



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS

Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos

Efecto de la Humedad de Alimentación y la Temperatura de Extrusión Sobre la Capacidad Antioxidante y Calidad Nutricional *in-vivo* en Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

Q.A. Almirudis Echeverria Sócrates Joel

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

**Efecto de la Humedad de Alimentación y la Temperatura de Extrusión
Sobre la Capacidad Antioxidante y Calidad Nutricional *in-vivo*
en Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.)**

Q.A. Almirudis Echeverria Sócrates Joel

Dra. Ana Irene Ledesma Osuna

Director de la tesis

Dr. Benjamín Ramírez Wong

Miembro del Comité de tesis

Dra. Concepción L. Medina Rodríguez

Miembro del Comité de tesis

Dra. Elisa Magaña Barajas

Miembro del Comité de tesis

Hermosillo, Sonora

Octubre del 2018

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias de los Alimentos** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente

Almirudis Echeverria Sócrates Joel

Dr. Enrique Márquez Ríos
Coordinador del Programa de Posgrado

RESUMEN

El amaranto es un pseudocereal con alto valor nutricional, en comparación con los cereales convencionales tiene un alto contenido de proteínas que presentan un buen balance de aminoácidos esenciales, un aporte considerable de lípidos, además contiene compuestos fenólicos que contribuyen a su actividad antioxidante. Debido a las condiciones controladas de procesamiento por extrusión, en este trabajo se utilizó dicha tecnología como alternativa al procesamiento tradicional. Las condiciones de extrusión evaluadas fueron 2 niveles de temperatura (T) de 150 o 180°C, y 3 niveles de humedad de alimentación (HA) de la muestra al 18, 25 o 32%. Se evaluó el Índice de expansión, parámetros de color L^*a^* y b^* , el contenido de fenoles totales, y la actividad antioxidante por medio del porcentaje de inhibición del radical ABTS y DPPH. Los tratamientos de extrusión con los mayores y menores niveles de HA y T se sometieron a una evaluación de calidad proteica usando un modelo murino, donde se evaluó la razón neta de proteína (NPR), digestibilidad aparente (DAN) y verdadera de nitrógeno (DVN). Se encontró un efecto muy significativo por parte de HA, T y HAxT en el contenido de fenoles totales e inhibición de radicales. Las condiciones de extrusión de 150°C con interacción del 18% de humedad presentaron mejores resultados en las pruebas de actividad antioxidante y contenido de fenoles totales, mientras que la extrusión a 180°C y 25% de humedad favoreció la expansión. La actividad antioxidante para el método de ABTS fue mayor con respecto a la del DPPH. La correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante fue de r de 0.773 para el ABTS y de 0.827 para el DPPH. Los resultados del ensayo biológico mostraron que los extrudidos de amaranto presentaron mayor digestibilidad proteica con respecto al amaranto inflado y con valores comparables a la proteína de referencia (caseína) en pruebas de NPR.

CONTENIDO

	Página
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Generalidades de Amaranto	3
Amaranto un Pseudocereal	3
Historia.....	4
Descripción de la Planta	5
Condiciones Ambientales	6
El Grano de Amaranto	7
Usos del Amaranto.....	7
Consumo y Uso Moderno	8
Elaboración Artesanal.....	9
Producción.....	9
Aportes en la Dieta y la Salud.....	12
Composición del Grano	12
Calidad Nutricional.....	12
Perfil de Aminoácidos	12
Perfil Lipídico	13
Azúcares, Almidón y Contenido de Fibra.....	13
Vitaminas y Minerales.....	14
Alimento Funcional	14
Efecto Benéfico en la Salud.....	15
Efecto Regulador del Colesterol	15
Péptidos Bioactivos, Actividad Antihipertensiva y Anticancerígena	15
Actividad Antioxidante.....	16

CONTENIDO (continuación)

	Página
Compuestos Fenólicos	17
Escualeno, Tocoferoles y Tocotrienoles	18
Proceso de Extrusión	19
Generalidades.....	19
Descripción del Proceso de Extrusión	21
Velocidad del Tornillo	21
Humedad de Alimentación.....	21
Temperatura	22
Tamaño de Partícula	22
Efecto de los Componentes del Alimento Durante la Extrusión.....	22
Almidón.....	22
Proteína.....	23
Lípidos.....	23
Fibra	23
Variables Respuesta Evaluadas en Extrudidos de Amaranto.....	24
Índice de Expansión	24
Color.....	25
Contenido de Lisina.....	25
Perfil lipídico	26
Contenido Fenólico.....	26
Actividad Antioxidante	27
Vitaminas.....	27
Ensayos Biológicos.....	28
Indicadores de Calidad Proteica	29
Razón de Eficiencia de Proteica (PER)	29

CONTENIDO (continuación)

	Página
Razón Neta de Proteína (NPR)	29
Digestibilidad Aparente de Nitrógeno (DAN)	30
Digestibilidad Verdadera de Nitrógeno (DVN)	30
Valor Biológico.....	31
Proteínas de Amaranto en Bioensayo	31
Antinutrientes	32
Contenido de Fibra	32
HIPÓTESIS	34
OBJETIVOS	35
General	35
Específicos	35
MATERIALES Y MÉTODOS	36
Materia Prima.....	36
Análisis Químico del Amaranto	36
Etapa Preliminar.....	36
Proceso de Extrusión	37
Molienda de Amaranto.....	37
Acondicionamiento	37
Extrusión	38
Secado y Molienda	38
Evaluaciones en Extrudidos	38
Físicas	38
Índice de Expansión	38
Medición de Color.....	39
Químicas	39

CONTENIDO (continuación)

	Página
Fenoles Totales	39
Curva de Ácido Gálico	40
Pruebas de Inhibición de Radicales.....	40
Inhibición del Radical DPPH.....	40
Inhibición del Radical ABTS	41
Ensayo Biológico	42
Animales de Experimentación	42
Dietas Experimentales.....	42
Periodo Experimental	44
Diseño de Experimento y Análisis Estadístico	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
Resumen de la Etapa Preliminar.....	46
Análisis Químico del Amaranto	46
Evaluaciones Físicas	48
Índice de Expansión.....	48
Medición de Color	52
Parámetro L*	52
Parámetro a*	55
Parámetro b*	56
Químicas.....	56
Contenido de Fenoles.....	56
Actividad Antioxidante.....	61
Inhibición del Radical DPPH.....	61
Inhibición del Radical ABTS	61
Correlación Entre Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante.....	64

CONTENIDO (continuación)

	Página
Ensayo Biológico.....	66
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	71
REFERENCIAS	72

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Superficie sembrada, superficie cosechada y producción de amaranto en México reportada del año 2005 al 2014.....	10
2	Efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el índice de expansión de los extrudidos de amaranto.....	51
3	Efecto de la temperatura sobre el valor L* (brillantez) en amaranto extrudido.....	54
4	Efecto de la humedad de alimentación sobre el valor +b* (color amarillo) en amaranto extrudido	57
5	Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre el contenido de fenoles totales en amaranto extrudido.....	59
6	Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH en amaranto extrudido.....	62
7	Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical ABTS en amaranto extrudido.....	63

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Producción de amaranto en México.....	11
2	Formulación de dietas experimentales.....	43
3	Comparación de medias de la composición química del grano amaranto sin procesar, inflado y extrudido.....	47
4	Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en amaranto sin procesar, inflado y extrudido.....	49
5	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el índice de expansión de los extrudidos de amaranto.....	50
6	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre los parámetros de color de los extrudidos de amaranto.....	53
7	Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el contenido de fenoles totales y porcentaje de inhibición de los radicales DPPH y ABTS de los extrudidos de amaranto.....	58
8	Coeficientes de correlación (r) entre el contenido de fenoles totales y pruebas para actividad antioxidante.....	65
9	Resultados de las pruebas de calidad proteica <i>in vivo</i>	67

INTRODUCCIÓN

El amaranto es un pseudocereal con una rica historia como fuente de alimento en Mesoamérica y como atractivo cultivo alternativo adecuado para ser producido en condiciones semiáridas (Guillen-Portal, 1999). El grano de la especie de amaranto es de alto valor nutricional, en comparación con otros cereales, posee un contenido relativamente alto de proteínas y una composición más balanceada de aminoácidos esenciales (Písaříková *et al.*, 2005) rica en lisina y triptófano, que son comparables a proteínas de origen animal (Bressani *et al.*, 1992), ácidos grasos insaturados (Martirosyan *et al.*, 2007), y contenido de fenoles (Pasko *et al.*, 2008). Siendo dichos atributos los cuales predeterminan su uso como una sustitución de los cereales convencionales (Gorinstein *et al.*, 2007), y como potencial alimento funcional (Caselato-Sousa y Amaya-Farfán, 2012).

Para aumentar el valor nutricional del amaranto, el grano se trata mediante un tratamiento térmico siendo el más común el reventado y tostado, el cual alcanza temperaturas de 170 hasta 190 °C (Jarošová *et al.*, 1997). Sin embargo, el procesamiento térmico puede causar daño de aminoácidos esenciales resultando en contenido reducido de estos ya que existe un estrecho rango de tolerancia entre el calentamiento insuficiente para lograr el estallido y el calentamiento excesivo que conduce a la carbonización (Bressani *et al.*, 1987; Tovar *et al.*, 1989; Hubbard, y Guanella 1991). Por ello se sugieren el uso de otras técnicas de calentamiento en donde pueda controlarse de forma más eficiente la transferencia de calor.

La cocción por extrusión es una de las técnicas usadas en el desarrollo de productos alimenticios, es un proceso de corto tiempo a altas temperaturas (HTST, por sus siglas en inglés) el cual cocina, forma y seca el producto en una operación integrada (Moscicki y Van Zuilichem, 2011). Es un proceso multipaso, multifuncional y termomecánico, el cual permite un gran número de aplicaciones en alimentos. Los efectos benéficos incluyen la destrucción de factores antinutricionales, la gelatinización del almidón, y el aumento de la fibra dietética soluble (Capriles *et al.*, 2008; Menegassi *et al.*, 2011). Por otro lado, las reacciones de Maillard entre

proteínas y azúcares reductores reducen el valor nutricional de la proteína dependiendo de los tipos de materia prima, su composición y las condiciones del proceso (Singh *et al.*, 2007).

Tanto la temperatura como la humedad poseen un papel importante durante el proceso de extrusión, como son el grado de transformación de la materia prima como la gelatinización del almidón (Muthukumarappan y Karunanithy, 2012), la dispersión de los ingredientes y la desnaturalización de proteínas (Yu, 2011). Algunos autores han reportado que condiciones severas benefician la reacción de Maillard (Bjorck y Asp, 1983), mientras que condiciones adecuadas no presentan pérdidas en el contenido de aminoácidos (Chávez-Jáuregui *et al.*, 2000) y una buena retención de los compuestos fenólicos (Ramos-Díaz *et al.*, 2017)

Por lo descrito anteriormente, este trabajo se enfoca en evaluar el efecto de las variables de temperatura en la cuarta zona del extrusor y humedad de alimentación en la extrusión de amaranto, sobre la actividad antioxidante, y calidad nutricional evaluada por pruebas de digestibilidad proteica en un ensayo murino.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Generalidades de Amaranto

Amaranto un Pseudocereal

El amaranto es una, planta de hoja ancha no gramínea, usada de la misma manera que los cereales cuyos granos pueden ser molidos para convertirse en harina, y que además no contienen gluten (Lamacchia *et al.*, 2014). El grupo de los pseudocereales comprende 3 especies de granos alimenticios, siendo el amaranto (*Amaranthus spp.*), el trigo sarraceno (*Fagopyrum spp.*), y los quenopodios (*Chenopodium spp.*); y se pertenecen a las familias *Amaranthaceae*, *Polygonaceae* y *Chenopodiaceae* (respectivamente) a diferencia de los cereales convencionales, que pertenecen a la familia de las Gramíneas (o *Poaceae*). Sus semillas son comestibles cuando son tostadas y molidas, teniendo un sabor similar al de los cereales verdaderos. Análisis y experimentos nutricionales han mostrado que los pseudocereales son comparables a los cereales convencionales como fuente de carbohidratos, siendo superiores en su contenido de proteína y lípidos (Hunziker, 1952; Harbhajan, 1961).

En la época precolombina el grano de amaranto fue un alimento básico casi tan importante como el maíz o el frijol y uno de los tributos más demandados. Los nativos usaban el amaranto en bebidas, salsas, papillas, molido junto con el maíz en la harina con la que preparaban las tortillas, y para usos medicinales. Con la llegada de los colonizadores españoles, el consumo del amaranto fue prohibido por ser un alimento ritual y su cultivo se continuó solamente en pequeña escala (Ruskin, 1984; Lehman, 1996).

La semilla de amaranto tiene potencial como una fuente de nutrientes en la dieta, la planta de amaranto es consumida como vegetal y las semillas son usadas como cereal (Saunders y Becker, 1984). Posee altos valores nutricionales y resistencia ambiental, siendo cultivado en suelos pobres y a gran altitud lo que le otorga potencial agronómico (Gorinstein *et al.*, 2007).

Historia

La civilización Maya fue probablemente una de las primeras en utilizar el amaranto como cultivo alimenticio. Tanto los Aztecas en México como los Incas en Perú daban gran importancia al amaranto, consumiéndolo diariamente en variedad de presentaciones y acompañado de otros alimentos. En la zona central de México antes de la conquista el amaranto era un alimento básico con importancia similar al maíz y al frijol. Estudios antropológicos indican la incorporación del amaranto en sus creencias religiosas donde se hacían figuras hechas de amaranto que se consumían durante sus ceremonias (Bressani, 1989).

En México, durante la historia temprana del grano de amaranto a este se le conocía con nombres comunes. Durante la conquista el nombre Nahuatl de “huautli” fue el nombre utilizado para diferentes hierbas y quenopodios, siendo *Amaranthus hypochondriacus* la única especie que se cultivaba por su grano. En el noroeste de la Sierra Madre los indios Jova y Tarahumara cultivaban semillas llamadas “guegui”, las cuales fueron identificadas posteriormente como “zoale”, otro nombre utilizado para el amaranto. Los indios Mayo, Warihio y Tepehuan, cultivaron *A. hypochondriacus* con el nombre de “guegui”, “huautli” o “bledo”. Los indios Yaqui en Sonora utilizaban al amaranto molido de forma similar al maíz. Al sur de la Sierra Madre del norte de Jalisco, los indios Huichol cultivaron semillas de amaranto a las que llamaron “wavè” (Sauer, 1967).

Para los colonizadores cristianos el grano de amaranto era símbolo de la idolatría pagana, por lo que se prohibió su uso, disminuyendo drásticamente su cultivo durante el período colonial. Sin embargo, en el valle de México todavía se cultivaba amaranto en la antigua área de huautli, el grano se usa como alimento ordinario molido como el maíz y siendo su uso más común es para dulces “alegría” como pequeñas bolas de palomitas enlazadas con jarabe (Sauer, 1967).

Un creciente interés en el amaranto apareció en la década de 1980 cuando la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos lleva a cabo la investigación

sobre el grano y describe su alto valor nutritivo y potencial agronómico (Monteros *et al.*, 1994; Ulbricht *et al.*, 2009).

Descripción de la Planta

La especie de amaranto puede crecer satisfactoriamente desde el nivel del mar hasta los 3,200 metros de altitud; siendo *A. caudatus* una variedad nativa de los Andes con capacidad de crecer a alturas mayores de 2,500 metros (Ruskin, 1984).

Badui, (1988), define al amaranto (*Amaranthus spp.*) como una planta de tallo grueso y ramoso de semillas, comestibles. La planta fresca contiene 86.9% de agua, 3.5% de proteína, 0.5% de grasa, 6.5% de carbohidratos totales, 1.3% de fibra cruda y 2.6% de ceniza.

El género *Amaranthus* contiene más de 60 especies. Siendo tres de ellas las que se caracterizan por su producción de semillas comestibles, *A. hypochondriacus* y *A. cruentus*, nativas de México, y Guatemala; y *A. caudatus*, nativa de Perú y otros países andinos. Crecen vigorosamente, resisten la sequía, el calor y las plagas, además de adaptarse fácilmente a nuevos entornos; principalmente donde no es apto el cultivo de cereales convencionales. La planta tiene hojas, tallos y flores de colores brillantes que pueden ser de colores, púrpura, naranja, rojo y dorado. Las cabezas de semilla se parecen a las del sorgo y pueden medir hasta 50 cm. Por su parte, las semillas son de tamaño semejante a un grano de mostaza, midiendo de 0.9 a 1.7 mm de diámetro, pero en cantidades masivas de hasta 50,000 semillas por planta (Ruskin, 1984).

Amaranthus hypochondriacus es la más robusta de las 3 especies comunes y tiene el mayor rendimiento de los tipos de grano. Probablemente domesticado en el centro de México y apareció por primera vez en las cuevas de Tehuacán hace unos 1.500 años como un tipo de semilla pálida, completamente domesticada. Algunos tipos de *Amaranthus hypochondriacus* son espesos; otros son altos y no ramificados. La especie es particularmente útil para áreas tropicales, altitudes elevadas y condiciones secas. Tiene una excelente calidad de semilla y muestra el mayor

potencial de uso como ingrediente alimentario. Puede usarse inflado, molerse adecuadamente y tiene un gusto y un olor agradables (Ruskin, 1984).

El amaranto es una planta de vía C4, lo que significa que su proceso fotosintético tiene una modificación del proceso normal en el que el primer producto de la fotosíntesis es un compuesto de cuatro carbonos. Este proceso hace un uso eficiente del dióxido de carbono disponible en el aire al concentrarlo en los cloroplastos de células especializadas que rodean la hoja. En consecuencia, las plantas que usan la vía C4 pueden convertir una proporción más alta de carbono atmosférico en azúcares vegetales por unidad de agua perdida que las plantas que utilizan la vía clásica C3. La combinación de características anatómicas en el amaranto y el metabolismo C4 da como resultado una mayor eficiencia para usar dióxido de carbono en un amplio rango de ambientes de temperatura y humedad, contribuyendo a la adaptabilidad geográfica de la planta a diversas condiciones ambientales. El amaranto no solo es útil como grano y vegetal, sino que también tiene potencial como cultivo forrajero y como cultivo en suelos pobres (Bressani, 1989; Stallknecht y Schulz-Schaeffer, 1993). El amaranto tolera ambientes semiáridos mejor que el maíz o el trigo. Investigaciones sugirieron que algunos genotipos específicos de amaranto pueden tolerar condiciones desfavorables del suelo como alta salinidad, acidez o alcalinidad (Tucker, 1986).

Condiciones Ambientales

Temperatura: la temperatura de germinación puede variar de los 16 a los 35°C. Las variedades de *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* toleran mejor las altas temperaturas pero no son resistentes a heladas, siendo su crecimiento afectado cerca de los 8°C. Por otra parte *A. caudatus* es una especie resistente al frío (Ruskin, 1984).

Suelo: las especies consumidas por su grano tienen preferencia por los suelos de pH con valores mayores a pH 6. Por otra parte las especies que se consumen como vegetales son cultivadas en tierras tropicales donde los suelos son ácidos (Ruskin, 1984).

Lluvia: durante la germinación la presencia de humedad en el suelo es importante, pero una vez establecida la raíz el grano se adapta a las limitaciones en el contenido de agua. Las variedades vegetales por su parte tienen requerimiento constante de humedad (Ruskin, 1984).

Siembra: En las variedades de *A. hypochondriacus* y *A. cruentus* es aceptable plantar una densidad 320,000 unidades por hectárea para rendimiento y manejo. La mayoría de las variedades de grano maduran en un periodo de 4 a 5 meses, pero pueden tardar hasta 10 meses en regiones de tierras altas (Ruskin, 1984).

El Grano de Amaranto

A pesar que el tamaño del grano de amaranto es un impedimento para su manejo, esta desventaja no supera a los beneficios nutricionales y a la versatilidad de la especie para adaptarse fácilmente a nuevos ambientes, especialmente la sequía. El grano de amaranto puede ser sometido a molienda y separado en sus diferentes componentes anatómicos como son el almidón, el salvado, germen, y aceite. La molienda separa el germen y salvado del endospermo, obteniéndose de 26-28% de germen y salvado y 72-74% de harina (Tucker, 1986), similar a la proporción del trigo. El endospermo contiene alrededor del 30-35% de la proteína del grano de amaranto, siendo el germen y el pericarpio el 60-65% restante; una distribución diferente a la de otros cereales como el maíz y el arroz (Bressani, 1989). Por su parte el germen posee alrededor de un 20% de aceite, a la vez que tanto en la fracción de germen como en la de salvado se concentran las proteínas, las vitaminas, los lípidos, los minerales y la fibra cuando se muele el grano entero (Ruskin, 1984).

Usos del Amaranto

El amaranto es uno de los pocos cultivos multipropósito, el cual provee de granos y hojas de alta calidad nutricional como alimento humano y animal, adicionalmente debido a su atractiva coloración la planta puede ser usada como un cultivo ornamental (Bavec y Bavec, 2006).

Consumo y Uso Moderno

La semilla de amaranto se puede usar en cereales para el desayuno o como ingrediente en dulces. También puede ser secado o molido para producir una harina dulce adecuada para galletas, panes, pasteles y otros productos horneados. Sin embargo, contiene poco gluten funcional por lo que debe mezclarse con harina de trigo para hacer productos horneados. Cuando se calienta, los granos de amaranto revientan. Los granos reventados son livianos y crujientes y se pueden consumir como un aperitivo, cereal con leche y miel, empanizado de carnes o verduras, o con miel como un dulce. La semilla no es el único producto nutritivo del versátil amaranto ya que las hojas también son ricas en proteínas, vitaminas y minerales; tienen un sabor suave, y en gran parte del mundo las hojas jóvenes y los tallos de amaranto se hierven como verduras (Ruskin, 1984).

A pesar de su consumo como vegetal, una característica popular de la planta de amaranto es su uso decorativo. No existe registro de que los indios americanos alguna vez plantaron esta especie principalmente por su color o para usarla como tinte, pero evidentemente favorecen las formas rojas y amarillas en el cultivo de granos. Tal pigmentación llena el propósito del amaranto como plantas ornamentales y la razón principal por la que fueron llevadas a Europa (Sauer, 1967).

En los últimos años, el interés del consumidor en el amaranto como ingrediente alimenticio se ha debido principalmente a las características nutricionales positivas del grano. La demanda del mercado de amaranto ha fluctuado, pero se ha utilizado constantemente el cultivo de cereales para el desayuno, aperitivos y productos de pan multigrano (Myers, 1996). En años recientes el amaranto ha sido utilizado para la elaboración de granola, harinas integrales, alimentos extrudidos, panificados, pastas, papillas, concentrados proteicos, barras energéticas y alimentos nutricionales (Ayala *et al.*, 2012).

Elaboración Artesanal

En México, las hojas de amaranto silvestre se colectan, hierben y fríen para usarse como alimento. Las semillas solo se comen reventadas, donde se hacen estallar en una plancha de arcilla (comal) con una escobilla. El uso comercial más común del amaranto en las regiones de México es como un bocadillo (alegrías), realizado mezclando las semillas estallada con melaza. También se utiliza como harina de amaranto (pinole), que se obtiene moliendo las semillas en una piedra de molienda, y con menor frecuencia tamales (Early y Capistran 1987).

El método tradicional para cocinar las semillas se lleva a cabo como se hacía en la época precolombina, las semillas se ponen en una placa caliente hecha de arcilla en alrededor de 190°C de temperatura, hasta que se hacen estallar o tostar (Tovar *et al.*, 1989).

Producción

Debido a que el amaranto no es un cultivo convencional y no se produce a mayor escala en comparación a otros cereales como lo son el trigo, el maíz, la cebada o el arroz, la información existente sobre su producción es dispersa. Esto sumado a las diferencias en los requerimientos ambientales para las diferentes especies de amaranto. Sin embargo, se puede hacer mención a algunas características de las variedades más sobresalientes así como a la producción total nacional.

El servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) publicó los siguientes datos en la producción de amaranto en México hasta el año 2014 (Figura 1) y los datos de producción para el año 2017 (Tabla 1). Existe una tendencia de aumento en la producción anual de amaranto, información publicada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), para el año 2017 indica un promedio de 5 mil toneladas de amaranto producido, y un máximo de 9 mil toneladas en la producción para el año 2015.

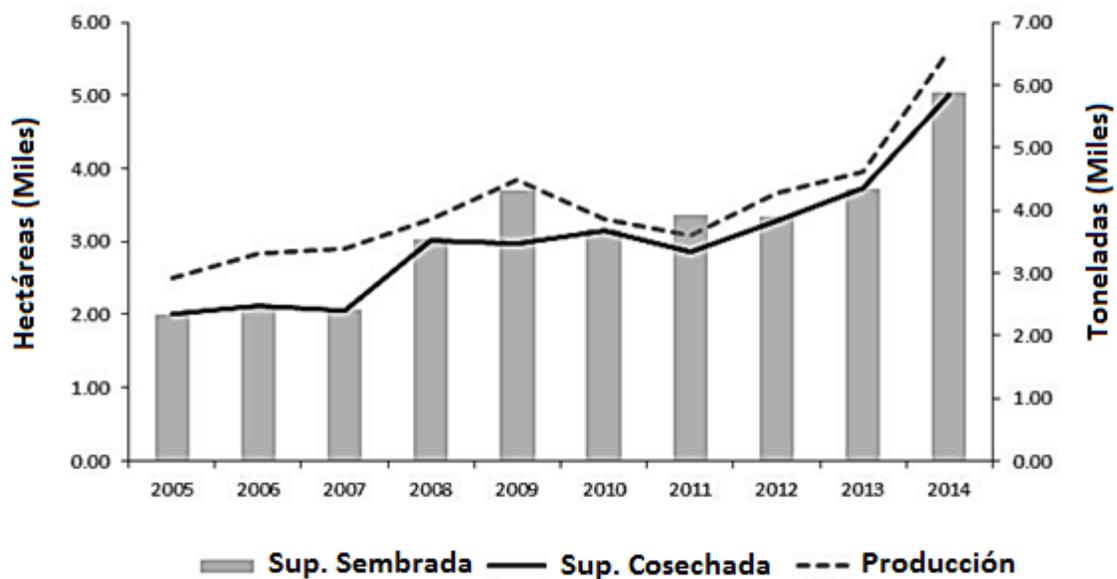


Figura 1. Superficie sembrada, superficie cosechada y producción de amaranto en México reportada del año 2005 al 2014. Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), (2018).

Tabla 1. Producción de amaranto en México.

Nombre del Estado	Distrito de Desarrollo Rural	Sembrada y Cosechada (Hectáreas)	Volumen de producción (Toneladas)	Valor de producción (Miles de Pesos)
Ciudad de México / DF	Xochimilco	122.8	139.91	3,246,811.17
México	Coatepec Harinas	373.0	871.34	970,0574.47
Morelos	Zacatepec-Galeana	5.0	7.25	107,356.04
Oaxaca	Valles Centrales	77.1	107.91	1,428,943.22
Puebla	Tehuacán	1,975.1	2,780.67	15,678,986.86
Tlaxcala	Huamantla	638.0	1,117.91	15,853,890.71

Producción de amaranto por estado en toneladas para el periodo primavera-verano 2017.

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (2018).

Aportes en la Dieta y la Salud

Composición del Grano

Entre los nutrientes más destacables del grano de amaranto se encuentra su contenido proteico, el cual posee alrededor de 15% y que además contiene altos niveles de lisina y aminoácidos azufrados (Becker *et al.*, 1981); contiene también del 5% a 9% de lípidos, mayor que el de los cereales convencionales, siendo más de un 70% grasas insaturadas con ácido linoleico como el ácido graso predominante (Stallknecht y Schulz-Schaeffer, 1993); presenta además un alto contenido de vitaminas como ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), niacina, riboflavina y tiamina (vitaminas B3, B2 y B1 respectivamente) (Singhal y Kulkarni, 1988; Bruni *et al.*, 2001; Rodas y Bressani, 2009) y altos niveles de potasio, magnesio, calcio y hierro (Fasuyi, 2007).

Calidad Nutricional

El amaranto posee un elevado índice de valor nutricional y biológico, superior al de los cereales, trigo, cebada, centeno y avena (Penagini *et al.*, 2013), tanto por su perfil de aminoácidos, como por su biodisponibilidad o digestibilidad (Gorinstein *et al.*, 2002).

Las semillas de amaranto tienen alto valor nutricional y valores funcionales asociados con sus lípidos y potencial antioxidante (Gorinstein *et al.*, 2002; Gorinstein *et al.*, 2007). Su actividad antioxidante se le atribuye a su contenido de fenoles totales y contenido de antocianinas. Tanto los granos como los germinados de amaranto pueden ser usados dentro de la dieta tradicional (Pasko *et al.*, 2008).

Perfil de aminoácidos

En base a su composición de aminoácidos, los cereales convencionales son considerados desbalanceados con respecto a la ingesta necesaria para una dieta saludable, ya que son deficientes en el aminoácido lisina. El grano de amaranto en

cambio posee altos niveles de lisina en comparación con otros cereales, siendo el balance de aminoácidos cercano al óptimo para la dieta humana (Ruskin, 1984). Cabe mencionar que la leucina es el aminoácido más limitante en la semilla de amaranto, y de acuerdo a la especie de amaranto también puede existir deficiencia de valina e isoleucina, pero esto se soluciona al incluir cereales convencionales en la dieta para compensar las deficiencias nutricionales entre ambos (Bressani, 1989).

El alto contenido de lisina del grano de amaranto lo hace particularmente atractivo para aumentar el valor biológico al realizar mezclas con otros cereales en la obtención de alimentos procesados (Pedersen *et al.*, 1987b). Entre todos los aminoácidos esenciales, la lisina es el aminoácido esencial más limitante en los productos a base de cereales, por lo tanto un enfoque en la retención de lisina durante el procesamiento térmico es de particular importancia (Singh *et al.*, 2007).

Perfil lipídico

Los ácidos grasos en el perfil lipídico del amaranto comprenden alrededor del 70% de ácido oleico y ácido linoleico, 20% de ácido esteárico y 1% de ácido linolénico (Ruskin, 1984). En un estudio realizado por Jahaniaval y Marcone (2000), se analizó la composición de ácidos grasos para 5 variedades de amaranto (4 de *A. hypochondriacus* y 1 de *A. cruentus*), donde se obtuvieron resultados similares en las siguientes proporciones: ácido linoleico (39.4-49.1%), ácido oleico (22,8-31,5%) y ácido palmítico (21.4-23.8%).

El amaranto presenta altos niveles de escualeno, un hidrocarburo complejo y un terpeno, en contenido de hasta un 8% de la fracción total de aceite (Tucker, 1986). En las fracciones lipídicas también hay presencia de tocotrienoles (derivados de la vitamina E), los cuales tienen efecto sobre la disminución del colesterol en los mamíferos (Stallknecht y Schulz-Schaeffer, 1993).

Azúcares, almidón y contenido de fibra

El almidón es el carbohidrato más abundante entre los componente del amaranto siendo aproximadamente el 62% del peso total del grano. El contenido de amilosa

en *Amaranthus hypochondriacus* es considerablemente más pequeño que el del almidón de trigo (Becker *et al.*, 1981) y con tamaños pequeños de gránulos de almidón que varían de 1 a 3.5 μm (Tosi *et al.*, 2002).

Para los azúcares totales, sacarosa se encuentra en mayor concentración seguida de rafinosa; y con inositol, estaquiosa y maltosa presente en pequeñas cantidades. Monosacáridos como la glucosa y la fructosa se encuentran en cantidades mínimas en granos de amaranto maduros (Becker *et al.*, 1981).

El contenido total de fibra dietética, soluble e insoluble, en granos de amaranto de *A. caudatus*, *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* varía entre 7.1% y 16.4% (Cai *et al.*, 2004). El amaranto tiene un contenido de fibra más alto que el de los cereales comunes, para los niveles de fibra en amaranto se reportan valores de fibra bruta del 3 al 6% mientras que los granos de cereal usados para consumo humano generalmente contienen alrededor del 2%. Las semillas pálidas contienen alrededor del 8% de fibra dietaria y las semillas negras aproximadamente el doble (Pedersen *et al.*, 1987b).

Vitaminas y minerales

Además de las características únicas de los principales componentes del grano de amaranto, como son proteínas, carbohidratos y lípidos; también contiene altos niveles de calcio, hierro y sodio en comparación con los cereales convencionales (Becker *et al.*, 1981). De igual manera, la utilización de amaranto para alimento animal y para humano se favorece por el alto valor nutritivo y la presencia de tocotrienoles (Danz y Lupton, 1988), y ácido ascórbico (De Ruiz y Bressani, 1990)

Alimento Funcional

El interés del consumidor en el amaranto como ingrediente alimenticio se ha debido principalmente a las características nutricionales positivas del grano (Myers, 1996). La creciente aceptación del amaranto en los países donde su consumo no es tradicional se debe principalmente al interés general por el consumo granos con propiedades medicinales (Caselato-Sousa y Amaya-Farfán 2012).

Huerta-Ocampo y De la Rosa, (2011), han reportado las propiedades nutraceuticas del grano de amaranto. Las propiedades nutricionales y medicinales del grano de amaranto le permiten considerarlo como un alimento funcional. Este término se utiliza para alimentos enteros, fortificados, enriquecidos o mejorados que proporcionan beneficios de salud más allá de la provisión de nutrientes esenciales cuando se consumen a niveles eficaces como parte de una dieta variada de forma regular (Hasler, 2002). Siendo las propiedades funcionales del amaranto la reducción del colesterol, la capacidad antioxidante, anticancerígena, antialérgica y capacidad antihipertensiva evaluadas en diferentes estudios clínicos (Caselato-Sousa y Amaya-Farfán, 2012).

Efecto Benéfico en la Salud

Efecto regulador del colesterol

Una de las cualidades del amaranto mencionadas de manera recurrente es su potencial como reductor de colesterol. Existen diferencias en la literatura al momento de seleccionar a cuál de los constituyentes del grano se le atribuye esta cualidad, entre las cuales se pueden encontrar el contenido de fibra total y soluble (Plate y Areas 2002), tocotrienoles y escualeno (Qureshi *et al.*, 1996; Berger *et al.*, 2003), así como su aporte de ácidos grasos insaturados (Martirosyan *et al.*, 2007). Por otra parte algunos estudios atribuyen este efecto a la presencia de péptidos bioactivos (Mendonca *et al.*, 2009). Sin embargo, el efecto positivo en la salud ha sido documentado en la literatura y bien podría deberse a la acción conjunta de los elementos previamente mencionados.

Péptidos bioactivos, actividad antihipertensiva y anticancerígena

Más allá de su aporte nutricional, investigaciones recientes han tomado interés en la posible presencia de péptidos bioactivos en el amaranto. Propiedades antihipertensivas y antitumorales pueden ser explicadas por la presencia de sustancias como la lunasina, un péptido de 43 aminoácidos cuyas propiedades preventivas del cáncer se han demostrado en un modelo de cultivo de células de

mamífero y en un bioensayo en ratones (Lumen, 2005). De igual manera, Silva-Sánchez *et al.*, (2008), investigaron la presencia del péptido lunasina en granos de amaranto, concluyendo que el amaranto puede ser fuente potencial de varios péptidos bioactivos con acciones relevantes sobre el cáncer y la hipertensión.

De la Rosa *et al.*, (2010) estudiaron la capacidad antihipertensiva de péptidos contenidos en el amaranto. Dichos péptidos presentaron actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina, y previniendo la formación de sustancias de carácter vasoconstrictor (Li *et al.*, 2004).

Velarde-Salcedo *et al.*, (2013), investigaron la capacidad inhibitoria de los péptidos presentes en el amaranto sobre la enzima dipeptidil peptidasa-4, un inhibidor de las incretinas, hormonas peptídicas al torrente sanguíneo en respuesta a la ingesta de nutrientes donde estimulan la secreción de insulina (Nauck, 2011), dando la inhibición de la dipeptidil peptidasa-4 una prolongación de la actividad de las incretinas.

Actividad Antioxidante

Los antioxidantes tienen importantes beneficios potenciales para la salud; protegen contra el daño oxidativo y limitan el riesgo de diversas enfermedades degenerativas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y la osteoporosis (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Los pseudocereales se caracterizan por la capacidad de neutralizar los radicales libres dada la presencia de flavonoides, ácidos fenólicos, escualeno, antocianinas y vitaminas con actividad antioxidante (Pasko *et al.*, 2007). Los flavonoides específicos tales como la rutina y algunos ácidos fenólicos como el ácido gálico, el ácido hidroxibenzoico y el ácido vanílico se encuentran presentes tanto en las semillas como en los brotes de amaranto (Pasko *et al.*, 2008). Muchas especies silvestres de amaranto tienen una coloración variable de inflorescencias, hojas y vapores, debido a antocianinas como las que se encuentran en las remolachas. Tal pigmentación se intensifica en ciertas formas de todas las especies domesticadas de granos y plantas (Sauer, 1967).

Compuestos fenólicos

Pasko *et al.*, (2008), investigaron la presencia de compuestos fenólicos en semillas y germinados de 2 variedades de amaranto (*Amaranthus cruentus*) así como su actividad antioxidante en la prueba de capacidad reductora férrica del plasma (FRAP, por sus siglas en inglés) y en la inhibición del radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS, por sus siglas en inglés) y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH, por sus siglas en inglés), encontrando resultados favorables en la actividad antioxidante. En dicho estudio se reportó que el ácido fenólico en mayor proporción fue el ácido gálico (400 a 440 mg/kg en base seca), junto con la presencia del ácido 4-hidroxibenzoico (8.5 a 20.7 mg/Kg en base seca), y finalmente al ácido vanílico como el tercer ácido fenólico más abundante en semillas de amaranto. Por parte de los flavonoides estudiados en la muestra de amaranto, la rutina fue el flavonoide en mayor concentración. Por otro lado, De la Rosa *et al.* (2009), estudiaron la presencia de fitoquímicos en 4 variedades de *Amaranthus hypochondriacus*, encontrando a los flavonoides rutina (4 a 10.1 µg/g), nicotiflorina (4.8 a 7.2 µg/g) e isoquercitrina (hasta 0.5 µg/g) así como los ácidos fenólicos: vanílico (1.5 a 1.7 µg/g), 4-hidroxibenzoico (1.7 a 2.2 µg/g) y sirínigico (hasta 0.8 µg/g). Ellos concluyeron que debido a la presencia de dichos compuestos fenólicos, las semillas de amaranto podrían tener implicaciones en la prevención de varias enfermedades.

Alvarez-Jubete *et al.* (2010), en vista de los beneficios nutricionales de los pseudocereales, en su búsqueda por elaborar un alimento libre de gluten realizó un producto de panificación utilizando harinas con diferentes porcentajes de pseudocereales (50 y 100%), y evaluó su capacidad antioxidante *in-vitro* posterior al tratamiento térmico que conlleva el horneado del pan, concluyendo que tanto la cantidad de polifenoles en el producto final así como la capacidad antioxidante fueron mayores con respecto al control y con una alta correlación entre el contenido de fenoles totales (método de Folin-Ciocalteu) y la actividad antioxidante. Sin embargo, existen discrepancias en la literatura con respecto a la correlación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos. Nsimba *et al.*, (2008), reportaron que

existía baja correlación entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante (métodos DPPH y FRAP) en extractos de pseudocereales como amaranto y quínoa. Una explicación para estos resultados podría atribuirse a la presencia de compuestos no fenólicos que se encuentren aportando actividad antioxidante (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Escualeno, tocoferoles y tocotrienoles

Se ha reportado que el aceite de amaranto contiene cantidades del 2 al 7% de escualeno (Becker *et al.*, 1981), un hidrocarburo altamente insaturado, terpeno y precursor bioquímico de esteroides, cuyos efectos antioxidantes y antitumorales en la carcinogénesis están científicamente demostrados (Mlakar *et al.*, 2009).

Conforti *et al.*, (2005), estudiaron la actividad antioxidante de dos variedades de *Amaranthus caudatus*. En su investigación encontraron niveles muy diferentes (de 2.2% a 7.5%) de escualeno y actividad antioxidante pobre en extractos de metanol; pero alta actividad antioxidante del escualeno en extractos de acetato de etilo y una potente actividad antioxidante en extractos de hexano. Gonor *et al.*, (2006), investigaron la influencia de agregar aceite de amaranto o escualeno en la dieta para pacientes con isquemia cardíaca e hiperlipoproteinemia. Se usaron diferentes cantidades de escualeno dando como resultado efectos positivos: las dietas que contenían 600 mg/por día de escualeno proporcionaron una mejora en el estado inmune, mientras que las dietas con contenidos de 200 a 400 mg/por día presentaban un efecto antioxidante.

De manera contradictoria, Tikekar *et al.*, (2008), encontró baja contribución a la actividad antioxidante del escualeno en la prueba de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés), atribuyendo la actividad antioxidante en las harinas de amaranto a la presencia de tocotrienoles en los extractos. Los tocoferoles son componentes nutricionales que pueden actuar como potentes antioxidantes que juegan un papel importante en la prevención de diversas enfermedades y pueden proteger a los lípidos insaturados y al colesterol (Brigelius-Flohé *et al.*, 2002). Lehmann *et al.*, (1994), estudió el contenido de tocoferoles y

tocotrienoles en semillas de amaranto y determinaron la presencia de α -tocoferol (2.97-15.65 mg/kg), β -tocotrienol (5.92-11.47 mg/kg) y γ -tocotrienol (0.95-8.69 mg/kg); algunas variedades de *Amaranthus cruentus* también contenían hasta 0.42 mg/kg de δ -tocotrienol.

Kraujalis y Venskutonis (2013), realizaron una extracción de compuestos lipídicos presentes en el amaranto y descubrieron que si bien el escualeno es un antioxidante importante en amaranto, otros compuestos, muy probablemente tocoferoles, también contribuyen a la actividad antioxidante general, porque la presencia de escualeno solo no puede explicar valores altos obtenidos para actividad antioxidante de los extractos.

La identificación de alimentos ricos en antioxidantes así como los adecuados métodos de procesamiento para preservar o mejorar su capacidad antioxidante pueden resultar en la elaboración de productos alimenticios con potenciales propiedades asociadas a la protección de la salud (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Por lo anterior, no solo es importante la identificación de nutrientes de interés en la materia prima sino que se debe preservar la integridad y el efecto benéfico de dichos nutrientes aun después del procesamiento previo a su consumo.

Proceso de Extrusión

Generalidades

El uso de los productos alimenticios que se elaboran a partir de amaranto está relacionado con el procesamiento exitoso en términos de propiedades funcionales así como en términos de valor nutritivo. El objetivo del procesamiento es mejorar o desarrollar propiedades funcionales, pero no a expensas del valor nutricional (Bressani, 1989). Muchos de estos procesos incluyen utilización de calor con el objetivo de desactivar factores antinutricionales, mejorar la digestibilidad proteica, promover la gelatinización del almidón o inhibir la oxidación de lípidos (Menegassi *et al.*, 2011). Evaluaciones nutricionales en el grano de amaranto procesado muestran que cuando se realizan tratamientos térmicos en condiciones controladas se observa

una mayor calidad en comparación con el valor del grano crudo (Mendoza y Bressani, 1987).

Los granos de amaranto pueden ser extrudidos para obtener harina de amaranto, la cual tiene buen potencial como ingrediente para alimentos y puede utilizarse como sustituto de harina convencional en un amplio rango de fórmulas alimenticias (Menegassi *et al.*, 2011). La cocción por extrusión, es una de las técnicas usadas en la industria de los cereales para producir una variedad de productos alimenticios. Es un proceso de corto tiempo a altas temperaturas, el cual cocina, forma y seca el producto en una operación integrada (Moscicki y Van Zuilichem, 2011). La extrusión es usada regularmente en el procesamiento de cereales y leguminosas para poder obtener productos pre-cocidos y proteína vegetal texturizada (Mendoza y Bressani, 1987).

El proceso de extrusión consiste en hacer pasar un sólido, por medio de un tornillo sin fin, para cocer granos y cereales. Al equipo se le adapta una camisa por la que circula vapor, alcanzando tratamientos de 130 a 170°C, y de 20 a 30 segundos, con lo que se logra gelatinizar el almidón, destruir microorganismos e inactivar factores antinutricionales (Badui, 1998). La exposición a los efectos combinados de alta presión, alta temperatura y cizalla conduce a varias reacciones y modificaciones en la composición nutricional de los materiales alimenticios, resultando en cambios en las propiedades funcionales (Brennan, 2006).

Las condiciones de proceso durante la extrusión (alta temperatura y baja humedad) favorecen las reacciones de Maillard que se producen entre grupos aminos y azúcares reductores, resultando en la pérdida de la biodisponibilidad de los aminoácidos que participan en la reacción y en la formación de compuestos coloridos. La extrusión también se puede causar el rompimiento de enlaces peptídicos, reacciones de beta-eliminación, oxidación, desaminación y racemización. Los cambios que ocurren durante el proceso pueden ser simples o complejos, y abarcan la gelatinización, solubilización y dextrinización o formación de almidón resistente, desnaturalización de proteínas, polimerización y texturización,

desactivación parcial o completa de enzimas, e inactivación de factores antinutricionales (Björck *et al.*, 1983; Riaz, 2010).

Descripción del Proceso de Extrusión

Los extrusores se componen de cinco partes principales: un sistema de pre-acondicionamiento, sistema de alimentación, un tornillo sin fin, barril, y dado. La selección de cada uno de estos elementos dependerá de la materia prima utilizada y del producto final deseado (Riaz, 2000). El efecto térmico en el extrusor puede variar según el diseño del mismo. Estos cambios son principalmente la fuente de calor, el número de zonas de calentamiento y el tiempo de residencia del producto dentro del barril. Debido a que el mezclado y la transformación de la materia prima requiere de la participación de la transferencia de energía, ya sea de origen térmico, como es el sistema de calentamiento o enfriamiento utilizados o por la acción mecánica que se genera al aplicar el cizallamiento en el material. El éxito en la calidad del producto final en el extrusor dependerá del control del flujo de calor (Guy, 2001).

Velocidad del tornillo

La velocidad del tornillo es responsable del desarrollo de la cizalla, el tiempo de residencia de la alimentación y la disipación del calor por energía mecánica dentro del barril (Muthukumarappan y Karunanithy, 2012). Los extrusores se pueden dividir en dos tipos de tornillos: extrusor de tornillo simple y tornillo de doble (*twin screw*). Los extrusores de tornillo doble están compuestos por dos ejes que giran dentro de un solo barril, de forma co-rotativas o contra-rotativas. Los extrusores de un solo tornillo, aunque son más simples, son los extrusores más comunes que se aplican en la industria alimentaria (Riaz, 2000).

Humedad de alimentación

El contenido de agua juega un papel importante en la calidad final de los productos extrudidos. La materia prima puede variar en su contenido de agua según el cultivar, las mezclas de cereales o las condiciones de almacenamiento. Por lo anterior, se añade agua a los granos o la harina hasta alcanzar la humedad deseada. La

humedad puede agregarse al alimento, inyectarse en el barril o agregarse en forma de vapor al preacondicionador o barril. La humedad es una variable crítica con influencia directa en la gelatinización del almidón, la dispersión de los ingredientes, la desnaturalización de proteínas, la formación de fluido viscoso y la lubricación del barril (Yu, 2011). El efecto del contenido de agua descrito en la literatura de manera general señala una reducción en la relación de expansión con un aumento en la humedad (Alvarez-Martinez *et al.*, 1988).

Temperatura

La temperatura del barril tiene un efecto positivo sobre el grado de gelatinización del almidón y la expansión del extrudido. Los estudios demuestran que la temperatura elevada conduce a una mayor evaporación de la humedad y a productos más expandidos al salir de la matriz (Muthukumarappan y Karunanithy, 2012).

Tamaño de partícula

El tamaño de partícula también juega un papel importante en la distribución de la humedad, la transferencia de calor, la viscosidad y el producto final. Un producto compuesto de partículas finas tendrá buena estabilidad de agua, índice de absorción de agua y expansión (Riaz, 2000).

Efecto de los Componentes del Alimento Durante la Extrusión

Almidón

El almidón es una de las materias primas más importantes en la industria alimentaria y el componente principal durante la extrusión, ya que proporciona la estructura al producto extrudido. Los gránulos de almidón se gelatinizan y dispersan durante la extrusión, lo que resulta en la formación de una fase continua dentro del extrusor (Guy, 2001). Capriles *et al.* (2008) estudiaron el efecto de los métodos de procesamiento en la digestibilidad del almidón de amaranto y encontraron que los productos extrudidos presentaban un índice glucémico menor en comparación con otros métodos de cocción de amaranto como el hojuelado, el inflado y el tostado.

Proteína

En la extrusión, la proteína forma una estructura continua similar al almidón en el sentido de que las proteínas deben dispersarse desde su forma nativa a una masa continua fluida dentro del barril (Guy, 2001). La proteína es de gran interés en el grano de amaranto, debido a las cantidades relativamente grandes (15%) y por su buen patrón de aminoácidos esenciales, principalmente, el contenido de lisina (Bressani, 1989). Mendoza y Bressani (1987) discutieron que el procesamiento del grano de amaranto mediante la extrusión aumenta la disponibilidad de proteína, y que el aminoácido lisina sigue estando disponible de igual forma que en la materia prima.

Lípidos

Los lípidos tienen dos funciones en el proceso de extrusión: pueden afectar en la calidad del producto, y actuar como un lubricante durante el proceso, siendo el efecto lubricante un factor que influye en una menor expansión del extrudido (Yu, 2011). El amaranto contiene alrededor del 8% de grasa, un alto contenido en comparación con los cereales comunes (Rodas y Bressani 2009), por lo que el amaranto puede reducir la expansión del producto final. Ramos-Díaz *et al.*, (2017), reportaron que el contenido de lípidos en amaranto influye en la extrusión por medio de una ligera disminución en la expansión de los extrudidos. Algunos estudios han reportado la extrusión de amaranto previamente desgrasado para evitar la oxidación de los lípidos (Ilo *et al.*, 2000) y la reducción de la tasa de expansión (Chávez-Jáuregui *et al.*, 2000), sin embargo, debe tenerse en cuenta que otros estudios como Rodas y Bressani, (2009), han publicado la importancia del efecto beneficioso del perfil lipídico de amaranto sobre la salud, como fuente de ácidos grasos insaturados y escualeno.

Fibra

El amaranto tiene un mayor contenido de fibra soluble que la mayoría de los cereales (Plate y Arêas 2002). El efecto más notable de la fibra en las variables de respuesta

de productos extrudidos es la disminución en la expansión (Robin *et al.*, 2011). De manera inversa, el proceso de extrusión tiene un efecto benéfico sobre la fibra, al presentarse un aumento en el contenido de fibra soluble después de la extrusión debido a la fracción de fibra insoluble que pasa a ser solubilizada durante el proceso térmico (Capriles *et al.*, 2008; Bjorck *et al.*, 1984).

Variables Respuesta Evaluadas en Extrudidos de Amaranto

Índice de Expansión

La expansión es probablemente la respuesta más estudiada en la investigación de la extrusión de amaranto. Esto debido al interés de obtener resultados texturales similares a otros aperitivos extrudidos comerciales hechos de cereales convencionales. La relación de expansión aumenta con la disminución del contenido de humedad de la alimentación y el aumento de la velocidad del tornillo y la temperatura del barril (Yu, 2011; Muthukumarappan y Karunanithy, 2012). Chávez-Jáuregui *et al.*, (2000), trabajaron en la optimización del proceso de extrusión en amaranto (*Amaranthus caudatus* L.), encontrando que las mejores condiciones de expansión fueron con 15% de humedad de alimentación y temperatura de 150°C. La optimización propuesta por Chávez-Jáuregui *et al.*, (2000) se usa principalmente en investigaciones que quieren incorporar al amaranto durante la extrusión de otros cereales como maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) (Koepee *et al.*, 1987; Ilo *et al.*, 1999), leguminosas como el garbanzo (Chávez-Jáuregui *et al.*, 2003), o mezclas con verduras como la calabaza (*Cucurbita maxima* L.) (Peksa *et al.*, 2016), resultando estas en adiciones beneficiosas. Sin embargo, dicha optimización basó sus resultados en propiedades texturales y físicas tales como la relación de expansión, la resistencia al cizallamiento, el esfuerzo cortante, la densidad y la aceptabilidad de la textura. Sin embargo, este trabajo no consideró aspectos nutricionales y funcionales de interés como el perfil lipídico, el contenido fenólico, la retención de vitaminas, el efecto sobre el índice glucémico y la actividad antioxidante.

Color

El color es un atributo físico importante en el papel de la aceptación sensorial del consumidor. Menegassi *et al.*, (2011), utilizando el método medición de color usando el colorímetro HunterLab, reportaron que los valores de color del amaranto (*Amaranthus cruentus L.*) eran de 79.9 para el parámetro de luminosidad denotado por L; 2.1 para el parámetro a*; 14.9 para el parámetro b*, resultados que corresponden a una semilla blanca con un ligero tono amarillento. Sin embargo, después de la extrusión, reportaron que una condición de extrusión de 120°C y 15% de humedad, los cambios de color fueron de 69.6 para L; 5.0 para a*; 19.1 para b*, y la extrusión a 180°C y 25% de humedad tuvo los siguientes cambios en los valores de color 58.7 de L; 8.01 de a*; 24.7 de b*, mostrando así una disminución en los valores L y un aumento en los valores a* y b* después de la extrusión. Esto está de acuerdo con lo reportado por Ilo *et al.*, (1999), quienes encontraron una disminución en los valores L y un aumento en los valores a* y b* para la cocción por extrusión de harina de arroz y mezclas de amaranto, atribuyendo estos cambios a reacciones de pardeamiento no enzimático y degradación de pigmentos. Gearhart y Rosentrater (2017) reportaron que ni la humedad ni el tamaño de partícula tuvieron un efecto sobre los valores de L, sin embargo, los valores de a* disminuyeron con la disminución del tamaño de partícula y los valores b* se vieron afectados por los parámetros de humedad y tamaño de partícula. Esto implica que los parámetros deben tener un equilibrio entre las propiedades químicas y físicas a fin de obtener extrudidos con alta calidad nutricional y que también satisfagan la aceptación sensorial del consumidor tanto en los aperitivos de amaranto como en las mezclas de amaranto.

Contenido de lisina

La lisina es el aminoácido limitante en los cereales comunes, que son la mayoría de los productos extrudidos. Por lo tanto, un enfoque en la retención de lisina durante el proceso de extrusión es de particular importancia. La pérdida de lisina puede tener lugar cuando es extrudido en condiciones severas, como temperatura superior a

180°C y humedad inferior al 15%, especialmente en presencia de azúcares reductores que benefician la reacción de Maillard (Bjorck y Asp, 1983). Algunos autores (Chávez-Jáuregui et al., 2000; Koepee et al., 1987; Mendoza y Bressani 1987) han reportado que la extrusión no afecta la lisina disponible. Por otro lado, Bressani *et al.* (1987) informaron que el proceso de inflado en amaranto causó una disminución del 19% de la lisina disponible en comparación con la muestra cruda, mientras que la extrusión no tuvo un efecto significativo sobre la pérdida de lisina, proponiendo a la extrusión como un tratamiento térmico más confiable en la retención de aminoácidos.

Perfil lipídico

Las investigaciones sobre la extrusión de amaranto tienden a utilizar amaranto desgrasado en su estudio, principalmente utilizan las condiciones de extrusión propuestas por Chávez-Jáuregui *et al.*, (2000). Sin embargo, para algunos de los estudios realizados en grano integral, los resultados se muestran como sigue: Ramos-Díaz *et al.*, (2017) informaron que la extrusión redujo sustancialmente el contenido de ácido palmítico, oleico, linoleico y linoleico, y atribuye este comportamiento a la formación de complejos de amilosa-lípidos, mismos resultados que se informaron en el trabajo de Capriles *et al.*, (2008). Nsimba *et al.*, (2008) estudiaron la actividad antioxidante de diferentes extractos de amaranto, y sugieren que cada fracción tiene su propio potencial antioxidante, por lo que el contenido de lípidos en el amaranto puede tomarse en consideración como contribuyente a este efecto.

Contenido fenólico

Akande *et al.*, (2017) reportaron que el contenido de compuestos fenólicos en mezclas de amaranto disminuyó con la temperatura y la humedad de alimentación. Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2009) encontraron que la extrusión a 180°C redujo los compuestos fenólicos totales de dos variedades de amaranto en un rango de 80 y 65% del contenido fenólico total. Por el contrario, Ramos-Díaz *et al.*, (2017) observaron una alta retención de compuestos fenólicos después de la extrusión y un

aumento de la misma en mezclas extrudidas con un aumento a medida que incrementa el porcentaje de amaranto en la mezcla. Brennan *et al.*, (2011) también observaron una alta retención de compuestos fenólicos posterior al proceso de extrusión y explicaron que las diferencias reportadas en la literatura para los cambios en la extracción fenólica pueden deberse a una baja extracción del método de detección utilizado, atribuyendo las diferencias en los resultados a la formación de un complejo entre compuestos fenólicos y proteínas desnaturalizadas, la cual tiene como consecuencia una disminución en la extracción con algunos de los disolventes utilizados en las técnicas de medición de compuestos fenólicos.

Actividad antioxidante

Milán-Carrillo *et al.*, (2012), realizó una extrusión de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) a 130°C con la que obtuvo un aumento en la capacidad antioxidante atribuida a compuestos fenólicos. El tratamiento presentó una disminución en el contenido de fenoles libres pero un incremento total en el contenido fenólico por efecto del aumento en la cantidad de fenoles ligados. Por otra parte, Montoya *et al.*, (2014), estudio el efecto de la extrusión en la capacidad antioxidante de amaranto atribuida a péptidos bioactivos, encontrando una disminución la actividad antioxidante por efecto del proceso. Estos autores explicaron que esta disminución en la actividad antioxidante fue debido a la formación de complejos entre el almidón, los lípidos y las proteínas durante el proceso de extrusión, ya que al usar la enzima pancreatina para obtener hidrolizados a partir de los extrudidos se obtuvo un aumento en la capacidad antioxidante.

Vitaminas

Los tratamientos térmicos tienen un efecto en general negativo sobre la retención de vitaminas, y la extrusión no es una excepción. La vitamina E es uno de los nutrientes estudiados en los granos de amaranto por sus propiedades en la dieta diaria. Ramos-Díaz *et al.*, (2017), realizaron extrusión a temperaturas de 140 a 160°C con contenidos de humedad del 14 a 16% y reportaron que la extrusión redujo el contenido detectable de α , β y γ tocoferol.

Ensayos Biológicos

En un sentido amplio, los términos bioensayo o ensayo biológico se refieren a procedimientos para determinar la relación entre agentes fisiológicamente activos y el efecto que produce en un organismo vivo (Hoskins & Craig, 1962). Un bioensayo típico implica un estímulo aplicado a un sujeto donde la aplicación del estímulo va seguida de un cambio en alguna característica medible del sujeto, en la que la magnitud del cambio depende de la dosis. Por ejemplo, ganancia de peso del animal de experimentación (Saha, 2002).

Uno de los organismos más populares en la realización de bioensayos es la rata (*Rattus rattus*). La rata ofrece muchas ventajas sobre otros organismos, su fisiología es más fácil de controlar y se parece más a la condición humana correspondiente, las ratas son un modelo excelente para enfermedades cardiovasculares y el tamaño del animal mejora su uso como modelo de enfermedad donde se comporta el modelo de rata más como la enfermedad humana en formas importantes, incluida la capacidad de los agentes ambientales como las toxinas, el estrés, la dieta y la vacunación. La rata se ha convertido en un modelo fisiológico y toxicológico estandarizado, particularmente en la industria farmacéutica (Iannaccone y Jacob, 2009).

Las ratas han destacado ampliamente dada su similitud nutricional con los animales monogástricos, por esta razón los requerimientos de nutrientes de la rata son conocidos a mayor detalle que la de otros animales de laboratorio (Atondo, 1990). Siendo en este caso, un modelo murino (bioensayo en ratas de experimentación) para conocer la calidad de la proteína en una dieta.

Las proteínas como nutriente se ven afectadas por la cantidad y la calidad, las fuentes proteicas pueden clasificarse de buena, mediana y mala calidad según su eficiencia para ser utilizadas por el organismo y la calidad de la proteína considera la cantidad aminoácidos esenciales y no esenciales, así como su digestibilidad (Pellet, 1978).

Los ensayos biológicos están sujetos a limitantes por lo que es importante considerar lo siguiente:

1. Los resultados dependen del aminoácido limitante, de su disponibilidad y de su balance y de la presencia o ausencia de otros factores.
2. Una proteína puede ser de alta calidad para un propósito pero no para otro.
3. Los resultados son extrapolados de animales de experimentación a humanos, por lo que son indicadores, y pueden ser reforzados por otros análisis.
4. Los diferentes ensayos pueden proporcionar valores distintos (Mitchell, 1924).

Indicadores de Calidad Proteica

Razón de eficiencia de proteica (PER)

El PER (por sus siglas en inglés) se basa en que bajo condiciones controladas la ganancia de peso del animal de experimentación es proporcional al suministro de aminoácidos esenciales. Por lo tanto el valor nutritivo puede predecirse en base a la relación entre la ganancia en peso y la cantidad de proteína consumida (Osborne *et al.*, 1919).

El método de PER se ve limitado en el sentido de que no considera la proteína de mantenimiento del metabolismo y la excretada en las heces, asumiendo que la totalidad de la proteína consumida se destina a la ganancia en peso. Por esa razón, pese a que el PER es un método oficial existen modificaciones que dan lugares a otras pruebas para bioensayo.

Razón neta de proteína (NPR)

De sus siglas en inglés *net protein ratio*; este método propuesto por Bender y Doell (1957) es una modificación del método PER. Esta diferencia se basa en el periodo experimental (de 14 días) y en incluir un grupo control de ratas con una dieta libre de nitrógeno (DLN). Se basa en el uso de la dieta libre de nitrógeno para la corrección

en peso debido a que no toda la proteína que se consume se destina a crecimiento, sino que parte de ella se va a mantenimiento del balance cero.

Al término del experimento se calcula la ganancia en peso que resultó de la diferencia entre el peso final y el peso inicial por rata y por grupo, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{NPR} = \frac{\text{Ganancia en peso} + \text{Pérdida en peso del grupo DLN}}{\text{gramos de proteína consumida}} \quad (1)$$

Digestibilidad aparente de nitrógeno (DAN)

Como se mencionó anteriormente, no se puede asumir que toda la proteína de la dieta es interpretada como ganancia en peso del animal de laboratorio, si no que existe proteína destinada al mantenimiento metabólico, así como proteína que es liberada en las heces. A la diferencia entre el nitrógeno consumido en la dieta y la cantidad de nitrógeno encontrada en las heces se le da el nombre de digestibilidad aparente de nitrógeno (DAN).

El DAN se expresa como el nitrógeno del alimento menos el nitrógeno de las heces con respecto al nitrógeno de alimento expresado en porcentaje. La técnica asume que del total del nitrógeno de la dieta, lo que no se aprovecha por el organismo queda en las heces. El cálculo de la digestibilidad aparente de nitrógeno se expresa de acuerdo a la ecuación (Pellet, 1978):

$$\text{DAN (\%)} = \frac{(\text{Nitrógeno consumido} - \text{Nitrógeno en heces})}{\text{nitrógeno consumido}} \times 100 \quad (2)$$

Digestibilidad verdadera de nitrógeno (DVN)

De forma complementaria al DAN la proteína residual que no procede de la dieta puede determinarse a partir de dietas que no contienen nitrógeno, con ello se obtiene la digestibilidad verdadera de nitrógeno (DVN). Este indicador considera que no todo el nitrógeno presente en heces proviene de la dieta sino que parte es proveniente de la microflora (bacterias) del tracto digestivo y demás enzimas usadas en las

diferentes funciones metabólicas del organismo, se utilizó un grupo con una dieta libre de nitrógeno (DLN) para el cálculo de la digestibilidad verdadera de nitrógeno.

El porcentaje de digestibilidad se calcula mediante la siguiente ecuación (Pellet, 1978):

$$\text{DVN (\%)} = \frac{(\text{Nitrógeno consumido} - (\text{Nitrógeno fecal} - \text{nitrógeno fecal de DLN}))}{\text{Nitrógeno consumido}} \times 100 \quad (3)$$

Valor biológico

Se define como la proporción del nitrógeno absorbido que es retenido por el organismo. Se asume que el nitrógeno ingerido que no es liberado en heces y orina ha sido retenido y utilizado por el organismo.

Para determinar el nitrógeno fecal metabólico y el nitrógeno urinario endógeno de un animal en reposo, se utiliza una dieta libre de nitrógeno y se mide el nitrógeno fecal y urinario durante el periodo experimental (Mitchell, 1924).

La información generada se usa para determinar los indicadores de calidad proteica como: Digestibilidad de Materia Seca (DMS), Digestibilidad Aparente de Nitrógeno (DAN), Digestibilidad Verdadera de Nitrógeno (DVN) y Razón Neta de Proteína (NPR).

Proteínas de Amaranto en Bioensayo

Las proteínas de origen animal son significativamente superiores en calidad a las proteínas de fuentes vegetales. La diferencia es debida a una mayor biodisponibilidad de su proteína y del patrón de aminoácidos esenciales que satisface las necesidades de la dieta humana. Sin embargo, hay algunas excepciones como la soya, la quinoa y el grano de amaranto, proteínas vegetales que se acercan a la calidad de la proteína animal (Bressani, 1989).

El valor nutricional de la proteína de amaranto es muy bueno, donde los valores de PER han variado de 1.5 a 2.0 (corregido a la caseína 2.5) para el grano cocido, y su

digestibilidad total es de alrededor del 90 por ciento. La proteína de amaranto (valor biológico de 75) se acerca más que cualquier otra proteína de grano al equilibrio perfecto de aminoácidos esenciales; valor de 100 en la escala de calidad de proteína de los nutricionistas basada en la composición de aminoácidos. Mientras que al contrario las puntuaciones para el maíz son aproximadamente 44, trigo 60, soja 68 y leche de vaca 72 (Ruskin, 1984).

Antinutrientes

De los datos más importantes en el trabajo de Bresanni, (1989), se obtuvo que para pruebas de razón eficiencia proteica (PER), en el grano crudo de amaranto el patrón de aminoácidos no se ve reflejado en el valor de proteína. Esto debido a que el grano procesado por cocción obtuvo un valor de calidad proteica mayor que el grano crudo en todas las especies de amaranto revisadas. Además, cuando se procesa en condiciones que no dañan la disponibilidad de aminoácidos esenciales, temperatura superior a 180°C y humedad inferior al 15% (Bjorck y Asp, 1983), su calidad de proteína es muy similar a la de la caseína (Mendoza y Bressani, 1987). Estudios realizados por Bresanni (1989), y Onyango *et al.*, (2017) han sugerido que esto puede deberse a la presencia de factores antifisiológicos tales como inhibidores de tripsina y lectinas, aun cuando la cantidad presente de cada uno de éstos en el grano de amaranto es muy pequeña (Bresanni, 1989). Esta información concuerda con lo reportado por Pond, (1991), al estudiar variedades de *A. hypochondriacus* y *A. cruentus*, los cuales tienen patrones de proteínas y aminoácidos de alto valor nutritivo para el crecimiento, pero presentan un factor o factores inhibidores del crecimiento en ambas especies. Connor *et al.*, (1980), reportó que un factor tóxico (hepatotóxico) presente en *Amaranthus caudatus* fue destruido por tratamiento térmico, por lo que el procesamiento de calor apropiado puede ser importante para maximizar el valor nutricional del grano de amaranto.

Contenido de Fibra

Uno de los factores que afectan la digestibilidad y la ganancia en peso en las dietas de amaranto es el contenido de fibra. Pedersen *et al.*, (1990), estudió el contenido

de fibra en semillas de amaranto pálidas y negras, donde las semillas pálidas contenían alrededor del 8% de fibra dietaria (FD) y las semillas negras alrededor del 16%. El nivel de fibra soluble (FS) fue constante (entre 2.5 y 4.2%), además la fracción de FS comprendía entre el 33 y el 44% de la fracción de FD en las variedades pálidas, pero solo el 18% en las negras. Finalmente los resultados de su estudio indicaron que las semillas pálidas crudas contienen factores que reducen la palatabilidad y que este problema puede corregirse con el tratamiento térmico. A su vez, sus resultados obtuvieron que para los tratamientos de inflado y de tostado de la variedad de amaranto estudiada aumentó la proporción de fibra soluble del 33 al 39% y la digestibilidad aumentó en un 44 al 55% por efecto del tratamiento térmico.

HIPÓTESIS

El efecto de la humedad de alimentación y la temperatura durante el proceso de extrusión mejorará la calidad nutricional de la proteína y la actividad antioxidante en harina a base de amaranto.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto del tratamiento térmico por extrusión en la composición química, actividad antioxidante y calidad nutricional *in vivo* en harinas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L).

Específicos

1. Establecer las condiciones de humedad de alimentación y temperatura de la cuarta zona del extrusor que permitan obtener un producto extrudido con características adecuadas y uniformes, que contribuya a la actividad antioxidante y preserve su calidad nutricional.
2. Caracterizar física y químicamente harinas de amaranto obtenidas por extrusión, así como grano sin procesar y amaranto inflado comercial.
3. Evaluar el efecto de la humedad de alimentación y temperatura de extrusión sobre la actividad antioxidante en harinas de amaranto.
4. Evaluar la calidad nutricional de las harinas de amaranto extrudidas por medio de pruebas de calidad proteica y digestibilidad de nitrógeno en animales de experimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Se utilizó grano de amaranto sin procesar (*Amaranthus hypochondriacus*), y amaranto inflado procesado por tostado comercial, que es la forma común en la que se encuentra disponible en el mercado. La materia prima fue adquirida por medio de la comercializadora Quali para productos de amaranto con sede en el estado de Puebla, México, productos considerados orgánicos y por lo tanto libres de pesticidas agrícolas que impidiera su consumo humano. La materia prima adquirida fue transportada al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos y almacenadas de forma adecuada en un lugar libre de humedad y a temperatura constante de 25°C.

Los reactivos utilizados en la determinación del contenido de fenoles totales y las pruebas de actividad antioxidante fueron: Folin-Ciocalteu 47641 Sigma, ácido gálico G7384 Sigma, DPPH D9132 Aldrich, y ABTS 10102946001 Roche. Adquiridos por parte de la comercializadora Sigma-Aldrich.

Análisis Químico del Amaranto

Se llevó a cabo la determinación del análisis químico proximal de grano entero de amaranto, para ello se utilizarán los métodos propuestos por la AACC (1999): humedad (método 44-15), cenizas (método 08-12), proteína (método 46-13), y fibra dietaria (método 32-05); métodos propuestos por la AOAC: grasa (método AOAC 2003.05).

Etapas Preliminares

La etapa preliminar consistió en definir una distribución de tamaño de partícula en la molienda del grano de amaranto. Se utilizaron dos mallas de 0.5 o 0.8 mm. También se evaluaron dos temperaturas de extrusión para la cuarta zona del extrusor de 130 o 170°C; y dos humedades de acondicionamiento de las muestras de 20 o 30% (p/p). Las variables respuesta evaluadas en los extrudidos fueron el

diámetro de expansión, los parámetros de color L*, a* y b*, el contenido de fenoles totales y las pruebas de actividad antioxidante por medio de inhibición de los radicales ABTS y DPPH. Los resultados obtenidos se analizaron con la finalidad de seleccionar las condiciones de proceso a utilizar en la etapa experimental final.

Proceso de Extrusión

Molienda de Amaranto

Después de verificar no se encontraron impurezas en el grano de amaranto (partículas extrañas de hojas, ramas, piedras o insectos), la molienda se realizó con un molino de martillo Christy Turner Ltd, (Christy & Norris modelo 8" Laboratory & Soil Mill, Inglaterra) con un tamiz de 0.5 mm. El material molido se almacenó en bolsas de polietileno en refrigeración a 4°C y en ausencia de luz.

Acondicionamiento

Se realizó un acondicionamiento del amaranto molido al cual se le agregó agua destilada hasta alcanzar contenido de humedad correspondiente a la humedad de alimentación en el extrusor utilizando la siguiente formula:

$$mL \text{ de Agua} = \left(\frac{M(Hum F - Hum 0)}{100 - Hum F} \right) \quad (4)$$

Donde: M es la muestra en gramos, Hum F es el porcentaje de humedad deseado, y Hum 0 es el porcentaje de humedad inicial del grano.

El agua se agregó gradualmente y fue homogenizada empleando para ello una mezcladora (Kitchen Aid, modelo K45SSWH, U.S.A.), primero a baja velocidad y posteriormente, una vez adicionado el contenido de agua, a velocidad moderada por tiempo de 2 a 4 minutos. Finalmente se almacenó por un mínimo de 12 horas a 4°C en bolsas de polietileno y en ausencia de luz.

Extrusión

Cada grupo de material fue molido y acondicionado a su respectivo contenido de humedad, tamizado para remover la presencia de grumos, y extrudido de manera consecutiva. Empleando un extrusor de tornillo simple (Brabender Instruments, modelo E 19/25 D (OHG Duisburg, Duisburg, Germany)). El equipo consta de un cañón separado en 4 zonas independientes de calentamiento/enfriamiento (1,300 W cada una). Las temperaturas en el cañón fueron: 60, 90, 120°C en la primera, segunda y tercera zona, respectivamente. La temperatura de la cuarta zona fue de 150 o 180°C. Las condiciones que permanecieron constantes fueron: la velocidad de alimentación de 50 rpm, velocidad del tornillo de 130 rpm, tornillo con una razón de compresión de 1 a 1, y diámetro del dado de 3 mm. Las condiciones de operación fueron combinaciones factoriales de las variables: 3 humedades de alimentación (18, 25 o 32%) y 2 temperaturas en la cuarta zona del extrusor (150 o 180°C).

Secado y Molienda

Los extrudidos obtenidos fueron troceados y se les mido el diámetro de expansión, en el momento, posteriormente fueron secados en un secador tipo túnel con una corriente de aire a una temperatura aproximada de 60°C en un tiempo de 30 minutos hasta 1 hora. Posterior al secado los extrudidos secos se destinaron a la obtención de harina extrudida de amaranto, para ello fueron molidos nuevamente en el martillo Christy Turner utilizando un tamiz de 0.5 mm, almacenados en bolsas de polietileno y en un congelador (Torrey, modelo ch-15, México) a -20°C de temperatura.

Evaluaciones en Extrudidos

Físicas

Índice de expansión

Se tomaron 20 muestras de extrudido al azar de cada uno de los 6 grupos de tratamientos. Se utilizó un calibrador digital (Mitutoyo Corp., Modelo CD-6 CS,

Japón) midiendo el diámetro del extrudido en la parte media de la longitud del extrudido muestra.

Medición de color

La medición de color se realizó utilizando un colorímetro de triestímulo Hunter Lab (Hunter Association Laboratories, Miniscan XE Plus, U.S.A.) con el que se midieron los parámetros de L*, a*, y b* por triplicado.

Químicas

Se realizó la obtención de extractos a partir de 1 g de muestra de harina extrudida de amaranto con 10 mL de metanol en tubos para centrifuga de 50mL, utilizando un equipo de agitación (Burrell Scientific Wrist Action, Model 75, pittsburgh, Pennsylvania, U.S.A.) durante 30 minutos en ausencia de luz. Posteriormente se colocaron en centrifuga (ThermoFisher Scientific, model Heraeus Primo R, U.S.A.) a 10,000 g, a 25°C durante 30 minutos para separar el precipitado del sobrenadante. Los extractos decantados fueron preservados en congelación a -20°grados de temperatura.

Fenoles totales

El contenido de fenoles totales en el extracto se midió de acuerdo a la metodología descrita por Mau *et al.* (2001), con modificaciones. El extracto se homogenizó en un equipo de agitación vortex (Daigger Scientific Vortex Genie 2, model 3030A, U.S.A.) se tomaron 10 µL y se depositaron en una microplaca de 96 pozos. Posteriormente se agregaron 150 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu 2N en una relación de 1:10 Folin-Agua ultra pura (miliQ), 120 µL de Carbonato de Sodio (Na₂CO₃ al 7%), obteniéndose un volumen final de 280 µL por pozo; y el blanco utilizado fueron 10 µL de metanol. La placa se incubó en oscuridad y a temperatura ambiente (25°C) durante 1 hora. La absorbancia se midió a 750 nm en un espectrofotómetro de microplaca (BIO-RAD Model xMark, U.S.A.) Los resultados fueron calculados por medio de una curva estándar de ácido gálico.

Curva de ácido gálico

Se utilizó ácido gálico a partir de un stock de 0.24mg por mililitro de ácido gálico en diluciones seriadas de 0.20, 0.16, 0.12, 0.08, 0.04, 0.02 y 0.01 mg por mL. Se realizó la prueba de Folin-Ciocalteu en las proporciones previamente mencionadas; los valores de absorbancia obtenidos fueron graficados en una curva de absorbancia contra concentración, y reportadas como mg de equivalente de ácido gálico (GAE, por sus siglas en inglés) por cada 100 gramos de muestra.

Pruebas de Inhibición de Radicales

Inhibición del radical DPPH

La actividad secuestradora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) se realizó de acuerdo a la metodología establecida por Molyneux, (2004), con algunas modificaciones. Los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición, el cual es el porcentaje en el cual la muestra atrapa al radical. El radical se preparó justo antes de la determinación, pesando 2.5 mg del radical comercial DPPH en 50 mL de metanol, ajustando la absorbancia a 0.7 ± 0.01 en una longitud de onda de 515 nm. Se tomaron 50 microlitros de extracto, previamente homogenizado en agitador vortex, se transfirió a una microplaca de 96 pozos y se mezcló con un volumen de 200 microlitros de solución de radical. La solución se homogenizó, se le realizó una lectura a tiempo 0 y postreramente se incubó por 30 min en la oscuridad.

El porcentaje de inhibición se calculará mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{Abs(0) - Abs(F)}{Abs(0)} * 100 \quad (5)$$

Donde: Abs(F) es la absorbancia del antioxidante a los 30 min, y Abs(0) es la absorbancia del control a tiempo 0 min.

Inhibición del radical ABTS

La actividad antioxidante del radical ácido 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS) se realizó en base a la metodología propuesta por Medina, (2010), con modificaciones.

Para la preparación de la solución stock se realizaron 3 soluciones A, B y C. Para la solución A se pesaron 19.3 mg de ABTS y se agregaron 5 mL de agua destilada, homogenizado en agitación vortex por 1min. Para la solución B se pesaron 0.0378 g de persulfato de potasio y se homogenizaron 1 ml de agua destilada en agitación vortex por 1min. Para la solución C se preparó tomando 88 μL de la solución B y agregándolos a la solución A, la mezcla homogenizada se dejó reposando en oscuridad a temperatura ambiente en un periodo de 16 h.

Una vez finalizado el proceso de incubación de la solución C, se tomó 1 mL de la solución y se agregó etanol hasta ajustar a 0.7 ± 0.02 de absorbancia a una longitud de onda de 734nm.

Para la medición de las muestras se utilizaron 50 μL de extracto previamente homogenizado y se transfirió a una microplaca de 96 pozos y se mezcló con un volumen de 200 μL de solución de radical. La solución se homogenizó, se le realizó una lectura a tiempo 0 y postteriormente se incubó por 30 min en la oscuridad.

Los resultados se expresaron en % de inhibición

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{Abs(0) - Abs(F)}{Abs(0)} * 100 \quad (6)$$

Donde: Abs(F) es la absorbancia del antioxidante a los 30 min, y Abs(0) es la absorbancia del control a tiempo 0 min.

Ensayo biológico

Animales de Experimentación

Para evaluar la calidad proteica del grano de amaranto, el amaranto inflado comercial y las harinas extrudidas de amaranto se realizó un bioensayo murino de la siguiente forma. Se realizó la prueba de Razón Neta de Proteína (NPR, por sus siglas en inglés) con una duración de 2 semanas posterior al tiempo de adaptación de los animales de laboratorio. La especie utilizada fueron ratas de laboratorio tipo Sprague-Dawley de 21-23 días de edad recién destetadas, todas de la misma colonia y camada.

Al tener un peso de 50 gramos, las ratas fueron separadas por sexo, pesadas, y seleccionando según un peso promedio para formar cada uno de los grupos de experimentación, el cual consto de 2 machos y 2 hembras por grupo; siendo los grupos las dietas de: semilla molida, amaranto inflado comercial, harina extrudida de amaranto a 150°C y 18% de humedad (Ext15018), harina extrudida de amaranto (Ext18032), Caseína como control y dieta libre de nitrógeno.

Dietas Experimentales

La elaboración de dietas se realizó de acuerdo al método oficial (960.48) de la AOAC, (2005). Las dietas se diseñaron en función del contenido de proteína de las materias primas, ajustando al mismo contenido de proteína (al 10%) y fibra con ingredientes: caseína de referencia como fuente de proteína en la dieta control, mezcla de sales como fuente de minerales, mezcla de vitaminas, aceite de maíz como fuente de grasa, y celulosa como fuente de fibra. La composición de las dietas utilizadas en el presente estudio se presenta en la Tabla 2. Las dietas utilizaron como base al grano de amaranto sin procesar, amaranto inflado comercial o amaranto extrudido (se consideraron las dos condiciones extremas de extrusión, 150°C y 18% y 180°C y 32% de humedad). Adicionalmente se formuló una dieta control de caseína, y una dieta libre de nitrógeno.

Tabla 2. Formulación de dietas experimentales.

Dieta	Base (%)	Aceite (%)	Vitaminas (%)	Azúcar (%)	Minerales (%)	Fibra (%)	Almidón (%)
Caseína	11.16	8.00	2.00	5.00	3.00	8.00	62.84
Grano de Amaranto	68.97	3.76	2.00	0.00	3.00	3.22	19.06
Amaranto Inflado	58.82	4.02	2.00	0.00	3.00	3.03	29.12
Extrudido a 150°C con 18% de humedad	68.97	3.76	2.00	0.00	3.00	0.18	22.10
Extrudido a 180°C con 32% de humedad	68.97	3.76	2.00	0.00	3.00	0.18	22.10
Libre de Nitrógeno	0.00	8.00	2.00	5.00	3.00	8.00	74.00

Dietas formuladas en base a el método oficial (960.48) de la AOAC, (2005)

Periodo Experimental

Una vez formados los grupos se ordenaron las ratas de acuerdo al tratamiento experimental, colocando a los animales en forma individual en jaulas de acero inoxidable codificadas con su propio comedero y bebedero; también se colocaron charolas de papel en la parte inferior de la jaula para la recolección de heces, orina y alimento que la rata tirase. La etapa de adaptación a la dieta y a la estancia aislada en la jaula de acero inoxidable fue de 24 horas. El estudio comenzó al momento con duración de 2 semanas en condiciones controladas de temperatura a 25°C, humedad relativa de 65-80%, ciclos de iluminación de 12 horas luz-oscuridad. El alimento y el agua fueron suministrados *ad-libitum*.

Se registraron datos cada tercer día, los cuales fueron: gramos de alimento consumido, el total de heces presentes en la charola y el incremento en peso de cada animal. Las heces recolectadas se secaron en una estufa (Thelco Precision Scientific Lab, Model 130, U.S.A.) a 50-55 °C por 12 h previo a la medición del peso, posteriormente se molieron y se les determinó el contenido de proteína por el método de micro Kjeldahl usando el factor de conversión de nitrógeno de 6.25.

La ganancia en peso, consumo de proteína y NPR para cada rata y por grupo de las dietas de prueba se tabuló y se compararon los resultados con los obtenidos por el grupo con dieta de referencia (caseína).

Diseño de Experimento y Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño factorial de 2 factores con 2 y 3 niveles, respectivamente. Los factores fueron la temperatura de la cuarta zona de calentamiento en el extrusor, con 2 niveles (180 o 150°C), y la humedad de alimentación con 3 niveles (18, 25 o 32%) del contenido de humedad.

Para la etapa del bioensayo se utilizó un diseño completamente al azar, donde los tratamientos fueron el grano de amaranto molido, el amaranto inflado comercial, la harina extrudida a condiciones de 180°C y 32% de humedad, la harina extrudida a

condiciones de y 32% de humedad, la harina extrudida a condiciones de 150°C y 18% de humedad, y la dieta de caseína como referencia.

Los datos de todas las determinaciones fueron analizados por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de Tukey para comparaciones de medias. El ANDEVA se llevó a cabo con el software estadístico *Statistical Analysis System* (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resumen de la Etapa Preliminar

Durante la etapa preliminar, en el proceso de extrusión se utilizaron 2 tamices de molienda (0.5 o 0.8 mm), 2 niveles de temperatura (170° o 130°C) y 2 niveles de humedad (20 o 30%), (datos no presentados). En base a los resultados se seleccionó el tamiz de 0.5 mm, ya que el menor tamaño favoreció la homogeneidad del producto extrudido y presentó menor cambio en los parámetros de color L*, a* y b* con respecto al amaranto sin extrudir. Para la etapa final de procesamiento se modificó la temperatura de la cuarta zona de extrusión a 150 o 180°C, ya que las temperaturas de 130 o 170°C no se presentó interacción con la humedad de alimentación, y donde la temperatura de 170°C fue benéfica en todas las variables respuesta y de igual manera las condiciones de humedad de alimentación se modificaron a 3 niveles con 18, 25 o 32% para evaluar si a estas condiciones se presentaba un efecto por parte de la humedad de alimentación en las variables respuesta.

Análisis Químico del Amaranto

Los resultados de la composición proximal tanto de la materia prima como del amaranto inflado comercial y extrudido se presentan en la Tabla 3. El amaranto inflado presentó un mayor contenido de lípidos y un menor contenido de ceniza ($p < 0.05$), no se presentaron diferencias significativas en el contenido de proteína ($p > 0.05$). El amaranto inflado presentó mayor contenido de lípidos por lo que podría indicar el uso de algún aceite como lubricante durante el procesado comercial, mientras que el menor contenido de ceniza podría sugerir la pérdida del pericarpio durante el tratamiento térmico. El amaranto presenta alto contenido de proteína, lípidos y cenizas comparado con otros cereales como por ejemplo el trigo que presenta del 9-12%, 1.6-1.8% y 1.5-1.7% de estos componentes, respectivamente; y el maíz que reporta del 7-9%, 4-5%, y 1-1.5%, respectivamente (USDA, 2018).

Tabla 3. Comparación de medias de la composición química del grano amaranto sin procesar, inflado y extrudido.

Muestra	Proteína (%)	Grasa (%)	Ceniza (%)
Grano de amaranto	17.14 ± 2.86 a	6.61 ± 0.07 b	3.25 ± 0.02 a
Amaranto inflado	17.47 ± 1.08 a	7.73 ± 0.13 a	3.06 ± 0.03 b
Amaranto extrudido	17.77 ± 0.52 a	7.08 ± 0.72 b	3.40 ± 0.15 a

Resultados reportados en base seca como el promedio ± desviación estándar.

El amaranto extrudido a las condiciones de 180°C y 32% de humedad.

Valores con la misma letra para la misma columna no presentan diferencias significativas $P > 0.05$

Los resultados para la determinación de fibra soluble e insoluble se presentan en la Tabla 4. Los resultados muestran diferencias significativamente mayores en el contenido de fibra soluble e insoluble posterior al tratamiento térmico tanto para el amaranto inflado como para el amaranto extrudido. Lo anterior coincide con Capriles *et al.*, (2008), y Bjorck *et al.*, (1984) quienes reportaron un aumento en el contenido de fibra soluble después de la extrusión. Pedersen *et al.*, (1990), trabajaron con semillas de amaranto pálidas y negras, y reportaron que el proceso de inflado y tostado aumentó la proporción de fibra soluble del 33 al 39%; lo cual puede interferir con la digestión y absorción de nutrientes y tener efectos adversos durante las evaluaciones nutricionales en el ensayo murino.

Evaluaciones Físicas

Índice de Expansión

Los resultados del análisis de varianza (ANDEVA), del valor F, del efecto de la humedad de alimentación (HA) y temperatura (T) de extrusión sobre el índice de expansión de los extrudidos se presentan en la Tabla 5. El índice de expansión fue afectado muy significativamente ($P < 0.01$) por HA y T, así como por su interacción (HA x T). Siendo HA quien presentó el mayor efecto en la variable respuesta.

En la Figura 2 se muestran los resultados del índice de expansión para los 6 tratamientos a 2 niveles de temperatura (180 o 150°C) y 3 niveles de humedad (18, 25 o 32%). El mayor índice de expansión se obtuvo al nivel intermedio de HA (25%), siendo los resultados significativamente ($P < 0.05$) diferentes de la HA del 18 y 32%.

A su vez, la interacción de 25% (HA) x 180°C (T) fue significativamente mayor ($P < 0.05$) a la interacción de 25% (HA) x 150°C (T). La mayor expansión se obtuvo a la mayor temperatura, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura por Muthukumarappan y Karunanithy (2012), quienes afirmaron que a mayor temperatura se promueve un mayor grado de gelatinización del almidón, y también un incremento en la evaporación de la humedad, lo cual crea la formación de burbujas y expansión del producto.

Tabla 4. Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en amaranto sin procesar, inflado y extrudido.

Muestra	Fibra Dietaria Insoluble (%)	Fibra Dietaria Soluble (%)	Fibra Total ¹ (%)
Grano de amaranto	6.73 ± 0.02 c	1.95 ± 0.31 b	8.68 ± 0.28 b
Amaranto inflado	8.44 ± 0.15 b	1.71 ± 0.35 b	10.15 ± 0.50 b
Amaranto extrudido	9.98 ± 0.83 a	2.81 ± 0.30 a	12.79 ± 0.86 a

¹El contenido de fibra total se obtuvo por medio de la sumatoria de la fibra insoluble y soluble. Resultados reportados en base seca como el promedio ± desviación estándar. Valores con la misma letra para la misma columna no presentan diferencias significativas P>0.05

Tabla 5. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el índice de expansión de los extrudidos de amaranto.

FV ¹	GL ²	F
		Índice de expansión
Humedad de Alimentación (HA)	2	93.99 **
Temperatura (T)	1	28.91 **
HA x T	2	12.66 **
Error	114	
Total	119	

¹Fuente de variación

²Grados de libertad

** muy significativo (P<0.01)

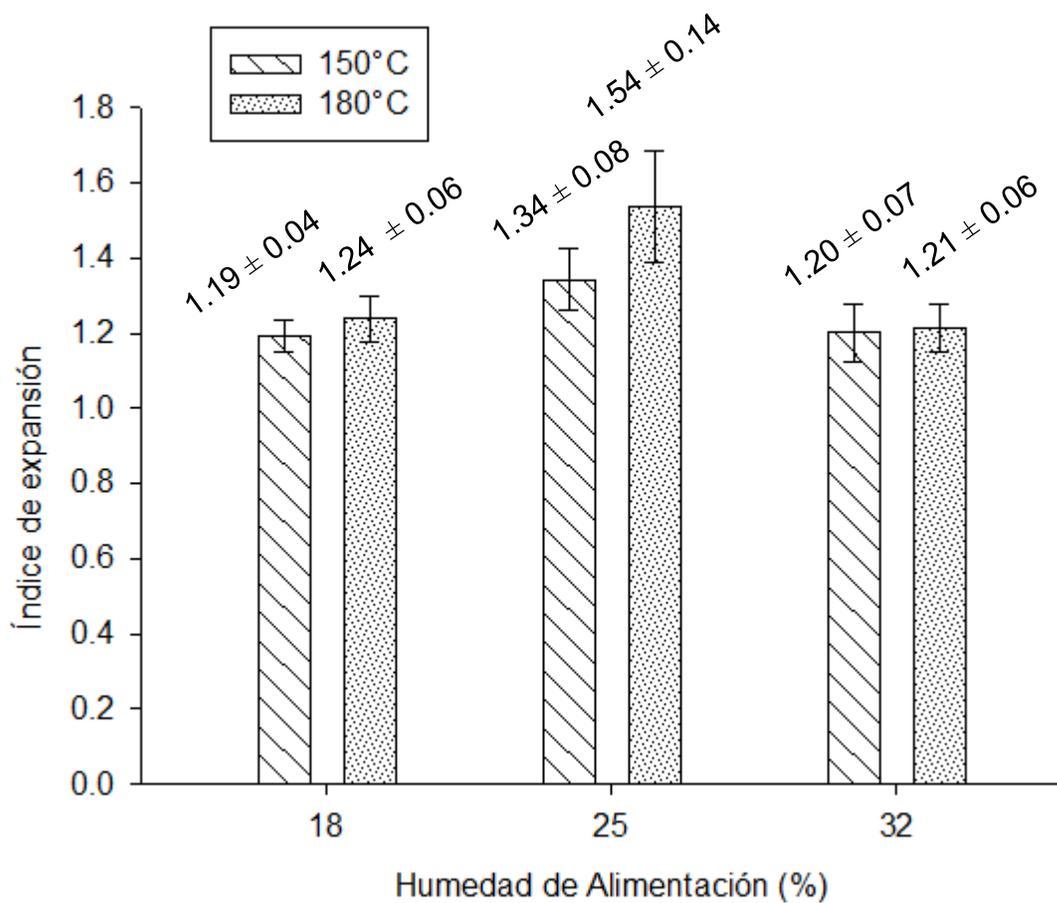


Figura 2. Efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el índice de expansión de los extrudidos de amaranto. Las barras indican desviación estándar.

En los resultados también se observa un comportamiento no lineal para la expansión por efecto del contenido de humedad, siendo tanto el nivel de humedad inferior como el superior, 18 y 32%, no significativamente diferentes entre ellas, pero significativamente menores al nivel intermedio (25%) ($P < 0.05$). Esto puede deberse a que la humedad juega un papel importante en la expansión de los extrudidos pero también presenta un efecto lubricante que podría disminuir la presión en el extrusor y contrariamente reducir la expansión del producto final; mismo efecto lubricante que puede presentarse por la acción de los lípidos (Yu, 2011).

Ramos-Díaz *et al.*, (2017), estudiaron el efecto de la incorporación de amaranto o quinoa en expandidos a base de maíz, y reportaron que la adición de amaranto, y por tanto de lípidos, disminuyó ligeramente la expansión de los extrudidos. Bhatnagar y Hanna, (1994), discutieron que la formación de complejos de amilosa-lípidos durante la extrusión puede afectar las propiedades fisicoquímicas de los extrudidos como son la reducción del diámetro de expansión y la densidad aparente. En base a lo anterior y a nuestros resultados la baja humedad (18%) del extrudido podría favorecer la interacción del contenido lipídico con las cadenas de amilosa dando la formación de complejos que afectan la expansión del extrudido; mientras que en la humedad del 32% la menor expansión podría deberse a un efecto lubricante por parte del agua.

Medición de Color

Los resultados del ANDEVA, del valor F, del efecto de HA y T de extrusión sobre los parámetros de color L^* , a^* y b^* de los extrudidos se presentan en la Tabla 6. El parámetro L^* presentó un efecto significativo ($P < 0.05$) por T, mientras que el parámetro b^* presentó un efecto significativo ($P < 0.05$) por HA.

Parámetro L^*

Los resultados del parámetro L^* (brillantez) se muestran en la Figura 3. Como se indicó en el ANDEVA, los resultados no presentaron efecto por HA x T, siendo únicamente significativos por efecto de T donde el valor de L^* a 150°C fue menor con respecto a la temperatura de 180°C.

Tabla 6. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre los parámetros de color de los extrudidos de amaranto.

FV ¹	GL ²	F		
		L	a	b
Humedad de Alimentación (HA)	2	2.23 NS	1.76 NS	4.00 *
Temperatura (T)	1	8.82 *	0.29 NS	2.32 NS
HA x T	2	2.42 NS	0.14 NS	0.29 NS
Error	12			
Total	17			

¹ Fuente de variación

² Grados de libertad

* significativo (P<0.05)

NS no significativo (P>0.05)

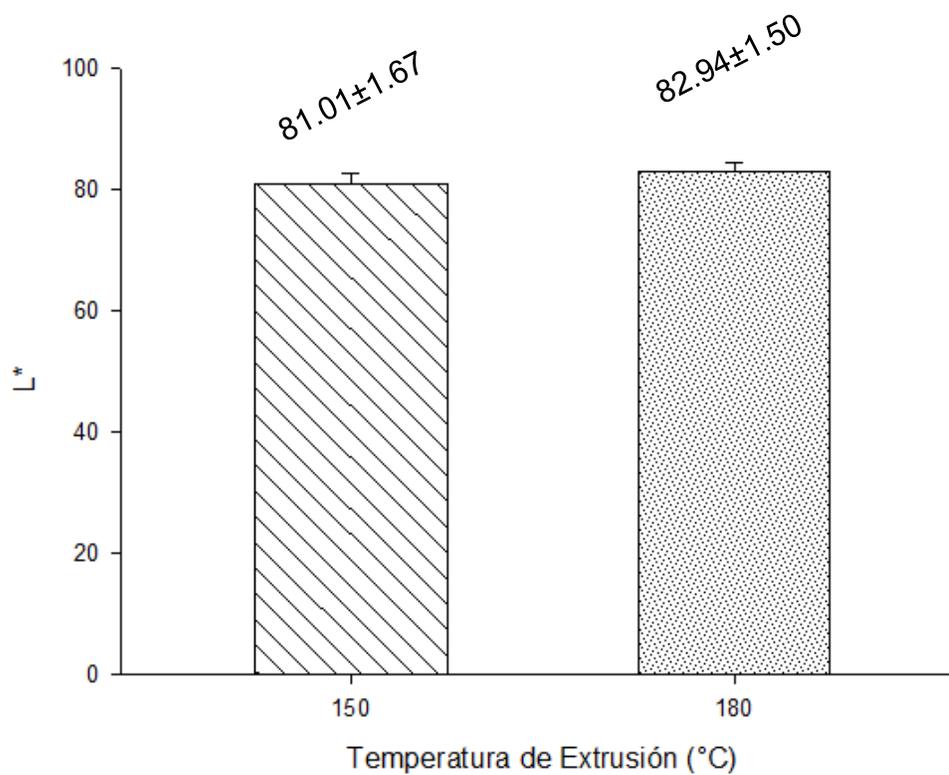


Figura 3. Efecto de la temperatura sobre el valor L* (brillantez) en amaranto extrudido. Las barras indican desviación estándar.

El grano de amaranto sin extrudir obtuvo una $L^* = 85.25$, siendo los tratamientos posteriores a la extrusión menores ($P < 0.05$). El menor cambio en el parámetro L^* (mayor L^*) se obtuvo a la temperatura de 180°C con el menor nivel de HA (18%). Mientras que la mayor disminución en L^* fue mayor para T de 150°C con respecto a T de 180°C , siendo los resultados significativos por efecto de la temperatura de extrusión (Tabla 6). La disminución en la brillantez posterior al proceso de extrusión de amaranto concuerda con lo reportado en la literatura (Menegassi *et al.*, 2011; Ilo *et al.*, 1999). Todos los tratamientos presentaron menor brillantez con respecto al amaranto sin extrudir ($L^* = 85.25$), aunque la magnitud del oscurecimiento posterior a la extrusión fue menor al reportado en estudios de Menegassi *et al.*, (2011), quienes obtuvieron un valor L^* de 69.6 y 58.7 para extrusiones de 120°C con 15% humedad, y 180°C con 25% de humedad respectivamente. Menegassi *et al.*, (2011) explica sus resultados en color debido a la participación de la reacción de Maillard, es decir, encafecimiento no enzimático promovida por la condensación de grupos amino, principalmente lisina y azúcares reductores a lo cual se le atribuye el oscurecimiento de los extrudidos lo cual se evidencia por una disminución en el parámetro de color L^* . Se ha reportado que el efecto de las altas temperaturas y la baja actividad de agua benefician la reacción de Maillard (Badui 2006), lo que podría indicar una menor pérdida de lisina por efecto de la reacción de Maillard en las condiciones de proceso.

Parámetro a^*

Como se indicó en el ANDEVA (Tabla 6.) los resultados no presentaron diferencias significativas por efecto de HA, T, ni su interacción ($P > 0.05$). El promedio de los tratamientos para el valor $+a^*$ fue de 2.90 ± 0.21 .

El valor $+a^*$ para el grano de amaranto sin extrudir fue de 2.46, siendo significativamente menor ($P < 0.05$) a los extrudidos, es decir, los extrudidos son más rojos. Si bien el aumento en $+a^*$ por efecto del proceso de extrusión coincide con otros autores (Menegassi *et al.*, 2011; Ilo *et al.*, 1999; Gearhart y Rosentrater 2017). Al menos para las condiciones de HA y T utilizados en este diseño experimental el

cambio en el parámetro a^* no presentó una tendencia por efecto de las condiciones de extrusión en el grado de pigmentación del producto y por tanto no es viable como un indicador de las transformaciones en el amaranto, como puede ser la pérdida de lisina por efecto de la reacción de Maillard.

Parámetro b^*

Los resultados del parámetro $+b^*$ (color amarillo) se muestran en la Figura 4. Como se indicó en el ANDEVA (Tabla 6) solo la HA presentó efecto significativo en el valor $+b^*$ ($p < 0.05$). La humedad de alimentación elevada produce extrudidos más densos, lo cual podría explicar el aumento en el color al aumentar HA, esto posiblemente debido al cambio en la estructura macromolecular en los componentes del producto lo cual reduce su expansión y forman materiales más compactos (Ding *et al.*, 2006).

Al comparar los extrudidos con respecto al grano sin procesar se obtuvo un aumento significativo ($p < 0.05$) en $+b^*$ por efecto de la extrusión siendo este mayor, es decir, color más amarillo ($b^* = 15.29$). Comportamientos similares fueron previamente descritos por Menegassi *et al.*, (2011), y Gearhart y Rosentrater (2017), es decir un aumento en la pigmentación posterior a la extrusión.

Químicas

Contenido de fenoles

Los resultados del ANDEVA, del valor F, del efecto de HA y T de extrusión sobre el contenido de fenoles totales y capacidad inhibitoria de radicales DPPH y ABTS de los extrudidos se presentan en la Tabla 7. Todas las variables respuesta fueron afectadas muy significativamente ($P < 0.01$) por HA y T, así como por su interacción (HA x T), siendo HA quien presentó el mayor efecto.

Los resultados para el contenido de fenoles totales se muestran en la Figura 5. Se observa una tendencia lineal decreciente a medida que aumentaba HA del 18 al 25%, permaneciendo sin cambio al nivel de humedad de 32%. Para el efecto de T, de manera general, se obtuvo un mayor contenido de compuestos fenólicos a la

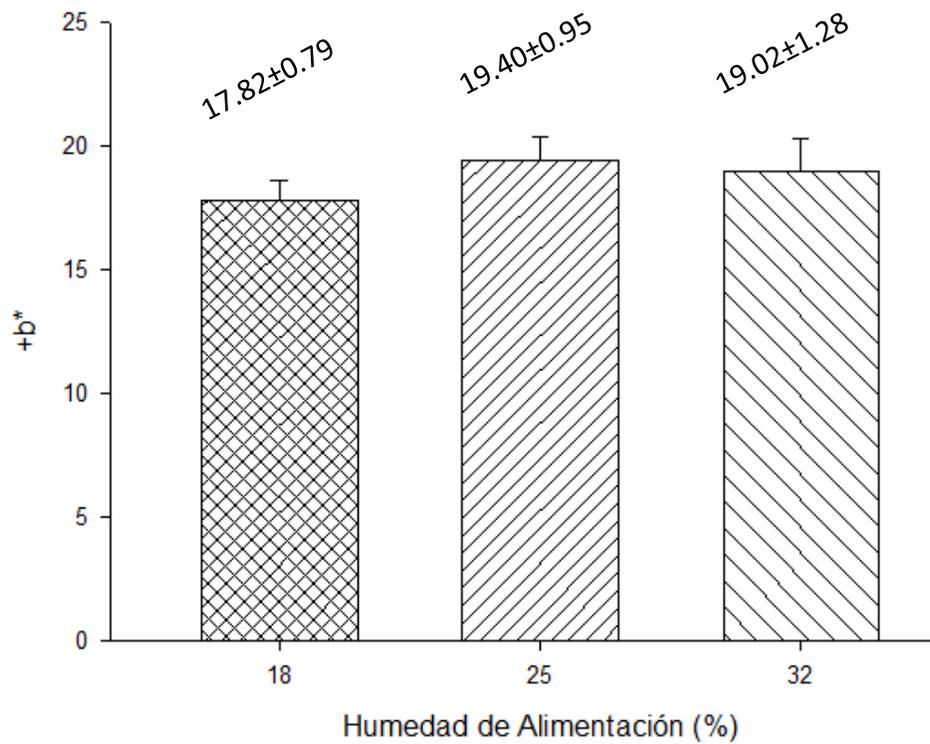


Figura 4. Efecto de la humedad de alimentación sobre el valor +b* (color amarillo) en amaranto extrudido. Las barras indican desviación estándar.

Tabla 7. Análisis de varianza, valor de F, del efecto de la humedad de alimentación y temperatura sobre el contenido de fenoles totales y porcentaje de inhibición de los radicales DPPH y ABTS de los extrudidos de amaranto.

FV ¹	GL ²	F		
		Fenoles Totales	DPPH	ABTS
Humedad de Alimentación (HA)	2	30.35 **	506.81 **	188.15 **
Temperatura (T)	1	24.12 **	80.85 **	39.05 **
HA x T	2	9.61 **	11.81 **	11.48 **
Error	90			
Total	95			

¹ Fuente de variación

² Grados de libertad

** muy significativo (P<0.01)

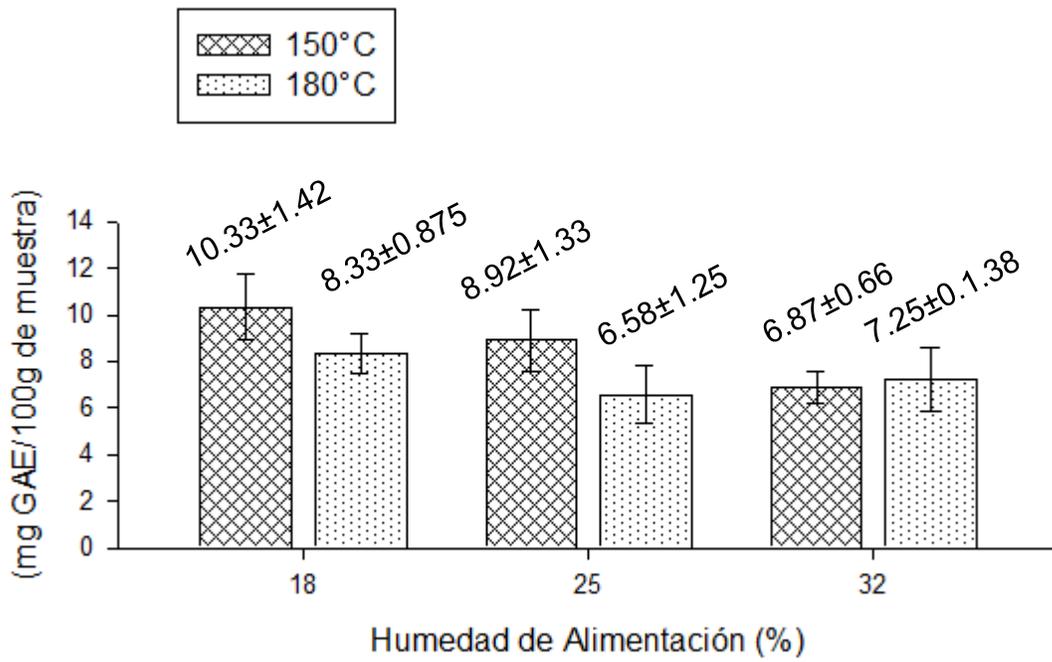


Figura 5. Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre el contenido de fenoles totales en amaranto extrudido. Las barras indican desviación estándar.

temperatura de 150°C en comparación a la de 180°C, independientemente de la humedad de alimentación. Se obtuvo un efecto de la interacción HA x T, donde los resultados para la HA del 25% con T de 180°C, 32% con 150°C, y 32% con 180°C no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$), y siendo los 3 tratamientos con el menor contenido de fenoles totales.

En los resultados se obtuvo una disminución en el contenido de fenoles por efecto del procesamiento de extrusión a excepción del tratamiento de HA 18% a T de 150°C el cual no presentó diferencias significativas con respecto al grano de amaranto sin extrudir (10.45 ± 1.37 mg GAE/100g de muestra). La disminución en el contenido de compuestos fenólicos puede deberse a que el tratamiento térmico por extrusión promueve la polimerización de algunos compuestos fenólicos y los vuelve menos extraíbles, como puede ser la formación de una matriz proteica compleja que dificulte la extracción de los compuestos (Brennan *et al.*, 2011), por lo que sería pertinente profundizar en la eficiencia de cada solvente para la extracción de compuestos fenólicos en amaranto, así como cuantificar los compuestos fenólicos ligados, ya que se ha reportado que el procesamiento por extrusión puede favorecer la liberación de estos compuestos unidos químicamente a la matriz alimentaria (Brennan *et al.*, 2011).

Wang *et al.*, (2014), menciona diversos estudios de tratamiento térmico para diferentes fuentes botánicas, donde el tratamiento por extrusión resultó ser perjudicial en la extracción de compuestos fenólicos. Zieliński *et al.*, (2006), realizaron un estudio sobre el trigo sarraceno "*buckwheat*" (*Fagopyrum esculentum Moench L*), otro pseudocereal que ha ganado popularidad por sus características nutricionales y antioxidantes, donde se reportó una disminución de hasta 3 veces del contenido de fenoles totales posterior al proceso de extrusión. Lo anterior se atribuye a reacciones de descomposición o descarboxilación de algunos compuestos fenólicos y polimerización de fenoles, además de una tendencia decreciente tanto para el contenido fenólico total como para el contenido total de flavonoides cuando se incrementaron la humedad de la alimentación y la temperatura de extrusión (Brennan *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2014).

Actividad Antioxidante

Inhibición del radical DPPH

La actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH de los extrudidos de amaranto se presenta en la Figura 7. Los resultados presentaron un efecto muy significativo por la efecto de HA, T y la interacción HA x T (Tabla 7). Se observa que independientemente de la temperatura de extrusión, los porcentajes de inhibición disminuyeron al aumentar la humedad de alimentación y por otro lado, independientemente de la humedad de alimentación, la temperatura de 150°C presentó mayor porcentaje de inhibición que la de 180°C. Los tratamientos presentaron una tendencia similar a la obtenida para los compuestos fenólicos totales, siendo un comportamiento lineal por parte de la temperatura para los niveles de HA del 18 y del 25%, hasta el nivel de 32%, el cual no fue significativamente diferente ($P>0.05$).

Inhibición del radical ABTS

La actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical ABTS de los extrudidos de amaranto se presenta en la Figura 8. Los resultados presentaron un efecto muy significativo por la efecto de HA, T y la interacción HA x T (Tabla 7). De manera similar al DPPH, independientemente de la temperatura de extrusión, los porcentajes de inhibición disminuyeron al aumentar la humedad de alimentación, al igual que independientemente de la humedad de alimentación, donde el mayor porcentaje de inhibición se presentó a HA del 18% con T de 150°C, el porcentaje de inhibición disminuyó a medida que aumentaba HA, hasta el 32% el cuyos resultados no fueron significativamente diferentes ($P>0.05$) a HA de 25%.

Se obtuvieron resultados similares al comportamiento de los resultados previamente mencionados para el DPPH, aunque con resultados más favorables para el ABTS. Para ambos radicales el tratamiento de 150°C y 18% de humedad obtuvo la mejor capacidad antioxidante (12.79% para el DPPH y 41.71% para el ABTS).

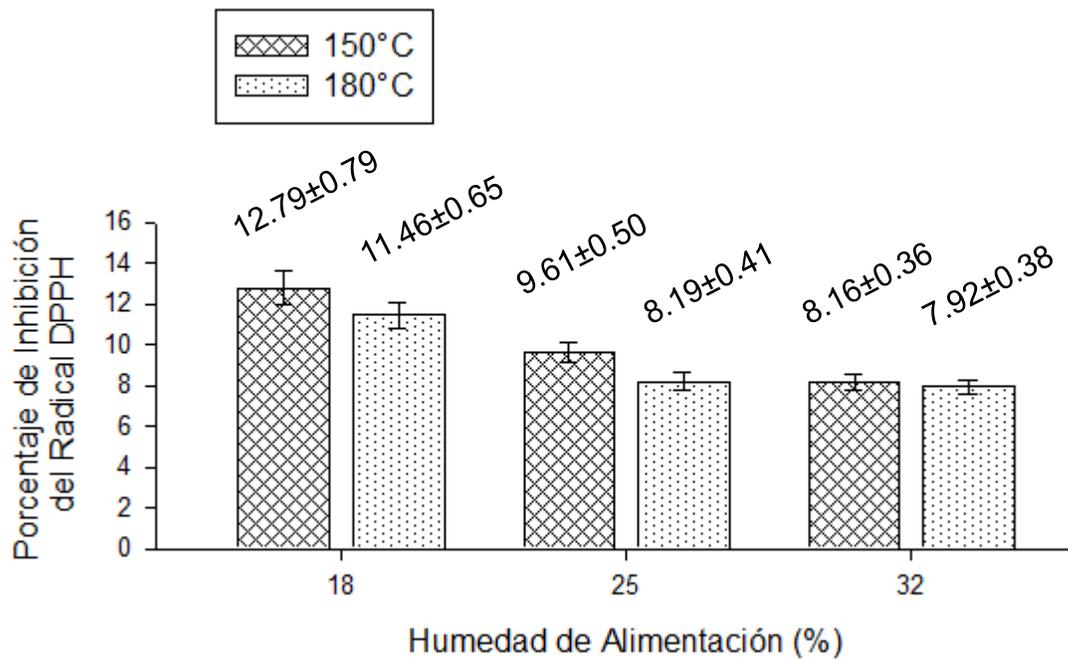


Figura 6. Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH en amaranto extrudido. Las barras indican desviación estándar.

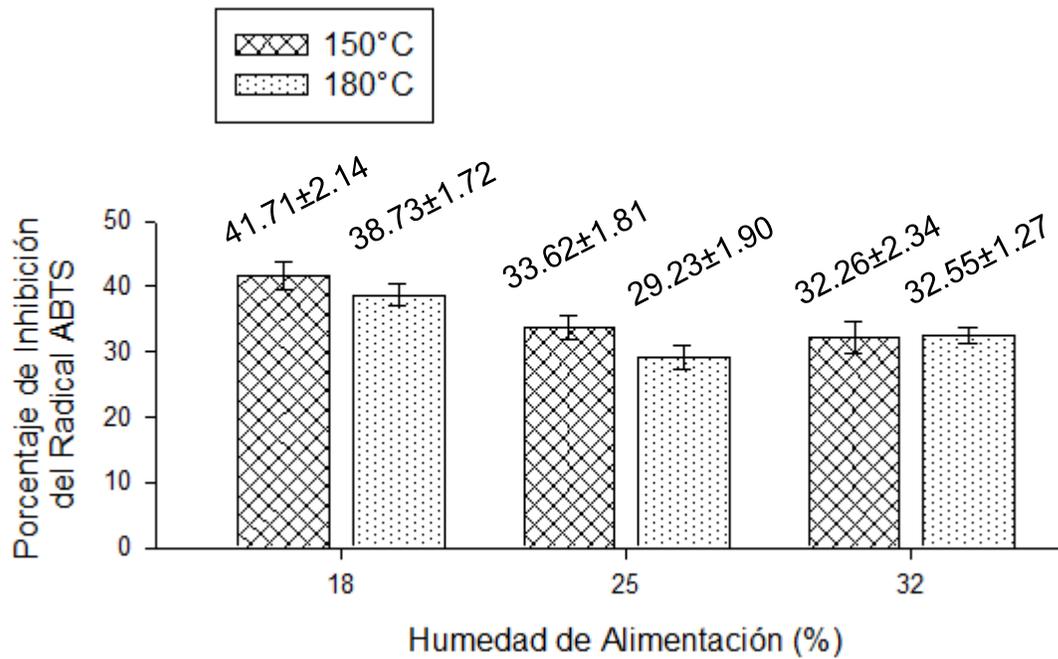


Figura 7. Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical ABTS en amaranto extrudido. Las barras indican desviación estándar.

Los resultados encontrados en el presente estudio están de acuerdo con lo realizado por Kraujalis *et al.*, (2013), quienes trabajaron con diferentes partes anatómicas de *Amaranthus hybridus*, encontrando mayor actividad antioxidante para el radical ABTS en extractos metanólicos (70:30) de semillas de amaranto; y con lo reportado por Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2009), quienes estudiaron 2 variedades de *A. caudatus* en donde reportaron tanto una disminución en la actividad antioxidante por efecto de la extrusión como una mayor inhibición por parte del radical ABTS ante al DPPH. Este comportamiento puede atribuirse a la participación de compuestos antioxidantes de carácter lipídico ya que, aunque ambos radicales DPPH y ABTS utilizan mecanismos relacionados a la transferencia de electrones y transferencia de átomos de hidrogeno, el ABTS presenta mejor adaptación para medir compuestos tanto hidrófilos como lipófilos, mientras que DPPH principalmente componentes hidrofílicos (Londoño, 2012)

Correlación Entre Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante

La correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales para los tratamientos de extrusión se presenta en la Tabla 8. La correlación fue muy significativa ($P < 0.01$) para los 3 resultados, siendo la mayor entre el DPPH y ABTS con una $r = 0.972$, ya que los resultados de inhibición tanto para el radical ABTS como DPPH presentan una tendencia similar para todos los tratamientos de HA y T en ambas pruebas, es decir, una mayor actividad antioxidante a T de 150°C y descenso en la actividad antioxidante a medida que aumentaba HA.

La correlación entre el contenido de fenoles y el DPPH fue de $r = 0.827$, muy significativa ($P < 0.05$). Por último tenemos la correlación entre el ABTS y el contenido de fenoles con $r = 0.773$ ($P < 0.05$). Dicha correlación se debe a que los compuestos fenólicos son compuestos bioactivos presentes en fuentes vegetales, los cuales se ha asociado que su consumo en la dieta puede proteger de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). La correlación obtenida para el ABTS y el contenido de fenoles es mayor que la reportada por Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2009) ($r = 0.584$) pero menor que la reportada por

Tabla 8. Coeficientes de correlación (*r*) entre el contenido de fenoles totales y pruebas para actividad antioxidante.

	DPPH	ABTS	Fenoles Totales
DPPH	1	0.972 **	0.827 **
ABTS		1	0.773 **
Fenoles Totales			1

** Muy significativo ($P < 0.01$)

Paško *et al.*, (2009), $r = 0.98$; y Kraujalis *et al.*, (2013), $r = 0.95$ para *Amaranthus hybridus*. Para los 2 últimos puede explicarse por las diferencias en la metodología, ya que dichos autores utilizaron una extracción secuenciada con diferentes solventes, lo cual permitió la extracción de otros compuestos de naturaleza lipídica. En el caso de Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2009), estas variaciones podrían deberse a la cantidad de compuestos lipídicos con actividad antioxidante presentes en cada diferente variedad de amaranto.

Existen diferencias entre los ensayos antioxidantes del ABTS y el DPPH, como puede ser la solubilidad del extracto. Dicho factor puede afectar la capacidad de los antioxidantes para reaccionar con diferentes radicales (Pellegrini *et al.*, 2003). Si bien ambos radicales utilizan mecanismos de donación de electrones o átomos de hidrogeno, presentan diferencias en su afinidad por la naturaleza del extracto, siendo mayor la afinidad del DPPH a compuestos hidrofílicos, mientras que en caso del ABTS su afinidad es para ambos compuestos hidrofílicos y lipofílicos (Ott *et al.*, 2015).

Ensayo Biológico

Los resultados para las pruebas de calidad proteica se muestran en la Tabla 9. Para la prueba de NPR se obtuvo que el tratamiento por extrusión a 18% de humedad de alimentación con temperatura de 150°C no presentó diferencias significativas con respecto al control de caseína (4.33). A su vez, el tratamiento por extrusión a 32% de humedad de alimentación con temperatura de 180°C, a pesar de ser significativamente diferente al control de caseína, obtuvo valores altos de NPR (4.11); siendo ambos tratamientos de extrusión superiores a los resultados obtenidos por el control de grano y al amaranto inflado comercial. También se puede observar que no se presentaron diferencias significativas entre el amaranto inflado y el grano molido de amaranto sin tratamiento térmico. Los valores de NPR comparables a la caseína indican un buen perfil de aminoácidos, con presencia de aminoácidos esenciales y buena digestibilidad.

Tabla 9. Resultados de las pruebas de calidad proteica *in vivo*.

Tratamiento	NPR ¹	DAN ²	DVN ³
Grano de amaranto	3.81 ± 0.14 c	78.76 ± 1.23 c	83.01 ± 1.10 c
Amaranto inflado	3.76 ± 0.05 c	81.24 ± 1.49 bc	84.55 ± 1.33 bc
Extrudido a 150°C con 18% de humedad	4.32 ± 0.05 a	81.94 ± 1.05 b	85.00 ± 0.92 bc
Extrudido a 180°C con 32% de humedad	4.11 ± 0.03 b	83.36 ± 0.65 b	86.72 ± 0.65 b
Caseína	4.33 ± 0.15 a	88.08 ± 1.98 a	91.40 ± 1.40 a

¹NPR, razón neta de proteína

²DAN, digestibilidad aparente de nitrógeno

³DVN, digestibilidad verdadera de nitrógeno

Los resultados se reportan como el promedio ± desviación estándar. Valores con la misma letra para la misma columna no presentan diferencias significativas P > 0.05

Un bioensayo mide el efecto de un estímulo aplicado a un sujeto de experimentación, el cual puede ser medido por un cambio en una magnitud de respuesta (Saha, 2002). La prueba de razón neta de proteína (NPR) es la medición de la ganancia en peso por efecto de la calidad proteica corregida considerando un grupo control alimentado con una dieta libre de nitrógeno (Bender y Doell 1957). En base a los anteriores resultados se puede afirmar que las condiciones de extrusión empleadas posiblemente lograron inactivar compuestos antinutricionales en el amaranto, por lo que su calidad proteica fue mejorada.

Estudios en amaranto (Pedersen *et al.*, 1987a) han reportado la presencia de factores antifisiológicos como ácido fítico, el cual forma complejos insolubles con la proteína y la vuelve menos susceptibles a la actividad de enzimas digestivas (Knuckles *et al.*, 1985); inhibidores de tripsina e inhibidores de quimotripsina. Sin embargo, al ser dichos antinutrientes termolábiles, estos pueden ser degradados por efecto del tratamiento térmico (Pedersen *et al.*, 1987a). Algunos autores han reportado una mejoría de la calidad nutricional posterior al tratamiento térmico, ya sea por la inhibición de antinutrientes (Pedersen, *et al.*, 1987b; Bressani, 1989), o por el aumento en la digestibilidad (Bejosano y Corke 1998). Por otra parte otros autores afirman que el inflado es un tratamiento térmico deficiente debido a la pérdida de calidad proteica que este implica (Gamel *et al.*, 2004). Bressani *et al.*, (1987) informaron que el proceso de inflado en amaranto causó una disminución del 19% de la lisina disponible en comparación con la muestra cruda, la cual se puede atribuir a la pérdida de lisina por efecto de la reacción de Maillard (Bejosano y Corke 1998), siendo dicho tratamiento térmico menos efectivo comparado con otros tratamientos como la cocción (Onyango *et al.*, 2017), o la extrusión para el caso de las condiciones utilizadas en el presente experimento.

La prueba de digestibilidad aparente (DAN) y verdadera de nitrógeno (DVN), toman otras consideraciones en los resultados de un ensayo de calidad proteica. La prueba de DAN considera que no toda la proteína de la dieta se traduce en ganancia en peso, ya que existe proteína destinada al mantenimiento metabólico, así como proteína que es liberada en las heces; mientras que la prueba de DVN considera que

no todo el nitrógeno presente en heces proviene de la dieta sino que parte es proveniente de la microflora (bacterias) del tracto digestivo y demás enzimas usadas en las diferentes funciones metabólicas del organismo (Pellet, 1978).

Entre los resultados de DAN y DVN no se presentaron diferencias significativas entre las dietas para los tratamientos de extrusión a 150°C y 18% de humedad y el extrudido a 180°C y 32% de humedad, siendo ambos menores y significativamente diferentes a la dieta de caseína, pero mayores que los controles de grano y amaranto inflado. Para ambas pruebas la dieta de grano de amaranto obtuvo las menores digestibilidades, esto atribuido a los factores antifisiológicos los cuales interfieren con la digestibilidad de la proteína. También se puede considerar la participación de la fibra, la proteína asociada a la fibra generalmente tiene una baja digestibilidad, y a su vez la fibra dietética aumenta la excreción endógena de nitrógeno fecal (Shah *et al.*, 1982).

De manera general se observan resultados positivos para el ensayo biológico, existiendo una tendencia favorable por parte de la extrusión, y pese a la inevitable variación propia de cada sujeto experimental al ser un organismo vivo con metabolismo único.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un efecto en la actividad antioxidante y calidad nutricional de la proteína de amaranto por parte de la humedad de alimentación y temperatura de extrusión. Siendo la humedad de alimentación la condición que más afectó las variables respuesta.

Se obtuvieron extrudidos con características deseables con las condiciones de extrusión utilizadas. El mayor índice de expansión a la humedad de alimentación del 25% con temperatura de 180°C.

Se presentó una disminución en los parámetros de color por efecto de la extrusión, siendo los menores cambios para la mayor temperatura, y a la menor humedad. El proceso de extrusión aumentó la cantidad de fibra total en el amaranto.

Las condiciones de humedad de alimentación y temperatura presentaron un efecto en la actividad antioxidante, siendo las condiciones de 150°C y 18% de humedad las que preservaron el contenido de compuestos fenólicos totales detectables. Se obtuvo mayor porcentaje de inhibición para método del radical ABTS con respecto al radical DPPH

Las dietas elaboradas por extrusión presentaron mejor calidad proteica que el grano crudo y que el amaranto inflado. Donde la dieta elaborada a partir del tratamiento a temperatura de 150°C y 18% de humedad obtuvo resultados comparables de NPR a la dieta control de caseína.

El proceso de extrusión es una buena alternativa para el procesamiento térmico de amaranto, ya que a condiciones adecuadas permite preservar la capacidad antioxidante del grano y a la vez mejora la calidad proteica y digestibilidad de la proteína.

RECOMENDACIONES

Los resultados presentaron tendencias similares a las reportadas para otras variedades de amaranto (*Amaranthus cruentus* y *Amaranthus caudatus*). Sin embargo sería de interés estudiar sí las condiciones de extrusión utilizadas durante el experimento presentan diferencias puntuales entre el grano claro y el grano oscuro. Ya que se ha reportado mayor cantidad de compuestos fenólicos en el grano oscuro y estos pueden traer un beneficio a la actividad antioxidante pero una desventaja para el estudio de calidad proteica.

Existen tendencias para los cambios en el color posterior al tratamiento térmico pero sería conveniente un análisis que permite conocer exactamente que transformaciones en los compuestos son responsables de los cambios en los parámetros $L^*a^*b^*$, la cual permita obtener información de la transformación y degradación de nutrientes en base al color.

Si el tipo de extrusor lo permite, utilizar condiciones de humedad de alimentación menores a las utilizadas en este experimento. Esto debido a la tendencia en la disminución de la actividad antioxidante expresada como porcentaje de inhibición del radical al aumentar la humedad de alimentación.

Realizar un estudio enfocado a la correlación entre los resultados de actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro* podría reforzar los conocimientos sobre la actividad de los compuestos presentes en amaranto.

Realizar un estudio comparativo para la extracción con diferentes solventes para compuestos fenólicos libres y ligados, y compuestos lipídicos presentes en amaranto con actividad inhibitoria de radicales libres.

Finalmente, se puede afirmar que el estudio es candidato a un diseño de optimización para las variables de respuesta de expansión, actividad antioxidante y calidad proteica.

REFERENCIAS

- Akande, O. A., Nakimbugwe, D., & Mukisa, I. M. (2017). Optimization of extrusion conditions for the production of instant grain amaranth-based porridge flour. *Food Science & Nutrition*, 5(6), 1205-1214.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), 770-778.
- Alvarez-Martinez, L., Kondury, K. P., & Harper, J. M. (1988). A general model for expansion of extruded products. *Journal of Food Science*, 53(2), 609-615.
- Atondo, J. L. (1990). Comparación metodológica y determinación de la utilización neta de proteína (NPU), en dietas experimentales. Tesis de maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora.
- Ayala, G. A. V., Escobedo, L. D., Cortés, E. L., & Espitia, R. E. (2012). El cultivo de amaranto en México, descripción de la cadena, implicaciones y retos. *Amaranto: Ciencia y Tecnología*, 315-330.
- Badui Dergal, S. (1988). *Diccionario de Tecnología de los Alimentos* (No. 641.1 D5).
- Badui Dergal, S., & Cejudo Gómez, H. R. T. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson educación. pp. 61-70.
- Bavec, F., & Bavec, M. (2006). Grain amaranths. *Organic Production and Use of Alternative Crops*, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, 88-107.
- Becker, R., Wheeler, E. L., Lorenz, K., Stafford, A. E., Grosjean, O. K., Betschart, A. A., & Saunders, R. M. (1981). A compositional study of amaranth grain. *Journal of Food Science*, 46(4), 1175-1180.
- Bejosano, F. P., & Corke, H. (1998). Protein quality evaluation of *Amaranthus* wholemeal flours and protein concentrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(1), 100-106.
- Bender, A. E., & Doell, B. H. (1957). Note on the determination of net protein utilization by carcass analysis. *British Journal of Nutrition*, 11(02), 138-139.
- Berger, A., Monnard, I., Dionisi, F., Gumy, D., Hayes, K. C., & Lambelet, P. (2003). Cholesterol-lowering properties of amaranth flakes, crude and refined oils in hamsters. *Food Chemistry*, 81(1), 119-124.
- Bhatnagar, S., & Hanna, M. A. (1994). Extrusion Processing Conditions for Amylose-Lipid Complexing'. *Starch/Staerke*, 35, 340-347.

Bjoerck, I., Noguchi, A., Asp, N. G., Cheftel, J. C., & Dahlqvist, A. (1983). Protein nutritional value of a biscuit processed by extrusion cooking: effects on available lysine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(3), 488-492.

Bjorck, I., Nyman, M., & Asp, N. G. (1984). Extrusion cooking and dietary fiber: effects on dietary fiber content and on degradation in the rat intestinal tract. *Cereal Chemistry*.

Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., & Tiwari, B. K. (2011). Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 570-575.

Brennan JG (2006) Food processing handbook. *Wiley-VCH Weinheim*, Germany

Bressani, R., Kalinowski, L. S., Ortiz, M. A., & Elías, L. G. (1987). Nutritional evaluation of roasted, flaked and popped *A. caudatus*. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 37(3), 525-531.

Bressani, R., Sánchez-Marroquín, A., & Morales, E. (1992). Chemical composition of grain amaranth cultivars and effects of processing on their nutritional quality. *Food Reviews International*, 8(1), 23-49.

Bressani, R. (1989). The proteins of grain amaranth. *Food Reviews International*, 5(1), 13-38.

Brigelius-Flohé, R., Kelly, F. J., Salonen, J. T., Neuzil, J., Zingg, J. M., & Azzi, A. (2002). The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(4), 703-716.

Bruni, R., Medici, A., Guerrini, A., Scalia, S., Poli, F., Muzzoli, M., & Sacchetti, G. (2001). Wild *Amaranthus caudatus* seed oil, a nutraceutical resource from Ecuadorian flora. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5455-5460.

Cai, Y. Z., Corke, H., Wu, H. X. (2004). Amaranth. In: *Encyclopedia of Grain Science*. Elsevier Academic Press, Oxford, vol. 1, pp. 1-10

Capriles, V. D., Coelho, K. D., Guerra-Matias, A. C., & Arêas, J. A. G. (2008). Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *Journal of food science*, 73(7), H160-H164.

Caselato-Sousa, V. M., & Amaya-Farfán, J. (2012). State of knowledge on amaranth grain: a comprehensive review. *Journal of Food Science*, 77(4), R93-R104.

Chávez-Jáuregui, R. N., Silva, M. E. M. P., & Arêas, J. A. G. (2000). Extrusion cooking process for amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). *Journal of Food Science*, 65(6), 1009-1015.

- Chávez-Jáuregui, R. N., Cardoso-Santiago, R. A., Silva, M. E., & Arêas, J. A. (2003). Acceptability of snacks produced by the extrusion of amaranth and blends of chickpea and bovine lung. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(7), 795-798.
- Conforti, F., Statti, G., Loizzo, M. R., Sacchetti, G., Poli, F., & Menichini, F. (2005). In vitro antioxidant effect and inhibition of α -amylase of two varieties of *Amaranthus caudatus* seeds. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(6), 1098-1102.
- Connor, J. K., Gartner, R. J. W., Runge, B. M., & Amos, R. N. (1980). *Amaranthus edulis*: an ancient food source re-examined. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 20(103), 156-161.
- Danz, R. A., & Lupton, J. R. (1988). Hypocholesterolemic effects of dietary amaranth. In *The First National Cholesterol Conference* pp. 9-11.
- De la Rosa, A. B., Fomsgaard, I. S., Laursen, B., Mortensen, A. G., Olvera-Martínez, L., Silva-Sánchez, C., ... & De León-Rodríguez, A. (2009). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science*, 49(1), 117-121.
- De la Rosa, A. B., Montoya, A. B., Martínez-Cuevas, P., Hernández-Ledesma, B., León-Galván, M. F., De León-Rodríguez, A., & González, C. (2010). Tryptic amaranth glutelin digests induce endothelial nitric oxide production through inhibition of ACE: antihypertensive role of amaranth peptides. *Nitric Oxide*, 23(2), 106-111.
- De Ruiz, A. C., & Bressani, R. (1990). Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chemistry*, 67(6), 519-522.
- Ding, Q. B., Ainsworth, P., Plunkett, A., Tucker, G., & Marson, H. (2006). The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 73(2), 142-148.
- Early, D., and J. Capistran. (1987). Transference of autochthonous technology for the preparation of kiwicha (*Amaranthus*). Institute of Nutrition of Central America and Panama, Guatemala City. Part I. *Amaranth Newsletter*. 4:8-12.
- Fasuyi, A. O. (2007). Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (*Telfairia occidentalis*, *Amaranthus cruentus* and *Talinum triangulare*) as sole dietary protein sources in rat assay. *Food Chemistry*, 103(3), 757-765.

- Gamel, T. H., Linssen, J. P., Alink, G. M., Mosallem, A. S., & Shekib, L. A. (2004). Nutritional study of raw and popped seed proteins of *Amaranthus caudatus* L and *Amaranthus cruentus* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(10), 1153-1158.
- Gearhart, C., & Rosentrater, K. A. (2017). Extrusion Processing of Amaranth and Quinoa into Gluten-Free Snack Foods for Celiac and Gluten-Free Diets. *Journal of Food Research*, 6(5), 107.
- Gonor KV, Pogozeva AV, Derbeneva SA, Mal'tsev Glu, Trushina EN, Mustafina OK. (2006). The influence of a diet with including amaranth oil on antioxidant and immune status in patients with ischemic heart disease and hyperlipoproteidemia. *Vopr Pitan* 75:30–3.
- Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 886-891.
- Gorinstein, S., Vargas, O. J. M., Jaramillo, N. O., Salas, I. A., Ayala, A. L. M., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., Katrich, E., & Trakhtenberg, S. (2007). The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*, 225(3-4), 321-328.
- Guillen-Portal, F. R., Baltensperger, D. D., & Nelson, L. A. (1999). Plant population influence on yield and agronomic traits in Plainsman grain amaranth. *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, 190-193.
- Guy, R. (Ed.). (2001). *Extrusion cooking: technologies and applications*. Woodhead Publishing. Ch 2-3 pp. 5-48.
- Harbhajan, S. (1961). *Grain amaranths buckwheat and chenopods*. New Delhi. *Indian Council Of Agricultural Research*, pp. 1-42.
- Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of Nutrition*, 132(12), 3772-3781.
- Hoskins, W. M., & Craig, R. (1962). Uses of bioassay in entomology. *Annual Review of Entomology*, 7(1), 437-464.
- Hubbard, E. S., & Guanella, T. J. (1991). *U.S. Patent No. 5,069,923*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Huerta-Ocampo, A. J., & Barba de la Rosa, P. A. (2011). Amaranth: a pseudo-cereal with nutraceutical properties. *Current Nutrition & Food Science*, 7(1), 1-9.
- Hunziker, A. T. (1952). Los pseudocereales de la agricultura indígena de América. Buenos Aires. *Acme*, 1952. pp. 104

Iannaccone, P. M., & Jacob, H. J. (2009). Rats!. *Disease Models and Mechanisms*, 2 (5-6), pp. 206-210.

Ilo, S., Liu, Y., & Berghofer, E. (1999). Extrusion cooking of rice flour and amaranth blends. *LWT-Food Science and Technology*, 32(2), 79-88.

Ilo, S., Schoenlechner, R., & Berghofer, E. (2000). Role of lipids in the extrusion cooking processes. *Grasas y Aceites*, 51(1-2), 97-110.

Jahaniaval, F., Kakuda, Y., & Marcone, M. F. (2000). Fatty acid and triacylglycerol compositions of seed oils of five *Amaranthus* accessions and their comparison to other oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(8), 847.

Jarošová, J., Michalová, A., Vavreinová, S., & Moudrý, J. (1997). Pěstování a využití amarantu. *Metodiky pro Zemědělskou Praxi. ÚZPI, Praha* pp. 13

Koeppe, S. J., Harris, P. L., Hanna, M. A., Rupnow, J. H., Walker, C. E., & Cuppett, S. L. (1987). Physical properties and some nutritional characteristics of an extrusion product with defatted amaranth seeds and defatted maize gluten meal (80: 20 ratio). *Cereal Chem*, 64(4), 332-336.

Kraujalis, P., & Venskutonis, P. R. (2013). Supercritical carbon dioxide extraction of squalene and tocopherols from amaranth and assessment of extracts antioxidant activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 80, 78-85.

Kraujalis, P., Venskutonis, P. R., Kraujalienė, V., & Pukalskas, A. (2013). Antioxidant properties and preliminary evaluation of phytochemical composition of different anatomical parts of amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3), 322-328.

Knuckles, B. E., Kuzmicky, D. D., & Betschart, A. A. (1985). Effect of phytate and partially hydrolyzed phytate on in vitro protein digestibility. *Journal of Food Science*, 50(4), 1080-1082.

Lamacchia, C., Camarca, A., Picascia, S., Di Luccia, A., & Gianfrani, C. (2014). Cereal-based gluten-free food: How to reconcile nutritional and technological properties of wheat proteins with safety for celiac disease patients. *Nutrients*, 6(2), 575-590.

Lehmann, J. W. (1996). Case history of grain amaranth as an alternative crop. *Cereal Foods World (USA)*. 41: 399–411.

Lehmann, J. W., Putnam, D. H., & Qureshi, A. A. (1994). Vitamin E isomers in grain amaranths (*Amaranthus spp.*). *Lipids*, 29(3), 177-181.

Li, G. H., Le, G. W., Shi, Y. H., & Shrestha, S. (2004). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*, 24(7), 469-486.

- Londoño-Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- Lumen, B. O. (2005). Lunasin: A Cancer-Preventive Soy Peptide. *Nutrition Reviews*, 63(1), 16-21.
- Martirosyan, D. M., Miroshnichenko, L. A., Kulakova, S. N., Pogojeva, A. V., & Zolodov, V. I. (2007). Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. *Lipids in Health and Disease*, 6(1), 1.
- Mau, J. L., Chao, G. R., & Wu, K. T. (2001). Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5461-5467.
- Medina, L. A. (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. *Revista Electrónica Autodidacta*.
- Mendonça, S., Saldiva, P. H., Cruz, R. J., & Arêas, J. A. (2009). Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Food Chemistry*, 116(3), 738-742.
- Mendoza, C. and Bressani, R. (1987). Nutritional and functional characteristics of extrusion-cooked amaranth flour. *Cereal Chem*, 64(4), 218-222.
- Menegassi, B., Pilosof, A. M., & Areas, J. A. (2011). Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.–BRS Alegria) flour. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1915-1921.
- Milán-Carrillo, J., Montoya-Rodríguez, A., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, X., & Reyes-Moreno, C. (2012). Optimization of extrusion process for producing high antioxidant instant amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) flour using response surface methodology. *Applied Mathematics*, 3(10), 1516.
- Mlakar, S. G., Turinek, M., Jakop, M., Bavec, M., & Bavec, F. (2009). Nutrition value and use of grain amaranth: potential future application in bread making. *Agricultura*, 6(4).
- Mitchell, H. H. (1924). A method of determining the biological value of protein. *Journal of Biological Chemistry*, 58(3), 873-903.
- Molyneux P. (2004). The use of stable free radical diphenylpicrilhidrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Monteros, J., Nieto, C., Caicedo, V., Rivera, M., & Vimos, N. (1994). "INIAP Alegría": Primera variedad mejorada de amaranto para la Sierra ecuatoriana. *Quito, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Santa Catalina, Programa de Cultivos Andinos*. Boletín Divulgativo no. 246.

Montoya-Rodríguez, A., De Mejía, E. G., Dia, V. P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2014). Extrusion improved the anti-inflammatory effect of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) hydrolysates in LPS-induced human THP-1 macrophage-like and mouse RAW 264.7 macrophages by preventing activation of NF- κ B signaling. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(5), 1028-1041.

Moscicki, L., & van Zuilichem, D. J. (2011). Extrusion-cooking and related technique. *Extrusion-cooking techniques: applications, theory and sustainability*. Wiley, Weinheim, 1-24.

Muthukumarappan, K., & Karunanithy, C. (2012). Extrusion Process Design. *Handbook of Food Process Design*, 710-742.

Myers, R. L. (1996). Amaranth: New crop opportunity. *Progress in new crops*. ASHS Press, Alexandria, VA, 207-220.

Nauck, M. A. (2011). Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *The American Journal of Medicine*, 124(1), S3-S18.

Nsimba, R. Y., Kikuzaki, H., & Konishi, Y. (2008). Antioxidant activity of various extracts and fractions of *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus* spp. seeds. *Food Chemistry*, 106(2), 760-766.

Onyango, A. N., Sila, D. N., & Njoki, J. W. (2017). Impact of processing techniques on nutritional composition and anti-nutrient content of grain amaranth. JKUAT Annual Scientific Conference, Department of Food Science and Technology, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Nairobi, Kenya.

Osborn, T. B., Mendel, L. B., & Ferry, E. L. (1919). A method of expressing numerically the growth promoting value of proteins. *Journal of biological Chemistry*, 37, 223-229.

Ott, C., Lacatusu, I., Badea, G., Grafu, I. A., Istrati, D., Babeanu, N., ... & Meghea, A. (2015). Exploitation of amaranth oil fractions enriched in squalene for dual delivery of hydrophilic and lipophilic actives. *Industrial Crops and Products*, 77, 342-352.

PAŚKO, P., BARTOŃ, H., FOŁTA, M., & GWIŹDŹ, J. (2007). Evaluation of antioxidant activity of amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain and by-products (flour, popping, cereal). *Roczniki Panstwowego Zakładu Higieny*, 58, 35-40.

Paśko, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M., & Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115(3), 994-998.

- Paško, P., Sajewicz, M., Gorinstein, S., & Zachwieja, Z. (2008). Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta Chromatographica*, 20(4), 661-672.
- Plate, A. Y., & Arêas, J. A. (2002). Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. *Food Chemistry*, 76(1), 1-6.
- Pedersen, B., Hallgren, L., Hansen, I. and Eggum, B. (1987a). The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, 36(4), 325-334.
- Pedersen, B., Kalinowski, L. S., & Eggum, B. O. (1987b). The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 36(4), 309-324.
- Pedersen, B., Knudsen, K. B., & Eggum, B. O. (1990). The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Plant Foods for Human Nutrition*, 40(1), 61-71.
- Peksa, A., Kita, A., Jariene, E., Danilcenko, H., Gryszkin, A., Figiel, A., ... & Aniolowska, M. (2016). Amino Acid Improving and Physical Qualities of Extruded Corn Snacks Using Flours Made from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus*), Amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) and Pumpkin (*Cucurbita maxima* L.). *Journal of Food Quality*, 39(6), 580-589.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pellet P.L. (1987): Protein quality evaluation revisited. *Food Technology*, 13,60-76.
- Penagini, F., Dilillo, D., Meneghin, F., Mameli, C., Fabiano, V., & Zuccotti, G. V. (2013). Gluten-free diet in children: an approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients*, 5(11), 4553-4565.
- Písaříková, B., Kráčmar, S., & Herzig, I. (2005). Amino acid contents and biological value of protein in various amaranth species. *Czech Journal of Animal Science*, 50(4), 169-174.
- Pond, W. G., Lehmann, J. W., Elmore, R., Husby, F., Calvert, C. C., Newman, C. W., ... & Froseth, J. (1991). Feeding value of raw or heated grain amaranth germplasm. *Animal Feed Science and Technology*, 33(3-4), 221-236.

Qureshi, A. A., Lehmann, J. W., & Peterson, D. M. (1996). Amaranth and its oil inhibit cholesterol biosynthesis in 6-week-old female chickens. *The Journal of Nutrition*, 126(8), 1972-1978.

Ramos Diaz, J. M., Sundarrajan, L., Kariluoto, S., Lampi, A. M., Tenitz, S., & Jouppila, K. (2017). Effect of Extrusion Cooking on Physical Properties and Chemical Composition of Corn-Based Snacks Containing Amaranth and Quinoa: Application of Partial Least Squares Regression. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1), e12320.

Repo-Carrasco-Valencia, R., Peña, J., Kallio, H., & Salminen, S. (2009). Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science*, 49(2), 219-224.

Riaz, M. N. (2000). Introduction to extruders and their principles. *Extruders in Food Applications*, 1-23.

Robin, F., Dubois, C., Pineau, N., Schuchmann, H. P., & Palzer, S. (2011). Expansion mechanism of extruded foams supplemented with wheat bran. *Journal of Food Engineering*, 107(1), 80-89.

Rodas, B., & Bressani, R. (2009). [The oil, fatty acid and squalene content of varieties of raw and processed amaranth grain]. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 59(1), 82-87.

Rosa, N. N., Barron, C., Gaiani, C., Dufour, C., & Micard, V. (2013). Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 57(1), 84-90.

Ruskin, R. F. (1984). Amaranth. Modern Prospects for an Ancient Crop. *Board on Science and Technology for International Development. Report of an Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovation Board on Science and Technology for International Development (BOSTID). Office of International Affairs National Research Council National*. pp. 74

SAGARPA (2017). Atlas Agroalimentario 2017. <http://online.pubhtml5.com/clsi/ibhs/#p=33> revisado en noviembre del 2017.

Saha, G. M. (2002). Design and Analysis for Bioassays. In *Design Workshop Lecture Notes, ISI, Kolkata* pp. 61-76.

Sauer, J. D. (1967). The grain amaranths and their relatives: a revised taxonomic and geographic survey. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 54(2), 103-137.

Saunders, R. M., & Becker, R. (1984). Amaranthus: a potential food and feed resource. *Advances in Cereal Science and Technology (USA)*.

Shah, N., Atallah, M. T., Mahoney, R. R., & Pellett, P. L. (1982). Effect of dietary fiber components on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats. *The Journal of Nutrition*, 112(4), 658-666.

SIAP (2018). Estadística de la Producción Agrícola de 2017. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> Revisado en Diciembre del 2017

Silva-Sánchez, C., De La Rosa, A. B., León-Galván, M. F., De Lumen, B. O., de Leon-Rodriguez, A., & De Mejía, E. G. (2008). Bioactive peptides in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1233-1240.

Singh, S., Gamlath, S., & Wakeling, L. (2007). Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(8), 916-929.

Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (1988). Amaranths—an underutilized resource. *International Journal of Food Science & Technology*, 23(2), 125-139.

Stallknecht, G. F., & Schulz-Schaeffer, J. R. (1993). Amaranth rediscovered. *New Crops*. Wiley, New York, pp. 211-218.

Tikekar, R. V., Ludescher, R. D., & Karwe, M. V. (2008). Processing stability of squalene in amaranth and antioxidant potential of amaranth extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10675-10678.

Tosi, E. A., Re, E. D., Masciarelli, R., Sanchez, H., Osella, C., & De La Torre, M. A. (2002). Whole and defatted hyperproteic amaranth flours tested as wheat flour supplementation in mold breads. *LWT-Food Science and Technology*, 35(5), 472-475.

Tovar, L. R., Brito, E., Takahashi, T., Miyazawa, T., Soriano, J., & Fujimoto, K. (1989). Dry heat popping of amaranth seed might damage some of its essential amino acids. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39(4), 299-309.

Tucker, J. B. (1986). Amaranth: the once and future crop. *Bioscience*, 36(1), 9-13.

Ulbricht, C., Abrams, T., Conquer, J., Costa, D., Grimes Serrano, J. M., Taylor, S., & Varghese, M. (2009). An evidence-based systematic review of amaranth (*Amaranthus* spp.) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, 6(4), 390-417.

United States Department of Agriculture. Nutrient Data Laboratory (USDA). 2010. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search> Revisado en septiembre del 2016.

Velarde-Salcedo, A. J., Barrera-Pacheco, A., Lara-González, S., Montero-Morán, G. M., Díaz-Gois, A., de Mejía, E. G., & de la Rosa, A. P. B. (2013). In vitro inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins. *Food Chemistry*, 136(2), 758-764.

Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7, 101-111.

Yu L (2011). *Extrusion processing of protein rich food formulations*. Department of Food Science and Agricultural Chemistry McGill University, Montreal, pp. 1-209.

Zieliński, H., Michalska, A., Piskula, M. K., & Kozłowska, H. (2006). Antioxidants in thermally treated buckwheat groats. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(9), 824-832.