



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa

CBS
Ciencias
Biológicas y
de la Salud



**OBTENCIÓN DE COMPUESTOS BIOFUNCIONALES A PARTIR DEL
MATERIAL LIGNOCELULÓSICO DE *Amaranthus hypochondriacus* L.**

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA
PRESENTA:

I.A. MARIA BELEM ARCE VAZQUEZ

DIRECTOR: JORGE SORIANO SANTOS

México D.F. agosto 2011

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, con la referencia 001465”

Este trabajo contó con el apoyo del CONACyT a través de la beca
40389

México, D. F., a 04 de agosto del 2011.

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa
Aprobó la tesis:

OBTENCIÓN DE COMPUESTOS FUNCIONALES A PARTIR DEL
MATERIAL LIGNOCELULÓSICO DE *Amaranthus hypochondriacus* L.

Que presenta:

I.A. María Belem Arce Vázquez

Comité tutorial:

Director: Dr. Jorge Soriano Santos

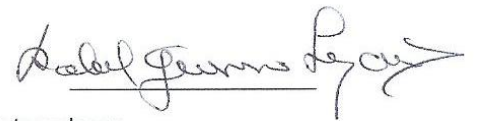
Asesor: Dra. Isabel Guerrero Legarreta

Asesor: Dra. María Eva Rodríguez Huevo

Jurado:

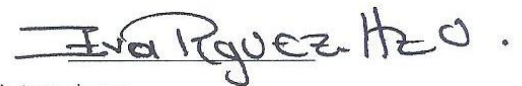
Presidente: Dra. Isabel Guerrero Legarreta

Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa



Secretario: Dra. María Eva Rodríguez Huevo

Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa



Vocal: Dr. Ezequiel Delgado Fornúe

Universidad de Guadalajara



Vocal: M. en C. María Esther Esquivel Rosales

Universidad de Guadalajara



A MIS PADRES ELICEO Y GUADALUPE
POR LA FORTALEZA QUE ME DA SU AMOR Y SU APOYO EN TODO MOMENTO

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme guiado hacia este camino, donde he aprendido que hacer lo que nos gusta nos genera una felicidad y una satisfacción indescriptible. Las circunstancias solo son la forma de recibir los resultados de nuestras decisiones.

A mis padres por darme la vida, el amor y todas las enseñanzas que me hacen ser la persona que soy hoy, por todo el amor, la confianza el apoyo que me brindan el día a día, no hay hija mas orgullosa de sus padres que yo. Este proyecto es otro triunfo para nuestra familia. Los amo.

A mis hermanos, Ara, Ser y Les que me han dado cada uno con su particular estilo, el apoyo para que yo pueda seguir adelante. Ara eres la mejor, mi hermana que siempre tiene una sonrisa y que me da el consejo perfecto. Ser con ese coraje con que enfrentas cualquier asunto me inspiras, Les la pequeña saltamontes tú y tus genialidades siempre ayudándome eres un gran apoyo.

A mis "Umpa lumpas": Ernesto, Tania, Gerardo, quienes fueron de gran soporte en esta fábrica de polifenoles, por esas horas de "Juanga" que fueron momentos increíbles, por su amistad y cariño.

A Mari Jo, Adry, Angy, Erik, Raúl, gracias por su colaboración para el proyecto, por su amistad y porque son parte de la familia de la PP1, han sido momentos memorables.

Al Dr. Isidoro, Angel, Majo, Marko, Marco Polo, Jhon, Alfredo y Ray, Sra. Rosa María, porque siempre estuvieron en el momento preciso y me brindaron su ayuda incondicional, su opinión y su colaboración. Gracias por su amistad.

A todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible este extraordinario proyecto. "Mi fabrica de polifenoles".

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

Muy especialmente le agradezco al Dr. Jorge Soriano por ser mi guía en este nuevo mundo para mí que se llama “ciencia”, todas sus enseñanzas, consejos, apoyo, han propiciado un crecimiento en todos sentidos en mi persona. Ese voto de confianza que me brindo hace dos años, para hacer crecer esa idea que hoy, se ha convertido en un proyecto sin precedencia, fue uno de los momentos que marcaron mi futuro. Gracias por la dirección de esta tesis y también por su amistad y cariño.

Al Dr. Ezequiel Delgado Fornúe, del Centro de investigación en Biomateriales (CIO) del Departamento de Madera Celulosa y Papel (DMCyP), del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara (U de G), por el préstamo de sus instalaciones para la caracterización química y quien durante mi estancia en el instituto, me brindó su colaboración para que este proyecto creciera mirando otras perspectivas, por sus consejos, observaciones, y sobre todo por su afecto.

A la M. en C. María Esther Esquivel por su enseñanza, apoyo, y colaboración durante el desarrollo de la caracterización química. Gracias por su paciencia y su dedicación en todo momento. Es una gran mujer, por su entereza, fortaleza y su espíritu. Aprendí mucho estando a su lado.

A la Dra. Eva Rodríguez Hueso y El Dr. Héctor Escalona, por su ayuda y colaboración en el asesoramiento de esta tesis.

RESUMEN

El amaranto se ha cultivado en México desde la época precolombina, del cual se obtiene un rendimiento aproximado por hectárea de 1.1 a 6 toneladas de grano, 3.8 a 4.1 y toneladas de hoja lo que genera anualmente alrededor de 271,100 toneladas de residuos agrícolas llamados "rastrajo de amaranto". El uso del rastrojo de amaranto es muy limitado, se abandona en el campo como abono vegetal, se usa como forraje para animales y en la mayoría de las veces es quemado, representando un problema de contaminación. El rastrojo de amaranto es un material lignocelulósico compuesto principalmente de celulosa, hemicelulosas y lignina, representando una importante fuente de fibra dietética. A la fecha no existe un estudio integral del rastrojo de amaranto. Por lo que el objetivo de este trabajo fue darle un valor agregado a este material lignocelulósico de amaranto, obteniendo compuestos biofuncionales: fibra dietética, antioxidantes y prebióticos. Para lograr este objetivo se utilizaron 2 tipos de rastrojo RT y RC, el tallo y la hoja. La fibra dietética se obtuvo mediante un tratamiento con enzimas digestivas, los compuestos antioxidantes se obtuvieron mediante una extracción acuosa siguiendo una relación 1:20 (p/v) y una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico manteniendo una temperatura de 121°C y una relación 1:16 (p/v), los hidrolizados se llevaron a pH 7 con una solución saturada de carbonato de sodio, seguidos de una extracción con acetato de etilo la relación fue de 1:3(v/v), para la separación de compuestos polares y no polares de los hidrolizados. A los extractos acuosos e hidrolizados se les cuantificó el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y flavonoides, así mismo se les evaluó su capacidad antioxidante por diferentes sistemas de oxidación-reducción (% de inhibición de los radicales DPPH•, ABTS-persulfato, efecto quelante sobre el ión Fe^{2+} , poder reductor). Los prebióticos se obtuvieron mediante la hidrólisis ácida para lo cual se cuantificó el contenido de azúcares reductores por el método de DNS. El análisis químico proximal de los rastrojos RT y RC, tallo y hoja en crudo, mostró que el tallo contiene el mayor contenido de fibra cruda (44.1 ± 1.72), la hoja el mayor contenido de proteína, extracto etéreo y cenizas (19.6 ± 0.65 , 5.4 ± 0.19 , 12.1 ± 0.24 respectivamente). El análisis químico de los materiales en crudo mostró que el tallo es el que presenta el mayor contenido de celulosa (46.8 ± 0.1) debido a que el tallo es el medio por el cual se nutre la planta, La hoja y el RC fueron los que presentaron el mayor contenido de hemicelulosas (23.6 ± 1.3 y 26 ± 0.4 respectivamente), en cuanto a la lignina el tallo y la hoja son los que presentaron un mayor contenido (15.4 ± 0.3 y 12.5 ± 0.4), el mayor contenido de extraíbles estuvo

presente en el RT (38.1 ± 1.1). 60% de las hemicelulosas de RT corresponde a los pentosanos, (para este material de estudio serían Xilosa y arabinosa), en el caso de RC en su mayoría de las hemicelulosas está compuesta de glucosa, manosa y galactosa, y cerca de un 22% pertenece a xilosa y arabinosa, en tallo se puede asegurar que las hemicelulosas que contiene está compuesta únicamente de xilosas y arabinosas, mientras que para la hoja cerca del 50% son pentosas y la otra mitad lo componen las hexosas. Al realizar la extracción acuosa se obtienen residuos sólidos en los que se concentra el contenido de compuestos, como en el caso de la proteína en las muestras de RC y hoja (15.9 ± 0.63 y 29.9 ± 1.6), así como el contenido de fibra (RT= 27.6 ± 0.22 , RC= 10.8 ± 0.52 , tallo= 47.2 ± 3.0 y hoja= 10.47 ± 0.37) y extracto etéreo en todas las muestras de estudio ya que este tipo de compuestos son insolubles en medios acuosos, además de perdidas en minerales y ELN. El tallo presentó el mayor contenido de fibra dietética total (69.77%), en comparación con el RT hoja y tallo (54.82%, 42.34% y 30.55% respectivamente), lo cual nos indica que tanto el tallo como el RT son una fuente para la obtención de Fibra dietética. La mayor concentración de polifenoles en los extractos acuosos (EA) se obtuvieron a ebullición durante 5 minutos, el EA de hoja fue la que presentó un contenido de polifenoles (12.55 ± 0.8 mgeq.AG/g) mayor a los EA de los rastrojos RT, RC y tallo (7.6 ± 0.56 , 6.2 ± 0.04 y 1.62 ± 0.01 mgeq.AG/g). Para el caso de los hidrolizados el mayor contenido de polifenoles se alcanza a un tiempo de 90 minutos utilizando una concentración de ácido sulfúrico de 5% (v/v) manteniendo la temperatura de 121°C. Se evaluó en el residuo sólido obtenido de la extracción acuosa y en la fibra dietética insoluble obtenida a partir de tratamientos enzimáticos con el fin de purificarlos, sin embargo se encontró un mayor contenido de polifenoles en los residuos sólidos sin purificar. Comparativamente el contenido de polifenoles expresado en mg eq. AG/g de los rastrojos RT y RC, tallo y hoja en la fase orgánica resultó: $26,64 \pm 0.39$, $33,79 \pm 0.14$, 55.65 ± 0.56 , 15.33 ± 0.34 , respectivamente y para la fase acuosa resultó: 70.52 ± 1.2 , $83,98 \pm 0.15$, 57.99 ± 0.93 y 101.53 ± 1.61 , siendo el hidrolizado de la hoja en la fase acuosa la que presenta el mayor contenido de polifenoles. Así pues el proceso de hidrólisis libera un contenido importante de compuestos fenólicos. Se observó que la cantidad de flavonoides tanto en los extractos acuosos como en los hidrolizados no representa un importante porcentaje de los polifenoles totales, por lo que sugiere una caracterización de estos compuestos. El IC_{50} de reducción del radical DPPH• que presentaron los extractos acuosos de para RT, RC tallo y hoja fueron de 0.73, 0.84, 0.45 y 1.45 mg eq. AG/g, mientras que los hidrolizados de RT, Rc tallo y hoja para la fase orgánica fue de 0.039, 0.35, 0.55 y 0.30 mg eq. AG/g y para la fase acuosa 0.97, 2.08, 1.7 y 1.69 mg eq. AG/g,

respectivamente, lo cual nos indica que la actividad antioxidante no es proporcional al contenido de polifenoles, tanto en los extractos acuosos como en los hidrolizados. El extracto acuoso de hoja fue la que presento un mayor porcentaje de inhibición del radical ABTS-persulfato (57.58 ± 0.68 , a una concentración equivalente a 28.13 ± 0.2 mg eq. Trolox/g). En cuanto al poder reductor se pudo observar que en los extractos acuosos y los hidrolizados no intervienen de forma predominante las reacciones de oxidación-reducción por medio de la transferencia de hidrógenos como lo hace el glutatión reducido. Así mismo todos los extractos acuosos y los hidrolizados presentaron actividad quelante sobre el ión Fe^{2+} , en el caso de los hidrolizados se necesitaron concentraciones de ppm de polifenoles para poder observar la actividad quelante. La liberación de azúcares reductores fue dependiente del tiempo, se sugiere medir su grado de polimerización para asegurar que caen dentro del rango de oligosacáridos.

El amaranto es un cultivo que genera residuos agrícolas llamados Rastrojo de amaranto, teniendo un uso limitado hasta antes de esta investigación. Las pruebas realizadas muestran que los rastrojos RT y RC, el tallo y la hoja son fuente de compuestos funcionales que pueden ser incluidos para la elaboración de alimentos funcionales, por lo que el rastrojo de amaranto el tallo y la hoja representan una alternativa como materias primas potenciales para la industria alimentaria, al enfocarse hacia un desarrollo sostenible y renovable por la utilización de nuevas fuentes de recursos.

ABSTRACT

Amaranth has been cultivated in Mexico since pre-Columbian times, which gives an approximate yield per hectare 1.1 to 6 tons of grain / ha, 3.8 to 4.1 tons of coca leaf / ha, which generates about 271.100 tons of agricultural waste called "stubble Amaranth". The use of amaranth stubble is very limited, used as fertilizer, animal fodder and mostly burned, representing a pollution problem. The stubble Amaranth is a lignocellulosic material composed mainly of cellulose, hemicellulose and lignin, an important source of dietary fiber. To date there is no integrate studies about it. The main goal of this work was to add value to the amaranth's lignocellulosic material, obtaining biofunctional compounds, dietary fiber, antioxidants and prebiotics. To achieve this goal using 2 types of stubble RT and RC, stem and leaf. Dietary fiber was obtained by treatment with digestive enzymes, antioxidant compounds were obtained by aqueous extraction following a relationship 1:20 (w / v) and acid hydrolysis with sulfuric acid to maintain a temperature of 121 ° C and a 1:16 ratio (w / v), the hydrolysates were taken to pH 7 with a saturated solution of sodium carbonate, followed by extraction with ethyl acetate the ratio was 1:3 (v / v) for separation of polar compounds and nonpolar hydrolysates. In the aqueous extracts and hydrolysates were quantified total phenol content by Folin-Ciucalteau and flavonoids, are likewise evaluated their antioxidant capacity by different systems of oxide reduction (% inhibition of DPPH • radicals, ABTS- persulfate ion chelating effect on Fe^{2+} , reducing power). Prebiotics were obtained by acid hydrolysis and quantified the content of reducing sugars by DNS method. Proximal chemical analysis of residues RT and RC, stem and leaf oil showed that the stem contains the highest content of crude fiber (44.1 ± 1.72), leaves contain the most protein, ether extract and ash amounts (19.6 ± 0.65 , 5.4 ± 0.19 , 12.1 ± 0.24 respectively). Chemical analysis of raw materials showed that the stem is the one with the higher cellulose content (46.8 ± 0.1) because stem is the means for plant nourishment, leaf and RC were the ones that presented the highest content of hemicelluloses (23.6 ± 1.3 and 26 ± 0.4 respectively). About lignin, stem and leaves are those that had a higher content (15.4 ± 0.3 and 12.5 ± 0.4). The largest extractable content was present in the RT (38.1 ± 1.1). 60% of RT hemicelluloses correspond to the pentosans (study material for correspond to xylose and arabinose) in the case of RC in most of the hemicellulose is composed of glucose, mannose and galactose, and about 22% belongs to xylose and arabinose, in the stem can ensure that the contained hemicelluloses consist only of arabinose and xylose, while for the sheet about 50% are pentoses and the other half is made up of hexoses. After aqueous extraction, solid

residues were obtained and compounds are concentrated in this phase, as in the case of protein in the samples of RC and leaf (15.9 ± 0.63 and 29.9 ± 1.6) and the fiber content (RT = 27.6 ± 0.22 , RC = 10.8 ± 0.52 , = 47.2 ± 3.0 stem and leaf = 10.47 ± 0.37) and ether extract in all study samples because these compounds are insoluble in aqueous media, in addition to loss of minerals and ELN. The stem presented the highest content of total dietary fiber (69.77%) compared with RT leaf and stem (54.82%, 42.34% and 30.55% respectively), which indicates that both the stem and the RT is a source for obtaining dietary fiber. The highest polyphenol concentration in the aqueous extract (EA) was obtained when boiling for 5 minutes, the EA leaf was the one with a polyphenol content of 12.55 ± 0.8 mgeq.AG / g, higher than the EA of stubble RT, RC and stem (7.6 ± 0.56 , 6.2 ± 0.04 and 1.62 ± 0.01 mgeq.AG / g). In the case of the hydrolysates, the highest polyphenol content is reached at 90 minutes using a sulfuric acid concentration of 5% (v / v) maintaining 121°C . The solid residue obtained by aqueous extraction and insoluble dietary fiber from enzyme treatments. Was evaluated in aim to be purified, however, in unpurified solids higher polyphenol content was found. Comparatively the polyphenol content in mg eq. AG / g of stubble RT and RC, stem and leaf resulted in the organic phase: 26.64 ± 0.39 , 33.79 ± 0.14 , 55.65 ± 0.56 , 15.33 ± 0.34 , respectively, and turned the water phase: 70.52 ± 1.2 , 83.98 ± 0.15 , 57.99 ± 0.93 and 101.53 ± 1.61 , being the leaf hydrolyzate in the aqueous phase the one with the highest polyphenol content. Thus, the hydrolysis process releases a significant content of phenolic compounds. It was observed that the amount of flavonoids in both water extracts and in hydrolysates do not represent a significant percentage of total polyphenols, which suggests a characterization of these compounds. The IC_{50} for reduction of DPPH radical \bullet presented by the aqueous extracts of RT, RC stem and leaf were 0.73, 0.84, 0.45 and 1.45 mg eq. AG / g, while hydrolysates RT, Rc stem and leaf in organic phase were 0.039, 0.35, 0.55 and 0.30 mg eq. AG / g for the aqueous phase 0.97, 2.08, 1.7 and 1.69 mg eq. AG / g, respectively, which indicates that the antioxidant activity is not proportional to the polyphenol content in both water extracts and in the hydrolysates. The leaves' aqueous extract presented the highest inhibition percentage of ABTS-persulfate radical (57.58 ± 0.68 at a concentration equivalent to 28.13 ± 0.2 mg eq. Trolox / g). About reducing power, it was observed in the aqueous extracts and hydrolysates are not involved predominantly in redox reactions via hydrogen transfer as does the reduced glutathione. Likewise, all the aqueous extracts and hydrolysates showed chelating activity on Fe^{2+} ion, in the case of the hydrolysates, polyphenol ppm-order concentrations were needed to observe the chelating activity. The

release of reducing sugars was time dependent, it is suggested to measure the degree of polymerization to ensure that are considered in the range of oligosaccharides.

Amaranth is an agricultural crop that produces waste called amaranth stubble, having limited use prior to this investigation. Tests show that the residues RT and RC, stem and leaf are a source of biofunctional compounds that can be included for the development of functional foods, so the stubble of amaranth stem and leaf are alternative raw materials with potential for being achieved by food industry, focusing towards renewable and sustainable development for using new resources.

CONTENIDO

RESUMEN.....v

ABSTRACT.....viii

CONTENIDO.....i

INDICE DE FIGURAS.....iv

INDICE DE TABLAS.....vi

INDICE DE GRÁFICAS.....viii

1 GENERALIDADES..... 1

 1.1 Amaranto..... 1

 1.2 Materiales lignocelulósicos 3

 1.2.1 Celulosa 3

 1.2.2 Hemicelulosas 4

 1.2.3 Lignina..... 4

 1.2.4 Extraíbles 5

 1.3 Compuestos biofuncionales..... 6

 1.3.1 Fibra dietética..... 7

 1.3.2 Compuestos fenólicos12

 1.3.3 Probióticos.....19

2 JUSTIFICACIÓN.....21

3 HIPÓTESIS22

4 OBJETIVOS23

 4.1 Objetivo general23

 4.2 Objetivos particulares23

5 MATERIALES Y MÉTODOS.....24

 5.1 Materiales.....24

 5.2 Estrategia general de trabajo.....24

5.3	Obtención de las Harinas.....	25
5.4	Análisis químico proximal de las diferentes partes del amaranto	25
5.5	Análisis químico.....	25
5.6	Extracción acuosa	27
5.7	Cuantificación de residuos sólidos.....	27
5.8	Cuantificación de fibra dietética total	28
5.9	Tratamiento enzimático	29
5.10	Hidrólisis ácida	32
5.11	Extracción con solvente orgánico	33
5.12	Cuantificación de polifenoles totales.....	33
5.13	Cuantificación de flavonoides	34
5.14	Evaluación de la capacidad antioxidante	35
5.14.1	Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)	35
5.14.2	Método de decoloración del radical cationico ABTS	36
5.14.3	Poder reductor.....	37
5.14.4	Actividad quelante sobre el ión Fe ²⁺	38
5.15	Cuantificación de azúcares reductores	39
6	Resultados y discusión	40
6.1	Análisis químico proximal de las diferentes partes del amaranto	40
6.1.1	Análisis de los materiales en crudo.....	40
6.2	Distribución del tamaño de partícula de las partes vegetativas del amaranto	41
6.3	Análisis químico.....	42
6.4	Cuantificación de residuos sólidos (RS).....	46
6.5	Análisis bromatológico de los materiales después de la extracción acuosa.	47
6.6	Cuantificación de fibra dietética	49
6.7	Cuantificación de polifenoles	51
6.8	Cuantificación de flavonoides	53

6.9	Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos	54
6.9.1	Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)	54
6.9.2	Reducción de del radical cationico ABTS	57
6.9.3	Poder reductor	58
6.9.4	Actividad quelante sobre el ión Fe ²⁺	59
6.10	Cuantificación de azúcares reductores en hidrolizados	62
6.11	Cuantificación de polifenoles en hidrolizados.....	68
6.12	Cuantificación de flavonoides de hidrolizados.....	75
6.13	Evaluación de la capacidad antioxidante de hidrolizados.....	77
6.13.1	Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)	77
6.13.2	Poder reductor	79
6.13.3	Actividad quelante sobre el ión Fe ²⁺	81
6.14	Polifenoles totales.....	83
7	Conclusiones	84
8	BIBLIOGRAFIA.....	87
9	ANEXOS.....	96
	ANEXO A.....	98
	ANEXO B.....	99
	ANEXO C.....	100
	ANEXO D.....	101
	ANEXO E.....	102
	ANEXO F.....	103
	ANEXO G.....	104
	ANEXO H.....	105

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Representación esquemática de las relaciones entre los principales constituyentes de la pared celular vegetal (Del Rio & Gutiérrez 2005).....	5
Figura 2. Principales compuestos fenólicos en los alimentos.....	13
Figura 3. Formación de especies reactivas de oxígeno por adición de electrones durante la reducción del oxígeno triplete hasta agua (Roberfroid, 1995).....	15
Figura 4. Cinética de autooxidación e inhibición de la misma. Formación de radicales libres y acción de antioxidantes (Huang <i>et al.</i> , 2005).....	17
Figura 5. Materias primas utilizadas en el presente trabajo. a) hoja, b) tallo, c) RC y d) RT	24
Figura 6. Estrategia general de trabajo para la obtención de EA de las diferentes partes de la planta de amaranto.	26
Figura 7. Estrategia experimental para la extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de amaranto.	28
Figura 8. Tratamiento enzimático basado en los métodos 985.29 y 991.43 de la A.O.A.C 2000, para la obtención de fibra dietética insoluble.....	30
Figura 9. Estrategia general de trabajo para la obtención de hidrolizados de las diferentes partes de la planta de amaranto.	31
Figura 10. Reacción de liberación de compuestos fenólicos a partir de lignina.....	32
Figura 11. Reacción de liberación de los xilooligosacáridos de las hemicelulosas.....	32
Figura 12. Reacción de los compuestos polifenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu.	33
Figura 13. Reacción de flavonoides (rutina) con tricloruro de aluminio (O'Coinceanainn <i>et al.</i> , 2003).....	34
Figura 14. Reacción de reducción del radical DPPH•.....	35
Figura 15. Formación del radical cationico ABTS, y reacción en presencia de un antioxidante (Trolox), para su estabilización (http://web.tn.refer.org/hedhili/potentiel_antioxydant.html).	36
Figura 16. Formación del complejo colorido con hexacianoferrato de potasio para la evaluación del poder reductor.....	37
Figura 17. Quelación del ión Fe ²⁺ y formación del complejo colorido del ión Fe ²⁺ con la ferrozina cuando no hay presencia de compuestos antioxidantes.....	38
Figura 18. Reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico en presencia de un azúcar reductor a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (http://www.uco.es)	39

Figura 19. Pruebas de Tukey para la fase, la concentración de H₂SO₄ y el tiempo.....64

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales estados productores de amaranto en la República Mexicana	2
Tabla 2 Clasificación de la fibra dietética por componentes.....	10
Tabla 3. Análisis químico proximal de las diferentes partes de la planta del amaranto	40
Tabla 4. Clasificación por tamaño de partícula de las harinas de amaranto.....	41
Tabla 5. Composición química de las diferentes partes de la planta de amaranto según los métodos TAPPI.....	42
Tabla 6. Tabla comparativa del contenido de hemicelulosas y la fracción que corresponde a pentosanos.....	45
Tabla 7. Residuos sólidos obtenidos después de una extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de amaranto	47
Tabla 8. Análisis químico proximal de los residuos sólidos obtenidos de las diferentes partes de la planta del amaranto después de la extracción acuosa	47
Tabla 9. Contenido de fibra dietética insoluble y soluble, así como fibra cruda en los RS de amaranto	49
Tabla 10. Polifenoles totales presentes en EA de las diferentes partes de la planta de amaranto	51
Tabla 11. Contenido de flavonoides en EA de amaranto	53
Tabla 12. Porcentaje de inhibición de DPPH• de EA de amaranto	54
Tabla 13. Valores de IC ₅₀ de reducción de radical DPPH• de EA de amaranto	55
Tabla 14. Porcentaje de inhibición de radical ABTS-persulfato de EA de amaranto.....	57
Tabla 15. Rangos de concentraciones de EA de amaranto y su % de efecto quelante....	61
Tabla 16. Estadísticos de azúcares reductores de hidrolizados de amaranto	67
Tabla 17. Contenido de flavonoides en hidrolizados de amaranto	76
Tabla 18. Valores de IC ₅₀ de reducción de radical DPPH• de hidrolizados de RS de amaranto	78
Tabla 19. Polifenoles totales obtenidos de las diferentes partes de la planta de amaranto.	83

INDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Análisis sumativo de la composición química de las diferentes partes de la planta de amaranto.....44

Gráfica 2. Análisis bromatológico de los materiales en crudo y los RS obtenidos de la extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L.48

Gráfica 3. Contenido de Fibra dietética de los residuos sólidos (RS) después de la extracción a 87°C.....50

Gráfica 4. Comparación de contenido de polifenoles en EA de amaranto con malezas usadas para alimentación y árboles forrajeros tropicales.....52

Gráfica 5. Contenido de flavonoides con respecto al total de polifenoles en EA de amaranto53

Gráfica 6. Comparación del contenido de polifenoles y su capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los EA de amaranto y melazas usadas para alimentación.....56

Gráfica 7. Poder reductor de diferentes EA de amaranto.....58

Gráfica 8. Actividad quelante del extracto acuoso de RT comparada con EDTA59

Gráfica 9. Actividad quelante del extracto acuoso de RC comparada con EDTA.....60

Gráfica 10. Actividad quelante del extracto acuoso de Tallo comparada con EDTA60

Gráfica 11. Actividad quelante del extracto acuoso de Hoja comparada con EDTA.....61

Gráfica 12. Cuantificación de azúcares reductores de RC a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI62

Gráfica 13. Cuantificación de azúcares reductores de RT a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI63

Gráfica 14. Cuantificación de azúcares reductores de Tallo a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI63

Gráfica 15. Cuantificación de azúcares reductores de Hoja a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI63

Gráfica 16 Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de RT. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.....65

Gráfica 17. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de RC. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.	65
Gráfica 18. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de Tallo. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.	66
Gráfica 19. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de Hoja. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.	66
Gráfica 20. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de RT de amaranto.....	68
Gráfica 21. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de RC de amaranto	69
Gráfica 22. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de Tallo de amaranto...	69
Gráfica 23. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de Hoja de amaranto ...	70
Gráfica 24. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RT acuoso.	71
Gráfica 25. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RT orgánico.....	71
Gráfica 26. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RC acuoso	72
Gráfica 27. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RC orgánico.....	72
Gráfica 28. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Tallo acuoso.....	73
Gráfica 29. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Tallo orgánico.....	73
Gráfica 30. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Hoja acuoso.....	74
Gráfica 31. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Hoja orgánico.....	74
Gráfica 32. Contenido de flavonoides con respecto al total de polifenoles en EA de amaranto	77
Gráfica 33. Comparación del contenido de polifenoles y su capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los hidrolizados de amaranto y melazas usadas para alimentación.	79
Gráfica 34. Poder reductor de diferentes hidrolizados de la fase acuosa de amaranto	80

Gráfica 35. Actividad quelante del extracto hidrolizados de la fase acuosa comparada con EDTA.....81

Gráfica 36. Actividad quelante del extracto hidrolizados de la fase orgánica comparada con EDTA82

1 GENERALIDADES

1.1 Amaranto

El amaranto (huautli, en náhuatl) fue uno de los principales cultivos de las dinastías azteca e inca. Su presencia en Tehuacán, México, se remota a 4000 a.C., a través de la historia las hojas de amaranto han sido consumidas como vegetales y sus semillas como cereal. (Morales, *et al.*, 2009 y Paredes *et al.*, 2006). El amaranto es una planta de hojas anchas, brillantemente coloreadas, su forma es parecida a la del sorgo. Pertenece a la clase dicotiledóneas, del orden Caryophyllales y de la familia Amaranthaceae (Morales, *et al.*, 2009 y Bunzel *et al.*, 2005), comprende más de 60 géneros y aproximadamente 800 especies de plantas herbáceas anuales o perennes. Existen tres especies del género *Amaranthus* que producen grandes inflorescencias: *A. hypochondriacus* y *A. cruentus*, que son cultivadas principalmente en México y Guatemala, respectivamente, y *A. caudatus*, que es cultivada especialmente en Perú. (Morales, *et al.*, 2009 y Paredes *et al.*, 2006). La planta de amaranto tiene una panícula (panoja) parecida al sorgo con una longitud promedio de 50 a 90cm. Esta panoja formada por muchas espigas que contienen numerosas flores pequeñas en las cuales están contenidos el grano. (Morales, *et al.*, 2009, Arellano & Galicia, 2007).

El amaranto es una planta que se denomina como pseudocereal, puesto que produce granos tipo cereal. Es una planta de crecimiento rápido. El amaranto puede crecer en climas calientes y templados donde el suministro de agua es limitado; es tolerante a condiciones áridas y suelos pobres, condiciones que son altamente adversas para el cultivo de cereales.

Una de las características que hacen atractivo el uso de la semilla de amaranto en diversos sectores industriales es que se trata de un producto de origen vegetal muy completo ya que es fuente de proteínas (13-18%), minerales y vitaminas naturales como A, B, C, B1, B2, B3; también contiene ácido fólico, niacina, calcio, hierro fósforo. Además, es uno de los alimentos con alto contenido de aminoácidos esenciales como la lisina. También contienen sustancias con funciones biológicas en las dietas como inhibidores de proteasas, péptidos antimicrobianos, lectinas y antioxidantes. En humanos se ha visto

una buena digestión y alta absorción para alimentos que tienen amaranto molido y tostado (Paredes *et al.*, 2006).

Se ha encontrado que el contenido de fibra en la hoja de amaranto (1.3%) supera a los observados en espinaca, acelga y col, 0.3%, 0.3% y 0.8% respectivamente (Morales_b *et al.*, 2009, De Vries, *et al.*, 1999 y Soriano-Santos *et al.*, 2004). Cuando se concentra la hoja de amaranto en una harina, el análisis bromatológico muestra un aumento significativo en contenido de fibra 15.44%, fibra ácido detergente 20.85%, humedad 10.14%, cenizas 9.27%, extracto etéreo 2.64%, proteína cruda 14.18%, y extracto libre de nitrógeno 48.33% (Morales_b *et al.*, 2009 y Soriano-Santos *et al.*, 2004). Investigaciones recientes han reportado que los extractos acuosos de hojas de *Amaranthus gangeticus* poseen actividad anticancerígena en células de hígado, mama y colon (Sani *et al.*, 2004).

En la republica Mexicana, las zonas de producción y cultivo de amaranto son las mismas de la época precolombina, en la Tabla 1 se muestra la producción de algunas zonas.

Tabla 1. Principales estados productores de amaranto en la República Mexicana

Estado	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/ha)
Distrito federal	137	137	151.4	1.1
Jalisco	21	21	18.9	0.9
México	191	191	439.8	2.3
Morelos	329	329	325	0.9
Oaxaca	7	7	6.9	0.9
Puebla	2,816	2,101	3,355.6	1.6
Tlaxcala	191	191	195.6	1.0

Fuente: Anuario Estadístico de Producción Agrícola 2009. SAGARPA

A nivel nacional se han reportado rendimientos de 1.1 a 2.3 ton de grano/ha base seca, 3.8 a 4.1 ton de hoja/ha base seca, produciendo una gran cantidad de biomasa (hasta 9 ton/ha base seca), generando aproximadamente 271,100 ton de residuos agrícolas por cada ciclo de cultivo; que resultan de la cosecha del grano de amaranto. Un ciclo de cultivo de amaranto es de 150-180 días, si se tiene hasta 2 ciclos por año, se estima una producción de 542,200 ton aproximadamente de residuos llamados “rastreo de amaranto” al año, si se compara con el forraje verde de cebada es similar (441,170 ton),

es superior a el forraje verde de centeno y forraje verde de trigo (1,083 y 42,802 ton, respectivamente) y representa el 5% de el forraje de maíz (9,240,107 ton).

El uso del rastrojo de amaranto es muy limitado, se abandona en el campo como abono vegetal, en algunas ocasiones se usa como forraje para animales (Soriano-Santos *et al.*, 2004) y en la mayoría de las veces es quemado, representando un problema de contaminación. El rastrojo de amaranto es considerado un material lignocelulósico.

1.2 Materiales lignocelulósicos

El mundo asiste a un déficit de materias primas, particularmente el sector energético, y agravado por las desfavorables implicaciones medioambientales derivadas de una explotación de recursos no renovables. El camino hacia un desarrollo sostenible y renovabilidad de los recursos pasa por la búsqueda/utilización de nuevas fuentes de recursos y productos químicos y de consumo donde la biomasa, en particular la biomasa lignocelulósica se revela como una fuente “necesaria” de materias primas dada su ubicuidad, disponibilidad y carácter “poco contaminante” (Ozcimen *et al.*, 2004 y Jefferson, 2006). Los materiales lignocelulosicos podrían sustituir a las materias primas tradicionales de la industria química, farmacéutica y alimentaria para diversos productos con diferentes aplicaciones (Vegas *et al.*, 2004).

Los materiales lignocelulósicos, incluyendo los productos de origen agrícola y forestal, están constituidos por tres polímeros estructurales; celulosa, hemicelulosas y lignina y una serie de compuestos de bajo peso molecular solubles en agua (fracción hidrosoluble) o solventes orgánicos (los denominados extraíbles). También presentan pequeños contenidos en proteína y sales minerales (Vegas *et al.*, 2004).

1.2.1 Celulosa

Es uno de los biopolímeros más abundantes en la Naturaleza, ya que se trata del principal componente estructural de las células vegetales. Desde el punto de vista

estructural, la celulosa es un polímero lineal, cuya unidad básica es la D-glucosa que se enlaza mediante un enlace glucosídico en la configuración β -(1-4) dando lugar a la unidad de celobiosa que se repite exactamente en la cadena polimérica (Fig. 1). En la pared celular, las cadenas de celulosa se agregan formando microfibrillas que constituyen el elemento base de los materiales celulósicos (Vegas *et al.*, 2004 y Ferreira, *et al.*, 1993).

1.2.2 Hemicelulosas

Son polisacáridos químicamente heterogéneos, constituidos por diferentes unidades de monosacáridos incluyendo pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y ácidos urónicos, enlazados entre sí por enlaces glicosídicos (Fig. 2), formando estructuras ramificadas y en general amorfas. Algunas hemicelulosas están asociadas a la porción celulósica, mientras que otras lo están con la lignina. Actúan como matriz soporte para las microfibrillas de celulosa en la pared celular, y son de menor masa molecular, accesibles, fácilmente degradables y fáciles de disolver que la celulosa. Las hemicelulosas tienen una considerable variación, especialmente entre las coníferas y las latifolladas. En el caso de la madera de coníferas se suele apreciar una mayor cantidad de manosa y galactosa mientras que la xilosa y los grupos acetilos son más abundantes en las latifoliadas (Vegas *et al.*, 2004).

1.2.3 Lignina

Es un polímero aromático formado por la condensación oxidativa de precursores fenólicos, ramificado y amorfo. La lignina es un componente característico de la pared celular de las plantas y su función principal es actuar como material incrustante en las paredes de las fibras y como cemento en la lámina media. De esta forma protege a la celulosa del ataque microbiano y confiere estructura, resistencia e impermeabilidad a los materiales lignificados. La lignina se forma por polimerización oxidativa de tres alcoholes p-hidroxicinámicos -p-cumarílico (4-hidroxicinámico), coniferílico (4-hidroxi-3-metoxicinámico) y sinapílico (4-hidroxi-3,5-dimetoxicinámico) - dando lugar a una red tridimensional con diferentes tipos de enlaces (Vegas *et al.*, 2004).

1.2.4 Extraíbles

Están formados por compuestos lipofílicos (principalmente ácidos grasos, glicéridos, ceras, terpenos y esteroides) y fenólicos. Una de las principales funciones de los compuestos extraíbles es la protección de la planta contra los patógenos (Vegas *et al.*, 2004).

En la Figura 1 se muestra una representación esquemática de las relaciones entre los principales constituyentes de la pared celular vegetal (celulosa, lignina y hemicelulosas). A nivel histológico, la lignina se encuentra más concentrada en la lámina media, que es la capa externa que une las paredes celulares de las fibras contiguas en los tejidos lignificados. El resto de las capas de la pared vegetal, incluyendo la pared secundaria que es la capa más gruesa, presentan también un cierto contenido de lignina pero están principalmente constituidas por celulosa y hemicelulosas.

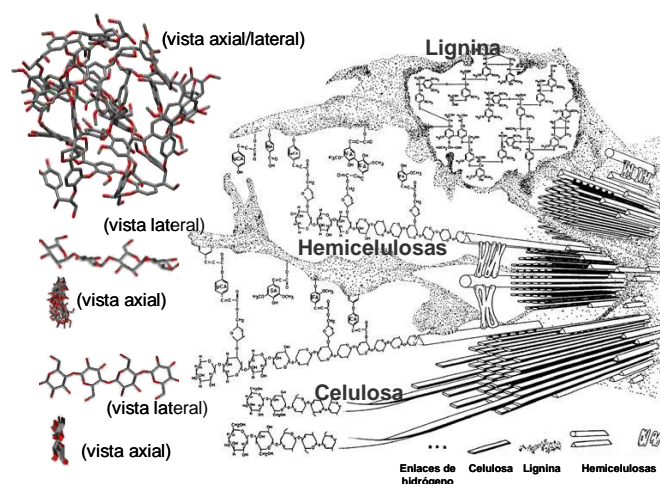


Figura 1 Representación esquemática de las relaciones entre los principales constituyentes de la pared celular vegetal (Del Rio & Gutiérrez 2005).

La lignina en la pared secundaria forma una matriz amorfa que protege a los polisacáridos frente a la degradación microbiana y la hidrólisis enzimática en general. En la pared vegetal existen enlaces inter-polímeros que pueden ser directos, enlaces éter entre OH alcohólicos (de los polisacáridos) y fenólicos (de la lignina), o a través de puentes formados por los ácidos p-hidroxicinámicos. Estos últimos son precursores de la lignina pero en muchas plantas herbáceas se encuentran también en forma libre

(incluidos en la fracción extraíble) y formando puentes lignina-polisacárido (Del Rio & Gutiérrez 2005).

Debido a su composición los materiales lignocelulósicos son una fuente importante de compuestos funcionales como fibra dietética, compuestos fenólicos con actividad antioxidante y oligosacáridos con actividad prebiótica (Ishii, 1997), que pudieran sugerirse como materia prima para la industria de alimentos funcionales.

1.3 Compuestos biofuncionales

Este concepto nació en Japón, en los años ochenta, debido a la necesidad de garantizar una mejor calidad de vida a la vista de los elevados gastos sanitarios originados por el aumento de la longevidad de la población (Juárez *et al*, 2005).

El objetivo de la nutrición ha sido el de conseguir una dieta equilibrada, que permita satisfacer los requerimientos de energía y de todos los nutrientes que cualquier individuo necesite (Mataix, 2005). En la actualidad, y sin dejar al margen este importante objetivo, la ciencia de la nutrición se encuentra ante un nuevo revolucionario reto, que es la búsqueda de nuevos alimentos, y/o componentes alimentarios, que permitan, independientemente de su valor clásico valor nutricional, asegurar aún más el estado de salud y reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades cardiovasculares, diabetes, osteoporosis, hipertensión, obesidad, infecciones gastrointestinales y algunos tipos de cánceres, las cuales constituyen las principales causas de muerte en los países desarrollados.

En los últimos años se ha generalizado el uso del término “compuestos biofuncionales” en la comunidad científica, y específicamente en las áreas de ciencia y tecnología de los alimentos y nutrición. Sin embargo, no existe una definición previa que delimite las sustancias que comprende (Juárez *et al*, 2005), solo se reconoce que aquellos compuestos que aseguren aún más el estado de salud (no dar más salud) se les denomina compuestos biofuncionales (Mataix, 2005).

Los consumidores están cada vez tienen más conciencia de la relación existente entre la dieta y la salud, lo que ha impulsado el desarrollo y comercialización de alimentos con propiedades beneficiosas. (Juárez *et al*, 2005).

Se pueden señalar algunas características comunes de estos compuestos:

- Son componentes minoritarios de alimentos.
- Son considerados no nutrientes.
- Estructural y fisiológicamente se diferencian de los micronutrientes (vitaminas y minerales).
- Son biodisponibles, al menos parcialmente.
- Han mostrado algún efecto positivo en salud.
- Los mecanismos de su función biológica y/o metabólica en el organismo humano no están completamente establecidos.
- El número de compuestos bioactivos diferentes presentes en la dieta (varios centenares) supera al de nutrientes (próximo a cincuenta).

Entre ellos, los que actualmente vienen mereciendo más atención son la fibra dietética, los compuestos con actividad antioxidante, prebióticos, probióticos, carotenoides, fitoesteroles, algunas proteínas, ácidos grasos omega-3, vitaminas y minerales, etc. (Juárez *et al.*, 2005).

1.3.1 Fibra dietética

La fibra ha sido estudiada por muchos siglos, y a través de los años se han ido comprendiendo los beneficios de una dieta alta en fibra para la salud. El término fibra dietética o dietaría fue adoptado por primera vez por Hipsley en 1953 para describir los componentes de las paredes celulares de los vegetales en los alimentos. El significado fisiológico se obtuvo en 1971 cuando Burkitt recomendó un mayor consumo de fibra dietética para mejorar la función intestinal. (Reporte AACC, 2001). En 1972, Trowell definió por primera vez a la fibra dietética: “residuos de la pared celular vegetal resistentes a la acción de las enzimas digestivas humanas, y posteriormente fuera redefinida por el mismo autor en 1976: “polisacáridos y lignina resistentes a la hidrólisis

por las enzimas digestivas del hombre”, concepto que se mantuvo vigente en los últimos veinticinco años (Trowell, 1972, Trowell & Burkitt, 1975).

Sin embargo, investigadores cuestionaron esta definición ya que excluye algunos componentes de las fibras dietéticas con reconocidos efectos fisiológicos. Con el objeto de aclarar un concepto de mucho interés, la comunidad científica fue convocada en diversas reuniones para definir Fibra Dietética. La definición final ha sido adoptada por la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC) en mayo del 2000 (Robles, 2001).

El concepto actual es el siguiente: “La fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos, que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. Incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Promueven efectos fisiológicos benéficos que incluyen su propiedad laxante, la disminución del colesterol sanguíneo y/o la disminución de la glucosa sanguínea” (Reporte AACC. 2001).

Una definición más reciente añade el concepto nuevo de fibra funcional o añadida que incluye otros hidratos de carbono absorbibles como el almidón resistente, la inulina, diversos oligosacáridos y disacáridos como la lactulosa (Escudero & Gonzalez, 2006).

1.3.1.1 Clasificación de la fibra

Por sus propiedades de solubilidad, las fibras dietéticas se dividen en: Fibra dietética soluble (FDS) y Fibra dietética insoluble (FDI).

Fibra dietética soluble (FDS): Es la fracción de la Fibra dietética total (FDT) soluble en agua, (Robles, 2001) se caracteriza por formar una dispersión cuando se combina con agua y forma geles viscosos en el tracto intestinal (Escudero & González, 2006), incluye gomas, mucílagos, pectinas, ciertas hemicelulosas y la celulosa modificada (Robles, 2001).

Los efectos derivados de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte su potencial anticarcinogénico (Escudero & González, 2006). El consumo de fibra soluble incrementa la sensación de saciedad, puede ayudar a disminuir los niveles de colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad o mejor conocido como “colesterol malo”) en la sangre y mantener estables los niveles de glucosa sanguínea (Jenkins *et al.*, 2000, Ludwig *et al.*, 1999 y Williams *et al.*, 1999).

Fibra dietética insoluble (FDI): La forma más común de fibra dietética es la fibra insoluble. Aproximadamente el 75% de la fibra dietética es fibra insoluble, (Davidson, 1998). La celulosa, las hemicelulosas y la lignina son los componentes principales de este tipo de fibra (Bunzel, 2002, Bennett & Cerda, 1996, Badui, 2006). La fibra insoluble, no se disuelve en agua. Esta fibra aumenta su tamaño y absorbe mucho más que su peso en agua, hasta quince veces más. De esta forma, la fibra insoluble proporciona volumen, que puede ayudar a sentirse satisfecho por más tiempo. Además contribuye a acelerar el movimiento peristáltico de los alimentos a través del sistema digestivo y ayuda a promover la regularidad y reducir la incidencia de estreñimiento (Sanchez, 2005, Saura-Calixto y García 2001).

1.3.1.2 Componentes de la Fibra Dietética

También la fibra dietética puede clasificarse con base en sus constituyentes (Tabla 2). Polisacáridos no almidonosos como celulosa, hemicelulosas y polisacáridos no estructurales como pectinas, gomas y mucílagos (Mataix, 2005) forman parte de los Polisacáridos Libres de Almidón y Oligosacáridos Resistentes. Elementos como dextrinas indigestibles, metilcelulosa y almidón resistente se consideran Carbohidratos Análogos, éstos no forman parte natural de una planta pero surgen de los tratamientos que se aplican a los alimentos y presentan las mismas funciones de la fibra dietética. Finalmente compuestos no polisacáridos como ceras, cutina, suberina, ácido fitico y taninos se incluyen como sustancias asociadas al complejo de polisacáridos no almidonosos y lignina, pues se encuentran enlazados a estas estructuras en la planta. Con excepción de los Carbohidratos Análogos todos estos compuestos se encuentran asociados a las células vegetales, y debido a que su pared celular varía en composición de acuerdo al

tipo de célula y de planta, a composición de la fibra dietética es a su vez variable (Drehr, 1987).

Tabla 2 Clasificación de la fibra dietética por componentes.

Clasificación	Constituyentes	
	FDS	FDI
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Polisacáridos no almidonosos y oligosacáridos resistentes</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Hemicelulosas (Arabinoxilanos y Arabinogalactanos)</i> • <i>Polifruktuosas</i> • <i>Inulina</i> • <i>Oligofruktanos</i> • <i>Galacto-oligosacáridos</i> • <i>Pectinas</i> • <i>Goma, Mucilago.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Celulosa, Arabinoxilanos y Arabinogalactanos.</i>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Carbohidratos análogos</i> 		<ul style="list-style-type: none"> • <i>Almidón resistente</i> • <i>Dextrinas indigestibles</i> • <i>Maltodextrinas y Dextrina</i> • <i>Polidextrosa, Metilcelulosa Hidroxipropilcelulosa</i>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sustancias asociadas al complejo de polisacáridos no almidonosos y lignina.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fitatos y Saponinas</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ceras</i> • <i>Cutina</i> • <i>Suberina</i> • <i>Lignina</i> • <i>Ácido Fítico</i> • <i>Taninos</i>

Fuente: Sanchez, 2005.

1.3.1.3 Beneficios de la fibra dietética

Las propiedades físicas y químicas de la fibra son las responsables de las diferentes respuestas que se dan cuando se ingiere un cierto tipo de fibra. Estas incluyen viscosidad, fermentabilidad, capacidad de retener agua, capacidad de intercambio catiónico y capacidad de aumento de masa fecal, entre otras (Davidson, 1998). Las fibras en un medio acuoso son capaces de captar agua dependiendo del grado de solubilidad. La absorción del agua se produce por fijación a la superficie de la fibra o por

atrapamiento en el interior de la estructura macromolecular. Las fibras insolubles captan poco agua y forman mezclas de baja viscosidad.

Toda la fibra dietética llega al colon en forma inalterada y es fermentada por las bacterias colónicas produciendo ácidos grasos de cadena corta y gases. En el intestino delgado, debido a la mayor cantidad de líquidos, la fibra ayuda a disminuir la viscosidad y aumenta el tránsito intestinal. Dicha viscosidad representa una barrera para las enzimas hidrolíticas, por lo que disminuye el proceso de digestión (Glore, 1994, Saura-Calixto y García 2001)

La viscosidad aumenta la barrera de difusión intestinal en la mucosa superficial disminuyendo la absorción de glucosa así como de ácidos grasos y colesterol. En el colon, la fibra dietética aumenta el peso de las heces y disminuye su consistencia. La fibra retarda la digestión y absorción de nutrimentos, modifica la secreción y la acción de enzimas digestivas, y también influye en la secreción de las hormonas gastrointestinales y pancreáticas. A su vez, regula el tránsito intestinal y aumenta la presión en el interior del colon, favoreciendo el adecuado funcionamiento del colon y formación de una flora bacteriana normal. Cada gramo de fibra ingerido produce un aumento de 2.7g en el peso de las heces.(Eastwood, 1990, Rupin,1987, Stephens, 1990)

1.3.1.4 Fibra dietética y diabetes

El incremento en los niveles plasmáticos de glucosa provocado por la ingestión de alimentos depende de la velocidad de vaciamiento gástrico y de la velocidad de digestión y absorción de los productos de esa digestión. La incorporación de fibra dietética a un alimento mejora la tolerancia a la glucosa al diluir los hidratos de carbono digeribles (azúcares simples y almidones). El aumento de volumen del alimento puede reducir la cantidad de hidrato de carbono digerible en una ración (Horowitz *et al.*, 1993).

El consumo crónico de grandes cantidades de fibra también está asociado a una reducción en los niveles de HbA1c (Hemoglobina glucosidasa en sangre), un indicador del mejoramiento del control metabólico. Está asociado además con el aumento de fermentación en el intestino grueso, aumento de la síntesis y secreción intestinal de

hormonas como el péptido 1 tipo glucagón (GLP-1), y una mejora en las respuestas glucémicas a cargas orales de glucosa. Se sabe que el GLP-1 es un inhibidor directo de la secreción gástrica que aumenta la secreción de insulina y disminuye el consumo de alimento. De esta manera el aumento en la secreción intestinal de GLP-1 puede disminuir los requerimientos de insulina después de comer, mediante la modulación de los índices de secreción gástrica e incrementar la capacidad del páncreas para secretar insulina. Basándose en estos estudios es posible asociar el consumo de dietas altas en fibra con una mayor capacidad intestinal para emitir señales que regulan la tasa de paso del alimento del estómago al intestino (donde los nutrimentos son absorbidos), para modular el apetito, incrementar la secreción de la insulina y la eliminación de la glucosa (Naslund *et al.*, 1999)

A partir del descubrimiento de la fibra dietética y sus beneficios en la salud humana, las investigaciones relacionadas con sus propiedades han aumentado al igual que la búsqueda de nuevas fuentes para su obtención. Se utiliza como recurso de fibra dietética a los cereales, siendo el salvado de trigo (Lairon, 1987) y las cascarillas de arroz, maíz y sorgo (Nyman *et al.*, 1983, Ranhotra *et al.*, 1990 & Reyes *et al.*, 1998) los mayormente empleados. Con la búsqueda de nuevas fuentes, se encontró que las hojuelas de avena y las leguminosas presentaban mayor contenido de fibra dietética (Saura-Calixto *et al.*, 2002). Actualmente se siguen buscando nuevas fuentes que proporcionen un contenido mayor de fibra dietética que cuente con propiedades fisiológicas y funcionales en el organismo humano y en los sistemas alimenticios en que se incorporen (Priego & López, 2007).

1.3.2 Compuestos fenólicos

Los polifenoles pueden ser divididos de acuerdo a su estructura básica en al menos diez clases diferentes, entre ellos los ácidos fenólicos, fenilpropanoides, estilbenos, flavonoides, taninos y lignina.

En la figura 2 se muestran los grupos de compuestos polifenólicos más comunes en alimentos de nuestra dieta. Los ácidos hidroxicinámicos son, dentro de los polifenoles de

bajo peso molecular, los más comunes. Algunos hidroxiestilbenos, como el resveratrol, son de interés en nutrición. Pero sin duda los flavonoides son de los más abundantes en alimentos e incluyen diversos subgrupos tales como flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianidinas y otros. Se han descrito del orden de 6000 estructuras diferentes y son los que más atención han despertado en nutrición y en salud. Los taninos vegetales (taninos hidrolizables y taninos condensados o proantocianidinas) son compuestos cuyo peso molecular puede encontrarse por encima de los 32000Da. Otro grupo de florotaninos, solamente se localizan en algas marinas pardas y no se incluyen habitualmente en la dieta humana.

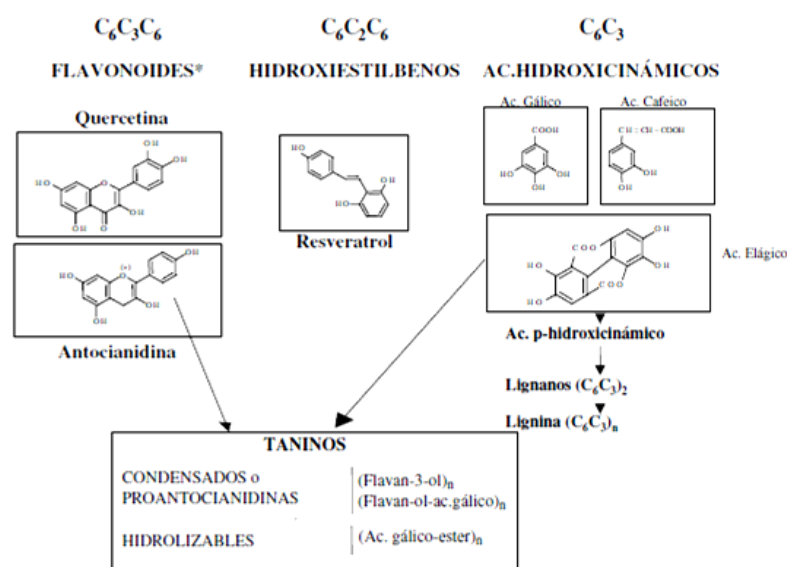


Figura 2. Principales compuestos fenólicos en los alimentos

Entre los principales alimentos y bebidas ricos en polifenoles pueden citarse: té, vino, café, uva, manzana, fresa, alcachofa, brócoli, algunas legumbres, algarroba y cacao.

Una de las propiedades más conocidas de los compuestos fenólicos es su capacidad para unirse y precipitar las proteínas reduciendo su digestibilidad. También se ha descrito que la ingesta de polifenoles lleva asociada una mayor excreción de grasa. Estas propiedades pueden ser poco significativas nutricionalmente. Dadas las elevadas cantidades de proteína y grasa en la dieta, y relativamente baja ingesta de compuestos polifenólicos, del orden de 1g/día (Juárez *et al.*, 2005).

Recientemente, el interés nutricional en los compuestos polifenólicos se ha centrado en su papel como antioxidantes, antimutagénicos y secuestradores de radicales libres. Son

especialmente numerosos los estudios publicados en los últimos años sobre hipocolesterolemia, inhibición de oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), actividad antimutagénica y anticancerígena, etc. (Juárez *et al.*, 2005).

1.3.2.1 Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que, a bajas concentraciones, en comparación con el sustrato oxidable, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato. En el cuerpo un mecanismo de acción de los antioxidantes es aquel en que la molécula de antioxidante, al colisionar con un radical libre de oxígeno, le cede un electrón, que se oxida a su vez y se transforma en un radical libre de oxígeno débil no tóxico (Morales *et al.*, 2009). No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, etc) catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los radicales libres.

1.3.2.1.1 Radical libre

Los radicales oxidantes, mejor conocidos como radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ERO), son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad.

Es una estructura química que contrario a la tendencia normal espontánea de los electrones, localizados en los átomos y moléculas, a la formación de parejas, es desapareado. Esto lo hace muy inestable, con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos, así como con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y sus derivados (Morales, *et al.*, 2009).

Los radicales de oxígeno se producen a partir del oxígeno molecular por sucesivos proceso de reducción monoelectrónica, con formación de radical anión superóxido de hidrógeno y radical hidroxilo (Morales, *et al.*, 2009 y Serrano, 2010), (Figura 3).

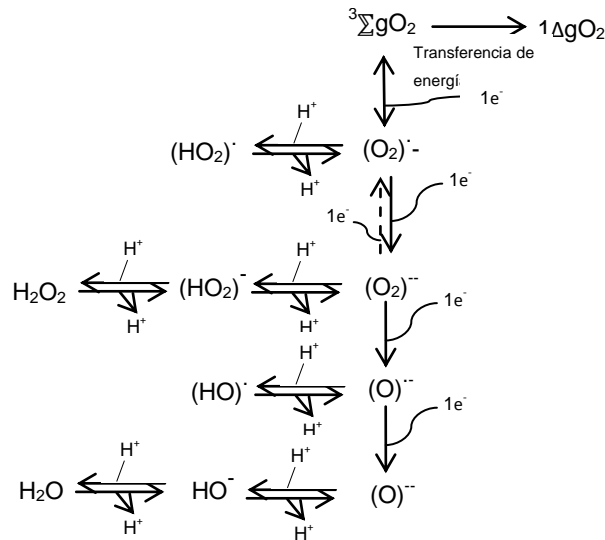


Figura 3. Formación de especies reactivas de oxígeno por adición de electrones durante la reducción del oxígeno triplete hasta agua (Roberfroid, 1995).

Las principales especies reactivas del oxígeno son las siguientes:

- Radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$): Intermediario en la reducción del O_2 al H_2O . Es buen reductor y mal oxidante. Es importante debido a que puede generar más especies reactivas de oxígeno como OH y H_2O_2 (Madrigal, *et al.* 2009).
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2): Originado en la dismutación del $O_2^{\cdot-}$ por acción de la enzima SOD (superóxido dismutasa). Puede originar otros reactivos durante la reacción de Fenton con metales (Madrigal, *et al.* 2009).
- Radical hidroxilo (OH^{\cdot}): Es el agente oxidante más poderoso en los sistemas biológicos. Normalmente es producido durante la reacción de Fenton y Haber-Weiss (Madrigal, *et al.* 2009).
- Singulete de oxígeno (1O_2): Especie molecular de oxígeno que se activa por acción de la luz solar y las radiaciones. Es altamente oxidante (Madrigal, *et al.* 2009).

- Óxidos de nitrógeno: Oxido nítrico (NO \cdot) y dióxido de nitrógeno (NO $_2\cdot$) contienen un número impar de electrones y por eso son radicales libres que los convierte en potentes agentes oxidantes (Gutteridge, 1995).
- Acido hipocloroso (HOCl): Formado por la acción de la mieloperoxidasa. Está presente en los neutrófilos como H $_2$ O $_2$. (Madrigal, *et al.* 2009).
- Peroxilo (ROO \cdot): Es un agente oxidante con baja capacidad, pero alta difusión (Madrigal, *et al.* 2009).
- Alkoxilo (RO \cdot) Es un agente oxidante con potencial medio para actuar sobre lípidos (Madrigal, *et al.* 2009).

1.3.2.1.2 Importancia de antioxidantes

La importancia de un antioxidante depende de su concentración, del medio donde actúa y de su habilidad para interaccionar con sistemas regeneradores. Los antioxidantes engloban un grupo de sustancias que presentan estructuras químicas y mecanismos de acción muy variados. Estos pueden inhibir o retardar la oxidación de dos formas: captando radicales libres, en cuyo caso se denominan antioxidantes primarios, o por mecanismos que no estén relacionados con la captación de radicales libres, en cuyo caso se conocen como antioxidantes secundarios. Estos operan a través de cierto número de mecanismos, incluyendo su unión a metales pesados, captación de oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales.

Muchas de estas sustancias son utilizadas como conservadores de varios productos para evitar su deterioro. Todo tipo de alimentos contienen compuestos fenólicos que generalmente tienen elevada actividad antioxidante, lo que significa que tiene efectos positivos en la preservación de la calidad de alimentos y de la salud humana, por lo que generalmente se incluyen en la dieta (Becker *et al.*, 2004).

El uso de antioxidantes naturales, hoy en día es común, no solo por las propiedades reductoras, sino porque son naturales y el consumidor los aprecia (Miliauskas *et al.*, 2004).

1.3.2.1.3 Actividad antioxidante

Por definición la actividad antioxidante es la capacidad de un compuesto de inhibir la degradación oxidativa (Roginsky y Lissi, 2005).

Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* muestran una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo* (Kuskoski *et al.*, 2005). La medición de la actividad antioxidante en un ensayo individual, refleja solo la reactividad química bajo ciertas condiciones de la prueba, por lo que es inapropiado generalizar los datos de un método de medición en particular, como indicador de actividad antioxidante total (Huang *et al.*, 2005). La cinética de la autoxidación y su inhibición, en general se puede presentar de la siguiente manera: Inicio, propagación, inhibición y terminación (Figura 4). La prevención de la oxidación primaria es la clave de la función de los antioxidantes (Huang *et al.*, 2005, Serrano, 2010).

Inicio

Propagación

Inhibición

Terminación

Donde R_2N_2 es un compuesto azo, LH es el sustrato y AH es un antioxidante.

Figura 4. Cinética de autoxidación e inhibición de la misma. Formación de radicales libres y acción de antioxidantes (Huang *et al.*, 2005).

1.3.2.1.4 Métodos de cuantificación de la capacidad antioxidante

Los métodos para determinar la capacidad antioxidante se pueden dividir en dos grandes categorías, los basados en la reacción de transferencia de átomo hidrogeno (HAT) y los basados en las reacciones de transferencia de un solo electrón (ET). Los últimos involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del final de la reacción, mientras que los métodos HAT, generalmente usan un compuesto generador de radicales libres, un indicador molecular oxidable y un antioxidante (Huang *et al.*, 2005, Serrano 2010). A continuación se enlistan algunos métodos para sula evaluación de la capacidad antioxidante:

Métodos *in vitro*

- Método de inhibición de consumo de oxígeno (IUO) (Huang *et al.*, 2005)
- Inhibición de autooxidación lipídica (Huang *et al.*, 2005)
- Capacidad de absorbencia del radical oxígeno (ORAC) (Huang *et al.*, 2005)
- Método de blanqueamiento de Crocina (Huang *et al.*, 2005)
- Parámetro total de atrapamiento de radicales por antioxidantes (Huang *et al.*, 2005)
- Fenoles totales por resctivo Folin-Ciocalteau (Huang *et al.*, 2005)
- Capacidad antioxidante en equivalentes Trolox (TEAC) (Huang *et al.*, 2005)
- Poder reductor (Yen y Chen, 1995)
- Potencial antioxidante total usando Cu(II) (Huang *et al.*, 2005)
- Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•) (Huang *et al.*, 2005)
- Sustancias reactivas del ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) (Kamal y Pokorný, 2005)

Métodos *in vivo*.

- Evaluación del efecto citotóxico (Freshney, 1982)
- Absorción de rojo neutro (NRU) (Nadhlala, 2010)
- Evaluación de oxidación de lípidos *in vivo* (El Haffidi y Baños, 1997).

1.3.3 Probioticos

El término prebiótico fue introducido por Gibson y Roberfroid, que definieron como prebiótico aquel componente no digerible de los alimentos que resulta beneficioso para el huésped porque produce una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o varias bacterias del colon (Gibson y Roberfroid, 1995).

La principal función de la flora gastrointestinal radica en prevenir la colonización por microorganismos patógenos al competir por sus nichos ecológicos y sustratos metabólicos.

El metabolismo microbiano supone, además, una importantísima fuente de energía para la pared intestinal, aproximadamente un 50% de los requerimientos diarios, gracias a la fermentación de carbohidratos a ácidos orgánicos. La microbiota intestinal también modula el sistema inmune mediante la inducción de tolerancia y la producción de inmunoestimulantes no inflamatorios (Tuohy *et al.*, 2003).

Los criterios para definir un prebiótico serán: resistencia a la digestión en el intestino delgado, hidrólisis y fermentación por la flora del colon, y estimulación selectiva del crecimiento de bacterias en el mismo. El efecto prebiótico de un carbohidrato se valora en función de su capacidad de estimular la proliferación de bacterias “saludables” o deseables (bifidobacterias, lactobacilos) en detrimento de las no deseables (bacteroides, clostridia, E. coli) (García y Velasco, 2007).

Las bifidobacterias constituyen el 25% de la población bacteriana del adulto. Este grupo de bacterias ha mostrado efectos benéficos a la salud humana: limitan la actividad de las bacterias entero-putrefactas, evitan la proliferación de bacterias patógenas, la síntesis de vitamina B, la inhibición del crecimiento de gérmenes patógenos, disminución del pH intestinal, la disminución del colesterol, protección de infecciones intestinales, estimulación de la función intestinal favoreciendo la digestión y absorción de nutrientes, así como la mejora de la respuesta inmune. Los lactobacilos también presentan efectos saludables, como inhibición de patógenos, disminución del pH intestinal y prevención del sobrecrecimiento bacteriano por candidas, pseudomonas, estafilococos y E. coli durante el tratamiento con antibióticos (García y Velasco, 2007, Fooks, *et al.*, 1999, Bielecka, *et al.*, 2002).

Los xilooligosacáridos presentan un buen aroma y son bajos en calorías, lo que favorece su utilización en dietas de adelgazamiento. Los efectos de los xilooligosacáridos sobre la salud están relacionados principalmente con su acción sobre la flora gastrointestinal, al ser una fuente de carbono para las bifidobacterias, promoviendo su crecimiento. Estas propiedades permiten que los oligosacáridos cumplan los requisitos exigidos para los componentes prebióticos de los alimentos y sean utilizados como ingredientes activos de los alimentos biofuncionales (Suwa, *et al.*, 1999, Jeong, *et al.*, 1998).

2 JUSTIFICACIÓN

Los materiales residuales procedentes de las actividades agrícolas de la cosecha de amaranto pueden someterse a diferentes procesos de fraccionamiento, para su aprovechamiento. El fraccionamiento de estos materiales lignocelulósicos adquiere especial interés por cuanto supondría un beneficio ecológico al eliminar la fuente de contaminación, al tiempo que los dotaría de un valor añadido que no tienen tales residuos.

En la actualidad existe una preocupación por el consumo de antioxidantes en la dieta humana, sobre todo los que se obtienen de fuentes naturales. Las infusiones comerciales (a las que se les atribuye una rica fuente de compuestos antioxidantes) que se comercializan para consumo humano, se obtienen mediante una extracción acuosa. Por lo que se propone realizar una extracción acuosa para obtener compuestos “libres” con actividad antioxidante que representa ser un método fácil sencillo y práctico.

Sin embargo con este proceso de extracción los residuos sólidos que se generan vuelven a representar un foco de contaminación ya que se mantiene intacta la estructura base de estos materiales, así que se podría aprovechar para la obtención compuestos biofuncionales mediante tratamientos químicos y así tener un aprovechamiento integral de estos materiales.

Las células vegetales contienen diferentes moléculas ligadas a su pared que estructuralmente pertenecen a las familias de diversos antioxidantes. Así que se pretende liberar los polifenoles que se encuentran ligados a la matriz lignocelulosica para reincorporarlos a la fibra dietética junto con los antioxidantes libres y así obtener una fibra dietética antioxidante, que a su vez pudiera coadyuvar a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas.

Para este caso las hemicelulosas se utilizarán para la obtención de xilooligosacáridos que son un rico caldo de fermentación para la obtención de xilitol que es un edulcorante para diabéticos; por otra parte está comprobado que los xilooligosacáridos tienen actividad prebiótica para las bifidobacterias que se encuentran en el tracto digestivo humano.

3 HIPÓTESIS

El material lignocelulósico de la planta de amaranto es fuente de antioxidantes naturales, oligosacáridos y otros compuestos que sirven de materia prima para la elaboración de alimentos funcionales.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Obtener compuestos antioxidantes y oligosacáridos a partir del material lignocelulósico de la planta de amaranto (*A. hypochondriacus* L.).

4.2 Objetivos particulares

1. Caracterización química del rastrojo de amaranto.
2. Cuantificar antioxidantes libres y ligados a la matriz lignocelulósica del rastrojo de amaranto.
3. Evaluar la actividad antioxidante, en diferentes sistemas de oxidación-reducción, de polifenoles libres y ligados a la matriz lignocelulósica.
4. Monitorear los azúcares reductores liberados por la hidrólisis ácida.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

En el presente estudio se utilizó hoja (H), tallo (T), dos tipos de rastrojo; RT compuesto de hoja, tallo e inflorescencia; RC compuesto de hoja, tallo, inflorescencia y grano, provenientes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L. recolectada en la zona de Santiago Tulyehualco delegación Xochimilco D.F. en la ciudad de México.

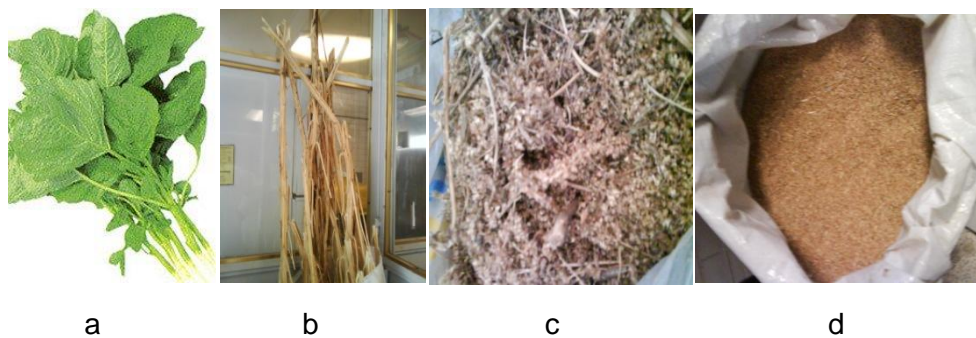


Figura 5. Materias primas utilizadas en el presente trabajo. a) hoja, b) tallo, c) RC y d) RT

5.2 Estrategia general de trabajo

La estrategia general de trabajo que se siguió para la obtención de los extractos acuosos (EA) con actividad antioxidante a partir de las diferentes partes vegetativas de la planta de amaranto se muestra en la Figura 6. La estrategia general de trabajo que se siguió para la obtención de los hidrolizados con actividad antioxidante y con presencia de oligosacáridos a partir de los residuos sólidos obtenidos de la extracción acuosa y de la fibra dietética insoluble de las diferentes partes vegetativas del amaranto se muestra en la Figura 11. Durante el desarrollo del presente trabajo los experimentos realizados fueron por triplicado y el valor reportado es la media de estos.

5.3 Obtención de las Harinas

Se realizó la molienda de la hoja, tallo y de los rastrojos (RT y RC) de la planta de amaranto, con un molino Braun KSM2 (4), y el tamizado se realizó en un tamiz MONTINOX 0165 con una abertura de malla de 420 micrones (malla NO. 40).

5.4 Análisis químico proximal de las diferentes partes del amaranto

El análisis químico proximal se llevó a cabo siguiendo las metodologías oficiales de la A.O.A.C. (2000). Determinación de humedad por el método de la estufa (método No. 14004); determinación de cenizas por incineración (método No. 14006); determinación de proteína cruda por Kjeldahl (método No. 2.049); determinación de fibra cruda por hidrólisis ácida y alcalina (método No. 7.054); determinación de extracto etéreo por el método de Soxhlet (método No.7.056); y determinación de extracto libre de nitrógeno (por diferencia).

5.5 Análisis químico

El análisis químico se llevó a cabo siguiendo las metodologías oficiales TAPPI. (Technical Association of the Pulp and Paper Industry). Preparación de la madera (T 264 cm 1997), cenizas (T 211 om 1993), extraíbles con solventes orgánicos y agua caliente (T 204 cm 1997, T 207 cm 1999), lignina Klason (T 222 om 1998), holocelulosa (Wise 1946), pentosanos (UM 236 1939, T223 cm 1984) α -celulosa (T 9m- 54 1954), carbohidratos (HPLC). Estas técnicas son aplicables también a materiales lignocelulósicos no maderables. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

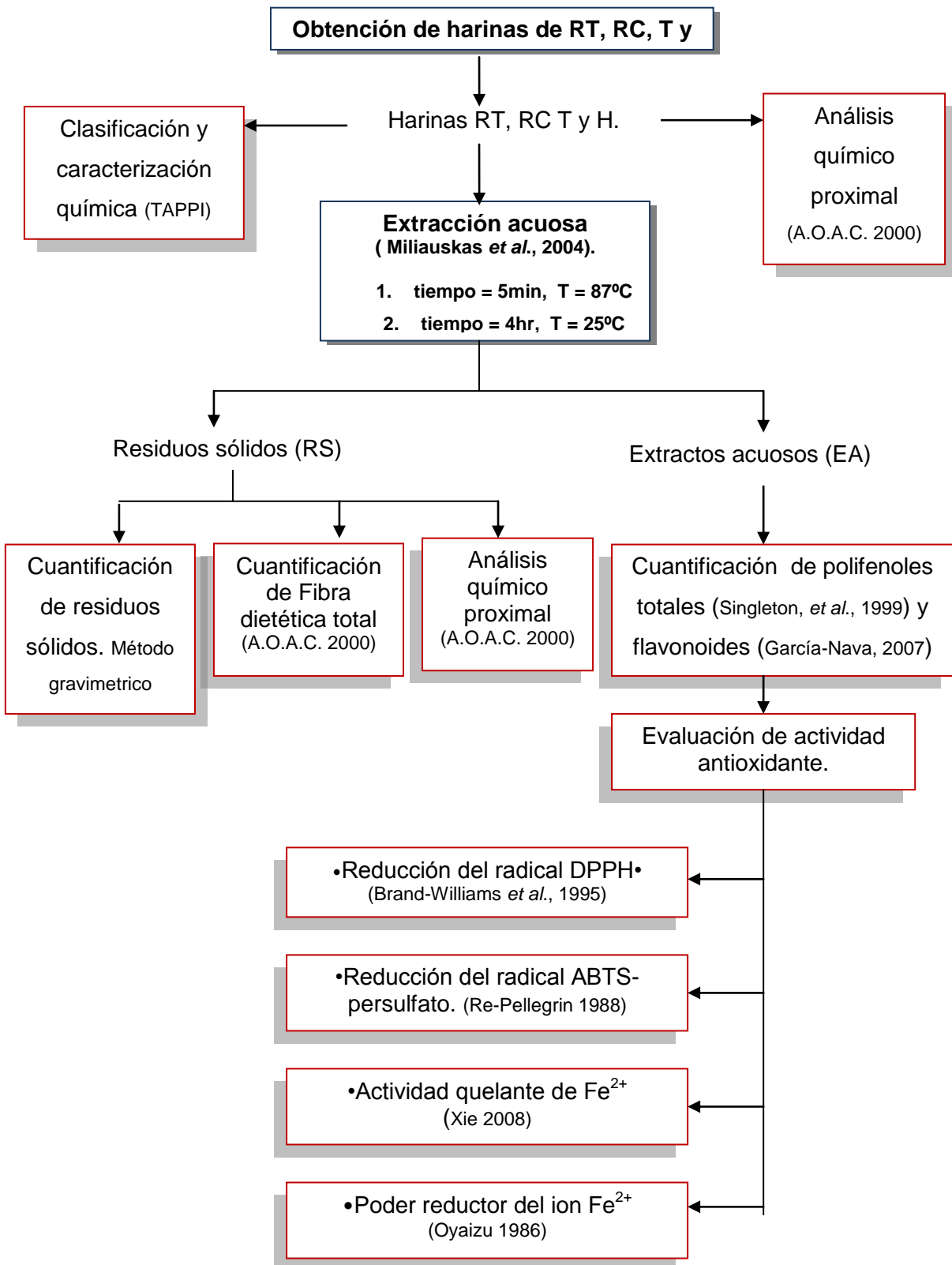


Figura 6. Estrategia general de trabajo para la obtención de EA de las diferentes partes de la planta de amaranto.

5.6 Extracción acuosa

La obtención de los extractos acuosos (EA) se basa en el método propuesto por Miliauskas *et al.*, 2004 (Figura 7). La extracción acuosa para obtener la fracción de polifenoles totales libres en cada una de las partes de la planta de amaranto se llevo a cabo en una relación 1:20 (p/V) con agua destilada, probando dos condiciones de extracción. Condición 1. Se coloco la muestra con el agua destilada con agitación constante y uniforme durante un periodo de 4 horas. Condición 2. Se calentó el agua destilada hasta ebullición y se agrego la muestra, se dejo ebulir por 5 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se filtro para hacer una primera separación de sólidos (1) y de EA (1). Los extractos acuosos (1) se centrifugaron a 3000rpm durante 15 minutos. Se separó el sobrenadante de los residuos sólidos (2). Los residuos 1 y 2 se juntan. El sobrenadante resultante se guarda en frascos a 4°C para su posterior análisis.

5.7 Cuantificación de residuos sólidos

Los residuos sólidos (RS) resultantes de esta extracción se secan al sol, y posteriormente se llevan a peso constante manteniéndolo a 100°C durante 3h en estufa. Se registran los pesos en cada etapa. Se guardan para su posterior análisis.

Donde:

RRS: Rendimiento de residuos sólidos

RS_{seco}: Residuo solido llevado a peso constante

W_{muestra}: Peso inicial de la muestra

5.8 Cuantificación de fibra dietética total

La cuantificación de la fibra dietética total se llevó a cabo siguiendo los métodos oficiales 985.29 y 991.43 de la A.O.A.C. 2000.

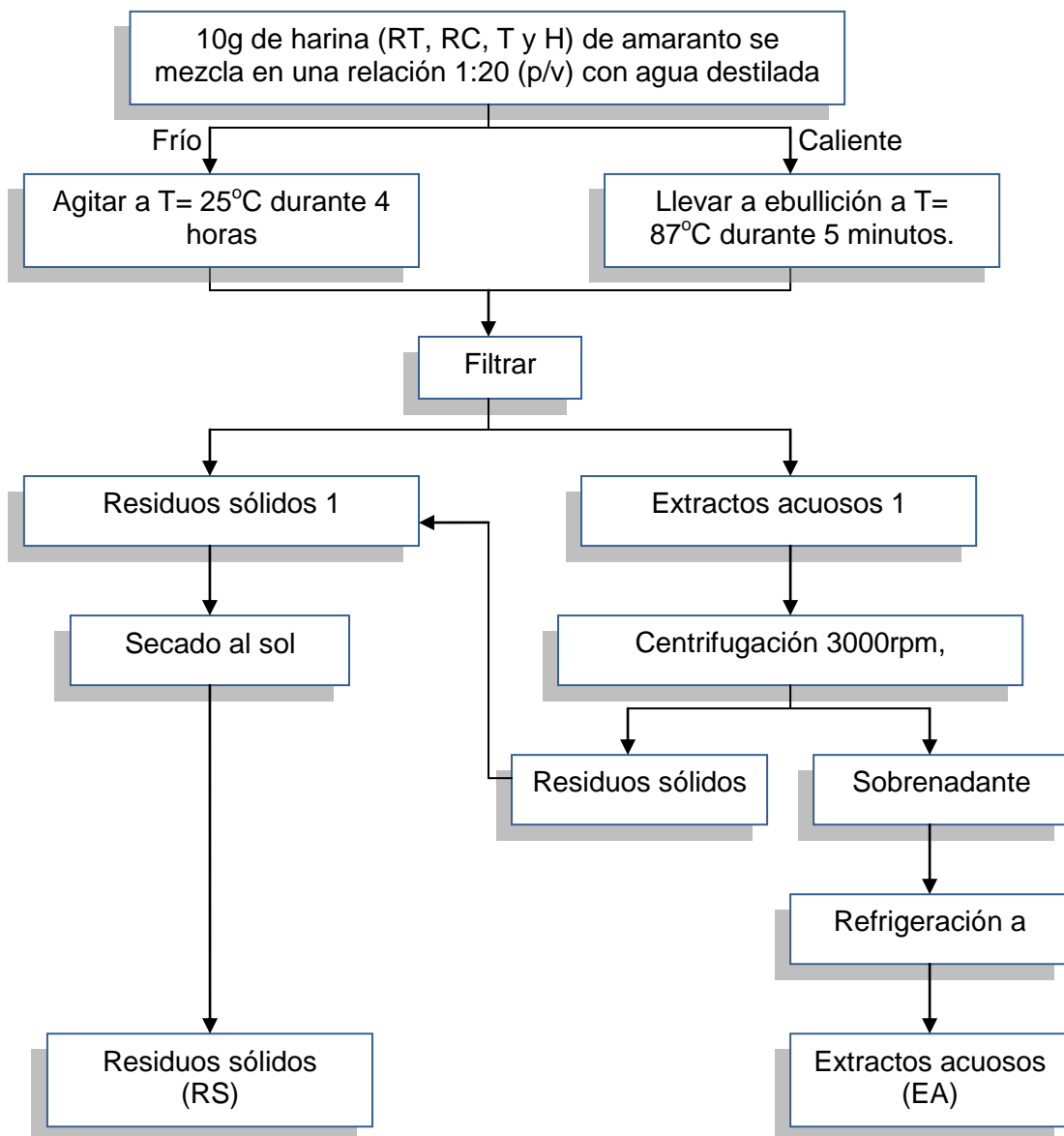


Figura 7. Estrategia experimental para la extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de amaranto.

5.9 Tratamiento enzimático

El tratamiento enzimático se llevo a cabo siguiendo la metodología para la cuantificación de la fibra dietética insoluble método 985.29 y 991.43 A.O.A.C 2000. (Figura 8). Los RS obtenidos de la extracción acuosa se homogenizan y se pasa por un tamiz MONTINOX 0165 con una abertura de malla de 420 micrones (malla NO. 40). Las harinas obtenidas se desengrasan con acetona (5 mL/g) en agitación constante a temperatura ambiente durante 16 h. (3 repeticiones) seguida de filtración al vacío en una campana de extracción, y se pasa nuevamente por el tamiz de malla 40 para homogenizar el tamaño de partícula.

La muestra de 1 g de harina desengrasada se mezcló con 25 mL de buffer de fosfato de sodio 0.1M, pH 6, se adiciono 100 μ L de Termamyl [α -amilasa (EC 3.2.1.1) Tipo XII-A de *Bacillus licheniformis*, producto Sigma[®]], se incubo con agitación suave durante 15 minutos en baño de agua hirviendo. Posteriormente se enfrió y adiciono 200 mL de agua destilada y se ajusto el pH a 1.5 con HCl 4M. Se adiciono 100 mg de pepsina [Pessin A; (EC 3.4.23.1) 1:10000 extraída de la mucosa de estomago, producto Sigma[®]], se incubo a 40°C con agitación constante durante 1 h. Se adiciono 20 mL de agua destilada y se ajusto el pH a 6.8 con NaOH 4M. Se adiciono 100 mg de pancreatina (extraída de el pancrea de porcino, producto Sigma[®]), se incubo a 40°C con agitación constante durante 1h. Se ajusto el pH a 4.5 con HCL 4M. Se agrego 35 μ L de amiloglucosidasa (Solución de amiloglucosidasa de *Aspergillus niger*, producto Sigma[®]) se incubo a 60°C durante 30 min con agitación constante.

Posteriormente se centrifuga la suspensión a 5000 rpm por 15 min a 4°C. El sobrenadante se desecha y los residuos se lavan con 10 mL de agua destilada (2 veces) seguido de un lavado con 10 mL de etanol al 95% (2 veces) y por último se lavan con 10 mL de acetona. Se transfiere a una charola y se seca en una estufa a 105°C. La fibra insoluble (FI) resultante se guardo en frascos para su posterior utilización.

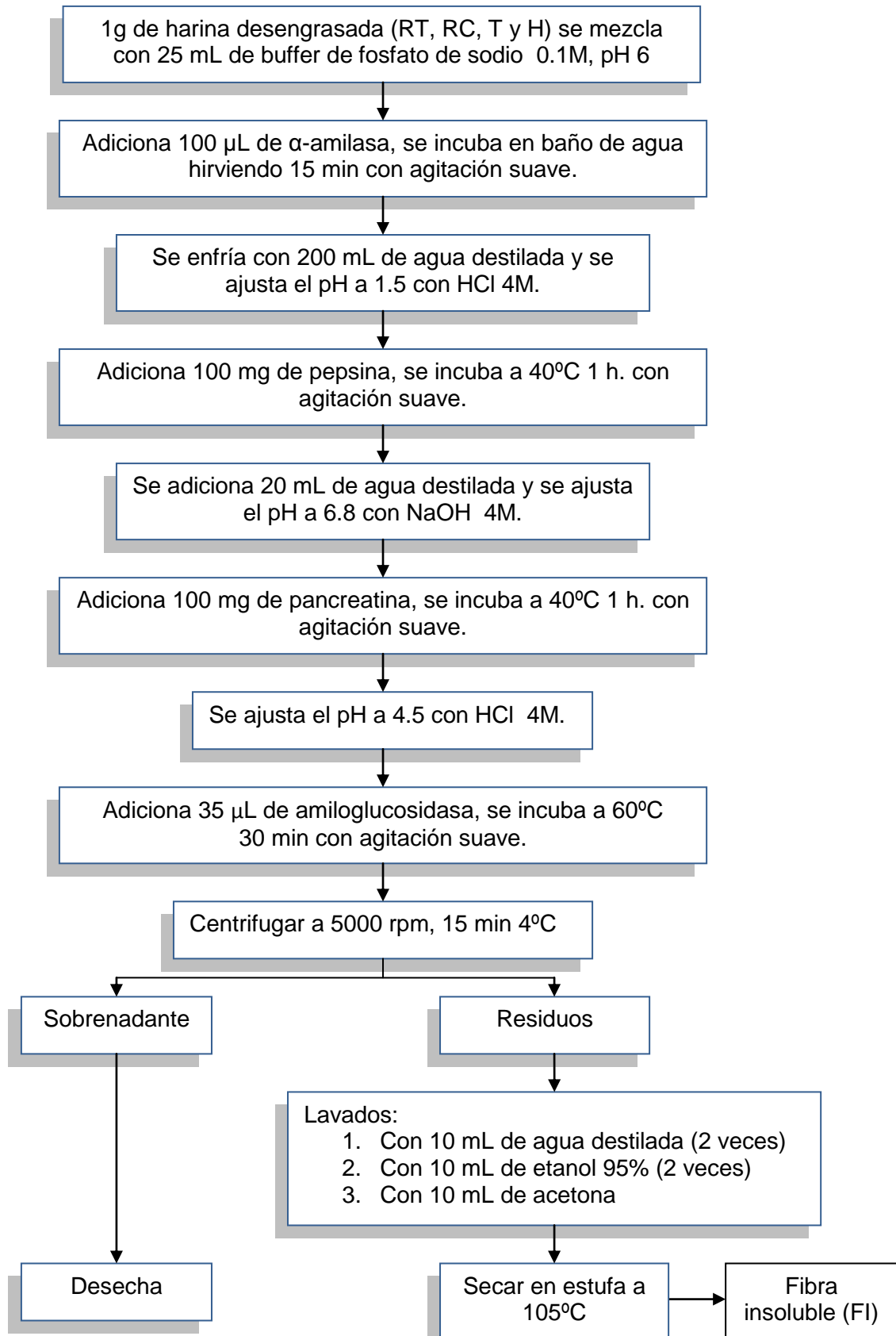


Figura 8. Tratamiento enzimático basado en los métodos 985.29 y 991.43 de la A.O.A.C 2000, para la obtención de fibra dietética insoluble.

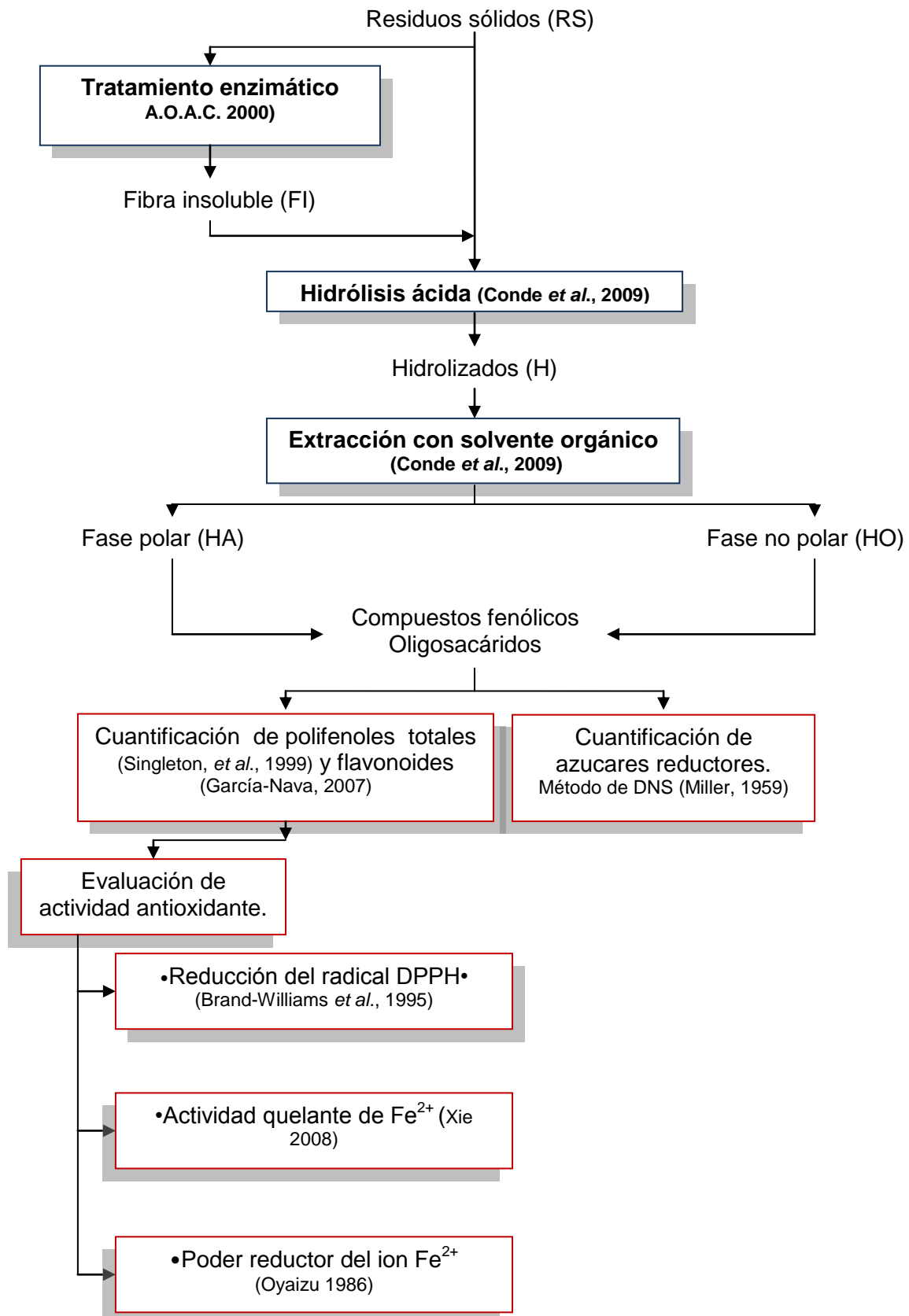


Figura 9. Estrategia general de trabajo para la obtención de hidrolizados de las diferentes partes de la planta de amaranto.

5.10 Hidrólisis ácida

Los compuestos fenólicos y oligosacáridos de las diferentes partes de la planta de amaranto son liberados mediante una hidrólisis ácida siguiendo el método de Conde, 2009 (Figura 9). Las muestras de RS y FI se colocaron en tubos de ensaye y se mezclaron con ácido sulfúrico 2.5, 5 y 7.5% (v/v) en una relación 1:16 (p/v). Se colocaron en autoclave manteniendo condiciones isotérmicas de 121°C con presión de 15 lb/pg. durante 30, 60, 90, 120 y 150 min para obtener compuestos fenólicos (Figura 10). Para la obtención de oligosacáridos se siguieron las mismas condiciones durante 30, 60 y 90 min (Figura 11). Posteriormente se filtraron. Los hidrolizados (H) resultantes se neutralizaron (pH 7) con solución saturada carbonato de sodio. Se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos (Figura 9). Los residuos se desecharon y el sobrenadante se guardó a 4°C.

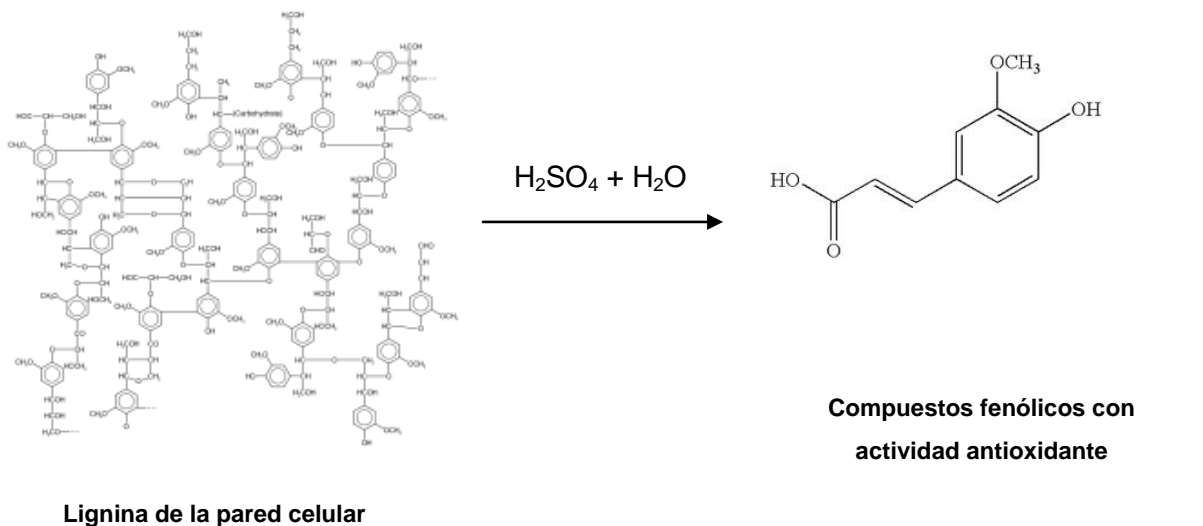


Figura 10. Reacción de liberación de compuestos fenólicos a partir de lignina.

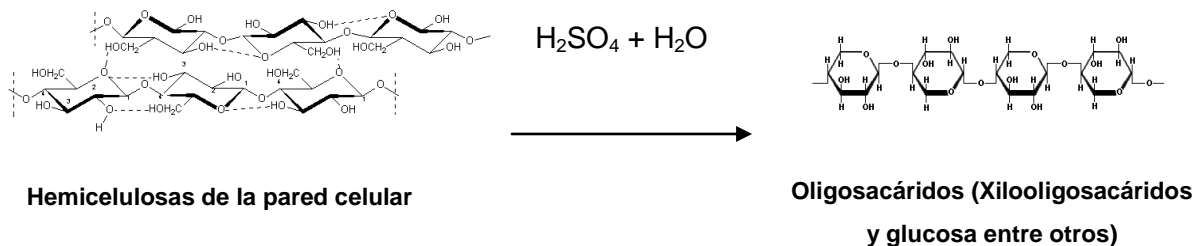


Figura 11. Reacción de liberación de los xilooligosacáridos de las hemicelulosas.

5.11 Extracción con solvente orgánico

La extracción se llevo acabo de acuerdo a lo descrito por Conde (2009). Los hidrolizados se someten a una extracción con acetato de etilo 1:3 (v/v) en un embudo de separación, se deja que se separen las fases y se decanta recolectando por separado, este proceso se repite 3 veces (Figura 9). El solvente es recuperado con un rotavapor, estos compuestos se resuspenden con 10 mL de metanol. Se obtiene la fase polar (HA) y la fase no polar (HO), ambas fases se mantienen a 4°C hasta su utilización.

5.12 Cuantificación de polifenoles totales

Los compuestos fenólicos fueron cuantificados de acuerdo a Singleton (1999), por el método de Folin Ciocalteu. Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo bajo condiciones alcalinas, por lo que la disociación de protones fenólicos da lugar a un anión fenolato que es capaz de reducir al reactivo de Folin-Ciocalteu. Se forma un complejo azul entre el fenolato y el reactivo independientemente de la estructura del compuesto fenólico, como se observa en la Figura 12 (Huang *et al.*, 2005).

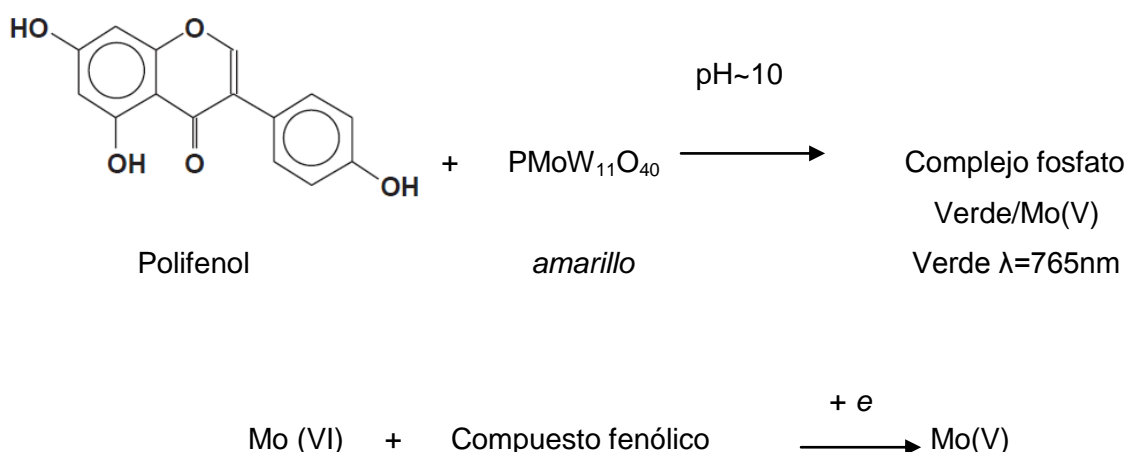


Figura 12. Reacción de los compuestos polifenólicos con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de molibdato de sodio (25 g), tungstato de sodio (100 g), ácido clorhídrico concentrado (100 mL), ácido fosfórico al 85% (50 mL) y agua destilada (700 mL). Esta mezcla se debe ebulir por 10 h. Después se agrega sulfato de sodio (150 g) dando como resultado una solución de color amarillo intenso. La reacción de este reactivo con reductores le confiere color verde.

Se mezcló 500 μL de muestra con 4.5 mL de agua destilada, se agregó 200 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 500 μL de solución saturada de Na_2CO_3 , se agito para mezclar perfectamente en un vortex, por último se agregó 4.3 mL de agua destilada. Se dejó reposar 1 h. al resguardo de la luz, se leyó la absorbencia a 765 nm. El contenido total de polifenoles fue calculado en equivalentes de ácido gálico (eq. AG) y en equivalentes de trolox (eq. T).

5.13 Cuantificación de flavonoides

El contenido de flavonoides fue determinado según Garcia-Nava (2007). Los grupos hidroxilo de las posiciones 4' y 5' en flavonoides, son revelados por desplazamiento batocrómico causado por la reacción con cloruro de aluminio (Figura 13).

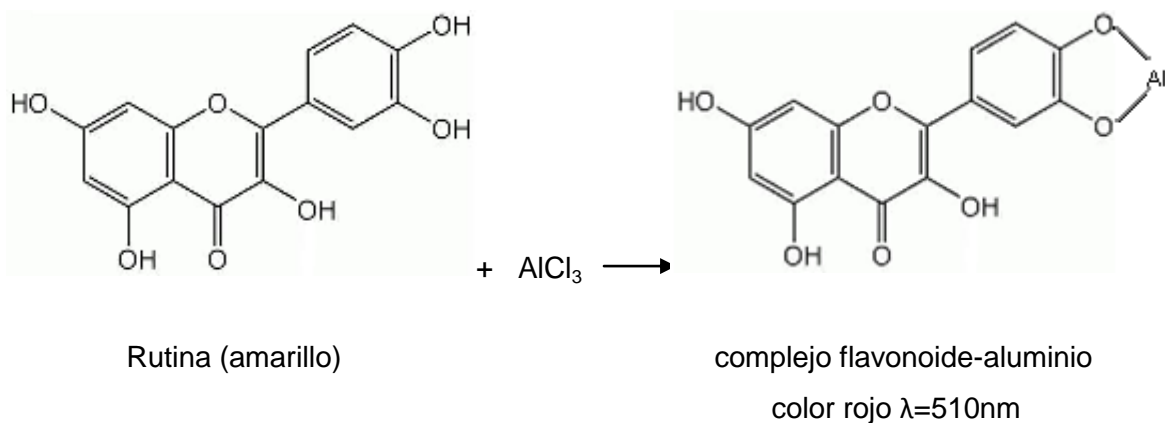


Figura 13. Reacción de flavonoides (rutina) con tricloruro de aluminio (O'Coinceanainn *et al.*, 2003)

Se tomaron 100 μL de la muestra, diluido con 1250 μL de agua destilada y se mezcló con 75 μL de NaNO_2 al 5%. Se dejó reposar por 6 min., se adicionó 150 μL de AlCl_3 al 10% dejando reposar por 5 min después se le adicionaron 500 μL de NaOH 1 M y 425 μL de agua destilada. La absorbencia fue leída inmediatamente a 510 nm. Se determinan usando rutina como compuesto de referencia.

5.14 Evaluación de la capacidad antioxidante

5.14.1 Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)

La capacidad de reducción del DPPH• por las muestras fue evaluada según Brand-Williams (1995). El DPPH• en su forma radical presenta compuesto colorido púrpura alcanzando una absorción máxima a 517 nm en espectrofotómetro de UV-Vis. En su forma reducida posterior a la presencia de antioxidantes con los radicales, el DPPH• se torna color amarillo. La reacción de reducción del radical DPPH• se observa en la Figura 14. La decoloración de este compuesto en presencia de los compuestos antioxidantes, se monitorea para determinar la concentración de antioxidantes en la muestra de estudio. (Brand-Williams *et al.*, 1995).

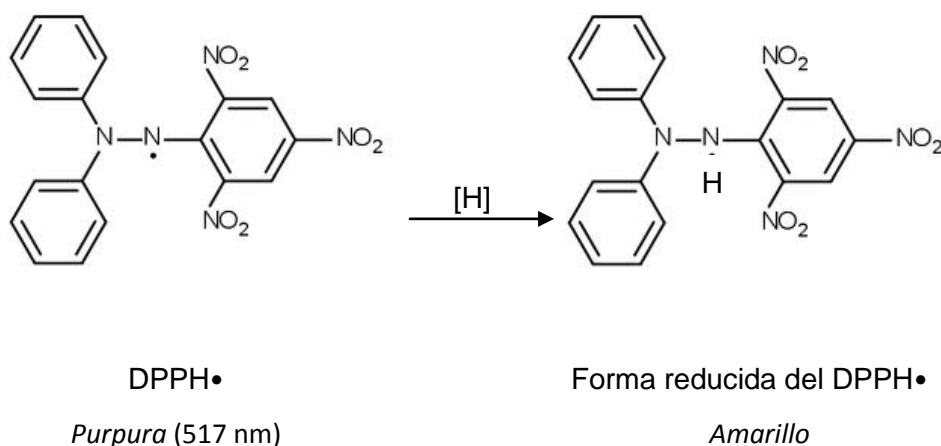


Figura 14. Reacción de reducción del radical DPPH•

Se mezcló 300 μL de solución de DPPH \cdot en metanol (0.5 mM) con 500 μL de la muestra. Se adicionan 3.0 mL de metanol. La cinética de decoloración se monitorea a 517 nm por un tiempo exacto de 45 minutos. El porcentaje de inhibición del radical se calculó con la siguiente ecuación.

A_{blanco} = Absorbencia del control negativo en el momento de la preparación de la solución

A_{muestra} = Absorbencia de la muestra después de 45 min.

5.14.2 Método de decoloración del radical catiónico ABTS

La capacidad de reducción del radical catiónico ABTS por las muestras se evaluó según Re-Pellegrin (1988). En una versión mejorada del método original (Miller y cols., 1993), el ABTS $^+$ es generado por su oxidación a causa de la exposición con persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) obteniéndose el radical catiónico ABTS $^{\cdot+}$ o el dicatión ABTS $^{2+}$ (Figura 15), se caracterizan por poseer un color verde-azul intenso. Este radical presenta una estabilidad química elevada, su máxima absorción UV-visible es a 728 nm.

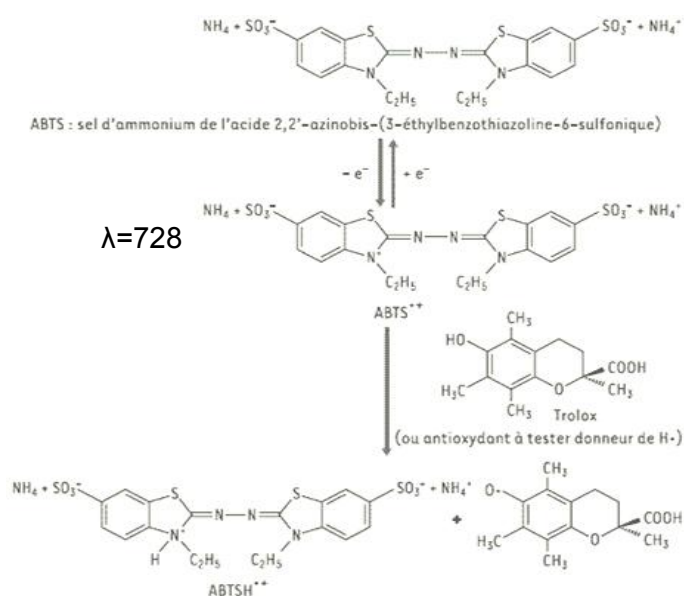


Figura 15. Formación del radical catiónico ABTS, y reacción en presencia de un antioxidante (Trolox), para su estabilización (http://web.tn.refer.org/hedhili/potentiel_antioxydant.html).

Se mezcló una solución 7 mM de ABTS con una solución 2.45 mM de persulfato de potasio en agua, se mantuvo a temperatura ambiente durante 16 horas hasta obtener una solución azul oscuro intenso. Se diluyó en agua teniendo un volumen total de 3 mL, hasta alcanzar una absorbencia de 0.7 leído a 734 nm. Esta solución se mezcló con 10 μ L de la muestra. La absorbencia se monitoreó cada minuto, por un tiempo total de 6 min. a 30°C. La capacidad de reducción de radicales se calculó mediante la siguiente ecuación:

A_{final} = Absorbencia medida a los 6 minutos

$A_{inicial}$ = Absorbencia inicial de la mezcla

5.14.3 Poder reductor

El poder reductor presente en las muestras se llevó a cabo según Oyaizu (1986). El hexacianoferrato de potasio ($K_4[Fe(CN)_6]$), con Fe^{3+} se reduce en presencia de compuestos antioxidantes a Fe^{2+} , formando un complejo $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$ de color azul que absorbe a una longitud de onda de 700 nm como se muestra en la Figura 16 (Yen y Chen, 1995).

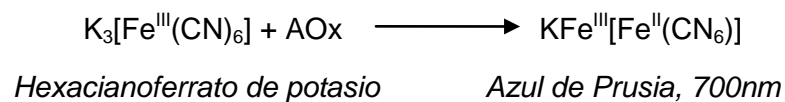


Figura 16. Formación del complejo colorido con hexacianoferrato de potasio para la evaluación del poder reductor.

Se mezcló 500 μL de muestra con 500 μL de hexacianoferrato de potasio al 1%, se incubó a 50°C durante 20 min. Se añadió 500 μL de ácido tricloroacético al 10% y se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. El sobrenadante resultante se mezcló con 500 μL de agua destilada y 500 μL de cloruro ferrico 0.1%. Transcurridos 10 min se leyó absorbencia a 700 nm. Se utilizó glutatión como referencia.

5.14.4 Actividad quelante sobre el ión Fe^{2+}

La evaluación de la actividad quelante que presentaron las muestras se llevó a cabo según Xie (2008). El Fe^{2+} forma un complejo con 3 moléculas de ferrozina de color púrpura que presenta absorbencia máxima a 562nm. En presencia de compuestos antioxidantes el Fe^{2+} puede quelarse y la intensidad de color púrpura del complejo con ferrozina es menor, ya que es proporcional a la concentración del antioxidante de la muestra de interés (Figura 17).

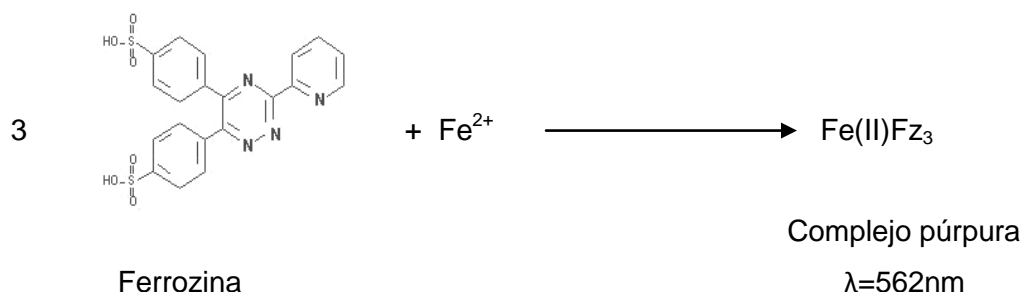


Figura 17. Quelación del ión Fe^{2+} y formación del complejo colorido del ión Fe^{2+} con la ferrozina cuando no hay presencia de compuestos antioxidantes.

Se mezcló 1 mL de muestra con 50 μL de dicloruro de hierro 2mM y 1.85 mL de agua desionizada. Se dejó reposar 3 min. y se adicionaron 100 μL de ferrozina 5 mM mezclando vigorosamente. Transcurridos 10 minutos a temperatura ambiente se leyó la absorbencia a 562 nm. El porcentaje de quelación se determinó mediante la siguiente fórmula:

5.15 Cuantificación de azúcares reductores

La presencia de azúcares reductores de las muestras se cuantificaron por el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) según Miller (1959) con algunas modificaciones. El compuesto DNS (color amarillo) se reduce en presencia de azúcares con un extremo reductor al ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (color rojo ladrillo) cuya presencia puede detectarse en una zona de abasorbencia de 540-570 nm (Figura 18).

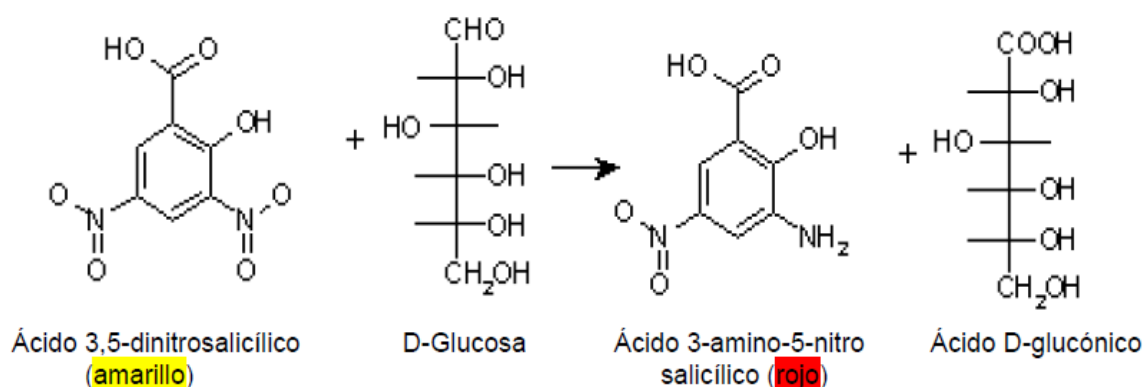


Figura 18. Reducción del ácido 3,5-dinitrosalicílico en presencia de un azúcar reductor a ácido 3-amino-5-nitrosalicílico (<http://www.uco.es>)

Para la preparación de DNS se mezcló 1g de 3,5-dinitrosalicílico, 1g de NaOH, 0.05g de Na₂SO₃ anhidro y 0.2g de cristales de fenol en 100 mL de agua destilada. Este reactivo se conservó a resguardo de la luz y fue estable hasta una semana. Se mezcló 0.5 mL del reactivo del DNS con 0.5 mL de la muestra. Se agitó en vortex. Se llevó a ebullición durante 5 minutos en baño maría. Se enfrió a temperatura ambiente. Se adicionó 5 mL de agua destilada y se agitó, se dejó reposar durante 15 min y se midió la absorbencia a 540 nm. El contenido de azúcares reductores en las muestras se calculó mediante la curva patrón que se muestra en el anexo G, y se expresa la concentración en mg de glucosa.

6 Resultados y discusión

6.1 Análisis químico proximal de las diferentes partes del amaranto

6.1.1 Análisis de los materiales en crudo

En la Tabla 3, se muestra el análisis químico proximal de las diferentes partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L. Los resultados están expresados en base húmeda y en base seca. Se utilizó el factor de 6.25 para la conversión de nitrógeno total en proteína cruda. El extracto libre de nitrógeno se determinó por diferencia.

Tabla 3. Análisis químico proximal de las diferentes partes de la planta del amaranto

Análisis	Rastrojo T		Rastrojo C		Tallo		Hoja	
	BH	BS	BH	BS	BH	BS	BH	BS
	(g/100g)							
Humedad	4.5±0.38	-	4.1±0.12	-	6.4±0.38	-	5.8±0.15	-
Proteína	8.4±0.33	8.8±0.35	13.5±0.25	14.1±0.26	1.7±0.018	1.8±0.02	18.4±0.61	19.6±0.65
Extracto etéreo	2.5±0.28	2.6±0.3	4.3±0.18	4.4±0.2	0.9±0.1	1.0±0.1	4.9±0.18	5.4±0.19
Fibra	21.0±1.3	21.5±1.36	8.4±0.59	8.5±0.59	41.7±1.62	44.1±1.72	8.2±0.51	8.2±0.52
Cenizas	6.4±0.11	6.6±0.12	9.7±0.18	10.2±0.19	2.4±0.05	2.4±0.05	11.7±0.23	12.1±0.24
ELN*	57.2	60.5	60.0	62.8	46.9	50.7	49.0	54.7

RC y RT=rastrojo de amaranto, BH= Base húmeda, BS= Base seca, * ELN= Extracto libre de nitrógeno, se calculó por diferencia a 100.

Análisis previos por Soriano-Santos (2008), muestra que la harina de hoja tiene una composición muy similar a la que se encontró en este estudio.

La proteína se encuentra en mayor proporción en la hoja y en el RC, esto es debido a que el RC aproximadamente el 40% es grano de amaranto y el resto es tallo, hoja e inflorescencia, y cabe mencionar que el grano de amaranto es una fuente rica de proteínas de buena calidad que se denominan así porque contienen los aminoácidos esenciales en su estructura (Morales, 2009), así como la hoja. Morales *et al.*, 2009,

reporta para *A. hypochondriacus* un contenido de 21.6% para la hoja, 15% por arriba de lo encontrado. Se tiene un contenido de fibra importante en el tallo y en el RT, esto debido a que el tallo es la parte de la planta en donde se encuentra la mayor cantidad de material lignocelulósico (lignina, hemicelulosas y celulosa) y en el RT ya que como en su conjunto tiene tallo, hoja e inflorescencia, y esto le confiere que tenga gran cantidad de material lignocelulósico. Ambas fracciones serían una fuente rica de obtención de fibra dietética para la industria alimentaria. Morales et al., 2009, reporta para hoja de esta misma especie un 30% por arriba (11.8%) de lo encontrado.

6.2 Distribución del tamaño de partícula de las partes vegetativas del amaranto

La clasificación por tamaño de partícula se muestra en la Tabla 4. Para llevar a cabo la caracterización química es necesario realizar una clasificación de los materiales, en este caso de las harinas obtenidas de las partes vegetativas del amaranto en crudo, esta clasificación se realizó en un tamiz vibratorio (Ro-Tap) en el Departamento de Madera, Celulosa y Papel de la Universidad de Guadalajara.

Tabla 4. Clasificación por tamaño de partícula de las harinas de amaranto

Malla	Hoja %	Tallo %	Rastrojo T %	Rastrojo C %
R-40 (420 µm)	1.6	4.1	1.3	0.5
R-60 (250 µm)	15.3	28.1	28.0	31
R-100 (149 µm)	26.6	18.5	31.2	30.8
Finos	54.3	46.4	38.7	35.7
Pérdidas	2.0	2.9	0.8	2.0

R= retenido

Las que se emplearon en la caracterización química fueron las que pasaron por la malla 40 y quedaron retenidas en la 60, con lo que se asegura tener un tamaño de partícula entre 250 a 420 µm (método T 257), se tuvo hasta un 30.8% en RC y de 15.3% en hoja. Las harinas obtenidas en las diferentes partes de la planta de amaranto tienen en su mayoría partículas muy pequeñas menores a 145 µm (finos) por lo que esto le facilita la suspensión en los extractos acuosos (EA).

6.3 Análisis químico

En la Tabla 5, se muestran los análisis químicos que se determinaron en el Departamento de Celulosa y Papel, “Ing. Karl Augustín Grellmann”, de la División de Ingenierías del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI), en la Universidad de Guadalajara. El análisis se expresa en base seca. La α -celulosa se determinó a partir de holocelulosa. Los resultados de la Tabla 5 fueron obtenidos de acuerdo a los métodos TAPPI utilizados. Se hace una comparación del olote de maíz con las diferentes partes vegetativas de la planta de amaranto y el rastrojo de amaranto, desde el punto de vista de su contenido de material lignocelulósico (Celulosa, lignina y pentosanos).

Tabla 5. Composición química de las diferentes partes de la planta de amaranto según los métodos TAPPI

Análisis	Rastrojo T (g/100g)	Rastrojo C (g/100g)	Tallo seco (g/100g)	Hoja seca (g/100g)	Olote De maíz* (g/100g)
Cenizas	6.6±0.07	10.0±0.2	1.95±0.08	7,2±0,2	1.5
E <i>Etanol-benceno</i>	13.5±0.4	11.5±0.4	7.6±0.3	7.9 ±0.15	ND
X <i>Etanol</i>	9.8±0.45	3.9±0.1	4.5±0.09	5.1 ±0.16	2
T <i>Agua</i>	20.7±0.8	8.5±0.3	11.1±0.48	6.5 ±0.27	2.6
R <i>Material libre de extractos</i>					
A Lignina	16.9±0.25	7.5±0.6	21.2±0.5	14.9 ±0.41	16.3
I Holocelusosa	77.3±0.78	38.5±2.3	85±0.54	75.9 ±0.6	73
B α-Celulosa**	48.7	22.4	64.4	44.7	64.8
L Pentosanos	18.2±0.29	7.9±0.08	21.1±0.42	16.5±0.35	28.7
E					
S					

*Cordoba et al.,2010

** α -Celulosa se determinó a partir de holocelulosa

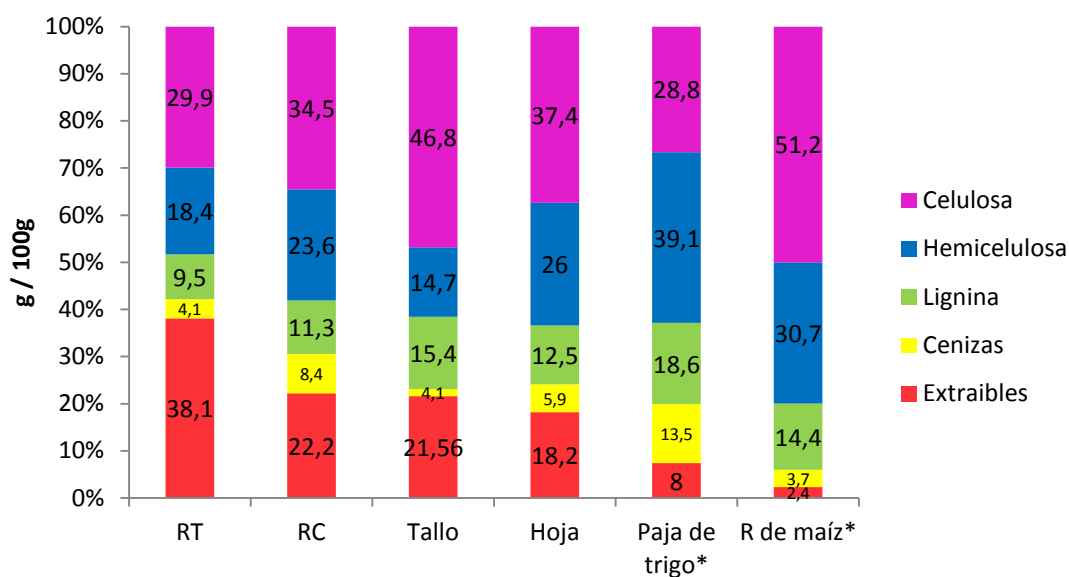
Los métodos TAPPI son métodos específicos para madera y se pueden aplicar a especies no maderables. Por lo que se pudieron aplicar a los materiales de estudio para su caracterización química. Por otro lado es importante mencionar que fue necesario homogenizar el tamaño de partícula entre 250 a 420 μm para cuidar que en las

reacciones en cada método fuera preciso. Además de que los materiales son ricos en compuestos extraíbles fue necesaria la extracción de ellos para que las posteriores cuantificaciones de los compuestos estructurales no se vieran afectadas u alteradas debido a su presencia.

De los resultados obtenidos de compuestos extraíbles se puede observar claramente que el tallo y la hoja tienen un contenido muy parecido (7.6, 7.9g, respectivamente) de ceras, grasas, resinas y algunas gomas de baja polaridad, mientras que los rastrojos es superior su contenido (13.5, 11.5g, respectivamente). El rastrojo T es rico en taninos, gomas de alta polaridad, azúcares, almidones y material colorante en comparación con el rastrojo C, el tallo y la hoja. El rastrojo C es que le presenta el menor contenido en todos los componentes estructurales, esto es debido a que RC está compuesto de aproximadamente 60% de hoja tallo y fluorescencia, y el 40% restante es grano que como se sabe es rico en proteína, lo cual se confirma con el análisis bromatológico.

La Gráfica 1 muestra el análisis químico de los materiales, expresando porcentaje y que corresponde a los diferentes materiales de estudio en crudo.

Se puede observar que el contenido de extraíbles totales en todas las partes vegetativas del amaranto es superior al que presenta el olote de maíz (que es un desecho agrícola como lo es el rastrojo de amaranto) (Cordoba *et al.*, 2010) al rastrojo de maíz y a la paja de trigo (Demirbas 1998), Este es un aspecto importante en el presente estudio ya que se tiene el interés por obtener extractos acuosos que contengan polifenoles (principalmente) y que se encuentren presentes de manera “libre” (Saura-Calixto 1988), con ello se pretende proponer un método de extracción sencillo y práctico, que no genere costos excesivos para su obtención. No se probaron extracciones con solventes orgánicos como el metanol o mezclas de metanol-agua, ya que los extractos se pretenden emplear en la industria alimentaria para consumo humano.



Gráfica 1. Análisis sumativo de la composición química de las diferentes partes de la planta de amaranto

El contenido de celulosa fue determinado a partir de la holocelulosa la cual está compuesta principalmente de Hemicelulosas y celulosa. El contenido de celulosa resultó de la separación con las hemicelulosas ya que se sometió a un tratamiento muy severo e cual permitió su fraccionamiento dejando la celulosa libre que fuera cuantificada por un método gravimétrico. El contenido de celulosa presente en el tallo es semejante al contenido presente en rastrojo de maíz, y su contenido está por encima del presente en paja de trigo (Demirbas, 1998) (Gráfica 1), lo que es muestra que pudiera ser una materia prima para fermentaciones en la búsqueda de biocombustibles (Jefferson, 2006 y Semelsberger *et al.*, 2007)). El contenido de cenizas presente en las diferentes muestras esta dentro del rango que maneja el rastrojo de maíz y la paja de trigo.

El método de determinación para lignina fue el de lignina klasón, que es aquella estructura insoluble en ácido sulfúrico al 72%, lo cual es un tratamiento muy agresivo, que descompondrá en su mayoría a la celulosa y hemicelulosas presentes. Se observó que el contenido de lignina de todas las partes de la planta está cercano a los rangos en los que se encuentra el rastrojo de maíz y la paja de trigo (Demirbas, 1998) (Gráfica 1).

Este es uno de los componentes de mayor interés en el presente estudio, ya que la matriz de la lignina es de naturaleza fenólica, y se sabe que en las plantas, la lignina está ligada a las hemicelulosas con diferentes compuestos, uno de ellos el ácido ferúlico que se sabe se encuentra esterificado a las hemicelulosas (Jeffries, 1990) y con componentes en la lignina vía enlaces éter (Scalbert, 1985). En las dicotiledóneas, como el azúcar la remolacha, semejantes al amaranto, el ácido ferúlico esta esterificado en el C-2 al grupo hidroxilo de arabinofuranosa o en el C-6 al grupo hidroxilo de los residuos de la galactopiranososa de las cadenas laterales pécticas (Brézillon *et al.*, 1996).

El contenido de hemicelulosas presente en todas las partes vegetativas de la planta de amaranto es menor al que tienen el rastrojo de maíz y la paja de trigo (Demirbas 1998), De las partes de la planta del amaranto estudiadas el RC y la hoja son los que presentan un contenido mayor de hemicelulosas.

Tabla 6. Tabla comparativa del contenido de hemicelulosas y la fracción que corresponde a pentosanos.

Compuesto	RT	RC	Tallo (g/100g)	Hoja
Hemicelulosa	17	27.2	14.6	25.2
Pentosanos	10.3	6.2	16.1	12.3

Es importante conocer el contenido de hemicelulosas, polisacáridos constituidos principalmente por tres tipos de hexosas (glucosa, manosa y galactosa) y dos pentosas (xilosa y arabinosa) (Holtzapple, 1993), siendo el polímero de unidades de xilosa (xilanas) el compuesto de interés en el presente estudio ya que se sabe tiene un efecto prebiótico alimentando selectivamente a las bacterias (bifidobacterias) en el tracto digestivo y estimulando su crecimiento (Mandalari, *et al.*, 2007). El porcentaje de pentosanos que están presentes en los materiales de estudio se muestra en la Tabla 6. El método de cuantificación de pentosanos T 223, es una técnica precisa ya que se basa en la determinación volumétrica de furfural por brominación (Launer y Wilson, 1930), que se genera únicamente de pentosas que están presentes en la muestra. Ahora bien si se compara el contenido de hemicelulosas presente en las diferentes partes vegetativas de la planta de amaranto, con el contenido de pentosanos se puede observar que para el

caso del rastrojo T el 60% de las hemicelulosas que contiene corresponde a pentosanos, (para este material de estudio serían xilosa y arabinosa). En el caso del rastrojo C las hemicelulosas que contiene en su mayoría están compuestas de glucosa, manosa y galactosa, y cerca de un 22% pertenece a xilosa y arabinosa, por lo que este material no sería fuente de xilooligosacáridos. En el caso del tallo se puede asegurar que las hemicelulosas que contiene están compuestas únicamente de xilosas y arabinosas, mientras que para la hoja cerca del 50% son pentosas y la otra mitad lo componen las hexosas.

6.4 Cuantificación de residuos sólidos (RS)

En la Tabla 7, se muestra la cuantificación de los residuos sólidos (RS) que se obtuvieron después de la extracción acuosa que se realizó a las diferentes partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L., probando 2 temperaturas, las cuales no presentan diferencias significativas en los rendimientos obtenidos.

El rastrojo C fue el que presento el menor porcentaje (~40%) de fracción insoluble, esto es debido a que en su mayoría está compuesto de grano, el cual tiene compuestos solubles en agua. El rastrojo T y la hoja presentaron valores cercanos al 50% de la fracción insoluble, y el que presento mayor rendimiento de RS fue el tallo con ~ 80%.

Los bajos rendimientos de los RS se deben principalmente a que las harinas obtenidas presentan un tamaño de partícula en su mayoría muy pequeña (149 μm -finos), y se suspenden con facilidad, extrayéndose en la parte soluble (extracto acuoso) además de que en la malla donde fueron filtrados presenta un orificio por arriba del tamaño de partícula de los finos, lo que dio como consecuencia un bajo rendimiento. No así para el caso del tallo que si se pudo retener.

Tabla 7. Residuos sólidos obtenidos después de una extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de amaranto

Muestra	T (°C)	Fracción insoluble	
		g/100 g	Fracción soluble g / 100g
Rastrojo T	25	51,5±2,6 ^a	48,5
	87	49,9±2,0 ^a	50,1
Rastrojo C	25	46,7±2,3 ^a	53,3
	87	40,6±2,9 ^a	59,4
Tallo	25	79,8±1.1 ^a	20,2
	87	78,0±2.1 ^a	22,1
Hoja	25	51,9±2.1 ^a	48,1
	87	54,2±6.1 ^a	45,8

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

6.5 Análisis bromatológico de los materiales después de la extracción acuosa.

En la Tabla 8 se muestra el análisis químico proximal de los RS de las diferentes partes de la planta de amaranto que resultaron de la extracción acuosa de los materiales en crudo. Los resultados se muestran en base seca. El extracto libre de nitrógeno fue calculado por diferencia.

Tabla 8. Análisis químico proximal de los residuos sólidos obtenidos de las diferentes partes de la planta del amaranto después de la extracción acuosa

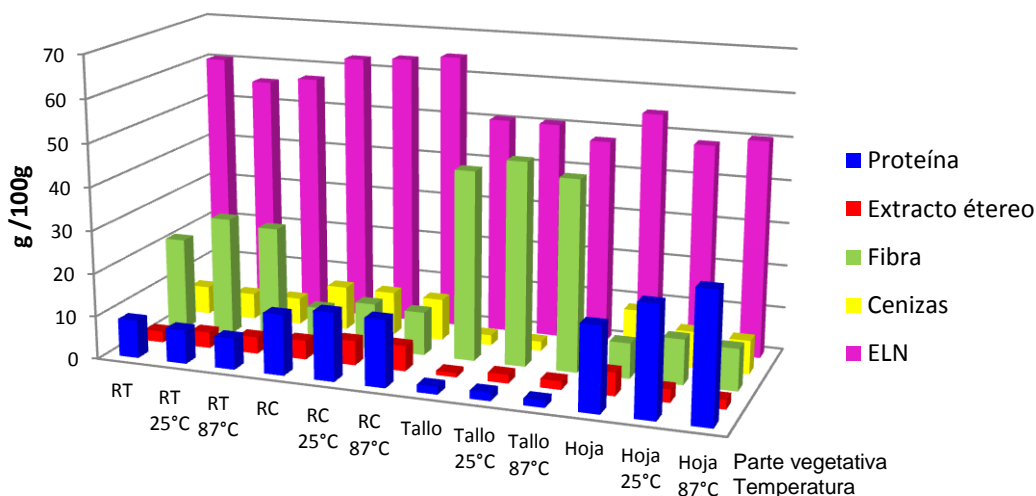
Análisis	RT		RC		Tallo		Hoja	
	25°C (g/100g)	87°C (g/100g)	25°C (g/100g)	87°C (g/100g)	25°C (g/100g)	87°C (g/100g)	25°C (g/100g)	87°C (g/100g)
Proteína	7.9±1.2 ^a	7.34±0.9 ^a	15.9±0.63 ^a	15.6±0.8 ^a	1.9±0.7 ^a	1.6±0.7 ^a	25.5±0.6 ^a	29.9±1.6 ^b
Extracto etéreo	3.7±0.04 ^a	3.9±0.08 ^a	5.7±0.2 ^a	5.9±0.26 ^a	2.08±0.1 ^a	2.01±0.05 ^a	3.05±0.07 ^a	2.2±0.9 ^b
Fibra	27.6±0.22 ^a	26.4±0.5 ^b	10.8±0.52 ^a	10.1±0.96 ^a	47.2±3.0 ^a	44.3±2.04 ^b	10.47±0.37 ^a	9.7±1.0 ^b
Cenizas	6.1±0.9 ^a	6.2±0.3 ^a	10.1±0.3 ^a	9.7±0.78 ^a	2.2±0.19 ^a	2.7±0.24 ^a	8.5±0.54 ^a	7.8±0.19 ^a
ELN	54.7	56.16	57.5	58.7	49.57	46.49	52.48	50.4

* ELN= Extracto libre de nitrógeno, se calculó por diferencia. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

En la grafica 2, se muestran de cada parte de la planta el contenido de proteína, extracto etéreo, fibra, cenizas y ELN, para el material en crudo y los RS obtenidos de la extracción acuosa a las dos temperaturas probadas. En la cual se muestra claramente los componentes que son concentrados y los que se perdieron a causa de la extracción.

La extracción acuosa provoca la pérdida de algunos compuestos, como en el caso de la proteína presente en las muestras de rastrojo T y tallo, lo cual nos indica que las proteínas que se encuentran en estas partes vegetativas del amaranto son polares. Ahora bien para el resto de los materiales de estudio se vieron disminuidos en el contenido de minerales y ELN.

Cabe destacar que la extracción acuosa si bien representa perdidas en minerales y ELN, concentra el contenido de otros compuestos, como en el caso de la proteína en las muestras de RC y hoja, así como el contenido de fibra y extracto etéreo en todas las muestras de estudio ya que este tipo de compuestos son insolubles en medios acuosos.



Gráfica 2. Análisis bromatológico de los materiales en crudo y los RS obtenidos de la extracción acuosa de las diferentes partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L.

Las dos temperaturas que se probaron para la extracción de compuestos fenólicos no mostraron diferencias significativas (comparada entre cada parte de la planta de amaranto y por componente) en el contenido de proteína, extracto, etéreo, fibra, cenizas

y ELN en la muestra RC, para el caso de las muestras RT y tallo si afecto la temperatura de extracción en el contenido de fibra y para el resto de sus componentes no presentan diferencias significativas, en el caso de la hoja se vio afectado únicamente el contenido de cenizas. Se podría suponer entonces, que la hoja contiene sustancias susceptibles a la extracción en caliente. No se tienen reportes previos para análisis bromatológicos en materiales obtenidos después de la extracción acuosa en la planta de amaranto, por lo que no se pueden comparar los resultados obtenidos con los resultados de otros autores. Por otro lado cabe resaltar que el tallo y en menor proporción el rastrojo T se concentra en un contenido rico de fibra, lo que nos dice que el tallo presenta un gran potencial como materia prima en la obtención de fibra dietética en la industria alimentaria.

6.6 Cuantificación de fibra dietética

En la Tabla 9, se muestra el contenido de Fibra dietética insoluble (FDI), fibra dietética soluble (FDS), así como la cantidad de fibra cruda (FC) en los RS obtenidos de la extracción acuosa. La cantidad de fibra dietética total (FDT) se calculó sumando la FDI y la FDS. Los resultados son obtenidos en base seca.

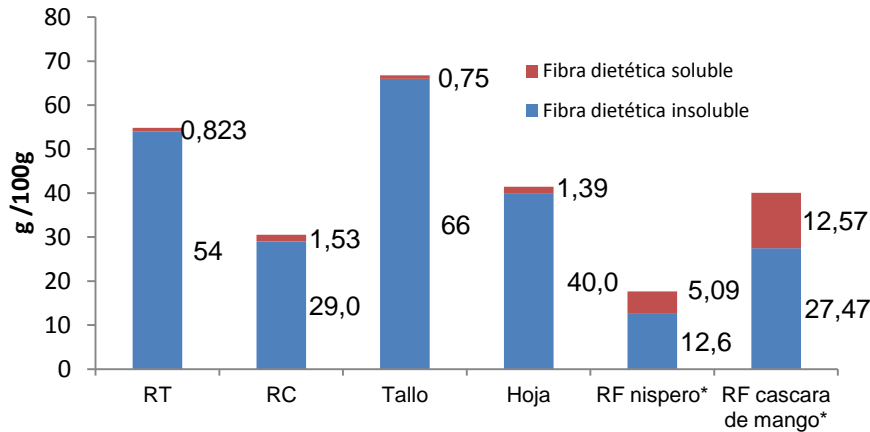
Tabla 9. Contenido de fibra dietética insoluble y soluble, así como fibra cruda en los RS de amaranto

Tipo de fibra	RT		RC		Tallo		Hoja	
	25 °C	87 °C	25 °C	87 °C	25 °C	87 °C	25 °C	87 °C
	g/100g							
Cruda	27.6±0.22 ^a	26.4±0.5 ^b	10.8±0.52 ^a	10.1±0.96 ^a	47.2±3.0 ^a	44.3±2.04 ^b	10.47±0.37 ^a	9.7±1.0 ^b
Dietética insoluble	51±0.24 ^a	54±1.2 ^b	29,03±2.8 ^a	29,02±2.1 ^a	69±3.63 ^a	66±4.0 ^b	40,57±2.5 ^a	40,03±2.7 ^a
Dietética soluble	0,812±0.07 ^a	0,823±0.06 ^a	1,49±0.09 ^a	1,53±0.07 ^a	0,77±0.06 ^a	0,75±0.09 ^a	1,87±0.015 ^a	1,39±0.03 ^a
Dietética total	51.812	54.823	30.52	30.55	69.77	66.75	42.44	41.42

Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05).

El contenido de fibra dietética insoluble fue afectado por la extracción en caliente (87°C) en las muestras de rastrojo T y tallo, teniendo los mayores rendimientos en la extracción en frío (25°C). El contenido de fibra cruda se vio afectado significativamente por la extracción en caliente en las muestras de rastrojo T, tallo y hoja en comparación con la extracción en frío. Esto pudiera ser debido a que la fibra dietética insoluble y la cruda

tenga compuestos que a altas temperaturas ($\geq 87^{\circ}\text{C}$) se extraen. En la grafica 3 se muestra el comparativo del contenido de FDT con otros residuos fibrosos.



*Sanchez 2005, RF = residuos fibrosos

Gráfica 3. Contenido de Fibra dietética de los residuos sólidos (RS) después de la extracción a 87°C

Los RS de amaranto presentaron un contenido pobre de fibra dietética soluble, sin embargo son fuente de fibra dietética insoluble teniendo un mayor contenido presente en tallo seguido de RT, Hoja y RC, en comparación con los residuos fibrosos de níspero y de cascara de mango (Sanchez 2005). En comparación con semilla de soya (FDS=2.0%, FDI=48.4%) y soya (FDS=2.9%, FDI=32.6%) reportado por Písaříková y Zralý (2010) están bajos los contenidos de FDS, mientras que los valores de FDI en RT y tallo son superiores y los de RC y hoja son similares. Es entonces los RS una fuente rica de fibra dietética insoluble en comparación con algunos residuos fibrosos y semillas, la importancia de obtener una nueva fuente de obtención de fibra dietética radica en que como ya se sabe la fibra es básica y fundamental en la dieta ya que proporciona grandes beneficios a la salud ya que regula el tránsito y el ritmo intestinal, además mantiene el ecosistema de la flora bacteriana, por mencionar algunos. (García y Velasco 2007).

6.7 Cuantificación de polifenoles

La Tabla 10, muestra el rendimiento de polifenoles totales de los EA obtenidos de las diferentes partes de la planta de amaranto.

Tabla 10. Polifenoles totales presentes en EA de las diferentes partes de la planta de amaranto

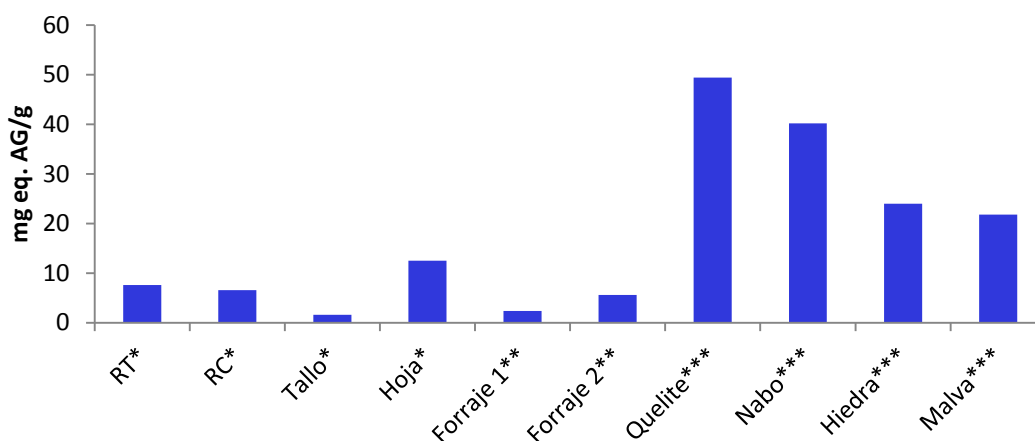
Muestra	Temperatura (°C)	Polifenoles (mg eq. AG/g)	Polifenoles (mg eq. T /g)
RT	25	6.9±0.31 ^b	0.065±0.003
	87	7.6±0.56 ^a	0.069±0.002
RC	25	6.6±0.02 ^a	0.0612±0.007
	87	6.2±0.04 ^a	0.0613±0.004
Tallo	25	0.51±0.04 ^b	0.043±0.007
	87	1.62±0.01 ^a	0.046±0.004
Hoja	25	12.0±0.71 ^a	0.085±0.005
	87	12.55±0.80 ^a	0.087±0.004

AG= Ácido gáico, T=troox, Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Los extractos acuosos (EA) de amaranto presentaron un contenido de polifenoles totales mayor en la extracción en caliente para las muestras de RT y Tallo, mientras que para RC y Hoja el contenido de polifenoles no se vio afectado por la temperatura de extracción. El extracto acuoso de la hoja de la planta de amaranto tiene un mayor contenido de polifenoles que el tallo. El contenido de polifenoles evaluada en los dos tipos de rastrojo fue muy semejante, esto pudiera deberse a que a pesar de que tienen diferente composición cada uno pueda aportar diferentes grupos fenólicos que en su conjunto hacen parecer la misma cantidad, aunque no se puede asegurar que tengan el mismo tipo de compuestos fenólicos, por lo cual es necesario hacer la identificación de estos compuestos.

La cantidad de polifenoles reportada en la bibliografía por Gutiérrez *et al.*, 2008 para otra especie (*Amaranthus hybridus* L.) reporta una concentración de 49.43mg/g de muestra, teniendo una concentración aproximadamente 4 veces mayor a lo encontrado en la hoja que se estudio en el presente estudio.

La Gráfica 4, muestra la comparación del contenido de polifenoles en los EA obtenidos a partir de las diferentes partes de la planta de amaranto, con el contenido de polifenoles encontrado en malezas usadas en alimentación estudiadas en Querétaro y con 2 tipos de forrajes obtenidos de árboles forrajeros tropicales estudiados en Venezuela, que son una alternativa como fuente de proteína para ganado en épocas de escases.



*Muestras de las partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L.

**Forraje 1=*Albizia caribaea*, Forraje 2=*Cassia grandis* (García y Medina, 2006)

***Quelite=*Amaranthus hybridus* L., Nabo=*Brassica rapa* L., Hiedra=*Ipomea purpurea*, Malva=*Malva parviflora* L. (Gutiérrez et al., 2008)

Gráfica 4. Comparación de contenido de polifenoles en EA de amaranto con malezas usadas para alimentación y árboles forrajeros tropicales.

Ahora bien, si se hace el análisis comparativo entre los extractos obtenidos con 2 tipos de forrajes para animales que son utilizados en Venezuela, estudiados por García y Medina en el 2006, se observa que RT, RC y hoja presentan un contenido mayor de polifenoles, sin embargo Gutiérrez *et al.*, en el 2008, reporta para las malezas usadas en alimentación, contenidos superiores de polifenoles que llegan hacer hasta 4 veces mayor a lo obtenido en los EA de amaranto. Lo que nos dice que en los EA de amaranto contiene compuestos fenólicos “libres” en menor cantidad que en malezas, y casi el doble que en forrajes. Aunque el contenido de polifenoles es relativamente bajo, no se descarta la posibilidad de que se pudieran utilizar para la industria alimentaria, considerando que su obtención es muy sencilla y fácil de implementar en la industria alimentaría.

6.8 Cuantificación de flavonoides

Para la evaluación de flavonoides se tomaron aquellos extractos que presentaron un contenido mayor de polifenoles, estos fueron los extraídos a 87 °C.

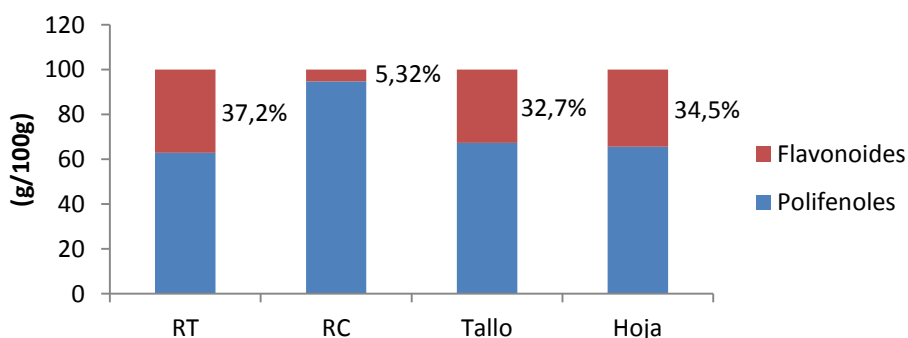
En la Tabla 11, se muestra la concentración de flavonoides de los EA obtenidos de las diferentes partes de la planta de amaranto. Se tomo Rutina (quercetina 3-rutinósido) como compuesto de referencia.

Tabla 11. Contenido de flavonoides en EA de amaranto

Muestra	Flavonoides (mg eq. Rutina /g muestra)
RT	2.83±0.02 ^b
RC	0.33±0.01 ^c
Tallo	0.53±0.003 ^c
Hoja	4.33±0.11 ^a

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

De acuerdo a los resultados obtenidos la hoja es el que contiene mayor concentración de flavonoides seguido de RT, tallo y RC, siendo estos dos últimos los que presentaron el menor contenido. El contenido de flavonoides en los EA de hoja representan la mitad de lo reportado por Serrano *et al.*, (2011), en hoja de *Cladocolea lonciceroides* (8.26 mg eq. rutina / g) y el contenido de flavonoides presente en los tallos de amaranto es 5% a lo reportado en el tallo de muérdago por Serrano *et al.*, (2011) (9.19 mg eq. rutina / g). En la Gráfica 5, se muestra el % de flavonoides con respecto al total de polifenoles presentes en los EA de amaranto.



Gráfica 5. Contenido de flavonoides con respecto al total de polifenoles en EA de amaranto

En los extractos acuosos de RT, tallo y hoja, del total de polifenoles aproximadamente del 32 al 37% corresponde a flavonoides, mientras que en RC solo el 5.3%. Esto indica que en RC la composición de la fracción antioxidante no predomina la familia de flavonoides. Con lo que se puede entonces observar que los dos rastrojos tienen un contenido similar de polifenoles, pero no son los mismos compuestos fenólicos os que están presentes en ambos. Ya que con esta prueba se demuestra que no tienen la misma cantidad de flavonoides.

6.9 Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos

6.9.1 Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)

En la Tabla 12, se detalla el porcentaje de reducción del radical DPPH• que presentan los EA de las diferentes partes de la planta de amaranto.

Tabla 12. Porcentaje de inhibición de DPPH• de EA de amaranto

Muestra	Temperatura (°C)	%inhibición DPPH•	mg eq. T/g	mg eq. AG/g
RT	25	48±0.10 ^b	47.2±0.13	97.7±0.3
	87	54±3.15 ^a	51.8±2.01	109.4±5.0
RC	25	37±0.6 ^b	36.8±0.57	71.6±1.4
	87	59±2.3 ^a	56.8±0.21	121.8±5.4
Tallo	25	19±1.6 ^a	21.9±3.3	29.7±0.3
	87	13±1.1 ^b	14.8±1.0	16.4±1.5
Hoja	25	80±1.4 ^a	75.6±1.8	169.1±4.6
	87	72±0.885 ^b	68.3±0.74	150.8±1.9

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Los EA de RT y RC presentan un % de inhibición del radical DPPH• mayor cuando son extraídos a 87°C, mientras que para la hoja es a 25°C, y para el Tallo no influye la temperatura de extracción. El % de inhibición de DPPH• que presentan otras especies de *Amaranthus* que reporta Amin (2006) son los siguientes: para *A. paniculatus*, *A. gangeticus*, *A. blitum*, *A. viridis*. son 39, 61, 83 y 63% respectivamente, con lo que se puede observar que los EA de las diferentes partes de la planta de *Amaranthus hypochondriacus* L, están dentro del rango de lo reportado.

La evaluación del valor IC₅₀ para los EA de amaranto, el cual se refiere a la concentración de polifenoles expresados en eq. de AG /g y en mg eq. de Trolox/g, necesarios para inhibir el 50% del radical DPPH, se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13. Valores de IC₅₀ de reducción de radical DPPH• de EA de amaranto

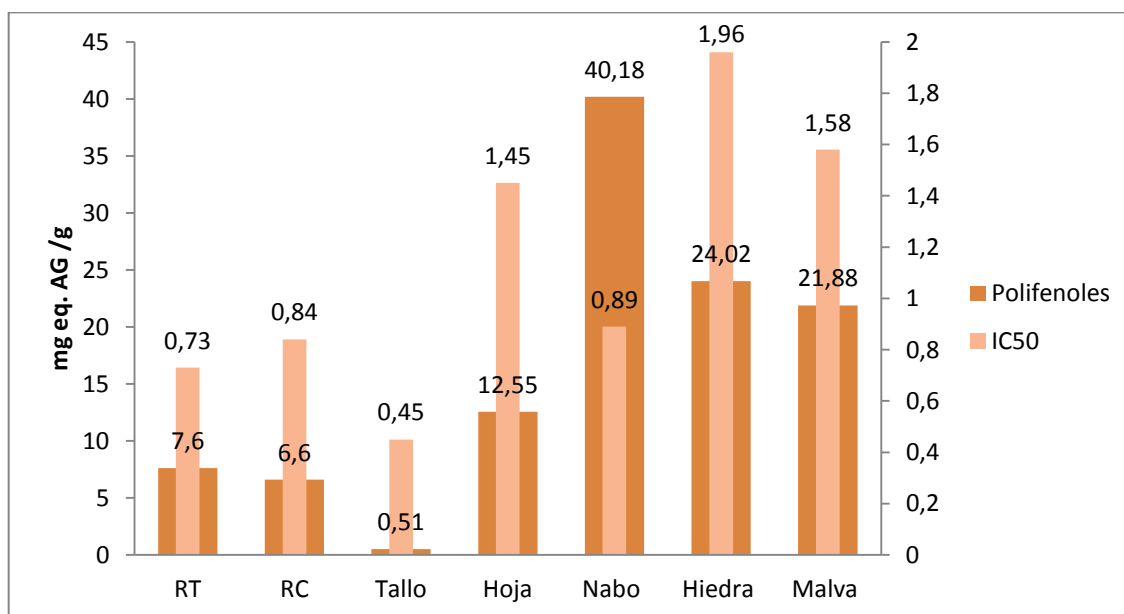
Muestra	Temperatura (°C)	mg eq AG/g	mg eq. T /g
RT	25	1.56 ^b	0.0145
	87	0.73 ^a	0.0066
RC	25	0.84 ^a	0.0078
	87	1.21 ^b	0.0120
Tallo	25	0.45 ^a	0.0390
	87	1.12 ^b	0.0321
Hoja	25	1.66 ^a	0.0117
	87	1.45 ^a	0.0100

Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

Los EA de las diferentes partes de la planta de amaranto presentan un valor de IC₅₀ menor cuando se obtienen a 25°C en el caso de RC y tallo, a 87°C para RT, y no hay diferencia significativa en hoja. Por lo que estos extractos reducen el 50% del radical con una menor concentración de polifenoles totales en equivalentes de ácido gálico.

La Gráfica 6, muestra la comparación del contenido de polifenoles y la capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los EA de amaranto y melazas usadas para alimentación.

Los EA de las diferentes partes de la planta de amaranto no presentan una relación proporcional en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante, esto puede ser debido a la gran variedad de compuestos presentes en cada una de las partes vegetativas, ahora bien los dos tipos de rastrojo muestran un comportamiento similar en cuanto a la relación de contenido de polifenoles y la actividad antioxidante. Por otro lado comparando los EA de RC con los extractos de nabo (Gutiérrez *et al.*, 2008), tienen un IC₅₀ muy similar, sin embargo el contenido de polifenoles varía considerablemente, teniendo en el nabo una mayor cantidad de estos compuestos, por lo que claramente se puede observar que no necesariamente un contenido rico de polifenoles presentarán una alta actividad antioxidante.



Nabo=*Brassica rupa* L., Hiedra=*Ipomoea purpurea* Roth, Malva de quesitos=*Malva parviflora* L. (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Gráfica 6. Comparación del contenido de polifenoles y su capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los EA de amaranto y melazas usadas para alimentación.

Es importante destacar que en los extractos obtenidos se necesitan una cantidad menor para poder inhibir el 50% de los radicales DPPH•, lo cual implica que presentan una excelente actividad antioxidante sobre este radical.

6.9.2 Reducción de del radical cationico ABTS

En la Tabla 14, se muestra el % de inhibición del radical ABTS-persulfato que presentaron los diferentes EA del *Amarantus hypochondriacus* L.

Se observa que en RC y tallo los extractos a 25°C son los que presentan un % de inhibición del radical ABTS-persulfato mayor. En RT se observa un % de inhibición mayor en una extracción a 87°C, mientras que en hoja no hay diferencia significativa de la temperatura de extracción en el % de inhibición del radical ABTS-persulfato.

Tabla 14. Porcentaje de inhibición de radical ABTS-persulfato de EA de amaranto

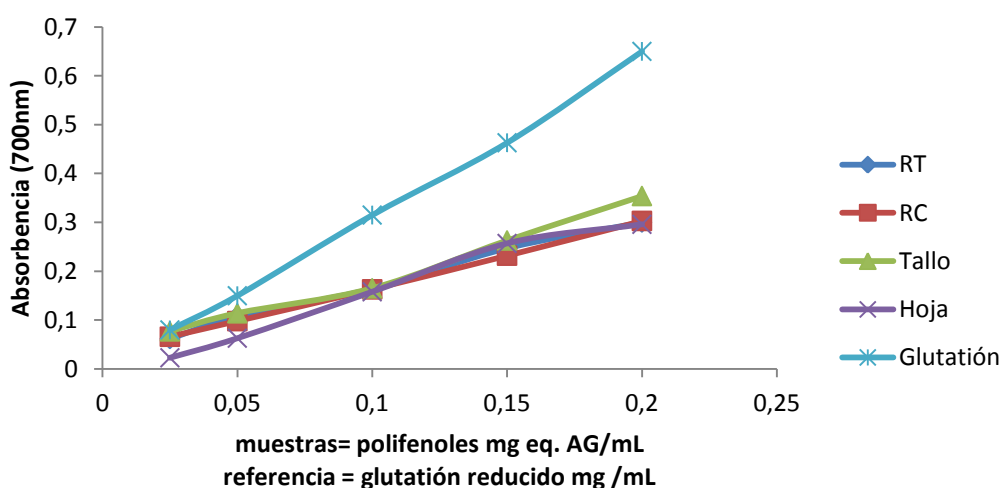
Muestra	Temperatura (°C)	ABTS-persulfato	
		% inhibición del radical	mg eq. Trolox /mL
RT	25	37.2±0.15 ^b	8.64±0.14 ^b
	87	48.02±4.3 ^a	18.2±0.57 ^a
RC	25	44.3±3.9 ^a	11.68±0.39 ^a
	87	36.3±3.1 ^b	6.1±0.33 ^b
Tallo	25	43.68±2.4 ^a	16.37±1.3 ^a
	87	34.8±0.4 ^b	6.54±0.09 ^b
Hoja	25	57.58±0.68 ^a	28.13±0.2 ^a
	87	54.9±0.38 ^a	27.01±1.4 ^a

Evaluaciones de la actividad antioxidante por el método de inhibición de radical ABTS-persulfato por Ozsoy (2009) reportan para *Amaranthus lividus*, un 50% de inhibición con una concentración de aproximadamente 30mg eq. trolox/ mL, la inhibición obtenida en hoja es mayor ya que inhibe el 54% con 27 mg eq. trolox/mL. En el caso de RT, RC y tallo los porcentajes de inhibición se acercan, y utilizan un contenido significativamente menor para observar el efecto.

6.9.3 Poder reductor

Para la determinación del poder reductor del ión Fe^{2+} se tomaron aquellos extractos que presentaron un contenido mayor de polifenoles, estos fueron los extraídos a $87\text{ }^{\circ}\text{C}$. El poder reductor del ión Fe^{2+} de los EA de amaranto se expuso en referencia a su concentración de polifenoles presentes en cada caso. Las concentraciones de polifenoles fueron ajustadas a 0.025, 0.5, 0.1, 0.15, 0,20 mg eq. AG/mL en todos los extractos utilizados. Se utilizó glutatión reducido (GR) como compuesto de referencia en el intervalo de concentración de 0 a 0.2 mg GR/mL.

La Gráfica 7, muestra los resultados obtenidos por los diferentes extractos. El poder reductor se determina por el comportamiento ascendente de la gráfica.



Gráfica 7. Poder reductor de diferentes EA de amaranto

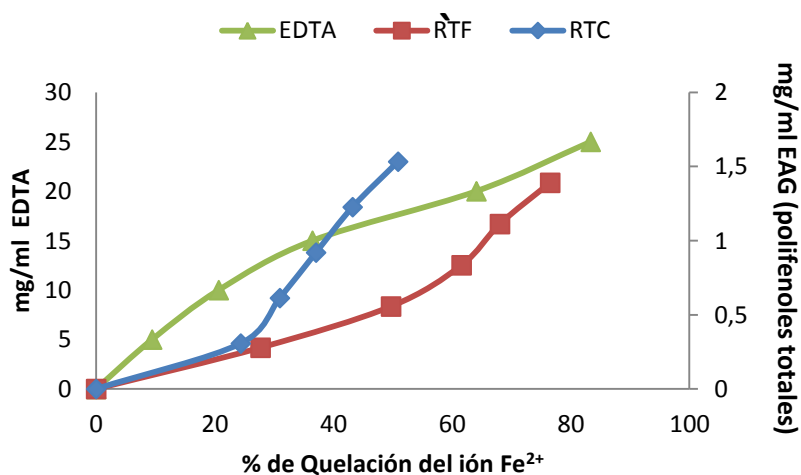
Los extractos de RT, RC, tallo y hoja presentaron un comportamiento similar entre ellos. Todos los EA presentaron poder reductor sobre el ión Fe^{2+} por debajo de la referencia, lo que indica que en los EA de amaranto no intervienen de forma predominante las reacciones de oxido-reducción por medio de la transferencia de hidrógenos como lo hace el glutatión reducido. El glutatión reducido es un tripéptido con poder antioxidante y en el organismo tiene la función de reducir el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) cuya reacción, es:

Al hacer un análisis comparativo de los datos obtenidos para los EA de *Amaranthus hypochondriacus* L. con datos reportados en la literatura por Yildirim *et al.*, 2000, se observa que los EA de *Tilia argentea* (té de tila), a una concentración de 0.05-0.5 mg/mL tuvo absorbencias de 0.1 a 0.4 a 700nm, lo cual nos indica que el comportamiento es muy similar, pero utilizando el doble de concentración al que se utilizó en el ensayo.

6.9.4 Actividad quelante sobre el ión Fe^{2+}

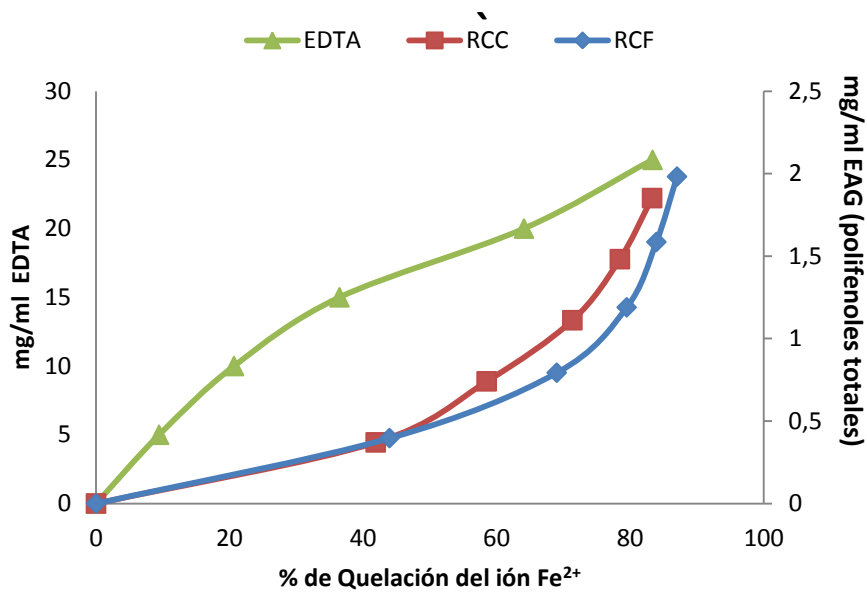
El efecto de quelante que presentaron los EA de las diferentes partes de la planta de amaranto se determina por el comportamiento ascendente de la gráfica del porcentaje de quelación del ión Fe^{2+} con respecto a la concentración de polifenoles totales.

Se uso como referencia la actividad quelante del EDTA (usado como antioxidante en la industria por su potente actividad de quelación). En las gráficas 8, 9, 10 y 11 se muestran los resultados obtenidos para los EA del amaranto respectivamente.



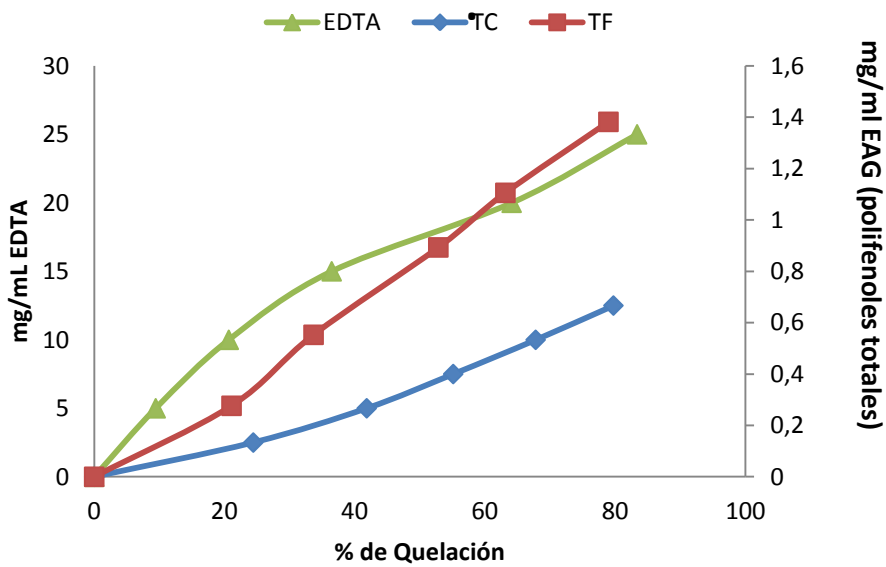
F= Extraído en Frío, C= Extraído en Caliente

Gráfica 8. Actividad quelante del extracto acuoso de RT comparada con EDTA



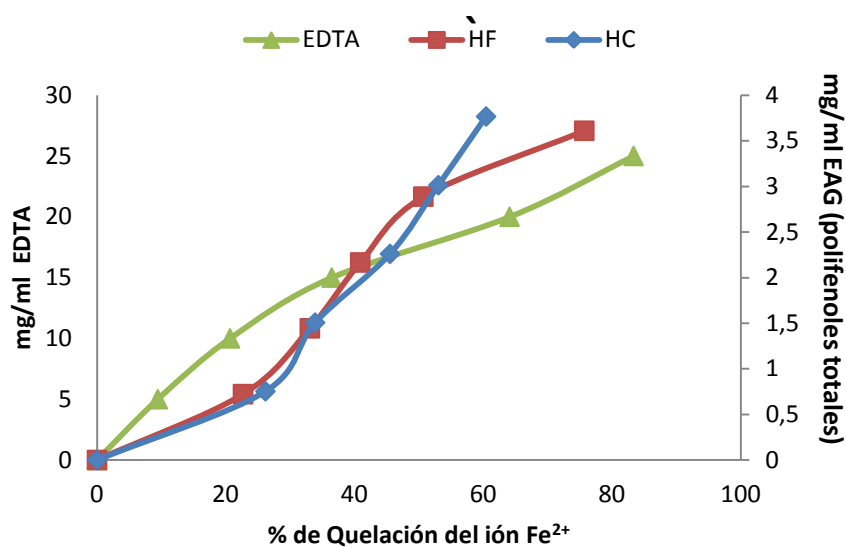
F= Extraído en Frío, C= Extraído en Caliente

Gráfica 9. Actividad quelante del extracto acuoso de RC comparada con EDTA



F= Extraído en Frío, C= Extraído en Caliente

Gráfica 10. Actividad quelante del extracto acuoso de Tallo comparada con EDTA



F= Extraído en Frío, C= Extraído en Caliente

Gráfica 11. Actividad quelante del extracto acuoso de Hoja comparada con EDTA

Para poder observar un comportamiento de quelación similar al EDTA, los EA necesitan estar hasta un 4% de la concentración necesaria para el EDTA. Los rangos de concentración y su % de Quelación de los EA de amaranto se muestran en la Tabla 15.

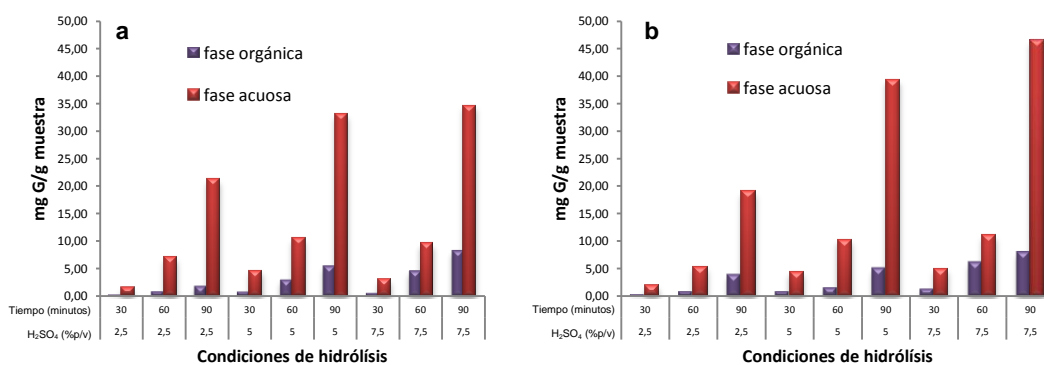
Tabla 15. Rangos de concentraciones de EA de amaranto y su % de efecto quelante

Muestra	Temperatura (°C)	Polifenoles [mg eq. AG / mL]	% Quelación
RT	25	0-1.4	0-76.5
	87	0-1.53	0-51
RC	25	0-1.98	0-87
	87	0-1.85	0-83
Tallo	25	0-1.4	0-79
	87	0-0.07	0-79.7
Hoja	25	0-3.6	0-75
	87	0-3.7	60.4

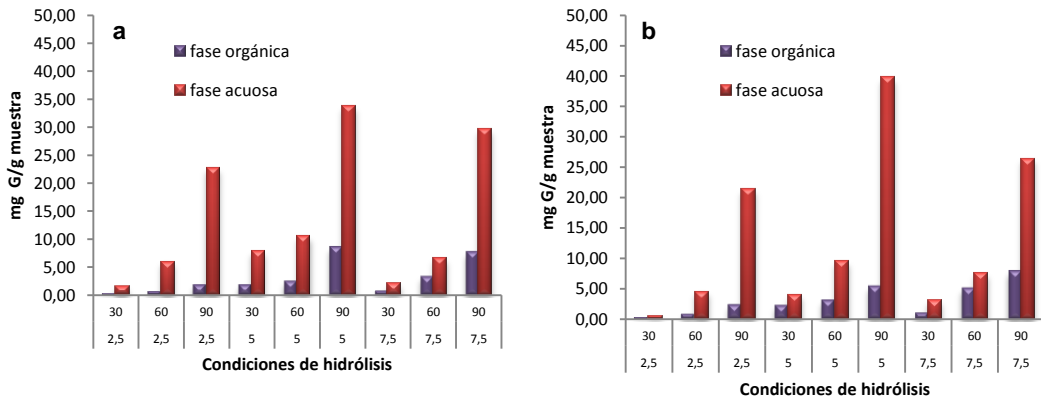
Los EA provenientes de *Amaranthus hypochondriacus* L. presentan un poder quelante sobre el ión Fe^{2+} , mayor en comparación con lo reportado por Ozsuy (2009), quien reporta para *A. lividus* un rango de 0-40mg /mL para observar hasta un 73.4% de quelación. Evaluar la capacidad quelante de iones metálicos, es de suma importancia, debido a que los metales son capaces de iniciar las reacciones de lipoperoxidación de ácidos grasos insaturados.

6.10 Cuantificación de azúcares reductores en hidrolizados

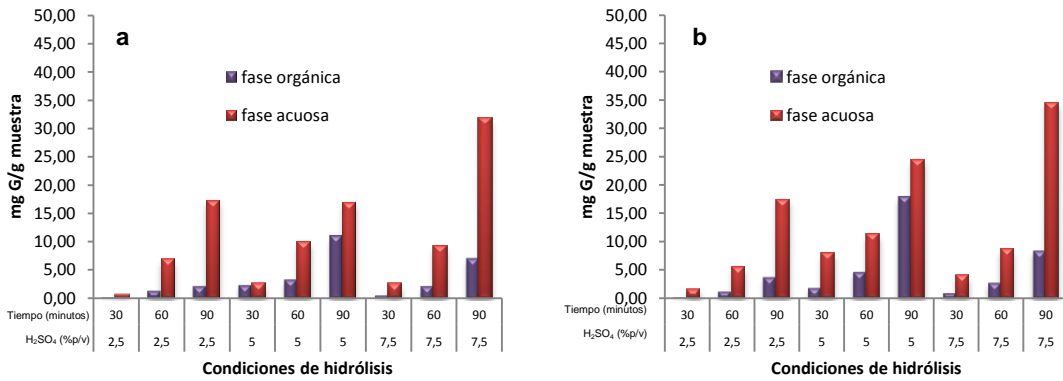
La cuantificación de azúcares reductores (AR) de los hidrolizados de los RS y la FI de las diferentes partes de la planta de amaranto (RC, RT, tallo y hoja), se muestran en las Gráficas 12, 13, 14 y 15. La cuantificación se llevo a cabo en la fase acuosa y en la fase orgánica que se obtuvo después de la extracción con acetato de etilo.



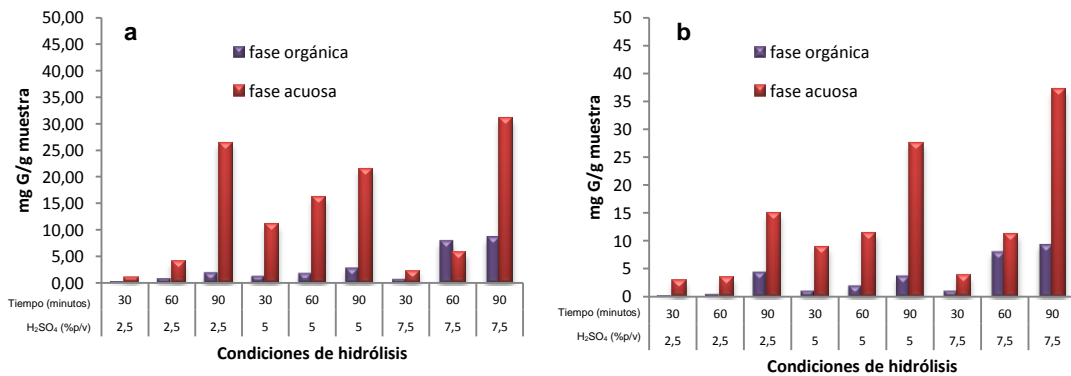
Gráfica 12. Cuantificación de azúcares reductores de RC a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI



Gráfica 13. Cuantificación de azúcares reductores de RT a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI



Gráfica 14. Cuantificación de azúcares reductores de Tallo a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI



Gráfica 15. Cuantificación de azúcares reductores de Hoja a) hidrolizados de RS, b) hidrolizados de FI

Se observa claramente que la liberación de azúcares reductores provenientes de la matriz lignocelulósica de las diferentes partes de la planta es dependiente del tiempo en que se lleva a cabo la hidrólisis, así como de la concentración del H_2SO_4 , lo que nos indica que a mayor tiempo y mayor concentración de ácido se obtiene una mayor liberación de azúcares reductores.

El análisis estadístico se llevo a cabo en el programa STATGRAPHICS Centurion. La fase en la que se encuentran las muestras (orgánica y acuosa) tiene incidencia sobre el contenido de azúcares reductores como se esperaba ya que los azúcares reductores son moléculas polares teniendo así el mayor contenido en la fase acuosa (Figura 20a), por otro lado la concentración de 7.5% de H_2SO_4 fue la que presento diferencias significativas (Figura 20b), por otro lado no se encontró diferencias entre utilizar el tiempo a 60 o 90 minutos en la obtención de azúcares reductores (Figura 20c).

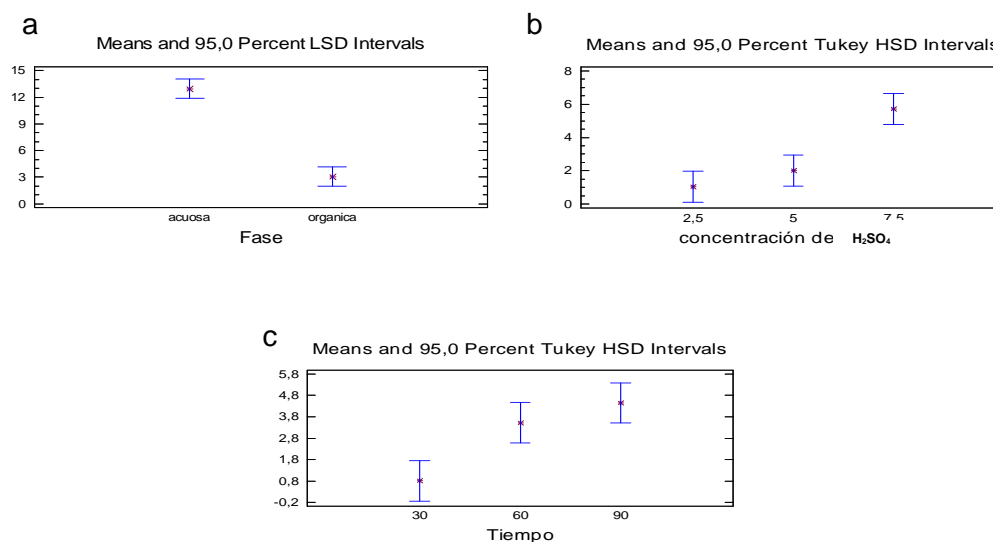
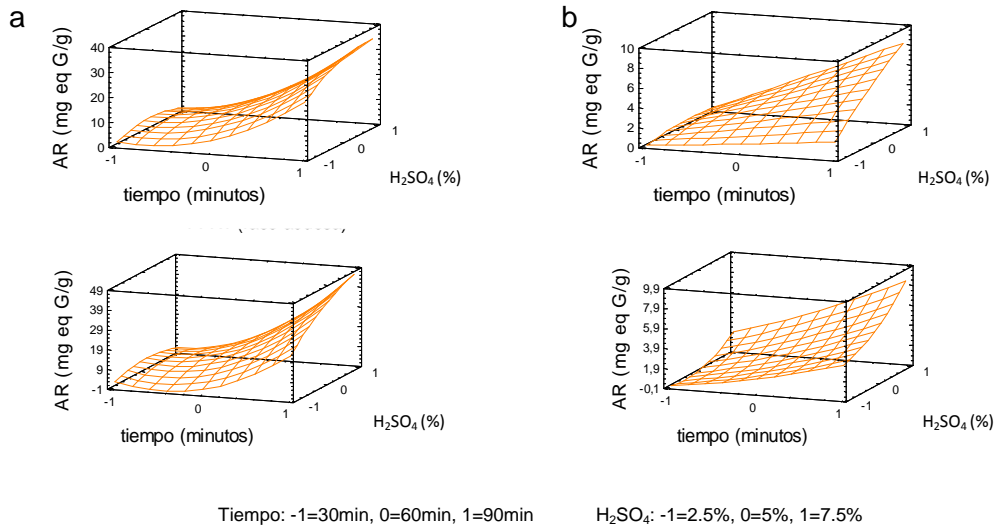
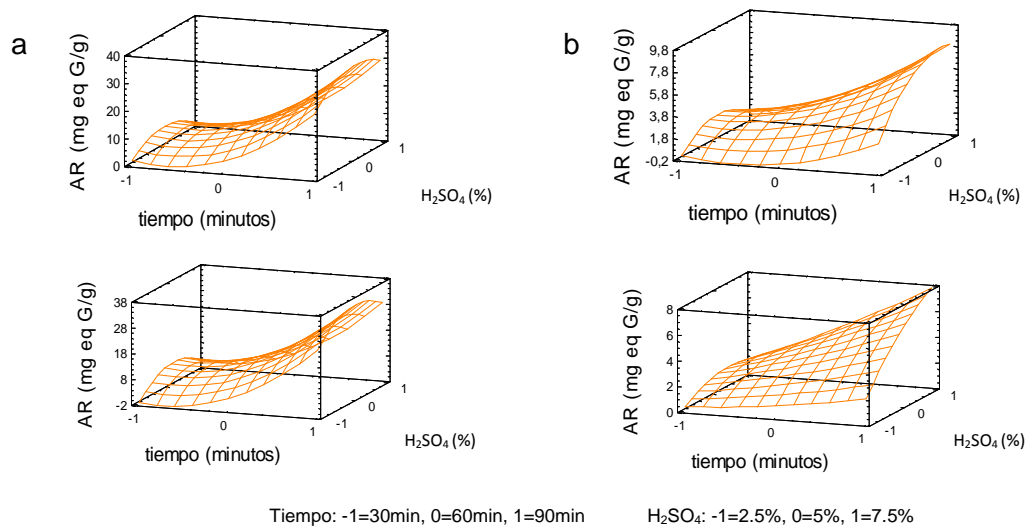


Figura 19. Pruebas de Tukey para la fase, la concentración de H_2SO_4 y el tiempo.

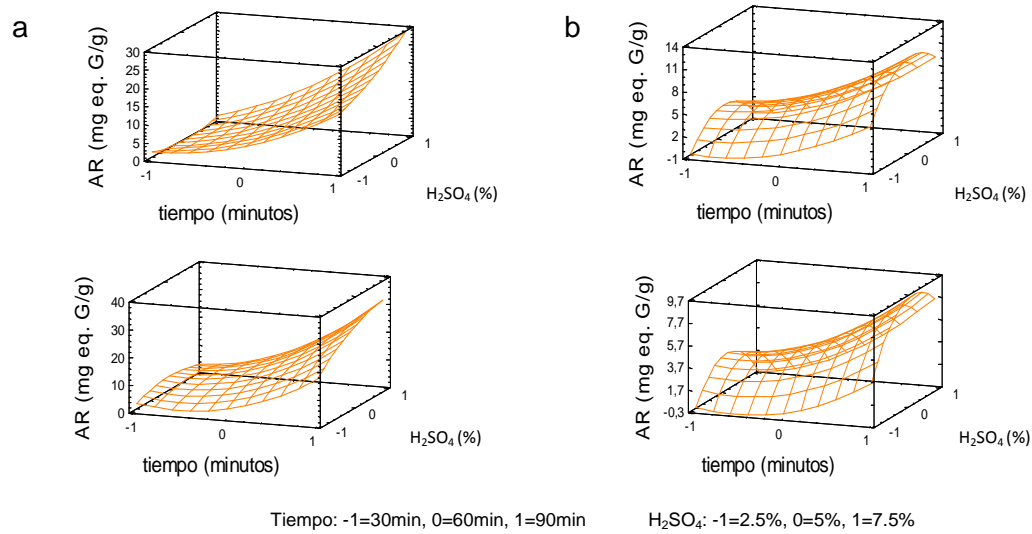
Las superficies de respuesta que muestran la formación de los azúcares reductores con las diferentes condiciones de hidrólisis de los diferentes materiales lignocelulósicos (RS y FI) de las partes de la planta (RC, RT, tallo y hoja) de amaranto se muestran en las Gráficas 16, 17, 18 y 19 respectivamente.



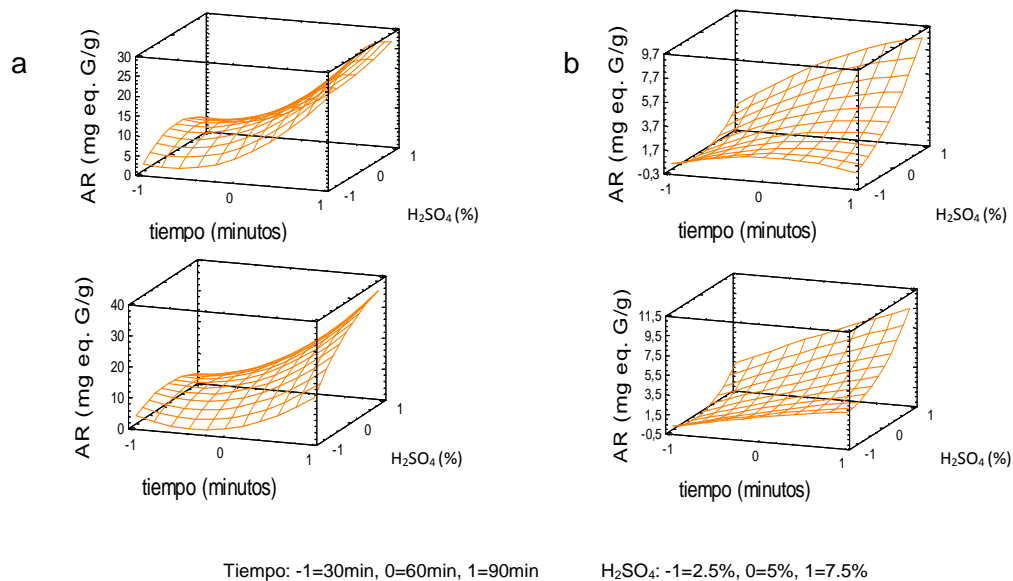
Gráfica 16 Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de RT. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica



Gráfica 17. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de RC. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.



Gráfica 18. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de Tallo. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.



Gráfica 19. Superficies de respuesta de la liberación de azúcares reductores mediante una hidrólisis ácida de Hoja. En la parte superior a partir de RS, inferior a partir de FI a) fase acuosa, b) fase orgánica.

En la Tabla 16, se muestra los estadísticos correspondientes al experimento de liberación de azúcares reductores.

Tabla 16. Estadísticos de azúcares reductores de hidrolizados de amaranto

Parte	Tipo	Fase	P-Value					R-squared	R-squared (adjusted for
			A:tiempo	B:H ₂ SO ₄	AA	AB	BB	%	d.f.)%
RT	RS	Orgánica	0,0000	0,0000	0,3381	0,0000	0,0000	99,819	99,776
		Acuosa	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	99,0696	98,8356
	FI	Orgánica	0,0000	0,0000	0,2483	0,0035	0,0113	93,4782	91,9254
		Acuosa	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0064	98,0443	97,5786
RC	RS	Orgánica	0,0000	0,0000	0,0006	0,0000	0,0000	94,4907	93,1789
		Acuosa	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	99,4143	99,2748
	FI	Orgánica	0,0000	0,0000	0,1628	0,0000	0,0006	97,7729	97,2427
		Acuosa	0,0000	0,0370	0,0000	0,5184	0,0000	95,154	94,0002
Hoja	RS	Orgánica	0,0000	0,0000	0,0778	0,0002	0,0096	88,5851	85,8673
		Acuosa	0,0000	0,2694	0,0018	0,5491	0,0289	85,8827	82,5214
	FI	Orgánica	0,0000	0,0000	0,7244	0,0203	0,0088	86,1995	82,9137
		Acuosa	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	98,8776	98,6103
Tallo	RS	Orgánica	0,0000	0,0041	0,0068	0,0068	0,0000	89,0401	86,4306
		Acuosa	0,0000	0,0001	0,0078	0,0008	0,1796	93,776	92,2941
	FI	Orgánica	0,0000	0,0052	0,0071	0,0453	0,0000	89,953	87,5608
		Acuosa	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0101	96,5335	95,7329

La determinación de azúcares reductores es una medida que nos permite medir el grado de hidrólisis de la fracción de carbohidratos de los materiales lignocelulósicos. Para el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la obtención de azúcares reductores mediante la hidrólisis ácida entre los materiales de estudio: Residuos sólidos obtenidos después de la extracción acuosa (RS) y la Fibra dietética insoluble (FI).

Lo cual nos indica que la hidrólisis ácida afecta directamente a la matriz lignocelulósica sin importar el que los materiales tengan que pasar por un proceso de purificación mediante tratamientos enzimáticos, antes de someterse a la hidrólisis. Esto implicaría que en el proceso de obtención de azúcares reductores con posibilidad de ser prebióticos, no necesitaría de un tratamiento de purificación de los materiales, esto es una ventaja, ya que representa que no se aumentarían los costos por el tratamiento con enzimas necesario para la purificación.

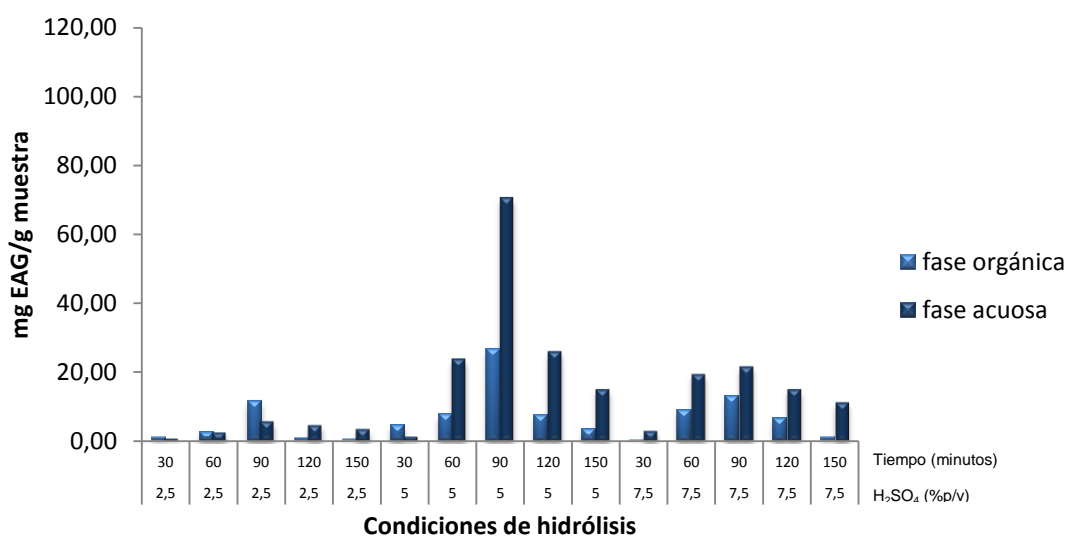
Con los resultados obtenidos se puede suponer entonces que la hidrólisis ácida es un método por el cual se puede generar azúcares reductores de manera proporcional a la concentración de ácido sulfúrico, en los rangos estudiados, así como del tiempo de exposición, ya que se lleva a cabo el rompimiento de las hemicelulosas presente en la matriz lignocelulósica de los diferentes materiales de estudio. Cabe la posibilidad de que

los productos que se obtienen de la hidrólisis ácida de los residuos de la extracción acuosa y la fibra dietética insoluble contengan xilooligosacáridos (cadenas cortas de unidades de xilosa), material con funciones prebióticas. Sin embargo, esta posibilidad debe ser corroborada en estudios específicos fuera del alcance de la presente investigación.

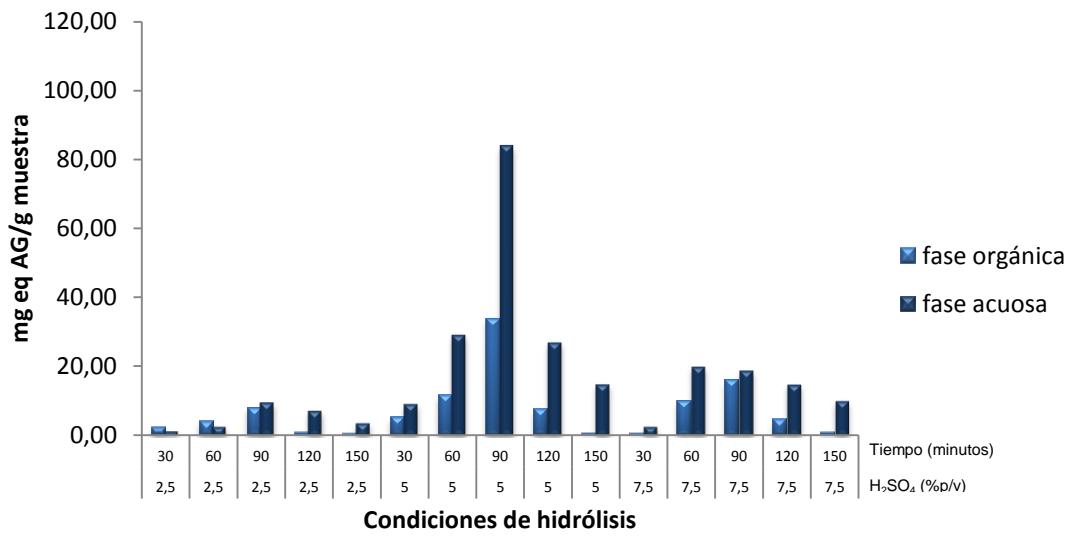
No se llevo a cabo una optimización de las condiciones para obtener el máximo contenido de azúcares reductores ya que uno de los objetivos del presente estudio es encontrar oligosacáridos con potencial de actividad prebiótica (específicamente que contienen unidades de xilosa) y no la determinación específica del largo de cadena de estos compuestos.

6.11 Cuantificación de polifenoles en hidrolizados

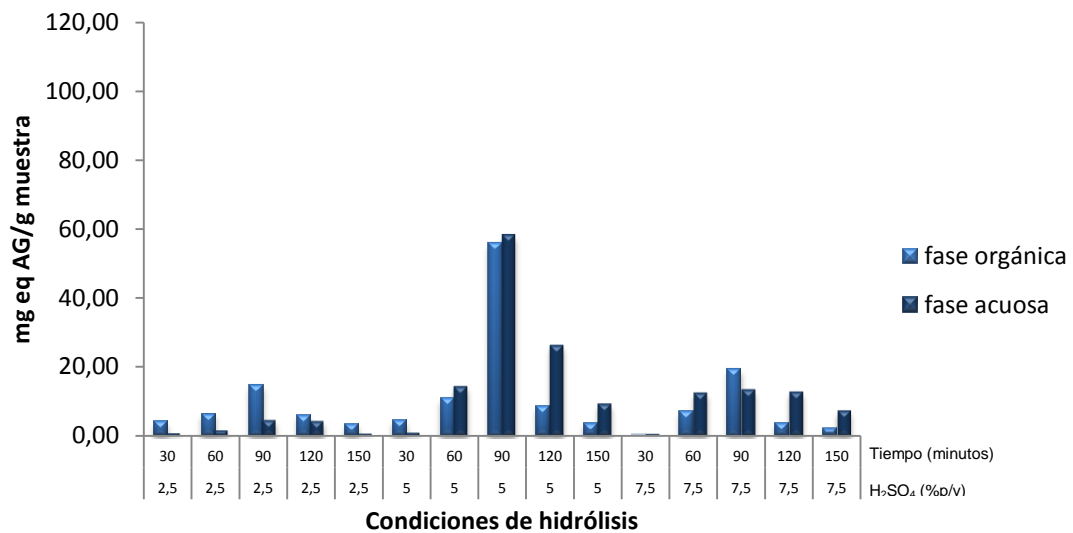
La cuantificación de polifenoles totales (PT) de los hidrolizados de los RS de las diferentes partes de la planta de amaranto (RT, RC, tallo y hoja), se observan en las Gráficas 20, 21, 22 y 23. La cuantificación se llevo a cabo en la fase acuosa y en la fase orgánica que se obtuvo después de la extracción con acetato de etilo.



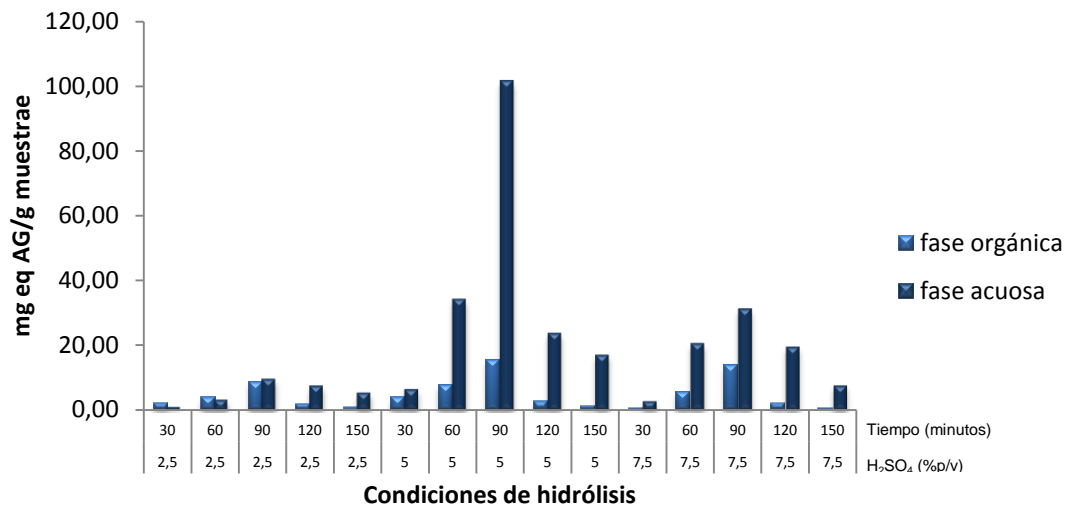
Gráfica 20. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de RT de amaranto



Gráfica 21. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de RC de amaranto



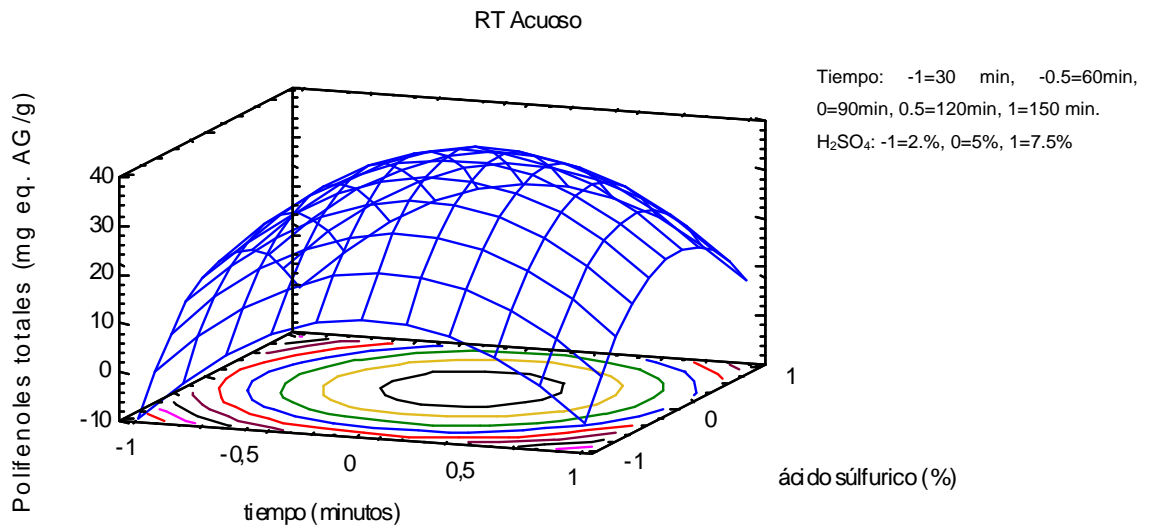
Gráfica 22. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de Tallo de amaranto



Gráfica 23. Cuantificación de polifenoles totales en hidrolizados de Hoja de amaranto

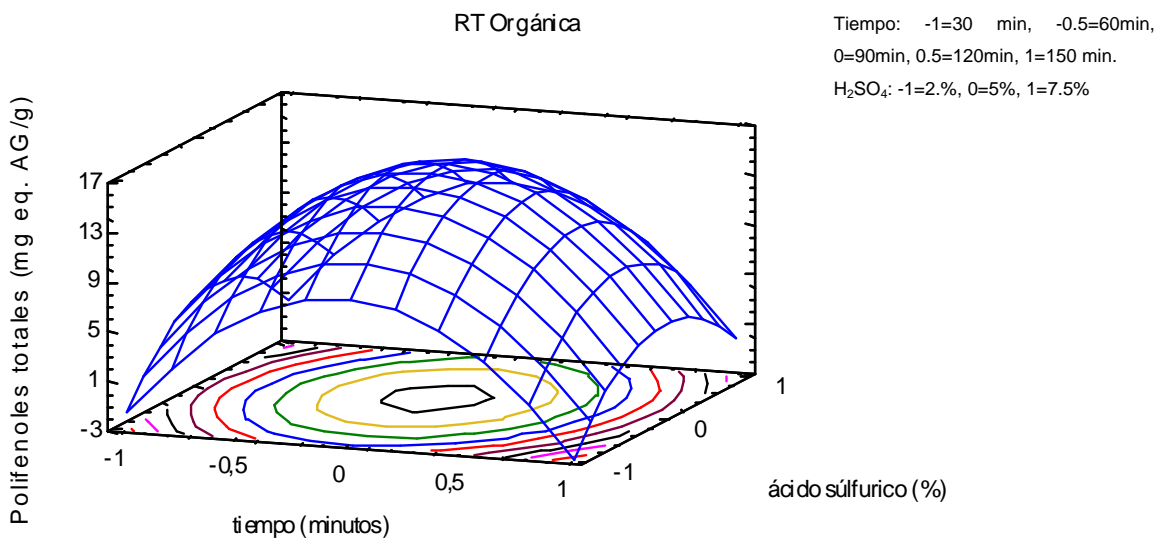
Se observa claramente que la liberación de polifenoles provenientes de la matriz lignocelulósica de las diferentes partes de la planta se ve afectada por el tiempo en que se lleva a cabo la hidrólisis, así como de la concentración del H₂SO₄. Por lo cual se realizó una optimización de las condiciones de hidrólisis de tiempo y concentración de H₂SO₄.

Los resultados obtenidos de la optimización se muestran en las Gráficas 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31. El análisis estadístico se llevo a cabo en el programa STATGRAPHICS Centurion.



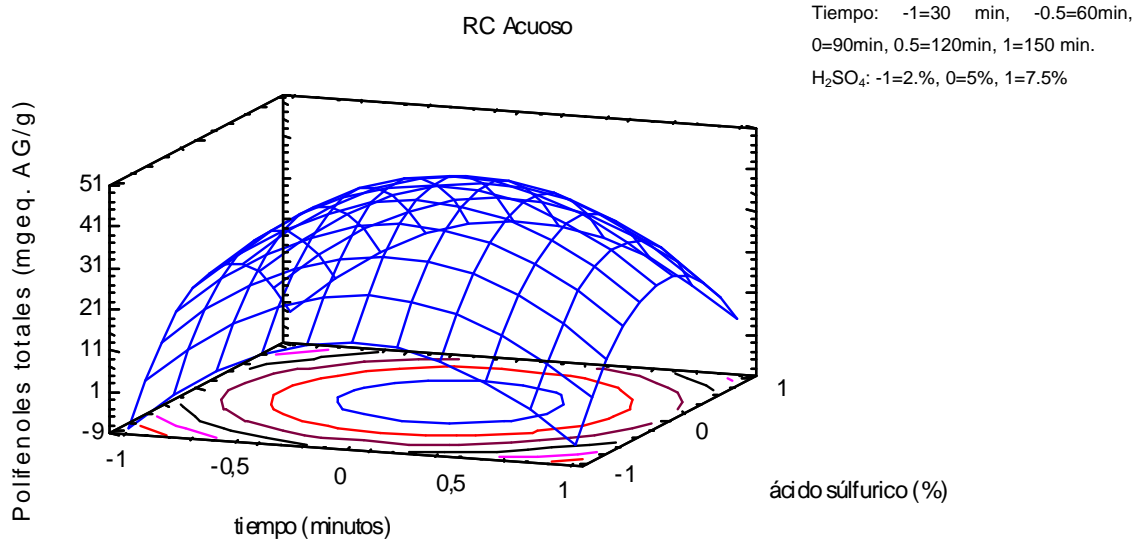
R -cuadrada = 60,411 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 55,3355 por ciento
 Polifenoles totales RT acuoso = $37,7377 + 3,28822 * tiempo + 5,35367 * \text{ácido sulfúrico} - 20,6594 * tiempo^2 + 0,527333 * tiempo * \text{ácido sulfúrico} - 18,793 * \text{ácido sulfúrico}^2$

Gráfica 24. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RT acuoso.



R -cuadrada = 63,8037 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 59,1631 por ciento
 Polifenoles totales = $15,4945 - 0,426978 * tiempo + 1,2739 * \text{ácido sulfúrico} - 10,9824 * tiempo^2 + 0,2002 * tiempo * \text{ácido sulfúrico} - 5,4661 * \text{ácido sulfúrico}^2$

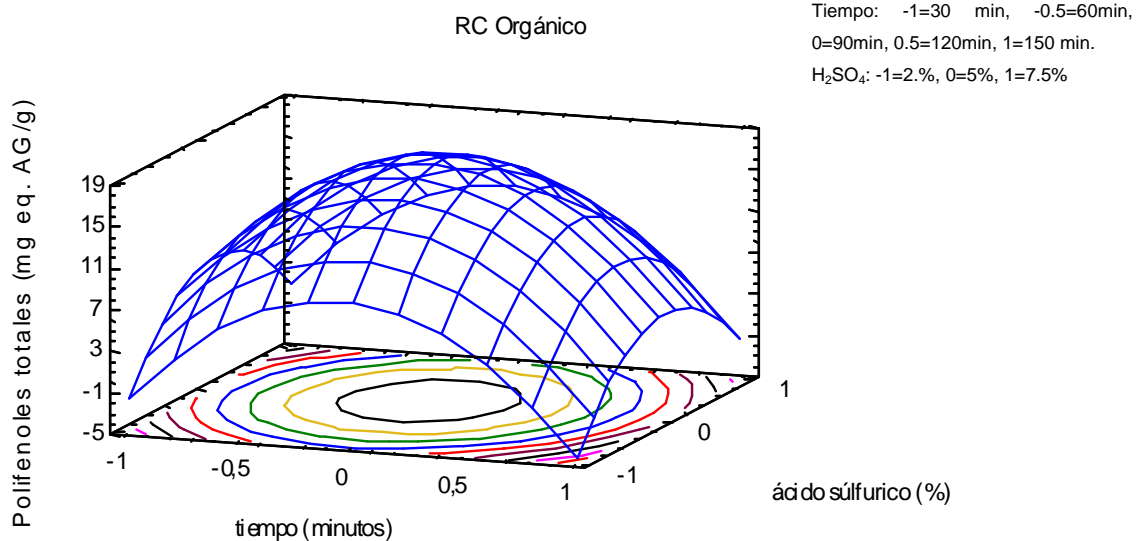
Gráfica 25. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RT orgánico



R -cuadrada = 58,8399 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 53,563 por ciento

Polifenoles totales = 44,165 + 2,142*tiempo + 4,509*ácido sulfúrico - 22,7952*tiempo² + 0,547*tiempo*ácido sulfúrico - 23,3837*ácido sulfúrico²

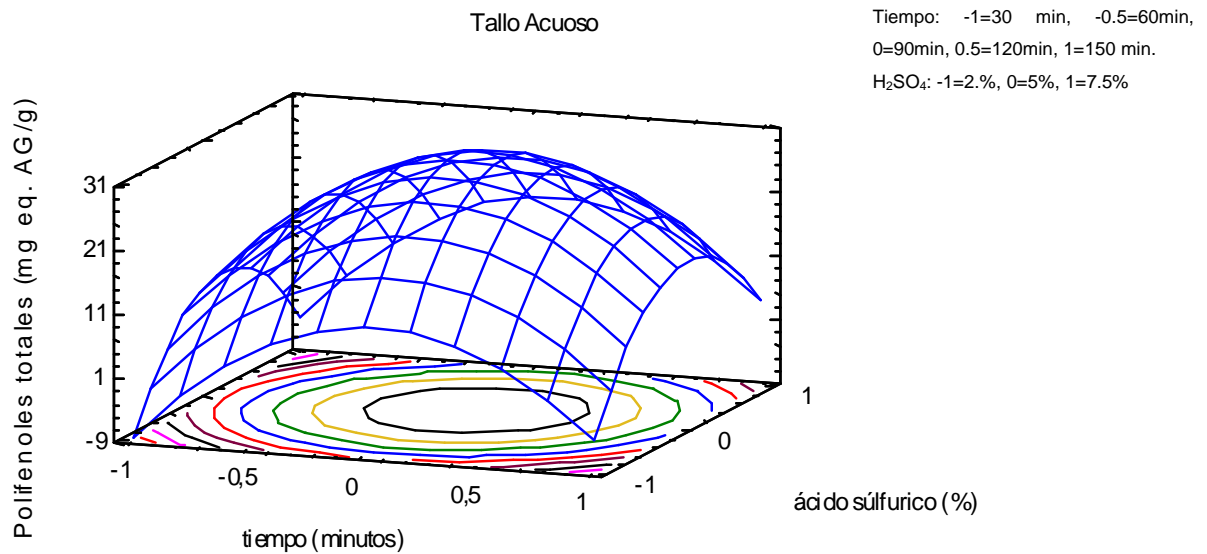
Gráfica 26. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RC acuoso



R -cuadrada = 58,5251 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 53,2078 por ciento

Polifenoles totales = 18,2928 - 1,29729*tiempo + 1,5103*ácido sulfúrico - 12,0629*tiempo² + 0,0737333*tiempo*ácido sulfúrico - 7,75637*ácido sulfúrico²

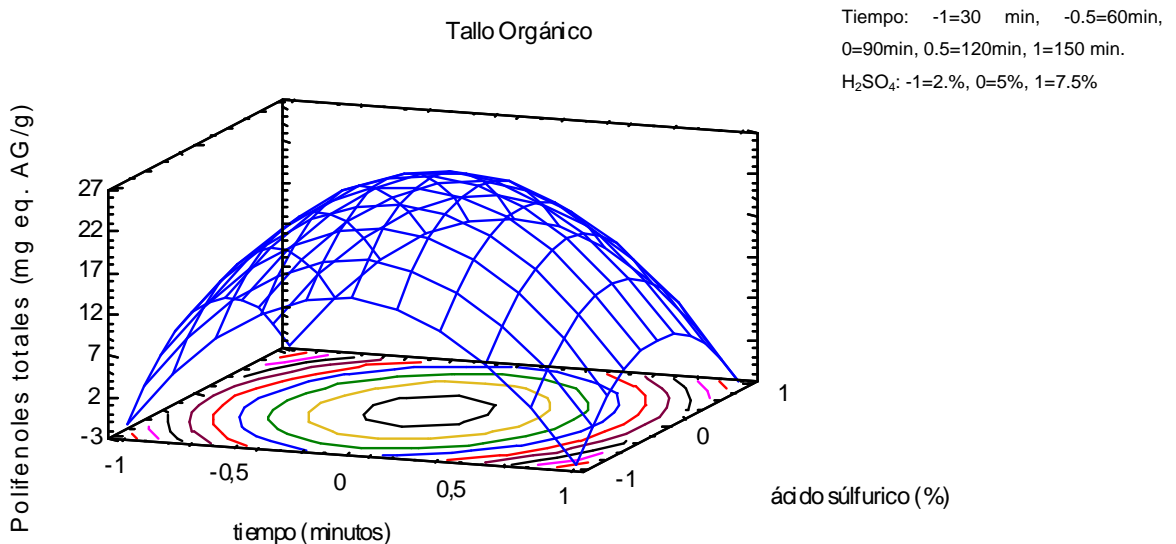
Gráfica 27. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en RC orgánico



R -cuadrada = 59,4776 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 54,2824 por ciento

Polifenoles totales = $30,5063 + 3,06 \cdot \text{tiempo} + 3,32 \cdot \text{ácido sulfúrico} - 17,4565 \cdot \text{tiempo}^2 + 0,888 \cdot \text{tiempo} \cdot \text{ácido sulfúrico} - 15,8293 \cdot \text{ácido sulfúrico}^2$

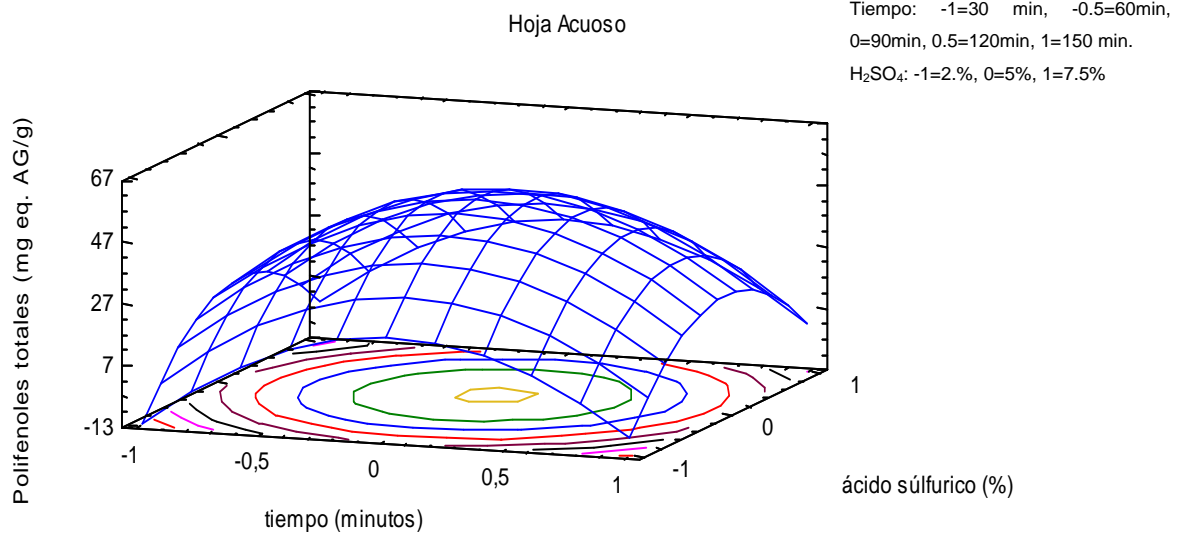
Gráfica 28. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Tallo acuoso



R -cuadrada = 43,8856 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 36,6914 por ciento

Polifenoles totales = $25,2939 - 0,416756 \cdot \text{tiempo} - 0,268767 \cdot \text{ácido sulfúrico} - 17,4891 \cdot \text{tiempo}^2 + 0,216867 \cdot \text{tiempo} \cdot \text{ácido sulfúrico} - 9,9761 \cdot \text{ácido sulfúrico}^2$

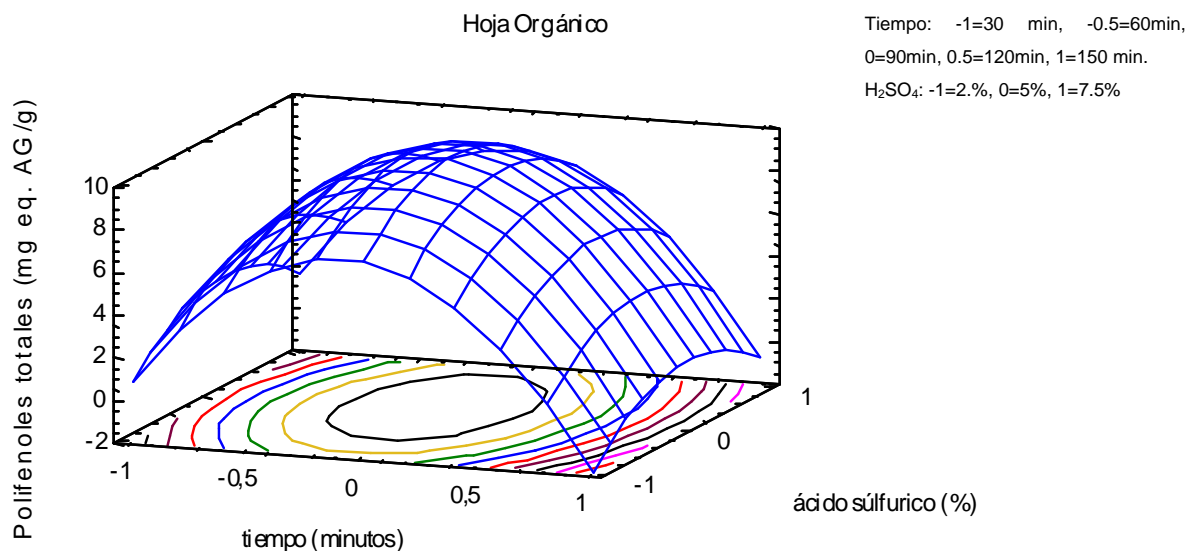
Gráfica 29. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Tallo orgánico



R -cuadrada = 59,4776 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 54,2824 por ciento

$Polifenoles\ totales = 30,5063 + 3,06 * tiempo + 3,32 * \acute{a}cido\ sulfúrico - 17,4565 * tiempo^2 + 0,888 * tiempo * \acute{a}cido\ sulfúrico - 15,8293 * \acute{a}cido\ sulfúrico^2$

Gráfica 30. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Hoja acuoso



R -cuadrada = 59,7249 por ciento, R -cuadrada (ajustada por g.l.) = 54,5614 por ciento

$Polifenoles\ totales = 9,91908 - 1,31187 * tiempo + 0,539233 * \acute{a}cido\ sulfúrico - 7,69416 * tiempo^2 + 0,0792 * tiempo * \acute{a}cido\ sulfúrico - 2,2201 * \acute{a}cido\ sulfúrico^2$

Gráfica 31. Superficie de respuesta de la optimización del contenido de PT en Hoja orgánico

No se encontró diferencias significativas en la obtención de polifenoles totales mediante un a hidrólisis ácida de los materiales de estudio: Residuos sólidos obtenidos después de la extracción acuosa (RS) y la Fibra dietética insoluble (FI), Lo cual nos indica que la hidrólisis ácida afecta directamente a la matriz lignocelulósica sin importar el grado de purificación de estos materiales.

Esto implicaría que en el proceso de obtención de polifenoles totales con actividad antioxidante, no necesitaría de un tratamiento de purificación de los materiales, esto es una ventaja, ya que representa que no se aumentarían los costos por el tratamiento con enzimas necesario para la purificación. Si en otros estudios se quisieran aislar los compuestos fenólicos si sería necesario realizar una purificación.

El contenido de polifenoles en la fase acuosa fue significativamente mayor, a la encontrada en la fase orgánica, debido a que los compuestos fenólicos liberados en las diferentes partes de la planta de amaranto, son de naturaleza polar en su mayoría.

Con los resultados obtenidos se puede asegurar que la hidrólisis ácida es un método por el cual se pueden liberar el máximo de compuestos fenólicos utilizando una concentración de 5% de H_2SO_4 durante 90 minutos, manteniendo una temperatura constante de $121^{\circ}C$ para todas las pruebas, que fueron las condiciones óptimas encontradas en todas las muestras estudiadas, esto es debido a el rompimiento de la lignina que está presente en la matriz lignocelulósica de los diferentes materiales de estudio.

Cabe la posibilidad de que entre los compuestos fenólicos liberados, se encuentre el ácido ferúlico el cual tiene una reconocida actividad antioxidante. Estos extractos se pueden emplear para la formulación de un alimento funcional.

6.12 Cuantificación de flavonoides de hidrolizados

Para la evaluación de flavonoides se tomaron aquellos hidrolizados (H) obtenidos en las condiciones óptimas de obtención de polifenoles a 90 min, usando una concentración de ácido sulfúrico de 5%.

En la Tabla 17, se muestra la concentración de flavonoides de los H obtenidos de las diferentes partes de la planta de amaranto. Se tomo Rutina (quercetina 3-rutinósido) como compuesto de referencia.

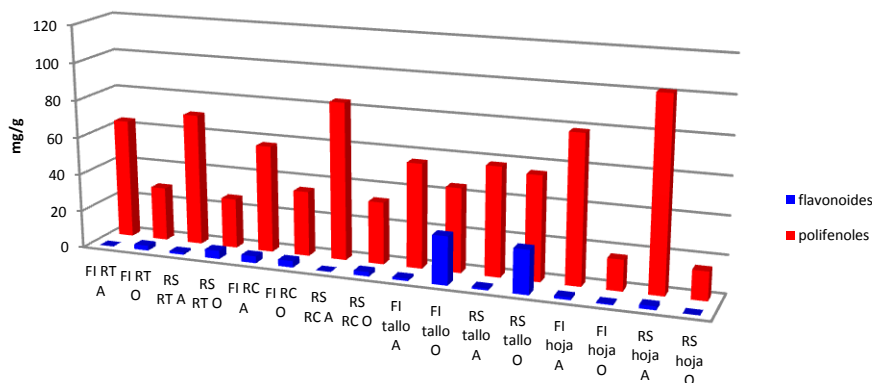
Tabla 17. Contenido de flavonoides en hidrolizados de amaranto

Muestra	Tipo	Fase	Flavonoides (mg eq. Rutina /g muestra)
RT	RS	A	1.19±0.04
		O	4.43±0.35 ^a
	FI	A	NP
		O	2.63±0.05 ^b
RC	RS	A	NP
		O	2.36±0.16 ^a
	FI	A	3.71±0.28
		O	3.5±0.43 ^a
Tallo	RS	A	1.0±0.03 ^a
		O	23.34±1.1 ^a
	FI	A	1.28±0.14 ^a
		O	25.72±0.4 ^a
Hoja	RS	A	1.96±0.03 ^a
		O	NP
	FI	A	1,43±0.11 ^a
		O	3.56±0.04

Letras diferentes indican diferencia significativa (p<0.05).

A= acuoso, O=Orgánico, NP= no presente

De acuerdo a los resultados obtenidos el tallo es el que contiene mayor concentración de flavonoides. Este contenido de flavonoides es mayor al reportado por Serrano *et al.*, (2011), en tallo de *Cladocolea lonciceroides* (9.19 mg eq. rutina / g) y el contenido de flavonoides presente en los hoja de amaranto es menor a lo reportado por en el hoja de muérdago por Serrano *et al.*, (2011) (8.26 mg eq. rutina / g). En la Gráfica 32, se muestra la comparación del contenido de flavonoides con respecto al total de polifenoles presentes en los hidrolizados de amaranto.



FI= fibra dietética insoluble, RS=residuos sólidos,
A= acuoso, O=Orgánico

Gráfica 32. Contenido de flavonoides con respecto al total de polifenoles en EA de amaranto

En los extractos de FI tallo fase orgánica y en RS de tallo fase orgánica se ve claramente que los flavonoides están predominantemente en estos extractos, sin embargo en el resto de los hidrolizados obtenidos, el contenido de flavonoides es pobre, por lo que la composición de la fracción antioxidante corresponde a otro grupo de familias (Gráfica 32).

6.13 Evaluación de la capacidad antioxidante de hidrolizados

La evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la hidrólisis ácida se encuentra resumida en las tablas del anexo H.

6.13.1 Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH•)

La capacidad antioxidante de los hidrolizados se monitorio en los hidrolizados a 30, 60 y 90 min en las concentraciones de ácido sulfúrico 2.5, 5 y 7.5%, para observar si

conservaban la actividad antioxidante los hidrolizados (Anexo H). La evaluación del valor IC_{50} para los hidrolizados de RS de amaranto, el cual se refiere a la concentración de polifenoles expresados en eq. de AG /g, necesarios para inhibir el 50% del radical DPPH, se muestra en la Tabla 18.

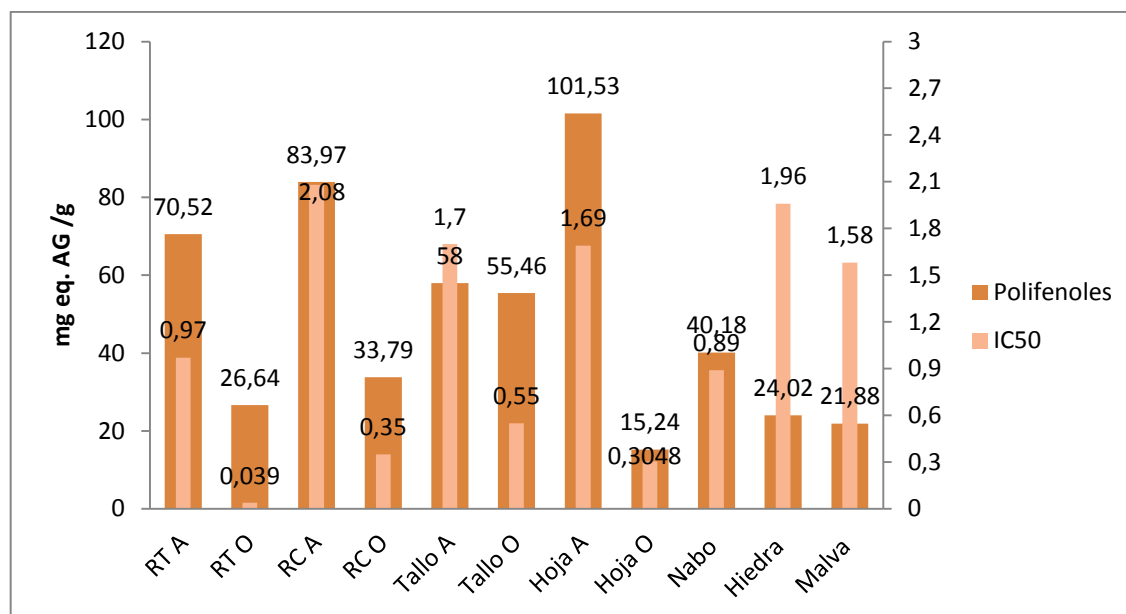
Tabla 18. Valores de IC_{50} de reducción de radical DPPH• de hidrolizados de RS de amaranto

Muestra	Fase	mg eq AG/g
RT	A	0,97 ^a
	O	0.039 ^a
RC	A	2.08 ^c
	O	0.35 ^b
Tallo	A	1.7 ^b
	O	0.55 ^c
Hoja	A	1.69 ^b
	O	0.30 ^b

*Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$).
A= acuoso, O=Orgánico*

Los compuestos fenólicos liberados por la hidrólisis ácida de las diferentes partes de la planta de amaranto presentan actividad antioxidante, teniendo un valor de IC_{50} menor en las muestras de la fase orgánica. RT es el que tiene una actividad antioxidante potente en comparación con las otras muestras en ambas fases. La Gráfica 33 muestra la comparación del contenido de polifenoles y la capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los hidrolizados de amaranto y melazas usadas para alimentación.

Los hidrolizados de las diferentes partes de la planta de amaranto no presentan una relación proporcional en el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante, esto puede ser debido a la gran variedad de compuestos presentes en cada una de las partes vegetativas, Por otro lado, comparando al RT fase orgánica con los extractos de Hiedra se puede observar que tiene un contenido similar de polifenoles (Gutiérrez *et al.*, 2008),, sin embargo su IC_{50} son completamente distintos, teniendo el menor IC_{50} en RT orgánico, por lo que claramente se puede observar que no necesariamente un contenido rico de polifenoles presentarán una alta actividad antioxidante.



A= acuoso, O= orgánico, Nabo=*Brassica ropa* L., Hiedra=*Ipomoea purpurea* Roth, Malva de quesitos=*Malva parviflora* L. (Gutiérrez et al., 2008).

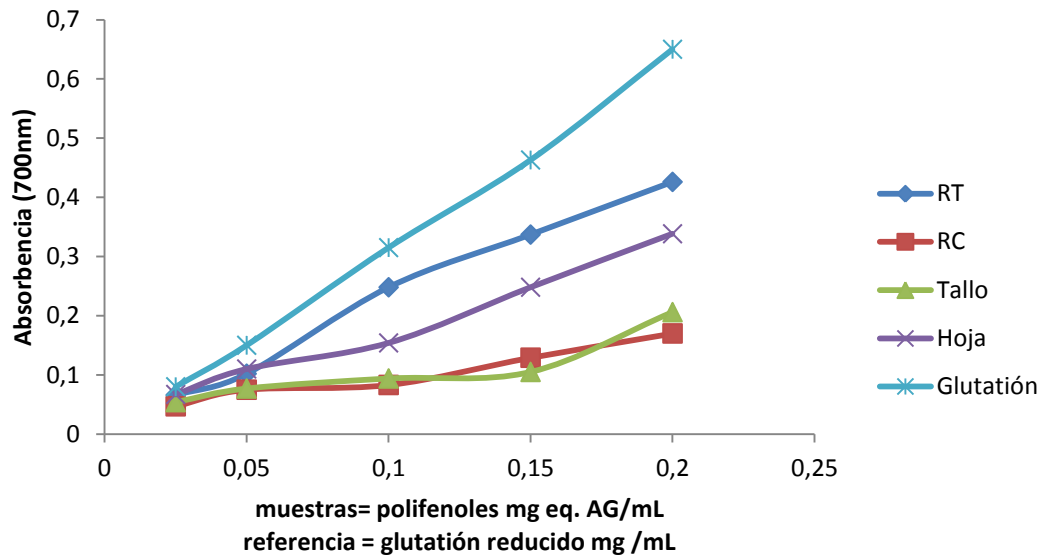
Gráfica 33. Comparación del contenido de polifenoles y su capacidad para reducir el 50% de el radical DPPH• de los hidrolizados de amaranto y melazas usadas para alimentación.

Los compuestos fenólicos liberados de la matriz lignocelulósica mediante una hidrólisis ácida son capaces de reducir al radical DPPH•, a bajas concentraciones en comparación con algunas melazas usadas para alimentación, por lo que se puede presumir que presentan una actividad antioxidante potente.

6.13.2 Poder reductor

Para la determinación del poder reductor del ión Fe^{2+} se tomaron los hidrolizados de la fase acuosa de los RS de las diferentes partes de la planta de amaranto. El poder reductor del ión Fe^{2+} se expresó en referencia a su concentración de polifenoles presentes en cada caso. Las concentraciones de polifenoles fueron ajustadas a 0.025, 0.5, 0.1, 0.15, 0.20 mg eq. AG/mL en todos los extractos utilizados. Se utilizó glutatión reducido como compuesto de referencia en el intervalo de concentración de 0 a 0.2 mg

GR/mL. La gráfica 34 muestra los resultados obtenidos por los diferentes hidrolizados. El poder reductor se determina por el comportamiento ascendente de la gráfica.

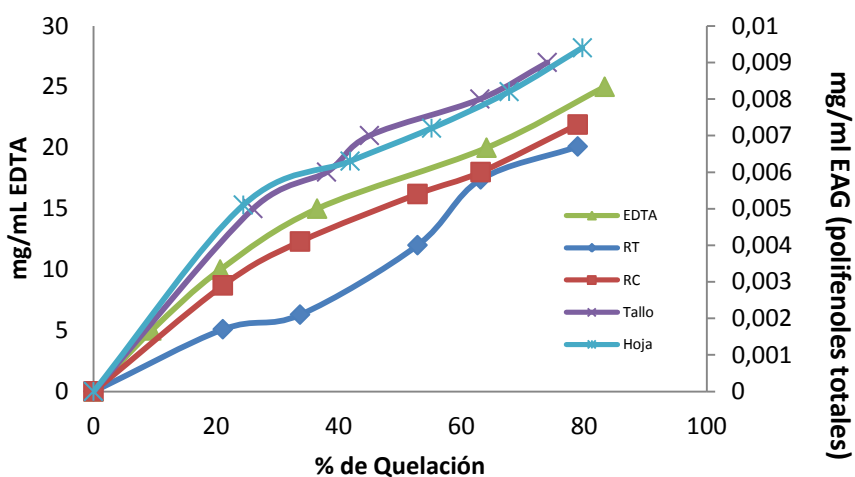


Gráfica 34. Poder reductor de diferentes hidrolizados de la fase acuosa de amaranto

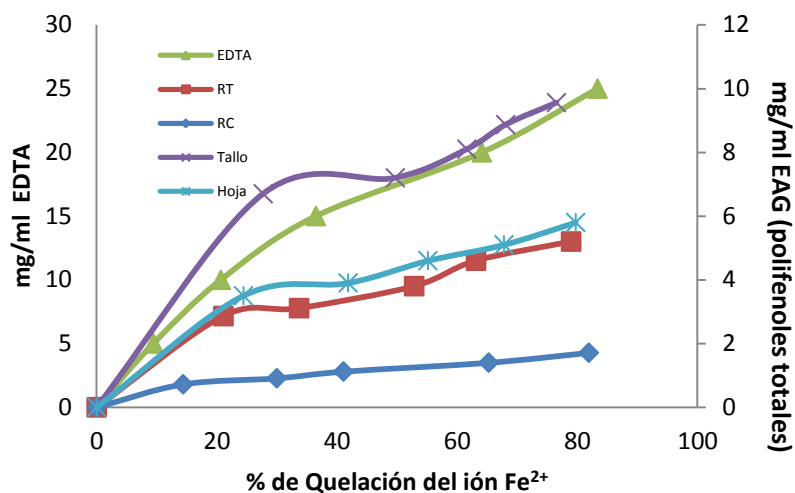
Los extractos de RT, RC, tallo y hoja presentaron un comportamiento similar entre ellos. Todos los hidrolizados presentaron poder reductor sobre el ión Fe^{2+} por debajo de la referencia, lo que indica que en los compuestos fenólicos liberados de la matriz lignocelulósica de los diferentes materiales de estudio, no intervienen de forma predominante las reacciones de oxido-reducción por medio de la transferencia de hidrógenos como lo hace el glutatión reducido. El poder reductor evaluado por Yildirim *et al.*, 2000, de *Tilia argentea* (té de tila), necesitó una concentración de 0.05-0.5 mg/mL para tener absorbancias de 0.1 a 0.4 a 700nm, lo cual nos indica que el comportamiento es mejoren los hidrolizados del presente estudio ya que en RT y hoja se necesitó la mitad de lo que en *Tilia argentea*.

6.13.3 Actividad quelante sobre el ión Fe^{2+}

El efecto de quelante que presentaron los hidrolizados de las diferentes partes de la planta de amaranto se determina por el comportamiento ascendente de la gráfica del porcentaje de quelación del ión Fe^{2+} con respecto a la concentración de polifenoles totales. Se usó como referencia la actividad quelante del EDTA (usado como antioxidante en la industria por su potente actividad de quelación). En las gráficas 35 y 36 se muestran los resultados obtenidos para los hidrolizados del RS de amaranto de la fase acuosa y orgánica respectivamente.



Gráfica 35. Actividad quelante del extracto hidrolizados de la fase acuosa comparada con EDTA



Gráfica 36. Actividad quelante del extracto hidrolizados de la fase orgánica comparada con EDTA

Para poder observar un comportamiento de quelación similar al EDTA, en el caso de los hidrolizados de la fase acuosa se tienen que tener concentraciones muy pequeñas alcanzando concentraciones de ppm, lo que indica que estos hidrolizados tienen una actividad quelante muy potente en comparación con el EDTA, mientras que los hidrolizados de la fase orgánica tienen un efecto quelante mucho menor a los de la fase acuosa, sin embargo las concentraciones necesarias para observar un efecto similar a l EDTA es la mitad de la concentración requerida por este.

Los compuestos fenólicos provenientes de los hidrolizados de *Amaranthus hypochondriacus* L. presentan un poder quelante sobre el ión Fe²⁺, mayor en comparación con lo reportado por Ozsuy (2009), quien reporta para *A. lividus* un rango de 0-40mg /mL para observar hasta un 73.4% de quelación. Es entonces una nueva opción para la industria alimentaría el utilizar estos hidrolizados como fuente de compuestos quelantes, para la conservación de alimentos ricos en grasas, ya que como se sabe los agentes quelantes se emplean para evitar las reacciones de lipoperoxidación iniciadas con la presencia del ión Fe²⁺.

6.14 Polifenoles totales

En la tabla 19 se muestra el contenido de polifenoles totales en los extractos acuosos y en hidrolizados de las diferentes partes vegetativas.

Tabla 19. Polifenoles totales obtenidos de las diferentes partes de la planta de amaranto.

	RT (mg EAG/g)	RC (mg EAG/g)	Tallo (mg EAG/g)	Hoja (mg EAG/g)
EA	7.6±0.56	6.2±0.04	1.62±0.01	12.55±0.8
FO	26.64±0.39	33.79±0.14	55.68±0.56	15.33±0.34
FA	70.52±1.2	83.98±1.5	57.99±0.93	101.53±1.61
Total	104.76	123.97	115.29	129.41

EA= Extracto Acuoso, FO= fase organica del hidrolizado, FA= Fase acuosa del hidrolizado.

Se obtuvo un contenido total de polifenoles por arriba de los 100mg EAG/g a partir de Tallo, hoja y rastrojo T y C. La FA es donde se concentra la mayor cantidad de polifenoles en comparación con los extractos acuosos.

7 Conclusiones

El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) genera una gran cantidad de residuo lignocelulósico, a partir del cual se puede obtener principalmente fibra insoluble, que a su vez es fuente de compuestos polifenólicos, los cuales se liberan de la lignina y azúcares a través de una hidrólisis ácida. Los compuestos polifenólicos presentan actividad antioxidante que al añadirse al mismo residuo lignocelulósico podría incrementar esta actividad.

Dicha conclusión se sustenta en los siguientes hallazgos:

- Los residuos vegetales que se generan de la cosecha del grano de amaranto, la hoja seca, el tallo seco y el rastrojo T son fuentes de material lignocelulósico y su contenido de fibra dietética total varía de 40-69 g/100g. Comparativamente, el tallo contiene el mayor contenido de fibra cruda (44.1 ± 1.72), la hoja el mayor contenido de proteína, extracto etéreo y cenizas (19.6 ± 0.65 , 5.4 ± 0.19 , 12.1 ± 0.24 respectivamente).
- El tallo es el que presenta el mayor contenido de celulosa (46.8 ± 0.1) debido a que el tallo es el medio por el cual se nutre la planta, esto nos indica que es una fuente potencial de glucosa (biocombustible) debido a que el contenido de celulosa es superior al de la paja de trigo y cercano al del rastrojo de maíz.
- El 60% de las hemicelulosas de RT corresponde a los pentosanos, (xilosa y arabinosa), en el caso de RC se encontró que el 22% pertenece a xilosa y arabinosa. En el tallo las hemicelulosas que contiene está compuesta únicamente de xilosas y arabinosas, mientras que para la hoja cerca del 50% son pentosas y el resto lo componen las hexosas.
- El tallo y la hoja son los que presentaron un mayor contenido de lignina (15.4 ± 0.3 y 12.5 ± 0.4), el mayor contenido de extraíbles estuvo presente en el RT (38.1 ± 1.1).

- El contenido de la fibra dietética total se logra concentrar hasta el $42\pm 3.31\%$ del material lignocelulósico de la hoja seca, el $69\pm 3.7\%$ para el tallo seco y 55 ± 1.0 para el rastrojo T.
- La mayor concentración de polifenoles en los extractos acuosos (EA) se obtuvieron a ebullición durante 5 minutos. La extracción de los compuestos antioxidantes libres de los diferentes residuos evaluado como polifenoles totales varían de 1.6 a 12.55 mg eq. AG/g, lo que representa una fuente importante de estos compuestos; lográndose también la concentración del material lignocelulósico para la obtención de compuestos antioxidantes ligados a la estructura de la pared celular vegetal.
- Los hidrolizados presentaron el mayor contenido de polifenoles a un tiempo de 90 minutos utilizando una concentración de ácido sulfúrico de 5% (v/v) manteniendo la temperatura de 121°C .
- El contenido de polifenoles expresado en mg eq. AG/g de los rastrojos RT y RC, tallo y hoja en la fase orgánica resulto: $26,64\pm 0.39$, $33,79\pm 0.14$, 55.65 ± 0.56 , 15.33 ± 0.34 , respectivamente y para la fase acuosa resulto: 70.52 ± 1.2 , $83,98\pm 0.15$, 57.99 ± 0.93 y 101.53 ± 1.61 , siendo el hidrolizado de la hoja en la fase acuosa la que presenta el mayor contenido de polifenoles. El proceso de hidrólisis libera un contenido importante de compuestos fenólicos.
- La cantidad de flavonoides tanto en los extractos acuosos como en los hidrolizados, no representa un importante porcentaje de los polifenoles totales, por lo que sugiere una caracterización de estos compuestos.
- El extracto acuoso de tallo presento y el hidrolizado de RT fueron los que presentaron el menor IC_{50} (mg eq. AG/g), (0.45 y 0.039 , respectivamente), lo que indica que una concentración pequeña de extracto es capaz de reducir al radical DPPH•.
- La capacidad reductora del extracto acuoso de hoja fue la que presento una mayor inhibición del radical ABTS ($57.58\pm 0.68\%$) en comparación con los demás extractos

RECOMENDACIONES

Para un mayor conocimiento de los compuestos funcionales obtenidos del rastrojo T y rastrojo C, hoja y tallo de *Amaranthus hypochondriacus* L., se sugieren los siguientes estudios:

- Caracterizar los residuos sólidos remanentes de la hidrólisis ácida.
- Evaluar el tiempo de hidrólisis óptimo para la obtención de xilooligosacáridos y evaluar su actividad prebiótica.
- Caracterizar los compuestos fenólicos obtenidos por la hidrólisis ácida.
- Evaluar la presencia de compuestos antinutricionales o tóxicos en la fibra y en los diversos extractos acuosos y orgánicos obtenidos.
- Obtener la fibra antioxidante con propiedades sensoriales aceptables.

8 BIBLIOGRAFIA

A.A.C.C. American Association of cereal Chemist. 2001. Report of the definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*. 46. 112-124.

A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemist. 1997. Official methods of analysis. Editorial Gaithersburg. Cap. 2-13-14, Cap.4-13, Cap. 25-28, Cap. 32-1,2.

Amin, I., Norazaidah, Y. & Emmy H.K. 2006. Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species. *Food Chemistry*. 94. 47-52.

Arellano, J. & Galicia, J. 2007. Rendimiento y características de planta y panoja de amaranto en respuesta a nitrógeno y cantidad de semilla. *Agricultura Técnica en México*. 33. 251-258.

Badui, S. 2006. Química de los alimentos. 4ª edición. Universidad Alambra.117-119, 538-540.

Becker, E. M., Nissen, L. R. & Skibsted, L. H. 2004. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. *European Food Research and Technology*. 219. 561-571.

Bennett, W. & Cerda, J.1996. Benefits of dietary fiber. Myth or medicine?. *Postgrad Med*. 99. 153-172.

Bielecka, M., Biedrzycka, E. & Majkowska, A. 2002. Selection of probiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Research International*. 35. 125-131.

Brand-Williams, W., Cuvelier, E. & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. 28. 25-30.

Brezillón, C., Kroon, P.A., Faulds, C.B., Brett, G.M., & Williamson, G. 1996. Novel ferulic acid esterases are induced by growth of *Aspergillus niger* on sugar-beet pulp. *Appl Microbiol Biotechnol*. 45. 371-376.

- Bunzel, M., Allerdings, E., Sinwell, V., Ralph, J., & Steinhart, H. 2002. Cell wall hydroxycinnamates in wild rice (*Zizania aquatica* L.) insoluble dietary fiber. *European Food Research and Technology*. 214. 482-488.
- Bunzel, M., Ralph, J. & Steinhart, H. 2005. Association of non-starch polysaccharides and ferulic acid in grain amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) dietary fiber. *Molecular Nutrition Food Research*. 49. 551-559.
- Conde, E., Gullón, P., Moure, A., Domínguez, H. & Parajó, J.C. 2009. Fractionation of industrial solids containing barley husks in aqueous media. *Food and Byproducts Processing*. 87. 208-214.
- Cordoba, J.H., Delgado, E. & Toríz, G. 2010. Generación de compuestos orgánicos en el olote, mediante la oxidación en húmedo. *Investigación, Biodiversidad y Desarrollo*. 29. 186-200.
- Davidson M.H. 1998. Fiber, forms and functions. *Nutrition Research*. 18. 617-624.
- De Vries, J.W., Prosky, B. & Cho. 1999. A historical perspective an defining dietary fiber. *Cereal foods world*. 423-010. 367-369.
- Demirbas, A. 1998. Yields of oil products from thermochemical biomass conversion processes. *Pergamon. Energy Convers. Mgmi*. 7. 685-690.
- Dreher ML. 1987. Dietary fiber content of food sources. *Handbook of Dietary Fiber: An Appied Approach*. NY: Marcel Dekker, Inc.
- Eastwood M. 1990. Fiber and gastrointestinal disease. In : *Dietary fiber: Chemistry Physiology and Healt Effects*. Edited by D. Kritchevsky, C. Bonfield y WW Anderson. NY: Plenum Press.
- El-Hafidi, M. & Baños, G. 1997. *In vivo* plasma lipid oxidation in sugar-induced rat hypertriglyceridemia and hypertension. *Hypertension*. 30. 624-628.
- Escudero, A. & González, S. 2006. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*. 21. 61-72.

- Ferreira, L., Wood, T., Williamson, G., Faulds, C., Hazlewood, G., Black, G. & Gilbert, H. 1993. A modular esterase from *Pseudomonas fluorescens subsp.* Cellulose contains a noncatalytic cellulose-binding domain. *Biochemical Journal*. 294. 349-355.
- Fooks, L., Fuller, R. & Gibson, G. 1999. Probiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*. 9. 53-61.
- Freshney, I. 1992. Towards serum-free, chemical defined media for mammalian cell culture. En: *Animal cell culture. A practical approach*. 2ª Edition. The practical Approach Series. USA. 15-44.
- García, D.E. & Medina, M.G. 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical*. 24. 233-250.
- García Nava, M. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Primer verano de introducción a la investigación de la Universidad de Querétaro. 2007.
- García, P.P. & Velasco, G. 2007. Evolución en el conocimiento de la fibra. *Nutrición Hospitalaria*. 22. 20-25.
- Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of human colonic microbiote. Introducing the concept of prebiotics. *Journal Nutrition*. 125. 1401-1412.
- Glore, S.R., Van, T. D. & Knehans, A. 1994. Soluble Fiber and serum lipids. *Amer Diet Assoc*. 94. 425-236.
- Gutteridge, J. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*. 41. 1819-1828.
- Gutierrez, A.D., Ortiz, G.C. & Mendoza, C.A. 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metrología. Santiago de Queretaro, México. 22 al 24 de Octubre.
- Holtzapple, M.T., 1993. Hemicelluloses. En: *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. Ed. Academic Press. 2324-2334.

- Horowitz, M. Edelbroek, M. Wishart, J. & Straathof, J. 1993. Relationship between oral glucose tolerance and gastric emptying in normal healthy individuals. *Diabetologia*. 36. 857-862.
- Huang, J., Xu, X. & Jin, Z. 2005. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*. 111. 370-376.
- Ishii, T. 1997. Structure and functions of feruloylated polysaccharides. *Plant Science*. 127. 111-127.
- Jefferson, M. 2006. Sustainable energy development: performance and prospects. *Renew Energy*. 31. 571-582.
- Jeffries, T.W. 1990. Biodegradation of lignin-carbohydrate complex. *Biodegradation*. 1. 163-176.
- Jenkins D., Kendall C. & Vidgen E. 2000. The effect on serum lipids and oxidized low-density lipoprotein of supplementing self-selected low-fat diets with soluble-fiber, soy, and vegetable protein foods. *Metabolism*. 49. 67-72.
- Jeong, K., Park, I., Kim, M. & Kim, S. 1998. High-level expression of an endoxylanase gene from *Bacillus sp.* In *Bacillus subtilis* DB104 for the production of xylobiose from xylan. *Applied Microbiology Biotechnology*. 50. 113-118.
- Juarez, M., Olano, A. & Morais, F. 2005. Alimentos funcionales. Madrid España. p. 173-179
- Kamal-Eldin, A. & Pokorný, J. 2005. Ultraviolet-Visible spectrophotometry in the analysis of lipid oxidation. En: *Analysis of Lipid Oxidation*. AOCS Press. USA. 17-39.
- Kris-Etherton P. Krummel D. & Russell M. 1988. The effect of diet on plasma lipids, lipoprotein, and coronary heart disease. *J Amer Diet Assoc*. 94. 425-436.
- Kuskoski, E. M. Asuero, A. G. Troncoso, A. M. Mancini-Filho, J. & Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 25. 726-732.
- Lairon, D. 1987. Las fibras alimentarias. *Mundo científico*. 102. 520-528

- Launer, H. F. & Wilson, W.K. 1930. "Determination of Pentosans in Pulps and papers" J. Res. NBS. 22. 471.
- Ludwig D. Pereira M. & Droenke. 1999. Dietary fiber, Weight gain, and cardiovascular disease risk factor in Young adults. JAMA. 27. 1539-1546.
- Madrigal, S.E., Morales, G., Cariño, C. & Zuñiga, P.C. 2009. Estrés oxidativo: la adaptación, el daño, la reparación y la muerte. Tomo 1. Los antioxidantes y las enfermedades crónico degenerativas. UAH. 13. 239-252.
- Mandalari, C., Nueno, P.K., Tuohy, G.R., Gibson, R.N., Bennett, K.W., Waldron, G.B., Signono, A., Norbad, C.B. & Faulds. 2007. In vitro evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide extract enzymatically derived from bergamont peel. Appl. Microbiol Biotechnol. 73. 1117-1179.
- Mataix, V. 2004. Nutrición para educadores. 2ª edición. Fundación Universitaria Iberoamericana. Diaz de Santos. 327-331.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R, & van Beek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry. 85. 231-237.
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry. 31. 426-428.
- Morales, G., Fernández, S., Bautista, A., Vargas, M. & Madrigal, S. 2009. Los antioxidantes y las enfermedades crónico degenerativas. Tomos I y II. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo.
- Morales, G., Vázquez, N. & Bressani, R. 2009. El amaranto. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricio. 1ª Edición. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. 15-233.
- Ndhlala, A., Anthonissen, R., Stafford, G., Finnie, J., Verschaeve, L., & Van Staden, J. 2010. In vitro cytotoxic and mutagenic evaluation of thirteen commercial herbal mixtures sold in KwaZulu-Natal, South Africa. *South African Journal of Botany*. 76. 132-138.

Naslund, E. Barkeling, B. King, N. Gutniak, M. Blundell, J. Holst, J. Rossner, S. & Hellstrom, P. 1999. Energy intake and appetite is suppressed by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in obese men. *Int J Obes.* 23. 304-311.

Nyman, M., Siljeström, M., Pedersen, K., Bachknudsen, E., Asp, N. G., Johansson, C. & Eggum, O. 1983. Dietary fiber content and composition in six cereals at different extractions rates. *Cereal Chemistry.* 61. 14-19.

Oyaizu, M. 1986. Antioxidative activities of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* 35. 771-775.

Ozcimen, D., Karaosmanoglu, F. 2004. Producción and caracterización of bio-oil and biochar from rapeseed cake. *Renw Energy.* 29. 779-787.

Ozsoy, N., Yilmaz, T., Kurt, O., Can, A. & Yanardag, R. 2009. In vitro antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L. *Food Chemistry.* 116. 867-872.

Paredes L. O., Guevara L.F. & Bello P.L. 2006. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Secretaría de educación pública, Fondo de cultura económica & Consejo nacional de ciencia y tecnología. 212. 88-104.

Písaříková B. & Zralý Z. 2010. Dietary fibre content in Lupine (*Lupinus albus* L.) and Soya (*Glycine max* L.) Seeds. *Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic.* 79. 211-216.

Priego, M.N. & López, L.J. 2007. Tesis "Obtención de Fibra Dietética a partir de Sácuos de Naranja aplicando un Tratamiento con Vapor. UTM. 1-64.

Ranhotra, G., Gelroth, J., & Astroth, K. 1990. Total and soluble fiber in selected bakery and other cereal products. *Cereal Chemistry.* 67. 499-501.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Panala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26. 1231-1237.

Reporte: Dietary fiber and health-a report of the Council on Scientific Affairs, American Medical Association. *JAMA.* 1989. 262. 542-546.

Reyes, H., García, O., Infante, R., Rivera, C., & Morón, M. 1988. Estudio bioquímico de dos tipos de cereales (maíz y arroz) y productos derivados de su procesamiento. Temas de Tecnología de alimentos. Vol.2. Fibra Dietética. Ed. Lajolo. Instituto Politécnico Nacional. 143-148.

Robles S. 2001. ¿Qué es la fibra dietética?. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición.. Boletín- Instituto Nacional de Salud. 7. 13-14.

Roberfroid, M. & Buc, P. 1995. Biologically Relevant Radicals. En: *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*. Dekker, Edit. M. Marcel Dekker, Inc, USA. 59-74.

Roginsky, V. & Lissi, E. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*. 92. 235-254.

Rupin, H. 1987. Absorption of short chain fatty acid by the colon. *Gastroenterology*. 78. 1500-1507.

Sacalbert, A., Monties, B., Lallemand J-Y., Guittet, E. & Rolando, C. 1985. Ether linkage between phenolic acid and lignin fractions from wheat straw. *Phytochemistry*. 24. 1359-1362.

Sanchez, G. B. S. 2005. Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra Dietética del fruto del Níspero (*Eriobotrya japonica*) y de la cáscara de mango Obo (*Mangifera indica* L).

Sani, H. A., Rahmat, A., Ismail, M., Rosli, R. & Endrini, S. 2004. Potential anticancer effect of red spinach (*Amaranthus ganngengitus*) extract. *Asia Pacífico. J. Clin. Nutr.* 13. 396-400.

Saura-Calixto. 1988. Antioxidant Dietary Fiber Product: a new concept and potential food ingredient. *Journal Agric. Food Chemistry*. 46. 4303-406.

Saura-Calixto, & García-Alonso. 2001. Metodología para el análisis de fibra y carbohidratos. *Fibra dietética en Iberoamericana: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. Ed. Varela. 17-25.

Saura-Calixto, Cambrodón, G., Albarran, M., & Ferrer, P. 2002. Fibra dietética en cerveza: contenido, composición y evaluación nutricional. Centro de información Cerveza y Salud. España. 4-19, 43.

Semelsberger, T.A., Borup, R.L. & Greene, H.L. 2007. Dimethyl ether (DME) as an alternative fuel. *Journal of Power Sources*. 156. 497-511.

Serrano, M.M. & Soriano-Santos, J. 2010. Tesis, "Evaluación de la actividad antioxidante para el aprovechamiento del muérdago que infesta la zona chinampera de Xochimilco". UAM. 1-20.

Serrano-Maldonado, M.J., Guerrero-legarreta, I., Pérez-Overa C.D. & Soriano-Santos, J. 2011. Antioxidant Activity and Citotoxic Effect of *Cadocolea loniceroides*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10. XXX-XXX

Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuea-Reventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Foin-Ciocalteau reagent. *Methods in Enzymology*. 229. 152-178.

Soriano-Santos, J., Malpica, S., Ramirez, M. & Escamilla, M. 2004. Particle size screening of a flour made from dehydrated amaranth leaf for preparing a dietary fiber drink. *Tecnología de alimentos*. 39. 7-12.

Stephens, A. 1990. Constipation. Dietary Fiber. Chemistry, Physiology and Health Effects. Edited by D. Kritchevsky, C. Bonfield y JW Anderson. NY. Plenum Press.

Suwa, Y., Koga, K., Fujikawa, S., Okazaki, M., Irie, T. & Nakada, T. 1999. *Bifidobacterium bifidum* proliferation promoting composition containing xylooligosaccharide. Patente de Estados Unidos no. US5939309.

Trowell H.C, 1972. Dietary fibre and coronary heart disease. *Biology Research*. 17. 345-349.

Trowell, H.C. & Burkitt, D.P. 1975. Concluding considerations. Burkitt, D. & Trowell, H.C, Eds. Redefined carbohydrate foods and disease. Academic Press, New York, NY. 333-345.

Tuohy, K. M.; Probert, H. M.; Smejkal, C. W., y Gibson, G. R. 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discov. Today*. 8. 692-700.

Vegas, R., Alonso, J., Domínguez, H. & Parajó, J. 2004. Processing of rice husk autohydrolysis liquors for obtaining food ingredients. *Food chemistry*. 52. 7311-7317.

Williams, G., Bollella, M. & Strobino, B. 1999. Plant sterol ester and bran fiber in childhood, effects on lipids, stool weight and stool frequency in preschool children. 18. 572-581.

Xie, Z., Huang, J., Xu, X. & Jin, Z. 2008. Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*. 111. 370-376.

Yen, G. C. & Chen, H. Y. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43. 27-32.

Yildirim A., Mavi A., Oktay M., Aydan A., Faruk A.O., Bilaloglu V. 2000. Comparasion of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tilia (*Tilia Argentea* Desf Ex DC), sage (*Salvia Triloba* L.), and Black Tea (*Camellia Sinensis*) Extracts. *J. Agric. Food Chemistry*. 48. 5030-5034.

9 ANEXOS

Anexo A

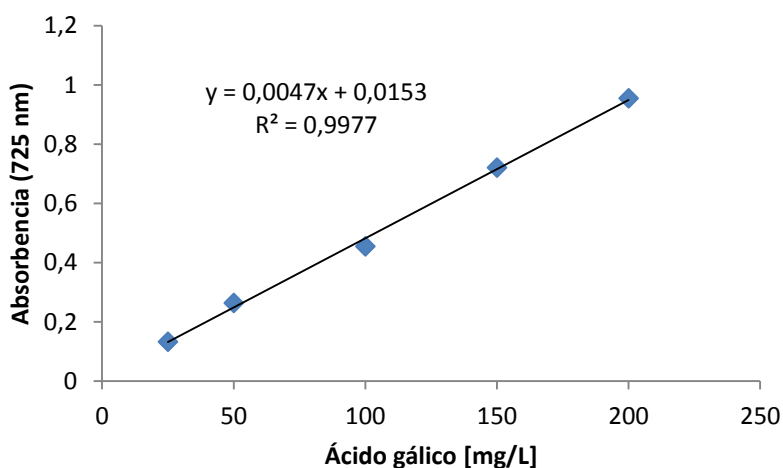
Curva estándar para la cuantificación de polifenoles expresada en equivalentes de ácido gálico

En la Tabla A1, se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la cuantificación de polifenoles totales en las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A1 se muestra la curva de ácido gálico (mg/L) versus absorbencia a 725nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la determinación de polifenoles en equivalentes de ácido gálico.

Tabla A 1. Curva estándar de ácido gálico para cuantificación de polifenoles totales

Ácido gálico (mg/L)	Absorbencia (725nm)
25	0.133±0.012
50	0.264±0.024
100	0.455±0.079
150	0.721±0.037
200	0.955±0.021



Gráfica A 1. Curva estándar de Ácido gálico para la cuantificación de polifenoles

Anexo B

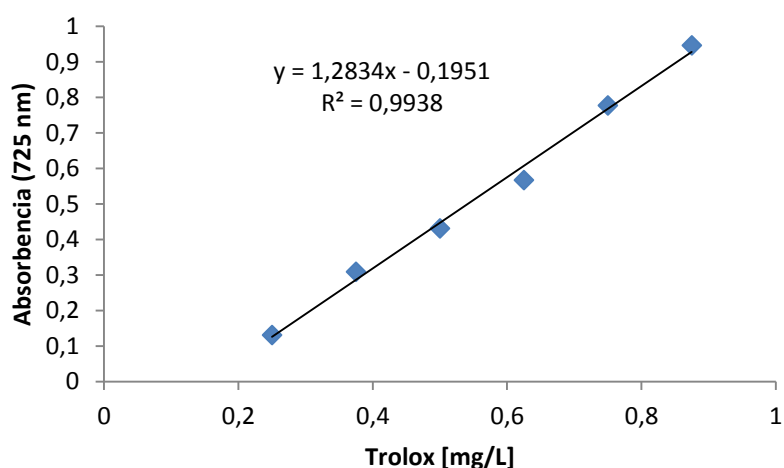
Curva estándar para la cuantificación de polifenoles expresada en equivalentes de Trolox.

En la Tabla A2 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la cuantificación de polifenoles totales en las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A2 se muestra la curva de Trolox (mg/L) versus absorbencia a 725 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la determinación de polifenoles en equivalentes de Trolox.

Tabla A 2. Curva estándar de Trolox para cuantificación de polifenoles totales

Trolox (mg/L)	Absorbencia (725nm)
0.250	0.131±0.015
0.375	0.309±0.054
0.500	0.431±0.013
0.625	0.567±0.028
0.750	0.777±0.072
0.875	0.946±0.044



Gráfica A 2. Curva estándar de Trolox para la cuantificación de polifenoles

Anexo C

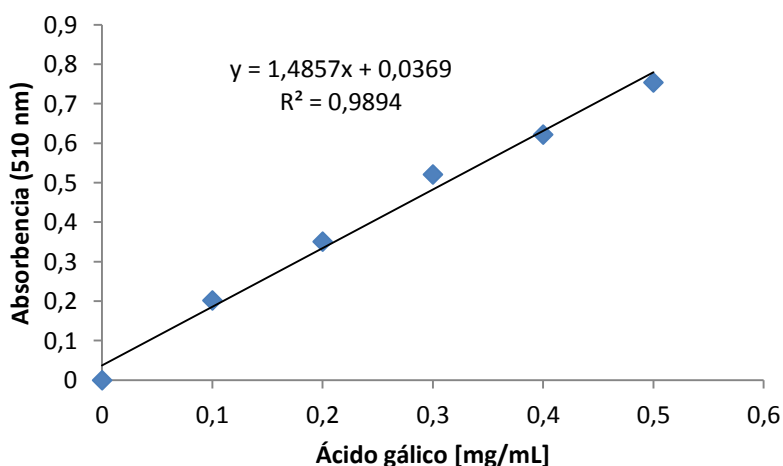
Curva estándar de rutina para la evaluación de flavonoides.

En la Tabla A3 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la cuantificación de flavonoides en las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A3 se muestra la curva de rutina (mg/mL) versus absorbencia a 510 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la determinación de flavonoides en equivalentes de ácido rutina.

Tabla A 3. Curva estándar de rutina para cuantificación de flavonoides

Ácido gálico (mg/mL)	Absorbencia (725nm)
0	0
0.1	0.202
0.2	0.351
0.3	0.521
0.4	0.622
0.5	0.754



Gráfica A 3. Curva estándar de rutina para la cuantificación de flavonoides

Anexo D

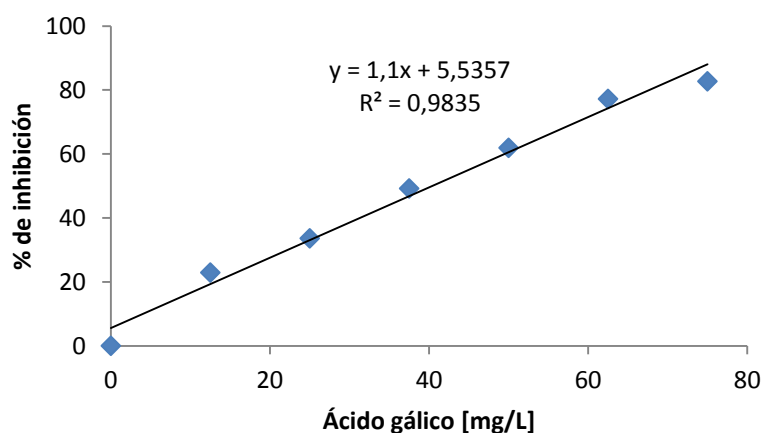
Curva estándar en equivalentes de Ácido gálico para la evaluación de la inhibición del radical DPPH•

En la Tabla A4 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la evaluación de la reducción del radical DPPH• de las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A4 se muestra la curva en equivalentes de ácido gálico (mg/L) versus % de inhibición del radical DPPH• a 517 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la evaluación de la capacidad antioxidante en mg equivalentes de ácido gálico.

Tabla A 4. Curva estándar de ácido gálico para la evaluación de equivalentes de reducción de DPPH•

Ácido gálico (mg/L)	% inhibición
0	0
12.5	22.9
25.0	33.6
37.5	49.2
50.0	61.9
62.5	77.2
75.0	82.7



Gráfica A 4. Curva estándar de ácido gálico para la evaluación de reducción de radical DPPH•

Anexo E

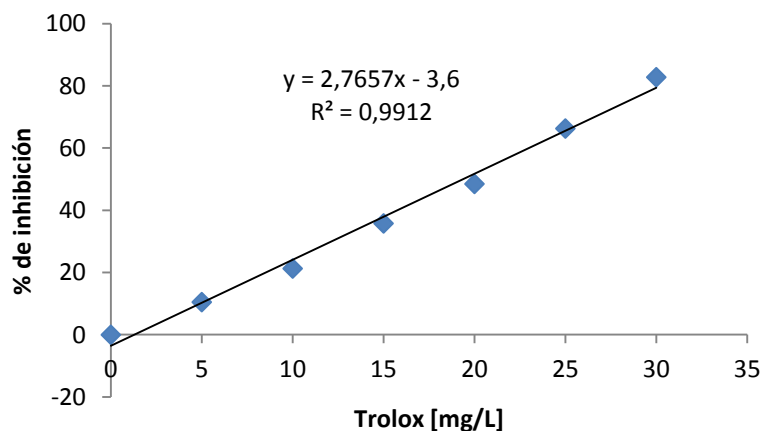
Curva estándar en equivalentes de Trolox para la evaluación de la inhibición del radical DPPH•

En la Tabla A5 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la evaluación de la reducción del radical DPPH• de las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A5 se muestra la curva en equivalentes de Trolox (mg/L) versus % de inhibición del radical DPPH• a 517 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la evaluación de la capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox.

Tabla A 5. Curva estándar de Trolox para la evaluación de equivalentes de reducción de DPPH•

Trolox (mg/L)	% inhibición
0	0
5.0	10.5
10.0	21.3
15.0	35.8
20.0	48.5
25.0	66.3
30.0	82.8



Gráfica A 5. Curva estándar de Trolox para la evaluación de reducción de radical DPPH•

Anexo F

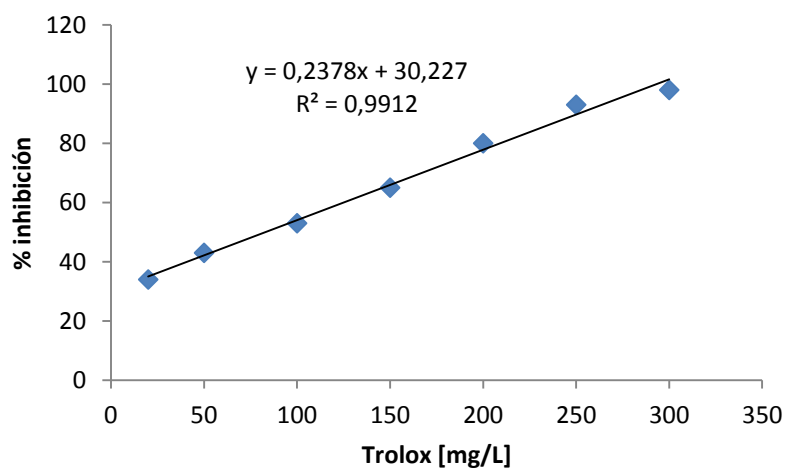
Curva estándar de trolox para la evaluación de la reducción del radical ABTS-persulfato.

En la Tabla A6 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la evaluación de la reducción del radical ABTS-persulfato de las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A6 se muestra la curva de Trolox (mg/L) versus % de inhibición a 734 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la evaluación de la reducción del radical ABTS-persulfato en equivalentes de Trolox.

Tabla A 6. Curva estándar de Trolox para evaluación de reducción de radical ABTS-persulfato

Trolox (mg/L)	% inhibición
20	34
50	43
100	53
150	65
200	80
250	93
300	98



Gráfica A 6. Curva estándar de Trolox para la evaluación de reducción de radical ABTS-persulfato

Anexo G

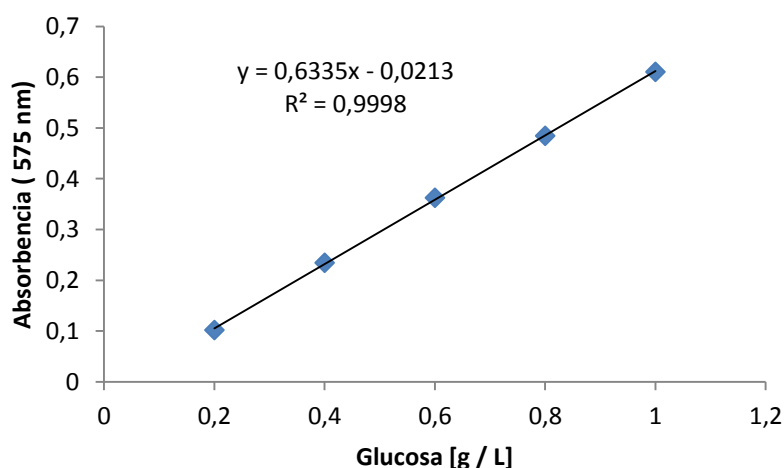
Curva estándar para la cuantificación de azúcares reductores expresada en equivalentes de glucosa

En la Tabla A7 se muestra las concentraciones utilizadas para la elaboración de la curva estándar, que sirvió de referencia para la cuantificación de azúcares reductores en las muestras analizadas en el presente estudio.

En la gráfica A7 se muestra la curva de glucosa (g / L) versus absorbencia a 575 nm y su respectiva ecuación obtenida de su correspondiente linealización, para la determinación de azúcares reductores equivalentes de glucosa.

Tabla A 7. Curva estándar de glucosa para cuantificación de azúcares reductores

Glucosa (g / L)	Absorbencia (725nm)
0,2	0,102
0,4	0,2345
0,6	0,3625
0,8	0,4845
1.0	0,6105



Gráfica A 7. Curva estándar de glucosa para la cuantificación de azúcares reductores

Anexo H

Resumen de los análisis realizados a los hidrolizados de amaranto

Tabla A 8. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de RS de RT de amaranto.

		RS de RT								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	0,92±3,2E-02	2,71±3,1E-02	11,53±8,3E-02	4,59±7,8E-02	7,73±8,4E-02	26,64±3,9E-01	0,17±3,1E-03	8,74±2,1E-01	12,94±1,8E-01
	FA	0,66±5,8E-03	2,51±7,5E-02	5,68±4,5E-02	1,23±2,0E-01	23,87±3,4E+00	70,52±1,2E+00	2,89±2,6E-02	19,42±3,7E-01	21,66±2,2E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,01±1,5E-04	0,03±1,5E-04	0,07±3,2E-04	0,05±2,6E-04	0,06±2,9E-04	0,17±1,5E-03	0,002±1,0E-05	0,08±1,2E-03	0,08±6,0E-04
	FA	0,004±5,8E-05	0,02±3,1E-04	0,11±5,0E-04	0,05±7,0E-04	0,40±8,7E-04	0,53±4,6E-03	0,02±1,2E-04	0,14±1,4E-03	0,15±8,0E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,28±8,3E-03	0,85±5,2E-02	1,86±5,1E-02	0,78±6,5E-02	2,95±8,5E-02	5,43±1,3E-01	0,55±3,8E-02	4,58±8,2E-02	8,17±6,9E-02
	FA	1,45±7,2E-03	7,02±1,1E-01	21,22±2,6E-01	4,59±1,2E-01	10,42±8,1E-02	33,09±3,4E-01	2,99±3,8E-02	9,57±1,7E-01	34,60±3,5E-01
%DPPH•	FO	23,49±1,4E+00	37,54±4,8E-01	44,50±3,5E-01	93,60±8,6E-01	15,23±1,1E+00	84,21±1,1E+00	14,94±7,6E-01	77,18±3,6E-01	45,18±7,9E-01
mg EAG/g		1,14±8,9E-02	6,54±9,8E-02	10,89±9,8E-02	4,20±4,1E-02	0,40±4,5E-02	3,22±4,3E-02	1,60±1,3E-01	3,91±1,9E-02	7,56±1,5E-01
%DPPH•	FA	27,59±1,2E+00	57,68±3,0E-01	73,25±9,1E-01	91,23±7,2E-01	39,58±9,5E-01	31,38±1,7E-01	34,66±2,1E-01	33,71±1,4E+00	10,13±4,6E-01
mg EAG/g		4,61±2,5E-01	2,37±1,3E-02	18,77±2,5E-01	28,04±2,3E-01	14,85±4,2E-01	9,68±6,5E-02	5,29±3,8E-02	5,37±2,7E-01	2,27±2,3E-01
% Quelación	FO	33,02±1,6E-01	39,27±1,6E-01	46,39±1,6E-01	37,32±5,5E-02	36,17±1,1E-01	33,83±5,5E-02	68,25±4,2E-01	40,14±3,0E-01	40,09±8,5E-01
mg EAG/g		0,92±3,4E-02	2,03±2,0E-02	11,53±8,4E-02	0,20±2,5E-02	0,14±3,3E-03	3,11±4,5E-02	0,17±3,3E-03	2,27±1,6E-01	2,64±8,6E-02
% Quelación	FA	49,84±5,5E-01	54,82±4,9E-01	57,39±9,9E-01	56,67±3,8E-01	48,20±1,1E-01	48,03±5,5E-02	76,07±4,4E-01	28,05±2,7E-01	59,84±5,4E-02
mg EAG/g		0,003±3,9E-05	0,003±7,5E-05	0,016±1,3E-04	0,001±1,9E-04	0,005±1,2E-03	0,004±1,5E-04	0,001±1,1E-05	0,004±1,5E-04	0,01±8,7E-05

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 9. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de FI de RT de amaranto.

		FI de RT								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	1,73±3,1E-02	6,64±2,0E-02	14,58±1,7E-01	5,79±6,9E-02	7,56±5,3E-01	28,77±2,4E-01	0,185±6,5E-03	9,59±1,6E-01	13,95±1,8E-01
	FA	0,89±2,1E-02	2,26±5,8E-03	4,72±1,2E-01	2,04±4,0E-02	12,34±4,1E-01	63,96±6,1E-01	2,79±2,5E-02	20,27±2,9E-01	26,26±3,6E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,02±1,0E-04	0,05±1,5E-04	0,08±6,7E-04	0,05±2,3E-04	0,06±2,0E-03	0,18±5,8E-04	0,002±3,6E-05	0,08±5,8E-04	0,08±6,1E-04
	FA	0,005±1,0E-04	0,02±5,8E-05	0,10±1,2E-03	0,06±1,2E-04	0,36±1,5E-03	0,51±2,2E-03	0,02±1,0E-04	0,14±1,1E-03	0,16±1,3E-03
AR (mg glucosa/g)	FO	0,31±9,6E-03	0,84±3,3E-02	3,90±1,9E-02	0,87±5,1E-02	1,56±1,7E-01	5,05±2,1E-01	1,29±5,4E-02	6,12±8,2E-02	7,92±6,7E-02
	FA	1,90±1,9E-02	5,28±1,3E-01	18,97±3,1E-01	4,41±0,0E+00	10,18±6,7E-02	39,29±2,0E-01	4,92±4,2E-02	10,99±9,5E-02	46,39±1,2E-01
%DPPH•	FO	16,80±5,0E-01	36,84±1,1E+00	43,80±1,3E+00	95,73±6,6E-01	54,19±4,7E+00	41,58±3,9E+00	17,73±7,6E-01	78,43±1,4E+00	39,49±9,2E+00
mg EAG/g		0,72±3,2E-02	6,40±2,2E-01	10,89±9,8E-02	4,30±3,2E-02	1,99±1,9E-01	1,47±1,6E-01	2,07±1,3E-01	3,97±7,7E-02	7,56±1,5E-01
%DPPH•	FA	25,63±3,9E-01	35,74±4,3E-01	52,63±5,0E-01	92,37±4,5E-01	35,16±8,3E-01	14,83±7,9E-01	25,42±6,3E-01	28,48±1,3E+00	30,80±9,6E-01
mg EAG/g		5,29±1,0E-01	1,37±1,9E-02	12,62±1,3E-01	25,25±1,3E-01	14,13±3,9E-01	3,37±2,9E-01	2,71±8,6E-02	4,38±2,5E-01	16,39±6,2E-01
% Quelación	FO	55,26±5,5E-02	84,17±1,0E+00	55,26±5,5E-02	1,64±2,7E-16	70,60±4,4E-01	18,91±3,3E-01	2,38±1,6E-01	37,14±7,0E-01	60,06±4,0E-01
mg EAG/g		0,09±6,4E-03	4,98±1,6E-02	14,58±1,8E-01	0,49±1,7E-02	1,62±1,1E-01	0,67±5,6E-03	0,18±7,4E-03	1,71±3,5E-01	1,23±8,8E-02
% Quelación	FA	80,56±2,7E-01	26,67±5,5E-02	52,52±1,8E+00	77,49±6,6E-01	29,21±2,7E-02	17,43±4,9E-01	87,21±3,3E-01	15,84±1,6E-01	66,16±2,2E-01
mg EAG/g		0,003±5,4E-05	0,002±0,0E+00	0,005±1,2E-04	0,002±3,7E-05	0,003±3,1E-04	0,003±7,3E-05	0,001±1,0E-05	0,005±1,2E-04	0,011±1,4E-04

FI= fibra insoluble, RS=Residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 10. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de RS de RC de amaranto.

		RS de RC								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	2,11±9,0E-02	3,87±3,5E-02	7,83±6,5E-02	5,15±1,2E-01	11,32±2,3E-01	33,79±1,4E-01	0,44±2,6E-03	9,74±4,2E-01	15,89±8,3E-02
	FA	1,31±6,1E-02	2,67±2,5E-02	9,68±2,1E-01	9,21±1,7E-01	29,22±2,5E+00	83,98±1,5E+00	2,67±2,3E-02	20,04±3,5E-01	18,88±1,8E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,02±3,0E-04	0,03±1,5E-04	0,05±2,5E-04	0,05±4,2E-04	0,08±8,7E-04	0,20±5,8E-04	0,003±1,0E-05	0,08±1,5E-03	0,09±3,6E-04
	FA	0,01±2,1E-04	0,02±5,8E-05	0,15±2,2E-03	0,08±5,9E-04	0,42±9,2E-03	0,58±5,6E-03	0,01±1,0E-04	0,14±1,3E-03	0,14±6,8E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,30±9,6E-03	0,68±1,9E-02	1,86±3,8E-02	1,84±3,8E-02	2,48±3,1E-02	8,47±2,3E-01	0,78±4,0E-02	3,29±6,0E-02	7,58±5,4E-02
	FA	1,51±1,9E-02	5,92±1,5E-02	22,65±3,1E-01	7,77±8,8E-02	10,44±4,1E-02	33,60±1,7E-01	2,02±3,4E-02	6,56±5,1E-02	29,62±2,3E-01
%DPPH•	FO	7,09±3,9E-01	34,42±3,8E-01	40,66±1,7E-01	42,06±3,9E-01	66,99±1,0E+00	26,83±2,1E-01	21,295±5,8E-01	91,90±1,1E+00	47,74±1,7E+00
mg EAG/g		0,10±2,5E-02	5,90±7,8E-02	9,81±4,9E-02	1,74±1,9E-02	2,51±4,2E-02	0,87±8,6E-03	2,68±9,9E-02	4,71±5,7E-02	8,05±3,2E-01
%DPPH•	FA	22,14±2,2E-01	64,44±5,4E-01	38,26±5,0E-01	10,02±3,6E-01	43,96±1,8E-01	21,84±6,1E-01	28,57±7,3E-01	27,64±1,1E+00	50,36±7,1E-01
mg EAG/g		3,47±4,7E-02	2,68±2,4E-02	7,58±1,2E-01	1,54±1,2E-01	16,76±7,9E-02	5,55±2,1E-01	4,18±1,3E-01	8,01±3,8E-01	20,52±3,3E-01
% Quelación	FO	62,32±2,2E-01	22,62±3,8E-01	32,42±3,3E-01	16,01±3,8E-01	42,19±3,3E-01	80,33±5,5E-01	51,64±2,1E-01	7,76±2,5E-01	42,54±1,0E-01
mg EAG/g		2,11±9,0E-02	0,42±4,8E-03	4,63±6,4E-02	0,07±5,9E-03	2,42±5,0E-02	1,71±1,7E-02	0,44±2,4E-03	3,35±4,2E-01	2,20±4,0E-02
% Quelación	FA	62,65±1,1E-01	49,40±2,2E-01	23,17±5,5E-02	86,72±2,7E-01	46,89±1,1E-01	63,50±4,4E-01	32,24±2,2E-01	14,76±2,7E-01	49,24±5,4E-02
mg EAG/g		1,31±6,2E-02	0,003±2,6E-05	0,010±2,1E-04	0,016±1,7E-04	0,004±3,7E-04	0,006±1,8E-04	0,001±8,2E-06	0,005±1,4E-04	0,008±7,2E-05

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 11. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de FI de RC de amaranto.

		FI de RC								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	1,34±4,7E-02	7,30±3,6E-02	11,97±1,1E-01	6,43±1,2E-01	13,66±1,7E+00	34,97±6,0E-01	0,31±5,5E-03	7,99±1,1E-01	14,78±8,3E-02
	FA	1,32±1,5E-02	2,42±1,5E-02	6,98±1,4E-01	6,50±3,5E-02	37,12±6,2E-01	57,29±1,9E+00	2,73±2,6E-02	21,15±4,3E-01	18,97±2,7E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,01±2,1E-04	0,05±2,1E-04	0,07±4,2E-04	0,05±4,7E-04	0,08±1,7E-03	0,20±2,6E-03	0,002±2,0E-05	0,08±5,8E-04	0,08±3,1E-04
	FA	0,01±5,8E-05	0,02±5,8E-05	0,12±1,5E-03	0,07±1,2E-04	0,45±2,3E-03	0,48±6,8E-03	0,01±5,8E-05	0,14±1,6E-03	0,14±9,7E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,30±1,7E-02	0,83±3,8E-02	2,33±4,0E-02	2,22±3,1E-02	3,06±4,4E-02	5,30±1,9E-01	1,02±5,2E-02	4,96±9,2E-02	7,74±6,9E-02
	FA	0,53±1,9E-02	4,48±8,0E-02	21,32±5,0E-02	4,03±2,0E-01	9,47±1,4E-01	39,62±1,0E+00	2,96±3,4E-02	7,42±7,3E-02	26,29±1,2E-01
%DPPH•	FO	8,46±5,9E-01	32,63±1,1E+00	31,36±7,3E-01	8,47±6,8E-01	73,38±1,8E+00	67,85±2,4E+00	19,54±7,6E-01	93,93±4,0E-01	55,28± 4,4E-01
mg EAG/g		0,19±3,8E-02	5,54±2,3E-01	7,21±2,0E-01	0,14±3,2E-02	2,77±7,5E-02	2,55±9,6E-02	2,38±1,3E-01	2,08±8,6E-03	9,49±8,4E-02
%DPPH•	FA	22,14±2,2E-01	48,65±6,2E-01	29,61±4,2E-01	13,00±5,5E-01	43,18±1,0E+00	16,84±8,5E-01	20,52±1,5E+00	28,29±7,4E-01	29,37±7,3E-01
mg EAG/g		3,77±5,1E-02	1,96±2,8E-02	7,32±1,3E-01	1,90±1,4E-01	17,95±4,9E-01	3,59±2,7E-01	2,45±2,4E-01	4,34±1,4E-01	14,55±4,4E-01
% Quelación	FO	30,76±2,6E+01	17,25±6,0E-01	25,25±6,0E-01	44,32±1,6E-01	25,46±2,2E-01	62,02±3,8E-01	5,77±5,3E-02	24,27±4,5E-01	41,14±1,0E-01
mg EAG/g		1,34±4,8E-02	5,48±2,9E-02	1,12±2,3E-02	0,65±3,1E-02	0,54±1,9E-02	1,85±7,0E-02	0,31±5,6E-03	1,61±1,1E-01	7,39±4,0E-02
% Quelación	FA	83,46±2,2E-01	71,74±1,5E+00	40,80±5,5E-02	87,21±2,2E-01	55,57±7,1E-01	68,09±8,7E-01	52,73±5,5E-02	30,32±1,8E+00	52,22±2,2E-01
mg EAG/g		0,004±4,1E-05	0,002±1,3E-05	0,007±1,4E-04	0,001±1,2E-04	0,009±1,6E-04	0,003±2,2E-04	0,001±1,1E-05	0,005±1,7E-04	0,008±1,1E-04

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 12. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de RS de Tallo de amaranto.

		RS de Tallo								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	4,21±3,8E-02	6,24±3,0E-02	14,51±8,0E-02	4,50±2,1E-01	10,76±1,8E-01	55,68±5,6E-01	0,18±6,0E-03	6,94±3,0E-02	19,17±1,6E-01
	FA	0,84±3,5E-02	1,64±1,5E-02	4,65±1,0E-01	1,01±9,6E-02	14,38±8,2E-01	57,99±9,3E-01	0,60±1,5E-02	12,47±2,6E-01	13,44±2,6E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,10±1,3E-01	0,05±1,5E-04	0,08±2,5E-04	0,05±8,0E-04	0,07±6,6E-04	0,28±1,7E-03	0,002±2,0E-05	0,07±1,0E-04	0,10±5,6E-04
	FA	0,004±1,2E-04	0,01±5,8E-05	0,10±1,1E-03	0,05±3,6E-04	0,37±3,0E-03	0,48±3,4E-03	0,01±5,8E-05	0,11±9,7E-04	0,12±9,7E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,29±3,8E-02	1,37±7,6E-02	2,17±1,9E-02	2,39±5,8E-02	3,33±4,0E-02	10,87±1,3E-01	0,60±3,8E-02	2,18±4,2E-02	6,94±7,9E-02
	FA	0,55±5,4E-02	6,68±6,8E-02	17,17±2,3E-01	2,55±1,3E-01	9,77±8,0E-02	16,83±2,2E-01	2,43±2,5E-02	9,11±7,9E-02	31,81±2,8E-01
%DPPH•	FO	23,82±1,9E+00	42,64±1,9E-01	72,43±4,6E-01	74,89±1,2E+00	84,26±3,3E-01	88,47±8,4E-01	38,47±1,6E+00	17,76±2,5E+00	48,20±6,6E-01
mg EAG/g		1,16±1,2E-01	7,58±3,9E-02	18,69±1,3E-01	3,31±5,8E-02	3,22±1,4E-02	3,39±3,4E-02	5,61±2,8E-01	0,67±1,3E-01	8,14±1,3E-01
%DPPH•	FA	21,11±4,5E-01	42,22±8,2E-02	56,35±7,6E-01	92,55±1,0E+00	28,23±1,4E+00	45,00±1,0E+00	26,40±8,7E-01	26,98±1,9E+00	35,95±9,0E-01
mg EAG/g		3,54±1,0E-01	1,67±3,7E-03	14,08±2,1E-01	26,88±3,1E-01	10,82±6,7E-01	13,89±3,7E-01	2,08±8,7E-02	14,32±1,3E+00	16,24±4,8E-01
% Quelación	FO	13,53±5,5E-02	68,40±1,6E-01	47,97±1,1E-01	36,56±5,5E-02	50,22±4,9E-01	22,84±6,6E-01	2,48±5,3E-02	22,02±1,0E-01	39,94±1,0E-01
mg EAG/g		4,21±4,1E-02	4,68±2,0E-02	14,51±8,0E-02	0,17±5,3E-02	2,31±3,9E-02	6,50±6,5E-02	0,18±6,4E-03	0,56±3,2E-02	9,58±7,7E-02
% Quelación	FA	38,99±6,6E-01	69,44±1,2E+00	73,66±5,5E-02	78,63±6,0E-01	49,84±1,1E-01	64,04±5,5E-01	39,67±1,1E-01	13,30±1,1E-01	47,41±1,6E-01
mg EAG/g		0,001±3,3E-05	0,002±1,5E-05	0,013±2,9E-04	0,005±4,9E-04	0,004±2,0E-04	0,003±1,1E-04	0,0002±6,4E-06	0,006±1,3E-04	0,005±1,1E-04

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 13. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de FI de Tallo de amaranto.

		FI de Tallo								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)	Tiempo (minutos)	2,5			5			7,5		
		30±	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	2,36±2,1E-02	7,34±2,6E-02	12,58±3,1E-01	7,567±1,8E-01	14,68±1,8E-01	44,54±9,4E-01	0,27±8,1E-03	7,65±1,9E-01	25,78±2,0E-01
	FA	0,85±1,5E-02	2,44±4,2E-02	4,02±5,9E-02	6,61±3,5E-02	11,25±6,3E-01	55,66±1,5E+00	0,84±2,1E-02	13,15±2,2E-01	12,31±1,3E-01
PT (mg ET/g)	FO	0,02±1,0E-04	0,05±1,7E-04	0,07±1,1E-03	0,057±6,2E-04	0,09±6,6E-04	0,24±3,6E-03	0,002±3,1E-05	0,08±5,8E-04	0,12±7,9E-04
	FA	0,004±5,8E-05	0,018±1,5E-04	0,091±6,4E-04	0,0735±1,7E-04	0,357±2,3E-03	0,475±5,4E-03	0,008±5,8E-05	0,114±8,1E-04	0,112±4,6E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,24±9,6E-03	1,25±4,5E-02	3,75±7,8E-02	1,91±3,1E-02	4,7±4,7E-02	17,7±7,2E+00	1,0±1,9E-02	2,8±4,4E-02	8,3±7,5E-02
	FA	1,52±3,3E-02	5,42±2,7E-02	17,31±2,0E-01	7,90±2,5E-02	11,16±5,6E-02	24,42±3,3E-01	4,01±6,7E-02	8,56±6,7E-02	34,43±2,1E-01
%DPPH•	FO	23,75±1,8E+00	33,40±6,7E-01	59,86±5,2E-01	77,53±7,6E-01	81,89±8,7E-01	87,56±1,8E+00	27,22±8,3E-01	30,84±8,4E-01	45,82±1,3E+00
mg EAG/g		1,16±1,2E-01	5,69±1,4E-01	15,18±1,5E-01	3,43±3,6E-02	3,12±3,5E-02	3,34±5,4E-02	3,69±1,4E-01	1,38±4,6E-02	7,69±2,5E-01
%DPPH•	FA	29,45±1,5E-01	21,32±7,1E-01	10,84±6,1E-01	59,03±1,1E+00	19,22±1,0E+00	27,87±6,5E-01	25,14±1,9E+00	22,78±1,4E+00	18,29±1,0E+00
mg EAG/g		5,00±3,1E-02	0,72±3,2E-02	1,66±1,9E-01	17,01±3,4E-01	6,34±4,7E-01	8,62±2,5E-01	3,38±3,3E-01	3,29±2,6E-01	7,05±5,7E-01
% Quelación	FO	16,27±3,8E-01	66,37±5,5E-01	52,90±1,1E-01	1,58±5,5E-02	75,52±4,4E-01	26,45±5,5E-01	24,18±5,3E-02	2,65±5,0E-02	69,82±5,0E-02
mg EAG/g		0,47±3,9E-03	5,51±2,1E-02	12,58±3,0E-01	1,89±4,5E-02	3,15±3,9E-02	5,20±1,1E-01	0,11±8,0E-03	1,27±2,0E-01	2,58±2,0E-02
% Quelación	FA	60,46±2,2E-01	53,50±2,7E-01	54,60±4,9E-01	67,81±6,0E-01	75,03±3,8E-01	70,11±6,0E-01	49,56±1,6E-01	32,16±5,4E-02	21,89±2,7E-01
mg EAG/g		0,0042±7,9E-05	0,0024±4,0E-05	0,0115±1,7E-04	0,0002±3,7E-05	0,0027±3,1E-04	0,0025±1,8E-04	0,0003±6,8E-06	0,0053±8,6E-05	0,0049±5,3E-05

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 14. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de RS de Hoja de amaranto.

RS de Hoja										
Condiciones de hidrólisis										
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	<i>FO</i>	1,930±0,056	3,890±0,035	8,443±0,051	3,923±0,012	7,593±0,364	15,337±0,345	0,506±0,009	5,610±0,069	13,667±0,061
	<i>FA</i>	0,9±0,01	3,26±0,10	9,63±0,13	6,5±0,03	34,26±4,03	101,53±1,61	2,77±0,02	20,6±0,51	31,29±0,53
PT (mg ET/g)	<i>FO</i>	0,017±2,5E-04	0,034±2,5E-04	0,056±2,0E-04	0,044±5,8E-05	0,062±1,4E-03	0,133±5,1E-03	0,003±3,2E-05	0,070±2,9E-04	0,080±2,0E-04
	<i>FA</i>	0,0045±5,8E-05	0,0197±3,5E-04	0,1502±1,4E-03	0,0731±1,2E-04	0,4411±1,5E-02	0,6434±5,9E-03	0,0151±5,8E-05	0,1413±1,9E-03	0,1828±2,4E-03
AR (mg glucosa/g)	<i>FO</i>	0,34±2,9E-02	0,86±2,5E-02	1,94±1,1E-01	1,33±5,6E-02	1,86±6,9E-02	2,83±1,8E-01	0,75±1,9E-02	7,84±4,4E-02	8,56±4,2E-02
	<i>FA</i>	0,93±1,9E-02	3,98±2,4E-02	26,36±3,8E-01	11,03±2,0E-01	16,09±6,7E-02	21,48±4,4E-01	2,24±5,5E-02	5,59±7,5E-02	30,97±2,7E-01
%DPPH•	<i>FO</i>	40,03±1,3E+00	54,11±1,9E-01	44,33±1,7E-01	93,22±8,6E-01	93,03±7,8E-01	24,53±2,1E-01	18,51±4,8E-01	93,85±1,4E+00	63,12±2,7E-01
mg EAG/g		2,19±8,0E-02	9,93±3,9E-02	10,84±4,9E-02	4,18±4,1E-02	3,58±3,2E-02	0,78±8,6E-03	2,21±8,2E-02	4,82±7,7E-02	10,99±5,1E-02
%DPPH•	<i>FA</i>	23,66±2,2E-01	44,54±5,1E-01	29,14±9,1E-01	62,73±3,7E-01	43,54±9,5E-01	28,79±3,4E-01	38,59±1,2E+00	34,55±1,6E+00	40,38±4,8E-01
mg EAG/g		3,79±4,7E-02	1,77±2,3E-02	5,47±2,1E-01	19,75±1,3E-01	16,57±4,2E-01	7,92±1,2E-01	12,91±4,7E-01	5,53±3,1E-01	17,28±2,4E-01
% Quelación	<i>FO</i>	23,38±1,6E-01	79,30±1,1E-01	41,84±1,1E-01	21,15±1,6E-01	42,02±7,1E-01	9,13±1,6E-01	32,59±1,1E-01	35,69±2,5E-01	34,63±1,0E-01
mg EAG/g		1,93±5,9E-02	1,31±3,6E-02	8,44±4,9E-02	0,005±5,5E-04	0,13±1,6E-02	0,67±4,0E-02	0,51±9,4E-03	5,40±4,1E-01	1,09±2,9E-02
% Quelación	<i>FA</i>	23,38±1,6E-01	56,30±3,3E-01	67,31±2,7E-01	77,38±7,7E-01	81,91±4,9E-01	67,02±2,7E-02	66,89±1,1E-01	22,27±1,1E-01	50,11±5,4E-02
mg EAG/g		0,899±9,7E-03	0,003±1,0E-04	0,010±1,4E-04	0,0001±3,2E-05	0,005±6,0E-04	0,008±1,9E-04	0,001±6,8E-06	0,005±2,0E-04	0,013±2,1E-04

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa

Tabla A 15. Tabla resumen de los análisis realizados a hidrolizados de FI de Hoja de amaranto.

		FI de Hoja								
		Condiciones de hidrólisis								
H2SO4 (%)		2,5			5			7,5		
Tiempo (minutos)		30	60	90	30	60	90	30	60	90
PT (mg EAG/g)	FO	1,29±0,059	7,08±0,071	9,67±0,140	3,78±0,087	9,66±0,159	16,46±0,242	0,24±0,003	10,01±0,199	11,50±0,064
	FA	1,32±0,02	1,60±0,03	5,42±0,12	7,93±0,17	19,96±1,55	79,18±1,80	2,83±0,02	18,89±0,26	28,93±0,23
PT (mg ET/g)	FO	0,01±0,0002	0,05±0,0004	0,06±0,0006	0,04±0,0003	0,07±0,0006	0,13±0,0010	0,002±0,00002	0,09±0,0010	0,07±0,0002
	FA	0,01±5,77E-05	0,01±1,00E-04	0,11±1,30E-03	0,08±6,43E-04	0,39±5,66E-03	0,56±6,62E-03	0,02±1,00E-04	0,13±9,71E-04	0,17±7,94E-04
AR (mg glucosa/g)	FO	0,31±0,017	0,53±0,026	4,44±0,157	1,14±0,031	2,02±0,047	3,75±0,208	1,12±0,052	8,00±0,051	9,28±0,079
	FA	2,85±0,01	3,38±0,02	14,90±0,18	8,91±0,13	11,31±0,11	27,39±0,27	3,80±0,03	11,13±0,63	37,17±0,21
%DPPH• mg EAG/g	FO	12,5±1,084	25,6±0,506	38,918±0,524	92,6±0,679	34,5±4,008	17,7±0,121	17,9±1,582	92,7±1,301	26,1±0,894
	FA	0,44±0,069	4,10±0,103	9,33±0,146	4,16±0,032	1,19±0,164	0,49±0,005	2,12±0,270	4,76±0,071	3,92±0,171
%DPPH• mg EAG/g	FO	23,711±0,15	60,378±0,16	39,521±0,4	72,332±0,74	27,813±0,01	11,839±0,26	27,941±1,5	30,159±0,7	30,245±0,76
	FA	5,12±0,41	2,49±7,4E-03	8,49±1,0E-01	13,35±0,15	9,71±0,01	2,43±1,0E-01	2,65±1,7E-01	2,35±6,7E-02	9,43±2,9E-01
% Quelación mg EAG/g	FO	21,96±0,383	45,56±0,438	21,74±0,383	23,72±0,109	60,93±0,273	25,57±0,656	1,00±0,476	0,05±0,050	48,29±0,050
	FA	0,26±0,011	5,31±0,053	1,93±0,029	0,01±0,006	1,11±0,035	0,16±0,006	0,24±0,002	3,63±0,195	2,65±0,077
% Quelación mg EAG/g	FO	91,40±0,055	28,01±0,110	34,56±0,274	43,55±0,383	71,80±0,109	61,69±0,273	42,79±0,055	34,38±0,108	56,27±0,486
	FA	0,0038±5, E-05	0,0016±2, E-05	0,0054±1,2 E-05	0,0015±1,7 E-04	0,0050±3,9 E-04	0,0053±2,2 E-04	0,0011±1 E-05	0,0021±5 E-05	0,0116±9 E-05

FI= fibra insoluble, RS= residuos sólidos, PT=Polifenoles totales, EAG= equivalentes de ácido gálico, ET= equivalentes de Trolox, AR=azúcares reductores, FO= fase orgánica, FA= fase acuosa