo régimen de actividad física no tuvo diferencias con la presión arterial del grupo que solamente recibió el hidrolizado ($p > 0.05$). CONCLUSIÓN: El hidrolizado de proteína de amaranto optimizado que se desarrolló tiene efecto antihipertensivo debido a su capacidad inhibitoria de la ECA-I, incluso cuando es incorporado como ingrediente en matrices alimentarias como galletas y pastas. El efecto antihipertensivo se prolonga cuando la matriz alimentaria que contiene al hidrolizado, incrementa su contenido proteico total. En el modelo murino evaluado, fue posible reducir la presión arterial mediante la suplementación con el hidrolizado o a partir de la semana 10 con un régimen de actividad física.

ABSTRACT

BACKGROUND: The control / combat of hypertension involve supplementation of both drugs and dietary compounds with angiotensin-converting enzyme-I (ACE-I) inhibition properties as well as low-intensity physical activity. Both approaches can control blood pressure by different mechanisms. **OBJECTIVE:** To evaluate the synergistic effect of amaranth protein hydrolyzate supplementation and low intensity physical activity program on systolic blood pressure of spontaneously hypertensive rats. **METHODS:** Amaranth protein isolate was hydrolyzed under optimized conditions (response surface analysis). The bioavailability of the hydrolyzate was evaluated in the sera from supplemented BALB/c mice (extracted from 0 min to 120 min); hypotensive effect was evaluated in supplemented spontaneously hypertensive rats by the measurement of systolic blood pressure (from 0h to 7h); captopril and water were used as controls. Then, standard formulations of both cookies and pastas (with three different total protein contents) were prepared incorporating the hydrolyzate. The bioavailability of antihypertensive peptides from food matrices (cookies and pastas) and their hypotensive effect were evaluated in BALB/c mice and spontaneously hypertensive rats, respectively. A 20-week bioassay was performed by using 4 groups of spontaneously hypertensive rats: 1) standard diet and sedentary conditions; 2) standard diet and physical activity (5 days / week, 16 m / min, no incline, 60 min / day); 3) supplementation of the amaranth protein hydrolyzate and sedentary conditions; 4) supplementation of amaranth protein hydrolyzate and physical activity regimen. **RESULTS:** The optimized hydrolysis conditions were: pH=7.01, temperature=52 ° C, enzyme concentration=0.04 mU / mg and time=6.16 h. ACE-I inhibition by optimized hydrolyzate was 93.5 %. The hydrolyzate was bioavailable in the serum of mice from 5 to 60 min, and the hypotensive effect continued to 7h post-supplementation. The enriched cookies, but not the controls without hydrolyzate, reduced blood pressure in hypertensive rats 195 to 159 mmHg ($p < 0.05$). The hydrolyzed enriched pastas showed antihypertensive properties after 3h of supplementation 210 to 175 mmHg ($p < 0.05$). Hypotensive effect continued up to 9h in pastas with higher total protein contents.

Systolic blood pressure decreases in spontaneously hypertensive rats ($p < 0.05$) after administration of hydrolyzate 195 to 176 mmHg (in supplemented groups) or 8 weeks in rats under physical activity with standard diet 196 to 160 mmHg. CONCLUSION: Optimized amaranth protein hydrolyzate by using alcalase has ACE-I inhibitory properties related to antihypertensive activity, even when incorporated as ingredient in food matrices such as cookies and pasta. The antihypertensive effect is prolonged when the food matrix containing amaranth protein hydrolyzate increases the total protein content. Systolic blood pressure decreases in a murine model of hypertension after supplementation of amaranth protein hydrolyzate or after 8 weeks of continue physical activity.

SINOPSIS

La hipertensión se define como una presión sanguínea $\geq 140/90$ mmHg y afecta a más del 25 % de la población adulta mexicana (Ozemek *et al.*, 2018). Esta enfermedad es de interés global y puede ser controlada parcialmente con la dieta. En estos casos es recomendable una ingesta baja de grasas saturadas, colesterol y sobre todo sodio. Sin embargo, otros componentes de los alimentos pudieran coadyuvar a mantener una presión sanguínea normal (intervalos, por que también puede haber hipotensión), pero hasta ahora estos componentes no están disponibles en cantidades fisiológicamente relevantes en matrices alimentarias (Ramírez Torres *et al.*, 2018). Lo anterior representa un reto biotecnológico en áreas específicas del conocimiento como son el diseño y la producción de alimentos para la nutrición especializada.

La hipertensión arterial tipo 1 a la cual corresponden el 90-95 % de los casos, se puede controlar con cambios en el estilo de vida tales como hábitos dietarios y el ejercicio regular (Braun *et al.*, 2018). De hecho, las intervenciones enfocadas a mejorar el estilo de vida pueden reducir la necesidad de medicarse (Kim *et al.*, 2015). Los tratamientos farmacológicos incluyen diuréticos, vasodilatadores, bloqueadores de los receptores de la angiotensina II e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA-I) y pueden utilizarse individualmente o en combinación según sea la presentación clínica (con excepción de la combinación de inhibidores de la ECA-I y bloqueadores de receptores de angiotensina) (Swift & MacGregor, 2002). En particular la ECA-I está directamente involucrada en el mecanismo responsable del incremento de la presión arterial de la sangre. En general, la hipertensión puede ser controlada de forma farmacológica pero esto conlleva un costo económico considerable (Marra *et al.*, 2017). Esta carga económica podría verse reducida con cambios oportunos en el estilo de vida. Además, la disponibilidad de alimentos funcionales accesibles que coadyuven a mantener una presión sanguínea normal ejercería un efecto asociado a la intervención enfocada en el estilo de vida.

Algunas proteínas de los alimentos contienen péptidos bioactivos que desencadenan respuestas fisiológicas benéficas más allá de su función como

nutrimentos. Entre estos beneficios podemos encontrar la capacidad antihipertensiva de algunas secuencias peptídicas del amaranto (*Amaranthus spp.*). Particularmente las glutelinas de amaranto digeridas con tripsina pueden liberar péptidos capaces de inhibir a la ECA-I. De hecho, de estas proteínas se han obtenido cerca de 60 péptidos que presentan un alto contenido de prolina en sus extremos carboxilos y/o aminos y notablemente actividad inhibitoria de la ECA-I (Silva-Sánchez *et al.*, 2008).

Por otra parte para prevenir o controlar parcialmente la hipertensión la Organización Mundial de la Salud recomienda realizar actividad física de baja intensidad por periodos de 30 minutos al día, 5 veces a la semana. Sin embargo, más del 19 % de la población mexicana no cumple con los criterios establecidos por dicha organización (Medina *et al.*, 2013). Ciertamente, los efectos benéficos de la actividad física sobre el control de la hipertensión han sido descritos tanto en humanos como en modelos animales. Por ejemplo, en modelos de ratas espontáneamente hipertensas se ha demostrado que el ejercicio aeróbico reduce el estrés oxidativo y promueve la función vasodilatadora endotelial (Bertagnolli *et al.*, 2006; de Andrade Moraes-Teixeira *et al.*, 2010). Este mecanismo que promueve la regulación de la presión sanguínea difiere de aquellos propuestos en relación a la función de péptidos antihipertensivos. De este modo, es viable que el ejercicio físico en conjunto con el consumo dietario de péptidos antihipertensivos pueda presentar un efecto sinérgico para controlar la hipertensión de forma eficiente.

Mientras que existen varios estudios enfocados en la producción, aislamiento y caracterización de péptidos antihipertensivos, se ha puesto poca atención a su biodisponibilidad cuando son consumidos como parte de la dieta en diversas matrices alimentarias. Un requisito indispensable de los péptidos a ser usados como complemento o adyuvante antihipertensivo, es que deben ser resistentes a la digestión gastrointestinal y posteriormente transportados a través del epitelio intestinal. Finalmente deben mantenerse biológicamente activos en el torrente sanguíneo hasta ejercer su función fisiológica. Consecuentemente, las distintas matrices alimentarias juegan un papel fundamental ya que dependiendo de las operaciones unitarias a las

que se vean sometidos los alimentos, se puede alterar la biodisponibilidad de las moléculas bioactivas.

REFERENCIAS

- Bertagnolli, M., Campos, C., Schenkel, P. C., de Oliveira, V. L. L., De Angelis, K., Belló-Klein, A., ... & Irigoyen, M. C. 2006. Baroreflex sensitivity improvement is associated with decreased oxidative stress in trained spontaneously hypertensive rat. *J. Hypertens*, 24(12), 2437-2443.
- Braun, K., Atmanspacher, F., Schreckenberger, R., Grgic, I., & Schlüter, K. 2018. Effect of free running wheel exercise on renal expression of parathyroid hormone receptor type 1 in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Rep*, 6(17), e13842.
- de Andrade Moraes-Teixeira, J., Félix, A., Fernandes-Santos, C., Moura, A. S., Mandarim-de-Lacerda, C. A., & de Carvalho, J. J. 2010. Exercise training enhances elastin, fibrillin and nitric oxide in the aorta wall of spontaneously hypertensive rats. *Exp Mol Pathol*, 89(3), 351-357.
- Kim, J. H., Sher, S., Wang, F., Berkstresser, B., Shoop, J. L., Galante, A., Al Mheid, I., Ghasemzadeh, N., Hutter, A. M., & Williams III, B. R. 2015. Impact of American-style football participation on vascular function. *Am J Cardiol*, 115(2), 262–267.
- Marra, C., Johnston, K., Santschi, V., & Tsuyuki, R. T. 2017. Cost-effectiveness of pharmacist care for managing hypertension in Canada. *Can Pharm J*, 150(3), 184-197.
- Medina, C., Janssen, I., Campos, I., & Barquera, S. 2013. Physical inactivity prevalence and trends among Mexican adults: results from the National Health and Nutrition Survey (ENSANUT) 2006 and 2012. *BMC Public Health*, 13(1), 1063.
- Ozemek, C., Laddu, D. R., Arena, R., & Lavie, C. J. 2018. The role of diet for prevention and management of hypertension. *Curr Opin Cardiol*, 33(4), 388-393.
- Ramírez-Torres, G. I., Ontiveros, N., Lopez-Teros, V., Suarez-Jiménez, G. M., & Cabrera-Chávez, F. 2018. Food Matrices for the Delivery of Antihypertensive Peptides in Functional Foods. *Biotechnia*, 20(3), 165-169.
- Silva-Sánchez, C., De La Rosa, A. P. B., León-Galván, M. F., De Lumen, B. O., de León-Rodríguez, A., & De Mejía, E. G. 2008. Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. *J Agr Food Chem*, 56(4), 1233–1240.

Swift, P. A., & MacGregor, G. A. 2002. The frequent need for three or more drugs to treat essential hypertension. What evidence for optimal combinations?. *J Renin-Angio-Aldo S*, 3(2), 103–108.

HIPÓTESIS

El consumo de alimentos formulados con hidrolizados proteicos de amaranto con actividad antihipertensiva, en conjunto con un programa de actividad física de baja intensidad, contribuyen sinérgicamente a disminuir la hipertensión en un modelo de ratas hipertensas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar en un modelo animal espontáneamente hipertenso el efecto sinérgico de péptidos antihipertensivos de proteína de amaranto consumidos en una matriz alimentaria con un programa de actividad física de baja intensidad.

Objetivos Específicos

- 1) Optimizar las condiciones de hidrólisis de proteína de amaranto para obtener la mayor cantidad de péptidos inhibidores de la ECA-I;
- 2) Evaluar el efecto inhibidor de la ECA-I y el efecto antihipertensivo en ratas hipertensas y normotensas de un hidrolizado optimizado de proteína de amaranto con enzima alcalasa.
- 3) Evaluar el efecto antihipertensivo y la biodisponibilidad de los péptidos antihipertensivos cuando el hidrolizado es incorporado dentro de matrices alimentarias en un modelo animal de hipertensión.
- 4) Evaluar en un bioensayo en ratas hipertensas, el efecto sinérgico del hidrolizado optimizado de proteína de amaranto con alcalasa en conjunto con una rutina de actividad física de baja intensidad.

HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO CON ENZIMA ALCALASA EN CODICIONES DE REACCIÓN OPTIMIZADAS Y SU EFECTO ANTIHIPERTENSIVO

Se publicó en el 2017 y lleva por título: *Amaranth protein hydrolysates efficiently reduce systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats* fue publicado en *Molecules* (22: 1905). Doi:10.3390/molecules22111905.

El artículo antes citado muestra las evaluaciones experimentales para determinar las condiciones óptimas de hidrólisis de proteínas de amaranto por alcalasa microbiana grado alimenticio. También se presenta la evaluación del efecto antihipertensivo del hidrolizado de proteína de amaranto con enzima alcalasa bajo condiciones optimizadas. Asimismo, se presenta el desarrollo de un método para evaluar biodisponibilidad de compuestos inhibidores de la ECA-I.

Se realizó un análisis de superficie de respuesta con los resultados de 54 reacciones de hidrólisis de proteína de amaranto a distintas condiciones (temperatura, pH, concentración de la enzima y tiempo de reacción) con el fin de determinar las condiciones óptimas. La variable de respuesta fue el porcentaje de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina. Se determinó el grado de hidrólisis (a través de la medición de grupos alfa-amino libres). La biodisponibilidad del hidrolizado se evaluó mediante la detección de compuestos inhibidores de la ECA-I en los sueros de ratones (BALB/c) retados intragástricamente. El efecto hipotensor se evaluó en ratas espontáneamente hipertensas a distintos tiempos después de un reto intragástrico. Las condiciones de hidrólisis optimizadas fueron: pH=7.01, temperatura=52°C, concentración de enzima 0.04 mU/mg, y tiempo=6.16 h. El hidrolizado optimizado mostró un 93.5 % de inhibición de ECA-I y un grado de hidrólisis del 74.77 %. Después de la suplementación, el hidrolizado estaba biodisponible en ratones de 5 a 60 min, y el efecto hipotensor comenzó a las 4 h en ratas espontáneamente hipertensas ($p < 0.05$ vs. grupo de agua). Con estos resultados de esta parte de la tesis se propuso que el uso de hidrolizados optimizados de amaranto como suplementos hipotensores o ingrediente para alimentos funcionales parece factible.

Article

Amaranth Protein Hydrolysates Efficiently Reduce Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats

Giovanni Ramírez-Torres ^{1,2}, Noé Ontiveros ^{3,*}, Verónica Lopez-Teros ¹,
Jesús Aurelio Ibarra-Diarte ³, Cuauhtémoc Reyes-Moreno ⁴, Edith Oliva Cuevas-Rodríguez ⁴ and
Francisco Cabrera-Chávez ^{2,3,*}

¹ Nutritional Sciences, Department of Chemical and Biological Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, Mexico; giovannirt2@hotmail.com (G.R.-T.); veronica.lopez@unison.mx (V.L.-T.)

² Faculty of Physical Education and Sport, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80019, Mexico

³ Nutrition Sciences Academic Unit, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80019, Mexico; aurelio_10_9@hotmail.com

⁴ Faculty of Chemical and Biological Sciences, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80199, Mexico; creyez@uas.edu.mx (C.R.-M.); edith.oliva@gmail.com (E.O.C.-R.)

* Correspondence: noeontiveros@gmail.com (N.O.); fcabrera@uas.edu.mx (F.C.-C.); Tel.: +52-667-753-5454 (N.O. & F.C.-C.)

Received: 1 October 2017; Accepted: 3 November 2017; Published: 9 November 2017

Abstract: Alcalase is the enzyme of choice to release antihypertensive peptides from amaranth proteins, but the hydrolysis conditions have not been optimized yet. Furthermore, in vivo assays are needed to confirm such a hypotensive effect. Our aim was to optimize the hydrolysis of amaranth protein with alcalase and to test in vivo the hypotensive effect of the hydrolysates. A response surface analysis was carried out to optimize the hydrolysis reaction. The response variable was the Angiotensin Converting Enzyme (ACE-I) inhibition. The hydrolysis degree was determined (free alpha-amino groups measurement). The optimized hydrolysate bioavailability was assessed in the sera of mice and the hypotensive effect was assessed in spontaneously hypertensive rats. Control groups were administered captopril or water. The optimized hydrolysis conditions were: pH = 7.01, temperature = 52 °C, enzyme concentration 0.04 mU/mg, and time = 6.16 h. The optimized hydrolysate showed a 93.5% of ACE-I inhibition and a hydrolysis degree of 74.77%. After supplementation, the hydrolysate was bioavailable in mice from 5 to 60 min, and the hypotensive effect started at 4 h in spontaneously hypertensive rats ($p < 0.05$ vs. water group). This effect was similar to the captopril hypotensive effect for the next 3 h ($p > 0.05$). The use of amaranth-optimized hydrolysates as hypotensive supplements or ingredient for functional foods seems feasible.

Keywords: antihypertensive peptides; amaranth; ACE-I inhibition

1. Introduction

Hypertension is a risk factor for developing cardiovascular diseases such as coronary heart disease, atrial fibrillation, and heart failure, among others [1,2]. Some food proteins contain peptide sequences with different functions, including antihypertensive capacity [3,4]. Amaranth (*Amaranthus* spp.) protein contains such bioactive peptides. More than 60 amaranth antihypertensive peptides have been identified to date [5]. Different enzymes have been used to hydrolyse amaranth proteins, but the catalysis by alcalase (E.C. 3.4.21.62) releases the peptides with the highest capacity to inhibit the angiotensin-I-converting enzyme (ACE-I) (E.C. 3.4.15.1) [6]. ACE-I is involved in the vasoconstriction process and its inhibition in in vitro assays is a common approach in the search for molecules with

EFFECTO DE LAS MATRICES ALIMENTARIAS SOBRE LOS PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS

Se publicó en la revista *Biocencia* en el 2018 (20: 165-169): *Food Matrices for the Delivery of Antihypertensive Peptides in Functional Foods*. Doi:10.18633/biocencia.v20i3.723.

El trabajo publicado es una revisión literaria de trabajos originales que evalúan el efecto de las matrices alimentarias sobre la biodisponibilidad en general de los péptidos antihipertensivos que contienen. Se muestra la importancia de estos péptidos dentro de los estudios de alimentos funcionales y sobre cómo hay un número reducido de investigaciones que han sido conducidas en modelos *in vivo*. Así, solo unos pocos de esos péptidos bioactivos son utilizados como suplementos o ingredientes para la producción de alimentos funcionales. Además de las evaluaciones *in vivo*, otra tarea que resulta un reto es la liberación de péptidos bioactivos en condiciones fisiológicas, pero los estudios sobre este tópico son escasos. Algunas proteínas son capaces de formar geles que tienen diferentes características relacionadas con el pH del medio en el que se encuentren. Los péptidos bioactivos pueden quedar atrapados en las estructuras de esos geles y ser luego liberados en diferentes ambientes fisiológicos (e. g. bajo pH en el estómago y neutro en el intestino). Así, la selección de macronutrientes puede jugar un papel crítico. En esta parte del estudio se presentó una hipótesis adicional dentro de la presente tesis proponiendo que el aumento en el contenido proteico de las matrices alimentarias donde se incorporen los péptidos antihipertensivos, prolongará su efecto antihipertensivo, es decir, aumentará el tiempo que dichos péptidos permanezcan biodisponibles después de ser ingeridos.



FOOD MATRICES FOR THE DELIVERY OF ANTIHYPERTENSIVE PEPTIDES IN FUNCTIONAL FOODS

MATRICES ALIMENTARIAS PARA LA LIBERACIÓN DE PÉPTIDOS ANTIHIPERTENSIVOS EN ALIMENTOS FUNCIONALES

Ramírez-Torres GI^{1,2}, Ontiveros N³, López-Teros V¹, Suarez-Jiménez GM⁴, Cabrera-Chávez F^{5,*}

¹ Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, 83000, México.

² Escuela Superior de Educación Física, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa 80019, México.

³ Departamento de Ciencias Químico Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Sonora. Navojoa, Sonora 85880, México.

⁴ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, 83000, México.

⁵ Unidad Académica de Ciencias de la nutrición y Gastronomía. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa 80019, México.

ABSTRACT

Many food-derived peptides with antihypertensive activity have been reported. However, a reduced number of studies have been conducted to prove *in vivo* the efficacy of most of the currently reported antihypertensive peptides. Thus, just a few of these bioactive peptides are utilized as supplements or ingredients for functional foods production. In addition to *in vivo* evaluations, another challenging task is the delivery of bioactive peptides in physiological conditions, but studies about this topic are scarce. Notably, some proteins are able to form gels that have different characteristics related to the pH of the environment. Bioactive peptides can be entrapped into such gels structure and be released in different physiological environments (e. g. low pH in the stomach and neutral in the intestine). Thus, the selection of macronutrients could play a critical role in the design of food matrices intended to be used as containers and releasers of antihypertensive peptides.

Keywords: Bioactive compounds; Food matrix; Bioavailability.

RESUMEN

Muchos péptidos derivados de los alimentos con actividad antihipertensiva han sido reportados. Sin embargo, un reducido número de estudios han sido conducidos para probar la eficacia de la mayoría de los péptidos que actualmente reportan actividad antihipertensiva. Así, solo unos pocos de esos péptidos bioactivos son utilizados como suplementos o ingredientes para la producción de alimentos funcionales. Además de las evaluaciones *in vivo*, otra tarea que resulta un reto es la liberación péptidos bioactivos en condiciones fisiológicas, pero los estudios sobre este tópico son escasos. Notablemente, algunas proteínas son capaces de formar geles que tienen diferentes características relacionadas con el pH del medio en el que se encuentren. Los péptidos bioactivos pueden quedar atrapados en las estructuras de esos geles y ser luego liberados en diferentes ambientes fisiológicos (e. g. bajo pH en el estómago y neutro en el intestino). Así, la selección de macronutrientes puede jugar un papel crítico

en el diseño de matrices alimentarias para ser usadas como vehículos y liberadores de péptidos antihipertensivos.

Palabras clave: Compuestos bioactivos; Matriz alimentaria; Biodisponibilidad.

INTRODUCTION

Many peptides derived from a wide range of food proteins (animal and non-animal protein sources) and with anti-hypertensive properties have been reported. From this large spectrum of peptides, just a few of them have been tested in clinical trials. For instance, in the website of the U.S. National Institutes of Health only 3 studies can be found entering the key words 'antihypertensive peptide' categorized as 'dietary supplement' and just two involving the dietary intervention with peptides into a food matrix (US NIH, 2017). Although antihypertensive peptides generally show lower antihypertensive activity than synthetic drugs, either *in vitro* or *in vivo*, they are less likely to accumulate in the body and to trigger side effects (Li-Chan, 2015). Thus, many studies have been conducted in the last two decades to discover new antihypertensive peptides with potential to be used as ingredients in functional foods.

Often food-derived antihypertensive peptides are tested *in vitro* being the inhibition of the angiotensin-converting enzyme (ACE) (EC 3.4.15.1) the most common test (Aluko, 2015). Certainly, to be physiologically relevant *in vivo*, the peptides should remain unaltered through the gastrointestinal tract and be transported across the intestinal epithelium (Figure 1). Finally, they must preserve their bioactivity into the blood serum conditions to perform specific physiological functions (Norris and FitzGerald, 2013). This is particularly relevant when testing functional foods. Since *in vivo* the bioactive compounds must be released from the food matrix in sufficient amount to play a significant role in the organism, *in vitro* assays are considered as preliminary studies. In this mini-review we have focused on the digestion of proteins and absorption of peptides as well as on the role of food matrices characteristics in the delivery of antihypertensive peptides.

*Autor para correspondencia: Francisco Cabrera-Chávez
Correo electrónico: fcabrera@uas.edu.mx

Recibido: 04 de septiembre de 2017

Aceptado: 26 de abril de 2018

EFFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE UNA PASTA CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO

Se publicó en el 2019 y lleva por título: *Pasta Enrichment with an Amaranth Hydrolysate Affects the Overall Acceptability while Maintaining Antihypertensive Properties*, fue publicado en *Foods* (8: 282). Doi: 10.3390/foods8080282.

El artículo presenta la evaluación de la actividad antihipertensiva de péptidos de amaranto en pastas con distintos contenidos de proteína total. Asimismo se presenta la evaluación tecnológica de estas matrices alimentarias. Se formularon pastas con 11 % (A; control), 15 % (B) y 20 % (C) de proteína. A las pastas B y C se les aumentó su contenido proteico mediante la adición de un concentrado de proteína de amaranto. Se evaluaron el tiempo de cocción, la pérdida de peso durante la cocción, el color la adhesividad y la textura. Un panel no entrenado (n=30) evaluó los atributos sensoriales. El efecto antihipertensivo se evaluó en ratas hipertensas que fueron suplementadas con las pastas. El tiempo óptimo de cocción y la pérdida de peso durante la cocción disminuyeron en las pastas B y C comparadas con la pasta A ($p < 0.05$). En las mediciones de color, los valores de L^* disminuyeron en la pasta C. La firmeza aumentó en la pasta C comparada con la pasta A ($p < 0.05$). La adhesividad fue diferente entre todos los grupos ($p < 0.05$). La pasta A tuvo la mayor aceptabilidad ($p < 0.05$). Los productos B y C y captopril (control positivo) mostraron propiedades antihipertensivas después de 3 h de suplementación ($p < 0.05$). Este efecto permaneció después de 7h, 8h, o 9h. Con estos últimos resultados se logró contrastar la hipótesis presentada en el capítulo 2 concluyendo que el incremento en el contenido proteico de las matrices alimentarias aumenta la biodisponibilidad de los péptidos antihipertensivos contenidos en ella.

Article

Pasta Enrichment with an Amaranth Hydrolysate Affects the Overall Acceptability while Maintaining Antihypertensive Properties

Eduardo Enrique Valdez-Meza ¹, Anabela Raymundo ², Oscar Gerardo Figueroa-Salcido ³, Giovanni Isai Ramírez-Torres ⁴, Patrícia Fradinho ², Sonia Oliveira ², Isabel de Sousa ², Miroslava Suárez-Jiménez ¹, Feliznando Isidro Cárdenas-Torres ³, Alma Rosa Islas-Rubio ⁵, Guillermo Rodríguez-Olibarría ¹, Noé Ontiveros ^{6,*} and Francisco Cabrera-Chávez ^{3,*}

¹ Department of Research and Food Science, University of Sonora, Hermosillo, Sonora 1658, Mexico

² LEAF-Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

³ Nutrition Sciences Academic Unit, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80019, Mexico

⁴ Department of Chemical and Biological Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, Mexico

⁵ Research Center for Food and Development, Hermosillo, Sonora 83000, Mexico

⁶ Division of Sciences and Engineering, Department of Chemical, Biological and Agricultural Sciences, University of Sonora, Navojoa, Sonora 85880, Mexico

* Correspondence: noe.ontiveros@unison.mx (N.O.); fcabrera@uas.edu.mx (F.C.-C.); Tel.: +52-642-425-9950 (N.O.); +52-667-753-5454 (F.C.-C.)

Received: 28 June 2019; Accepted: 22 July 2019; Published: 24 July 2019



Abstract: Background: Alcalase-treated amaranth proteins generate angiotensin-1-converting enzyme (ACE-1) inhibitory peptides, which could be useful for functional foods development. Our aim was to evaluate the technological, sensory, and antihypertensive properties of pasta enriched with an amaranth hydrolysate. Methods: Pasta with 11% (A; control), 15% (B), and 20% (C) of protein content were formulated. Pastas B and C were supplemented with an alcalase-treated amaranth protein concentrate. Cooking time, cooking loss, color, and texture were assessed. An untrained panel ($n = 30$) evaluated sensory attributes. The antihypertensive effect was evaluated in hypertensive rats. Results: The hydrolysate IC50 was 0.014 mg/mL. Optimum cooking time and cooking loss decreased in products B and C vs. A ($p < 0.05$). The L^* values decreased in pasta C. Firmness increased in pasta C vs. A ($p < 0.05$). Adhesiveness was different among groups ($p < 0.05$). Pasta A had the highest acceptability ($p < 0.05$). The products B and C, and captopril (positive control) showed antihypertensive properties after 3 h of supplementation ($p < 0.05$). This effect remained after 7 h, 8 h, or 9 h. Conclusions: The addition of amaranth hydrolysates to pasta negatively impacts on the overall acceptability and, to a lesser extent, on pasta taste. However, it is possible to maintain the antihypertensive properties of the supplemented pasta under physiological conditions.

Keywords: amaranth protein; pasta; sensory evaluation; hypertension; functional food

1. Introduction

Functional foods provide health-related benefits beyond basic nutrition by virtue of the presence of physiologically active components [1,2]. These foods could contribute as an adjunct for the control of several diseases, such as high blood pressure. Potential ingredients for this purpose include anthocyanins [3], isoflavones [4], and peptides [5]. The mechanism for reducing blood pressure involves several pathways. Pharmaceutical drugs such as enalapril and captopril are inhibitors of angiotensin-1-converting enzyme (ACE-1), which is involved in the pathogenesis of hypertension. This

EFFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE UNA GALLETA CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO

Se publicó en el 2020 y lleva por título: *Amaranth-hydrolyzate enriched cookies reduce the systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats*, se publicó en la revista Journal of Functional Foods (64: 103613). Doi: 10.1016/j.jff.2019.103613.

En este estudio se analizó el efecto de la matriz alimentaria de un producto horneado sobre la actividad antihipertensiva y la biodisponibilidad de los péptidos de amaranto. El hidrolizado de proteína de amaranto descrito en el capítulo 1 obtenido por hidrólisis con alcalasa fue incorporado en una formulación estándar de galletas. Se evaluaron sus características tecnológicas (factor de expansión, color y textura). La actividad antihipertensiva se evaluó en ratas espontáneamente hipertensas suplementadas con las galletas elaboradas. La biodisponibilidad de los compuestos antihipertensivos se evaluó de forma indirecta mediante la detección de péptidos inhibidores de la ECA-I en suero de ratones BALB/c suplementados con las galletas elaboradas. Las galletas enriquecidas desarrollaron un color amarillo-marrón más intenso que las no enriquecidas ($p < 0.05$). En comparación con el grupo que recibió agua solamente, los sueros de ratones alimentados con galletas enriquecidas inhibieron significativamente la actividad de ECA-I ($p < 0.05$). Del mismo modo, las galletas enriquecidas, pero no las no enriquecidas, redujeron la presión arterial en ratas hipertensas ($p < 0.05$), por lo que el hidrolizado de amaranto mantiene sus propiedades antihipertensivas después de su incorporación en una matriz alimentaria que implique la operación unitaria de horneado y las temperaturas que esto implica.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Functional Foods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jff

Amaranth-hydrolyzate enriched cookies reduce the systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats

Noé Ontiveros^a, Verónica López-Teros^b, Marcela de Jesús Vergara-Jiménez^c, Alma Rosa Islas-Rubio^d, Feliznando Isidro Cárdenas-Torres^e, Edith-Oliva Cuevas-Rodríguez^e, Cuauhtémoc Reyes-Moreno^e, Diana Maria Granda-Restrepo^f, Seneida Lopera-Cardona^f, Giovanni Isaí Ramírez-Torres^{b,*}, Francisco Cabrera-Chávez^{c,*}

^a Division of Sciences and Engineering, Department of Chemical, Biological, and Agricultural Sciences (DCQByA), Clinical and Research Laboratory (LACTUS, URS), University of Sonora, Navojoa, Sonora, Mexico

^b Health Sciences Doctorate Program, Department of Chemical and Biological Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora, Mexico

^c Nutritional Sciences Academic Unit, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, Mexico

^d Research Center for Food and Development, Hermosillo, Sonora, Mexico

^e Faculty of Chemical and Biological Sciences, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80199, Mexico

^f Departamento de Alimentos, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

ARTICLE INFO

Keywords:

Bioactive compounds
Antihypertensive peptides
Amaranth protein
Functional foods

ABSTRACT

The effect of consuming baked foods enriched with antihypertensive compounds on blood pressure remains uncertain. In this study, an alcalase-generated amaranth hydrolyzate was used to prepare cookies and their technological characteristics (expansion factor, color, and texture) and antihypertensive properties evaluated. The bioavailability of the antihypertensive compounds were assessed in Balb/c mice and the antihypertensive effects in hypertensive rats. Enriched cookies developed a more intense yellow-brown color than the non-enriched ones ($p < 0.05$). Compared to the group that received water only, the sera of mice fed with enriched cookies significantly inhibited ACE-1 activity ($p < 0.05$). Similarly, enriched cookies, but not non-enriched ones, reduced the blood pressure in hypertensive rats ($p < 0.05$). Amaranth hydrolyzates maintain their antihypertensive properties after their incorporation into a cookie recipe and could be used as an ingredient for functional foods development.

1. Introduction

The identification and purification of peptides with potential to treat human diseases has been the subject of intensive research. Purifying a peptide to high levels would not only be costly, but would also increase the risk to lose any synergic beneficial effect given by other components present in the source of the peptide of interest (Chakrabarti, Guha, & Majumder, 2018). Currently, the use of hydrolyzates as an ingredient for functional foods development is more feasible than the use of purified peptides (Sabbione, Suárez, Añón, & Scilingo, 2018). Particularly, amaranth hydrolyzates obtained with alcalase can inhibit the angiotensin 1 converting enzyme (ACE-1) activity *in vitro* (Silva-Sanchez et al., 2008; Tovar-Pérez, Guerrero-Legarreta, Farrés-González, & Soriano-Santos, 2009) and *in vivo* (Fritz, Vecchi,

Rinaldi, & Añón, 2011; Ramírez-Torres et al., 2017). This inhibition property could be used to control hypertension in human beings, since ACE-1 catalyzes the reaction to produce angiotensin II, a vasopressor peptide involved in the pathophysiology of hypertension (Joel, Sutopo, Prajitno, Su, & Hsu, 2018). Although the hydrolysis conditions with alcalase to obtain an amaranth hydrolyzate with potential to inhibit ACE-1 activity *in vitro* and to reduce blood pressure in hypertensive rats have been optimized (Ramírez-Torres et al., 2017), the potential antihypertensive effects of the hydrolyzate after its incorporation into a food matrix have not been evaluated *in vivo* yet. Thus, the aim of this study was to evaluate the bioavailability and the antihypertensive properties of an optimized amaranth hydrolyzate after its incorporation into a standardized cookie recipe. Additionally, the main technological characteristics of this food product were evaluated.

Abbreviations: ACE-1, angiotensin converting enzyme 1; IC50, half maximal inhibitory concentration

* Corresponding authors at: Health Sciences Doctorate Program, Department of Chemical and Biological Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, Mexico (G.I. Ramírez-Torres). Nutritional Sciences Academic Unit, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80020, Mexico (F.C. Chávez).

E-mail addresses: giovannirt2@hotmail.com (G.I. Ramírez-Torres), fcabrera@uas.edu.mx (F. Cabrera-Chávez).

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103613>

Received 10 July 2019; Received in revised form 21 September 2019; Accepted 3 October 2019

1756-4646/ © 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Please cite this article as: Noé Ontiveros, et al., Journal of Functional Foods, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103613>

EFFECTO ANTIHIPERTENSIVO COMBINADO DE UNA RUTINA DE EJERCICIO FÍSICO DE BAJA INTENSIDAD CON LA SUPLEMENTACIÓN CON HIDROLIZADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO DIGERIDO CON ALCALASA

Este artículo se publicó en el 2020 y lleva por título: *Antihypertensive Effect of Amaranth Hydrolysate Is Comparable to the Effect of Low-Intensity Physical Activity*, se publicó en la revista Applied Science (10: X).

En este artículo original se muestran los resultados de un bioensayo diseñado para determinar el efecto combinado de la suplementación de los péptidos antihipertensivos de amaranto descritos en el capítulo 1 en conjunto con el régimen de actividad física de baja intensidad en un modelo murino de hipertensión (ratas espontáneamente hipertensas). La suplementación de los péptidos, así como la suplementación de controles positivos (captopril) y negativos (agua) se realizó mediante retos intragástricos. Se realizaron mediciones de presión arterial en los animales semanalmente durante 20 semanas. La rutina de actividad física se realizó 5 días por semana (velocidad=16 m/min, sin inclinación, 60 min/día). En ratas hipertensas, la presión arterial se redujo ($p < 0.05$) después de la administración de hidrolizado o después de 8 semanas de ejercicio, pero no hubo efectos antihipertensivos adicionales en el grupo suplementado y ejercitado ($p > 0.05$ vs grupos suplementados o ejercitados). Con esta última parte de la tesis no se logró demostrar un efecto sinérgico en la reducción de la presión arterial debido a la combinación de la suplementación de péptidos de amaranto con actividad física. Sin embargo, los resultados muestran que es factible que la suplementación se use para ayudar en el control de la presión arterial sistólica en las primeras etapas de un tratamiento combinado (péptidos de amaranto y actividad física) mientras se alcanzan los efectos antihipertensivos del ejercicio.

Article

Antihypertensive Effect of Amaranth Hydrolysate Is Comparable to the Effect of Low-Intensity Physical Activity

Francisco Cabrera-Chávez¹, Veronica Lopez-Teros², Perla Yareli Gutiérrez-Arzapalo³, Feliznando Isidro Cárdenas-Torres¹, Efrén Rafael Ríos-Burgueño³, Humberto Astiazaran-García⁴, José Aldo Hernández Murúa⁵, Guadalupe González-Ochoa⁶, Giovanni Isai Ramírez-Torres^{2,*} and Noé Ontiveros^{6,*}

¹ Nutritional Sciences Academic Unit, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80010, Mexico; fcabrera@uas.edu.mx (F.C.-C.); feliznando@uas.edu.mx (F.I.C.-T.)

² Health Sciences Doctorate Program, Department of Chemical and Biological Sciences, University of Sonora, Hermosillo, Sonora 83000, Mexico; veronica.lopez@unison.mx

³ Center of Research and Teaching in Health Sciences (CIDOCS), Autonomous University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80030, Mexico; perla.gutierrez@uas.edu.mx (P.Y.G.-A.); rael_rios@yahoo.com.mx (E.R.R.-B.)

⁴ Nutrition, Research Center for Food and Development, CIAD, A.C. Carretera a La Victoria Km. 0.6, Hermosillo, Sonora 83304, Mexico; hastiazaran@ciad.mx

⁵ Sports and Physical Education Faculty, Laboratory of Prescription of Physical Exercise for Health, University of Sinaloa, Culiacán, Sinaloa 80013, Mexico; aldohdez80@uas.edu.mx

⁶ Division of Sciences and Engineering, Department of Chemical, Biological and Agricultural Sciences, Clinical and Research Laboratory (LACIUS, URS), University of Sonora, Navojoa, Sonora 85880, Mexico; guadalupe.gonzalezchoa@unison.mx

* Correspondence: a216230150@unison.mx (G.I.R.-T.); noe.ontiveros@unison.mx (N.O.); Tel.: +52-667-753-5454 (G.I.R.-T.); +52-642-425-9950 (N.O.)

Received: 18 July 2020; Accepted: 13 August 2020; Published: date

Abstract: *Background and objectives:* Both antihypertensive peptide intake and physical activity help to control blood pressure. Our aim was to evaluate the impact of consuming amaranth antihypertensive peptides on systolic blood pressure (SBP) in normotensive rats and the magnitude and relevance of the peptide-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Materials and Methods:* Treatments (alcalase-generated amaranth protein hydrolysate, captopril, or water) were given by gavage and the SBP measured by the tail-cuff method. Physical activity was performed five days/week (for twenty weeks). *Results:* The normotensive rats' SBP (mmHg, average/group) remained unaffected after amaranth antihypertensive peptide supplementation (121.8) ($p > 0.05$ vs controls). In SHR, the SBP was lowered by 24.6 (sedentary/supplemented at two weeks), 42.0 (sedentary/supplemented at eight weeks), and 31.5 (exercised/non-supplemented at eight weeks) ($p < 0.05$ vs sedentary/non-supplemented). The combination of supplementation and physical activity lowered the SBP by 36.2 and 42.7 (supplemented/exercised at two weeks and eight weeks, respectively) ($p < 0.05$ vs sedentary/non-supplemented), but it did not have additional antihypertensive benefits ($p > 0.05$ vs sedentary/supplemented at eight weeks or exercised/non-supplemented at eight weeks). *Conclusions:* Amaranth antihypertensive peptide supplementation has no impact on SBP in normotensive rats. This supplementation develops sustained antihypertensive benefits in SHR, which are similar to the antihypertensive effect developed after eight- or twenty-week low-intensity physical activity. These findings have implications for developing safe and effective peptide-based functional foods.

CONCLUSIONES

La hidrólisis de proteína de amaranto con enzima alcalasa en condiciones de reacción optimizadas, genera péptidos inhibidores de la ECA-I que son biodisponibles y ejercen un efecto antihipertensivo cuando son suplementados en ratas espontáneamente hipertensas. La biodisponibilidad de estos péptidos se incrementa y el efecto antihipertensivo se prolonga durante más tiempo cuando cuando son suplementados en matrices alimentarias con alto contenido proteico. Además, estas propiedades antihipertensivas y de biodisponibilidad se mantienen cuando los péptidos se incorporan en matrices alimentarias cuya elaboración involucra operaciones unitarias con altas temperaturas como el horneado. Finalmente, el control de la presión arterial puede se optimiza mediante la combinación de la suplementación de péptidos de amaranto durante el inicio de un régimen de actividad física, pudiéndose detener la suplementación a partir de la semana 10 y continuando solo con la rutina de ejercicio para mantener disminuidos los niveles de presión arterial en ratas espontáneamente hipertensas.