

Actividad antioxidante de harinas de amaranto obtenidas por extrusión y análisis parcial de su calidad proteica *in vivo*

Antioxidant activity of amaranth flours obtained by extrusion and partial analysis of their protein quality *in vivo*

Sócrates Joel Almirudis Echeverría¹, Benjamín Ramírez Wong¹, Concepción Lorenia Medina Rodríguez¹, Elisa Magaña Barajas², Patricia Isabel Torres Chávez¹ y Ana Irene Ledesma Osuna^{1*}

¹ Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora. Blvd. Luis Encinas y Rosales s/n, Apdo. Postal 1658, Col. Centro, CP 83000, Hermosillo, Sonora.

² Universidad Estatal de Sonora, Av. Ley Federal del Trabajo No. 150, CP 83100, Hermosillo, Sonora.

RESUMEN

Se evaluó la actividad antioxidante y caracterizó parcialmente la calidad proteica *in vivo* de harinas de amaranto obtenidas por extrusión a tres niveles de humedad de alimentación (HA) y dos niveles de temperatura (T). Se realizó análisis químico proximal, fenoles totales (FT), y actividad antioxidante (AA). Los tratamientos con mayores y menores niveles de HA y T fueron evaluados en su calidad proteica usando un modelo murino, se incluyeron como referencia harinas de amaranto inflado comercial y sin procesar. Se evaluó la razón neta de proteína (RNP), digestibilidad aparente (DAN) y verdadera de nitrógeno (DVN). Los FT y AA disminuyeron hasta en un 30 y 56 %, respectivamente debido al proceso de extrusión. El análisis de calidad proteica *in vivo* mostró que los extrudidos de amaranto presentaron mayor DVN (85 y 86.72 % para los menores y mayores niveles de HA y T, respectivamente) con respecto al amaranto inflado (84.55 %) y el amaranto sin procesar (83.01 %). Las pruebas de RNP fueron significativamente diferentes entre harinas extrudidas (4.11-4.32), inflado comercial (3.76) y sin procesar (3.81). En conclusión, el procesamiento por extrusión mejora la RNP y digestibilidad de proteína, sin embargo, los fenoles totales y actividad antioxidante se ven disminuidos.

Palabras clave: Amaranto; extrusión; actividad antioxidante; calidad proteica.

ABSTRACT

The antioxidant activity was evaluated and partially characterized of the *in vivo* protein quality of amaranth flours obtained by extrusion at three levels of feed moisture (HA) and two temperature levels (T). We performed proximal chemical analysis, total phenols (FT), and antioxidant activity (AA). Treatments with higher and lower levels of HA and T were evaluated in their protein quality using a murine model, commercial and unprocessed amaranth inflated flours were included as reference. The net protein ratio (RNP), apparent digestibility (DAN) and true nitrogen (DVN) were evaluated. The FT and AA decreased by 30 and 56%, respectively, due to the extrusion process. *In vivo* protein quality analysis showed that amaranth extrudates have higher DVN (85 and 86.72 % for the lower and higher levels of HA and T, respectively)

with respect to inflated amaranth (84.55 %) and unprocessed amaranth (83.01 %). The RNP tests were significantly different between extruded flours (4.11-4.32), commercially inflated (3.76) and unprocessed (3.81). In conclusion, processing by extrusion improves RNP and protein digestibility, however, total phenols and antioxidant activity are diminished.

Keywords: amaranth; extrusion; antioxidant activity; protein quality

INTRODUCCIÓN

El amaranto es un pseudocereal con una rica historia como fuente de alimento en Mesoamérica y como un cultivo adecuado para ser producido en condiciones semiáridas (Guillen-Portal *et al.*, 1999). El grano de la especie de amaranto es de alto valor nutricional en comparación con los cereales, posee un contenido relativamente alto de proteínas y una composición más balanceada de aminoácidos esenciales (Pisaříková *et al.*, 2005) rica en lisina y triptófano, que son comparables a proteínas de origen animal (Bressani *et al.*, 1992), ácidos grasos insaturados (Martirosyan *et al.*, 2007) y contenido de fenoles (Paško *et al.*, 2009); siendo dichos atributos los cuales predeterminan su uso como una sustitución de los cereales convencionales (Gorinstein *et al.*, 2007) y como potencial alimento funcional que contribuya a mejorar el estado antioxidante (Caselato-Sousa y Amaya-Farfán, 2012).

Para inactivar compuestos antinutricionales el amaranto se somete a un tratamiento térmico siendo el más común el reventado y tostado, el cual alcanza temperaturas de 170 hasta 190 °C (Tovar *et al.*, 1989); sin embargo, el procesamiento térmico puede promover reacciones de pardeamiento no enzimático en las que participan aminoácidos, los cuales, se vuelven indisponibles una vez que forman parte de estas reacciones (Alam *et al.*, 2016; Menegassi *et al.*, 2011; Repo-Carrasco-Valencia, *et al.*, 2009).

La cocción por extrusión es una de las técnicas usadas en el desarrollo de productos alimenticios, es un proceso de corto tiempo a altas temperaturas el cual cocina, forma y seca el producto en una operación integrada (Moscicki y van Zuilichem, 2011). Los efectos benéficos incluyen la destrucción de factores antinutricionales, desnaturalización de

proteínas, gelatinización del almidón, y aumento de la fibra dietética soluble (Capriles *et al.*, 2008; Menegassi *et al.*, 2011; Muthukumarappan y Karunanithy, 2012; Yu, 2011). Brennan *et al.* (2011) reportaron que dependiendo de las condiciones de procesamiento por extrusión, la liberación de compuestos fenólicos de las matrices alimentarias se puede promover o disminuir, de manera análoga la digestibilidad y aprovechamiento de la proteína podría verse mejorado o disminuido dependiendo de las condiciones de procesamiento.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad antioxidante y evaluar la calidad proteica parcial *in vivo* en harinas de amaranto obtenidas a diferentes condiciones de humedad y temperaturas de extrusión.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima y reactivos

Se usó grano de amaranto sin procesar, y amaranto inflado comercial (*Amaranthus hypochondriacus*) los cuales fueron adquiridos de la comercializadora para productos de amaranto Quali (Puebla, México). Los reactivos de Folin-Ciocalteu, ácido gálico, radicales 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) en forma de sal diamónica (ABTS) fueron adquiridos por medio de Sigma-Aldrich. Los demás reactivos fueron grado analítico, obtenidos de distintas casas comerciales.

Molienda

La molienda del grano sin procesar e inflado comercial se realizó en un molino de martillos Christy Turner Ltd, (Christy & Norris modelo 8" Laboratory & Soil Mill, Inglaterra) con un tamiz de 0.5 mm.

Proceso de extrusión

Harinas de grano sin procesar fueron acondicionadas a humedades de 18, 25 y 32 % por 12 h a 4 °C y en ausencia de luz. Para la extrusión se utilizó un extrusor de tornillo simple (Brabender Instruments, modelo E 19/25 D OHG Duisburg, Duisburg, Germany), el cual consta de un cañón separado en 4 zonas independientes de calentamiento/enfriamiento. Las temperaturas en el cañón fueron: 60, 90 y 120 °C en la primera, segunda y tercera zona, respectivamente. La temperatura de la cuarta zona fue de 150 y 180 °C. Permanecieron constantes la velocidad de alimentación a 50 rpm, velocidad del tornillo a 130 rpm, compresión de tornillo con una razón de 1 a 1, y diámetro del dado de 3 mm. De esta forma se obtuvieron como variables 3 humedades de alimentación (18, 25 y 32 %) y 2 temperaturas en la cuarta zona del extrusor (150 y 180 °C). Los extrudidos fueron secados a 60 °C por 45 min y molidos a las condiciones antes descritas para obtener harinas de amaranto extrudidas.

Análisis químico proximal

Se realizó por los métodos AACC (2000): humedad (método 44-15), cenizas (método 08-12), proteína (método 46-13), y fibra dietaria (método 32-05); para la determinación de grasa se usó el método propuesto por la AOAC, 2006 (método 2003.05).

Obtención de extractos

Un g de muestra de harina de amaranto se homogeneizó con 10 mL de metanol en un agitador (Burrell Scientific Wrist Action, modelo 75, Pittsburgh, Pennsylvania, U.S.A.) durante 30 min en ausencia de luz. Posteriormente, se centrifugó (ThermoFisher Scientific, modelo Heraeus Primo R, USA) a 10,000 g, a 25 °C durante 30 min. El precipitado fue descartado y el sobrenadante fue utilizado para cuantificar fenoles totales y actividad antioxidante.

Fenoles totales

Los fenoles totales se determinaron de acuerdo a la metodología descrita por Mau *et al.* (2001), con modificaciones. Diez µL de extracto se mezclaron con 150 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 Folin-Agua ultra pura) y 120 µL de Na₂CO₃ al 7 %. La mezcla de reacción se incubó a 25 °C por 1 h. La absorbancia se midió a 750 nm en un espectrofotómetro (BIO-RAD modelo xMark, USA). Los resultados fueron calculados por medio de una curva estándar de ácido gálico y se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra (mg EAG/ 100 g muestra).

Actividad antioxidante

Radical DPPH. La medición de la actividad antioxidante por medio de la captación del radical DPPH se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Molyneux (2004) con modificaciones. Se prepararon 100 mL de solución 0.1 mM del radical DPPH en metanol y se ajustó la absorbancia a 0.7 ± 0.01 unidades a una longitud de onda de 515 nm. Para la determinación se tomaron 50 µL de extracto, se colocaron en pozos de microplaca, se agregaron 200 µL de la solución radical, se homogenizaron y se midió la absorbancia después de 30 min de incubación a 25 °C en ausencia de luz.

Radical ABTS. La medición de la actividad antioxidante por medio de la captación del radical ABTS se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Re *et al.* (1999) con modificaciones. Se pesaron 19.3 mg del radical ABTS y se disolvieron en 5 mL de agua destilada. En otro tubo se pesaron 0.00378 g de persulfato de potasio y se agregó 1 mL de agua, de esta solución se agregaron 88 µL a la solución de radical, se homogenizó y se dejó reposar en oscuridad por 12 a 16 h a temperatura ambiente. De esta solución se tomó un mL y se ajustó con etanol al 96 % a 0.7 ± 0.02 unidades de absorbancia a 734 nm para usarse en el ensayo. Cincuenta µL de extracto se mezclaron con 200 µL del radical, se incubaron por 30 min a 25 °C en ausencia de luz antes de tomar la lectura. Para ambos radicales los resultados se reportaron como porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{(\text{absorbancia solución control radical} - \text{absorbancia muestra})}{\text{absorbancia solución control radical}} \times 100$$

Ensayo biológico

Para medir la calidad proteica *in vivo*, se realizó un ensayo biológico de acuerdo a las condiciones reportadas por Sadasivam (1996); para ello se utilizaron ratas Sprague-

Dawley de 21-23 días de edad recién destetadas, todas de la misma colonia y camada con un peso promedio de 50 g. Las ratas se colocaron en jaulas individuales de acero inoxidable en condiciones controladas de temperatura a 25 °C, humedad relativa de 65-80 %, ciclos de iluminación de 12 h luz-oscuridad. El alimento y agua fueron suministrados *ad-libitum*. Se utilizaron 4 ratas por cada tratamiento y cada tercer día se registró el aumento en peso, los gramos de alimento consumido y el peso del animal. Se colectaron heces y se secaron en estufa (Thelco Precision Scientific Lab, Model 130, USA) a 50-55 °C por 12 h, posteriormente, se molieron y se determinó el contenido de proteína por el método de microkjeldahl usando el factor de conversión de nitrógeno de 6.25.

La elaboración de dietas se realizó de acuerdo al método oficial (960.48) de la AOAC, (2006). Las dietas se ajustaron a un 10 % de proteína y fueron amaranto molido sin procesar, amaranto inflado comercial y dos tratamientos de extrusión, seleccionando las condiciones extremas de humedad de alimentación y temperatura (18 % de humedad, 150 °C y 32 % de humedad, 180 °C). Se utilizó como control una dieta de caseína. El experimento se realizó durante 14 días y al final del experimento con los datos de ganancia en peso, alimento total consumido, contenido de nitrógeno en dietas y heces se pudo calcular la razón neta de proteína (RNP), digestibilidad aparente (DAN) y verdadera (DVN) de nitrógeno de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$RNP = \frac{\text{Ganancia en peso} + \text{Pérdida en peso del grupo libre de nitrógeno}}{\text{gramos de proteína consumida}}$$

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

$$DVN (\%) = \frac{(\text{Nitrógeno consumido} - \text{Nitrógeno fecal} - \text{nitrógeno fecal de dieta libre de nitrógeno})}{\text{Nitrógeno consumido}} \times 100$$

Diseño de experimentos y análisis estadístico

Los resultados de compuestos fenólicos y actividad antioxidante se analizaron por medio de un diseño factorial. Los factores fueron la humedad de alimentación de harinas (HA) con 3 niveles (18, 25 y 32 %) y la temperatura (T) de la cuarta zona de calentamiento en el extrusor, con 2 niveles (180 y 150 °C). Para la etapa del ensayo biológico se utilizó un diseño completamente al azar, para los grupos de dietas experimentales. Los datos de todas las determinaciones fueron analizados por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) empleando una significancia de $p < 0.05$ seguidas de una prueba de Tukey para comparaciones de medias. Los análisis se realizaron con el software estadístico SAS, Inc. Versión 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico del amaranto

Los resultados de la composición proximal del grano de amaranto sin procesar, amaranto inflado comercial y los tratamientos de extrusión a las condiciones menos (150 °C y 18 % de humedad) y más drásticas de procesamiento (180 °C y 32 % de humedad), se presentan en la Tabla 1. Se observa que no se presentaron diferencias significativas entre

Tabla 1. Composición química proximal¹ de amaranto sin procesar, inflado y extrudido.

Table 1. Chemical composition¹ of unprocessed, inflated and extruded amaranth grain.

| Muestra | Proteína (%) | Grasa (%) | Ceniza (%) | Carbohidratos ² (%) |
|---------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Amaranto sin procesar | 17.14 ± 2.86 ^a | 6.61 ± 0.07 ^b | 3.25 ± 0.02 ^a | 73.00 |
| Amaranto inflado | 17.47 ± 1.08 ^a | 7.73 ± 0.13 ^a | 3.06 ± 0.03 ^b | 71.74 |
| Amaranto extrudido ³ | 17.73 ± 0.22 ^a | 7.63 ± 0.66 ^a | 3.35 ± 0.08 ^a | 71.29 |
| Amaranto extrudido ⁴ | 17.77 ± 0.52 ^a | 7.08 ± 0.72 ^a | 3.40 ± 0.15 ^a | 71.75 |

¹ Resultados reportados en base seca como el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

² Obtenidos por diferencia

³ Amaranto extrudido a las condiciones de 150 °C y 18 % de humedad.

⁴ Amaranto extrudido a las condiciones de 180 °C y 32 % de humedad.

Valores con la misma literal para la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

amaranto sin procesar y extrudido, lo que indica que a las condiciones de proceso empleadas no afectan el contenido total de proteína, grasa y ceniza. Las diferencias obtenidas en el amaranto inflado comercial respecto a cenizas pueden deberse a variaciones en el lote de materia prima utilizada o bien al proceso de expansión comercial, que puede ocasionar que parte del pericarpio se pierda.

Los resultados de la determinación de fibra dietaria se presentan en la Tabla 2. Los valores encontrados para harinas de amaranto extrudidas son comparables a lo publicado por Dyner *et al.* (2016) quienes reportaron 12.4 % de fibra dietaria total en harina integral de amaranto extrudida y 11.9 % para la harina integral sin extrudir. En la presente investigación el tratamiento térmico por extrusión mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de fibra dietaria total, así como en la fracción soluble e insoluble, con respecto al amaranto sin procesar y comercial. Lo anterior coincide con Capriles *et al.* (2008) quienes reportaron un aumento en el contenido de fibra soluble después de la extrusión. Pedersen *et al.* (1990), trabajaron con semillas de amaranto pálidas y negras, y reportaron que el proceso de inflado y tostado aumenta la proporción de fibra soluble del 33 al 39 %, posiblemente debido a la formación de almidón resistente.

Contenido de fenoles

En la Figura 1 se observa el efecto de la HA y T en el contenido de fenoles totales en harinas de amaranto extrudidas. El mayor contenido de fenoles se obtuvo para el tratamiento a la HA de 18 % y T de 150 °C. El contenido fenoles disminuyó al aumentar HA del 18 hasta el 25 %, y se mantuvo sin cambios del 25 al 32 %, donde el tratamiento de HA de 25 % y T de 180 % no fue significativamente diferente ($p < 0.05$) de los tratamientos a HA del 32 % para ambas temperaturas. El tratamiento de menor temperatura (150 °C) y menor

Tabla 2. Contenido de fibra dietaria¹ total, soluble e insoluble en amaranto sin procesar, inflado y extrudido.**Table 2.** Content of total dietary fiber¹, soluble and insoluble in raw, inflated and extruded amaranth.

| Muestra | Fibra Dietaria Insoluble (%) | Fibra Dietaria Soluble (%) | Fibra Total (%) |
|---------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Amaranto sin procesar | 6.73 ± 0.02 ^c | 1.95 ± 0.31 ^b | 8.68 ± 0.28 ^b |
| Amaranto inflado | 8.44 ± 0.15 ^b | 1.71 ± 0.35 ^b | 10.15 ± 0.50 ^b |
| Amaranto extrudido ² | 9.23 ± 0.89 ^a | 2.15 ± 0.88 ^a | 11.38 ± 0.90 ^a |
| Amaranto extrudido ³ | 9.98 ± 0.83 ^a | 2.81 ± 0.30 ^a | 12.79 ± 0.86 ^a |

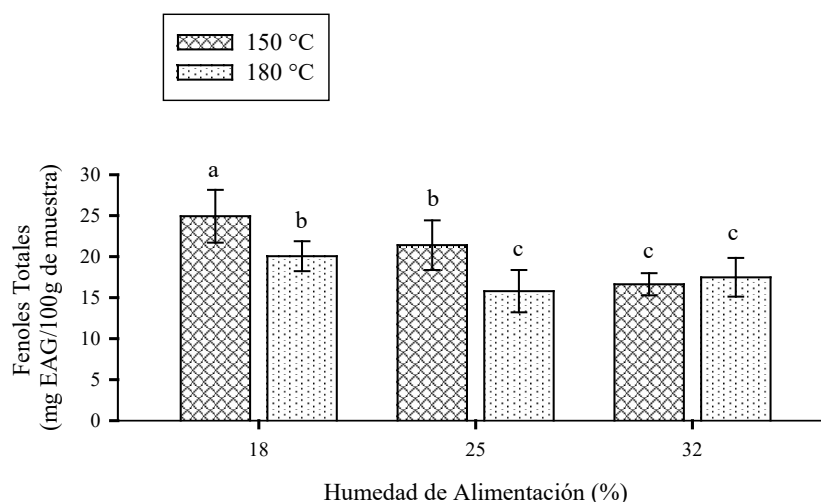
¹Resultados reportados en base seca como el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.²Amaranto extrudido a las condiciones de 150 °C y 18 % de humedad.³Amaranto extrudido a las condiciones de 180 °C y 32 % de humedad.Valores con la misma literal para la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

humedad de alimentación (18 %) presentó una disminución del 0.52 % en el contenido de compuestos fenólicos totales al compararlo con el grano sin procesar, en cambio, el tratamiento de mayor temperatura de extrusión (180 °C) y mayor humedad de alimentación (32 %) presentó una disminución de 30.25 %. La disminución en el contenido de compuestos fenólicos puede deberse a que el tratamiento térmico por extrusión promueve la polimerización de algunos compuestos fenólicos y los vuelve menos extraíbles (Brennan *et al.*, 2011). Wang *et al.* (2014), reportaron en cereales que la cocción por extrusión tiene dos efectos opuestos sobre los compuestos fenólicos, por un lado, causa descomposición de compuestos

sensibles al calor y polimerización de otros. De igual manera reportaron que la extrusión altera las matrices de las paredes celulares y rompe enlaces covalentes en compuestos polifenólicos de alto peso molecular, lo que ocasiona una mayor accesibilidad y extracción de los mismos, el efecto que prevalezca dependerá de las condiciones de procesamiento y la naturaleza de la materia prima utilizada. En el caso de la presente investigación se observó que los tratamientos de extrusión empleados disminuyeron el contenido de compuesto fenólicos totales al compararlos con el grano sin procesar y el grano inflado comercial que presentaron contenidos de fenoles totales de 25.06 y 34.23 mg EAG/100 g de muestra, respectivamente.

Inhibición de los radicales DPPH y ABTS

Los resultados de la actividad antioxidante se muestran en la Figura 2. En la Figura 2A se observa el efecto de la HA y T en la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical DPPH en los extrudidos de amaranto. Los tratamientos presentaron una tendencia similar a la obtenida para los compuestos fenólicos totales. La inhibición del radical fue mayor para el tratamiento de HA de 18 % con 150 °C, y disminuyó al aumentar la HA del 18 al 25 %. Para ambas humedades, se observó mayor actividad antioxidante cuando la temperatura es menor. La Figura 2B muestra los resultados de la HA y T en la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición del radical ABTS en los extrudidos de amaranto. De manera general, el comportamiento fue similar al de la prueba de DPPH. La mayor inhibición del radical y por lo tanto la mayor capacidad antioxidante fue a menor T (150 °C) y HA. El porcentaje de inhibición del radical ABTS fue mayor que el obtenido para el radical DPPH, en ambos radicales el tratamiento de menor T y HA (150 °C, 18 %) obtuvo la mejor capacidad antioxidante con un 12.79 % para el DPPH y 41.71 % para el ABTS.

**Figura 1.** Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre el contenido de fenoles totales en amaranto extrudido. Barras con la misma literal indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).**Figure 1.** Effect of extrusion temperature and feed moisture on total phenols content in extruded amaranth. Bars with the same literal indicate that there are no significant differences ($p < 0.05$).

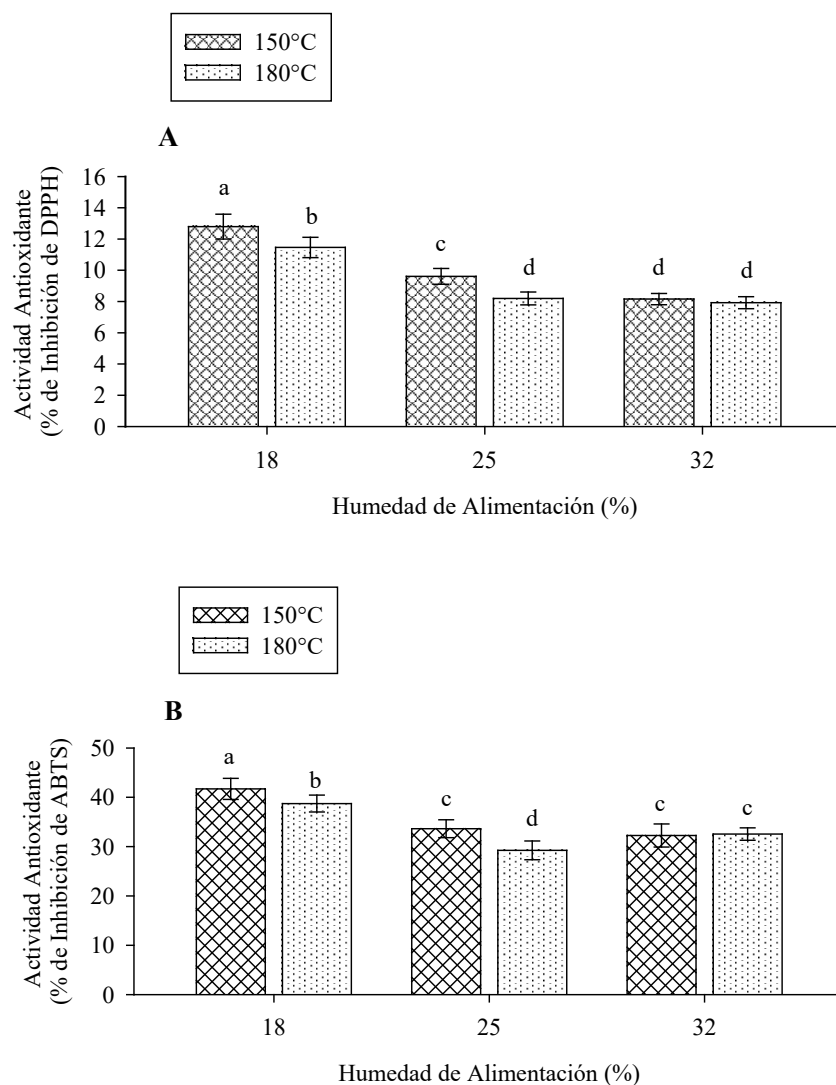


Figura 2. Efecto de la temperatura de extrusión y humedad de alimentación sobre la actividad antioxidante medida como porcentaje de inhibición de los radicales DPPH (A) y ABTS (B) en amaranto extrudido. Barras con la misma literal indican que no hay diferencias significativas ($p < 0.05$).

Figure 2. Effect of extrusion temperature and feed moisture on the antioxidant activity measured as a percentage of inhibition of the DPPH (A) and ABTS (B) radicals in extruded amaranth. Bars with the same literal indicate that there are no significant differences ($p < 0.05$).

Los resultados de los métodos de ABTS y DPPH coinciden con lo reportado por Kraujalis *et al.* (2013), quienes evaluaron la actividad antioxidante de diferentes partes anatómicas de *Amaranthus hybridus*, encontrando mayor inhibición para el radical ABTS que para el DPPH en extractos metanólicos de semillas de amaranto. Floegel *et al.* (2011) reportaron que el ensayo de ABTS es mejor que DPPH cuando se aplica a una variedad de alimentos vegetales que contienen compuestos antioxidantes tanto de carácter hidrofílico como lipofílico, siendo este el caso del amaranto.

De manera semejante al contenido de compuestos fenólicos, el amaranto inflado comercial y sin procesar presentaron mayores porcentajes de inhibición que los tratamientos extrudidos. El amaranto inflado presentó un 22.90 y 65.19 %

de inhibición para el DPPH y ABTS, respectivamente. Estas diferencias pueden atribuirse al proceso de inflado que promovió una mayor extracción de compuestos fenólicos y por lo tanto una mayor actividad antioxidante, o bien a que el grano de amaranto usado para el inflado comercial presentaba antes del proceso un mayor contenido de compuestos fenólicos. El amaranto sin procesar presentó un 19.29 y 63.73 % de inhibición para el DPPH y ABTS, respectivamente.

Repo-Carrasco-Valencia *et al.* (2009), estudiaron el efecto del proceso de extrusión sobre la actividad antioxidante de 2 variedades de *Amaranthus caudatus* en donde reportaron una disminución en la actividad antioxidante por efecto de la extrusión en un rango del 16 al 58 %. En el presente estudio, aun cuando se presentaron diferencias

en los porcentajes de inhibición entre ambos radicales, el porcentaje de reducción debido al proceso de extrusión fue semejante. Se obtuvo una reducción del 56-57 % para el tratamiento mayormente afectado (180 °C y 32 %) y 33-34 % para las condiciones de extrusión que presentaron un menor efecto (150 °C y 18 %). Esta reducción puede deberse a reacciones de polimerización de compuestos fenólicos durante el procesamiento que los hace menos extraíbles y por lo tanto presentan una menor contribución a la actividad antioxidante (Brennan *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2014).

Correlación entre compuestos fenólicos y actividad antioxidante

El coeficiente de correlación entre el contenido de fenoles totales y la inhibición de ambos radicales fue altamente significativo, $r = 0.827$ para el radical DPPH y $r = 0.773$ para el radical ABTS. La correlación obtenida para el contenido de fenoles y el radical ABTS fue mayor a la reportada ($r = 0.584$) por Repo-Carrasco-Valencia *et al.* (2009) pero menor que las reportadas ($r = 0.98$) por Paško *et al.* (2009) y Kraujalis *et al.* (2013), en harinas de *Amaranthus hybridus*. Esto puede ser debido a diferencias en la metodología y solventes de extracción, diferencias entre variedades y especies de amaranto, así como condiciones agronómicas durante su cultivo. Repo-Carrasco-Valencia *et al.* (2009), atribuyen la actividad antioxidante en amaranto no solo a compuestos fenólicos sino también a compuestos de naturaleza lipofílica. En el presente estudio debido a la naturaleza metanólica del extracto empleado en el análisis, la actividad antioxidante se atribuyó solo a compuestos fenólicos, mostrando una alta correlación entre ambos parámetros.

Calidad proteica *in vivo*

Los resultados para las pruebas de calidad proteica se muestran en la Tabla 3. Para la prueba de RNP se obtuvo que el tratamiento por extrusión HA del 18 % y T de 150 °C no presentó diferencias significativas con respecto al control de caseína (4.33). A su vez, el tratamiento por extrusión a HA de 32 % y T de 180 °C, a pesar de ser significativamente diferente al control de caseína, obtuvo valores altos de RNP (4.11). Ambos tratamientos de extrusión fueron superiores a los resultados obtenidos para el amaranto sin procesar y el inflado comercial.

El valor nutricional o la calidad de las proteínas se rige por la composición de aminoácidos, la proporción de aminoácidos esenciales, la susceptibilidad a la hidrólisis durante la digestión, presencia de antinutrientes y efecto del procesamiento. Cuanto mayor sea la proporción de aminoácidos esenciales, mayor será el valor biológico o la calidad de las proteínas (Friedman, 1996). Debido a que la prueba de RNP es la medición de la ganancia en peso por efecto de la calidad proteica corregida considerando un grupo control alimentado con una dieta libre de nitrógeno (Sadasivam, 1996), se puede suponer que las condiciones de extrusión empleadas lograron inactivar compuestos antinutricionales en el amaranto sin procesar, o bien que la proteína se des-

Tabla 3. Resultados de las pruebas de calidad proteica *in vivo*.

Table 3. Results of protein quality tests *in vivo*.

| Tratamiento | RNP ¹ | DAN ² | DVN ³ |
|--|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Amaranto sin procesar | 3.81 ± 0.14 ^c | 78.76 ± 1.23 ^c | 83.01 ± 1.10 ^c |
| Amaranto inflado | 3.76 ± 0.05 ^c | 81.24 ± 1.49 ^{bc} | 84.55 ± 1.33 ^{bc} |
| Extrudido a 150 °C con 18 % de humedad | 4.32 ± 0.05 ^a | 81.94 ± 1.05 ^b | 85.00 ± 0.92 ^{bc} |
| Extrudido a 180 °C con 32 % de humedad | 4.11 ± 0.03 ^b | 83.36 ± 0.65 ^b | 86.72 ± 0.65 ^b |
| Dieta control (caseína) | 4.33 ± 0.15 ^a | 88.08 ± 1.98 ^a | 91.40 ± 1.40 ^a |

¹RNP, razón neta de proteína.

²DAN, digestibilidad aparente de nitrógeno.

³DVN, digestibilidad verdadera de nitrógeno.

Los resultados se reportan como el promedio ± desviación estándar. Valores con la misma literal para la misma columna no presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).

naturalizó parcialmente lo que provocó un desdoblamiento de su estructura haciéndola más susceptible a la digestión enzimática, por lo que su calidad proteica fue mejorada por el proceso (Mensa-Wilmot *et al.*, 2001).

Estudios en amaranto (Pedersen *et al.*, 1987a) reportaron la presencia de factores antifisiológicos como el ácido fítico que forma complejos con proteínas, lo cual podría modificar su estructura y volverla menos soluble y menos susceptible a la digestión enzimática (Kumar *et al.*, 2010). Sin embargo, al ser estos antinutrientes termolábiles, pueden ser degradados por efecto del tratamiento térmico (Pedersen *et al.*, 1987a). Se ha reportado que la calidad nutricional posterior al tratamiento térmico mejora debido a la inactivación de antinutrientes (Pedersen *et al.*, 1987b), o por el aumento en la digestibilidad (Bejosano y Corke, 1998). Por otra parte, Gamel *et al.* (2004) reportaron que el inflado es un tratamiento térmico que ocasiona pérdida de calidad proteica. Bressani *et al.* (1987) han atribuido esta pérdida de calidad a la indisponibilidad de lisina que ocurre durante el proceso de inflado; en amaranto causa una disminución del 19 % de la lisina disponible en comparación con la muestra cruda, la cual puede estar participando en reacciones de pardeamiento no enzimático (Bejosano y Corke, 1998), siendo dicho tratamiento térmico menos efectivo comparado con otros tratamientos como la cocción (Onyango *et al.*, 2017), o la extrusión (Chávez-Jáuregui, *et al.*, 2000).

Los resultados de digestibilidad (DAN y DVN) mostraron que no se presentaron diferencias significativas entre extrudidos y amaranto inflado, pero sí con respecto al grano sin procesar que tuvo la menor digestibilidad de todos los tratamientos. Esto pudiera deberse a factores antifisiológicos los cuales interfieren con la digestibilidad de la proteína. Se ha reportado que la presencia de fibra disminuye la absorción de algunos nutrientes, lo que resulta en una baja digestibilidad, y a su vez aumenta la excreción endógena de nitrógeno

fecal (Wong y Cheung, 2003); sin embargo, el efecto presentado puede atribuirse a la presencia de antinutrientes en el grano sin procesar ya que todas las dietas experimentales fueron ajustadas al mismo contenido de fibra. Aunque no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos de extrusión y el inflado comercial, en general la tendencia fue que se obtuvieron mayores digestibilidades en los tratamientos extrudidos, lo cual, si alcanzó a evidenciarse en el parámetro de RNP, donde el tratamiento de extrusión de 150 °C y 18 % presentó valores comparables a la proteína de referencia (caseína).

CONCLUSIONES

En el presente estudio las condiciones de extrusión de 150 °C y 18 % de humedad de alimentación lograron conservar en un 66-67 % la actividad antioxidante presente en el grano sin procesar, sin embargo, las condiciones de 180 °C y 32 % solo conservaron el 43-44% de la misma. Comportamiento similar se observó en los fenoles totales que correlacionaron de manera positiva y significativa con la actividad antioxidante. En cuanto a la medición de los parámetros de calidad proteica *in vivo*, la extrusión a las condiciones de 150 °C y 18 % obtuvo resultados comparables de RNP de la dieta control de caseína y digestibilidades mayores al grano sin procesar. Con base en esto, podemos concluir que el proceso de extrusión es una buena alternativa para el procesamiento térmico de amaranto, sin embargo, es importante definir de forma apropiada las variables de procesamiento por extrusión ya que los compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante, digestibilidad y razón neta de proteína se ven afectados, y el seleccionar uno y otro parámetro podrá definir cuál es la característica de calidad que se desea beneficiar en el alimento.

REFERENCIAS

AACC. 2000. American Association of Cereal Chemists. 10th edition. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. St. Paul, Minn.

Alam, M. S., Kaur, J., Khaira, H. y Gupta, K. 2016. Extrusion and extruded products: changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 56(3):445-473.

AOAC. 2006. Official Methods of Analysis. 18th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.

Bejosano, F. P. y Corke, H. 1998. Protein quality evaluation of *Amaranthus* wholemeal flours and protein concentrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 76(1):100-106.

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

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

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

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

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

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

Dyner, L., Cagnasso, C., Ferreyra, V., Pita Martín de Portela, M. L., Apro, N. y Olivera Carrión, M. 2016. Contenido de calcio, fibra dietaria y fitatos en diversas harinas de cereales, pseudocereales y otros. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 50(3):435-443.

Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I. y Chun, O. K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(7):1043-1048.

Friedman, M. 1996. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(1):6-29.

Gamel, T. H., Linszen, J. P., Alink, G. M., Mosallem, A. S. y Shekib, L. A. 2004. Nutritional study of raw and popped seed proteins of *Amaranthus caudatus* L and *Amaranthus cruentus* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(10):1153-1158.

Gorinstein, S., Vargas, O. J. M., Jaramillo, N. O., Salas, I. A., Ayala, A. L. M., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., Katrich, E. y Trakhtenberg, S. 2007. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*. 225(3-4):321-328.

Guillen-Portal, F. R., Baltensperger, D. D. y Nelson, L. A. 1999. Plant population influence on yield and agronomic traits in Plainsman grain amaranth. Perspectives on new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA, 190-193.

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

Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., y Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*. 120(4):945-959

Martirosyan, D. M., Miroshnichenko, L. A., Kulakova, S. N., Pogojeva, A. V. y Zoloedov, V. I. 2007. Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension. *Lipids in Health and Disease*. 6(1):1.

Mau, J. L., Chao, G. R. y Wu, K. T. 2001. Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(11):5461-5467.

Menegassi, B., Pilosof, A. M. y Areas, J. A. 2011. Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.-BRS Alegria) flour. *LWT-Food Science and Technology*. 44(9):1915-1921.

Mensa-Wilmut, Y., Phillips, R. D. y Hargrove, J. L. 2001. Protein quality evaluation of cowpea-based extrusion cooked cereal/legume weaning mixtures. *Nutrition Research*. 21(6):849-857.

- Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*. 26: 211-219.
- Moscicki, L. y van Zuilichem, D. J. 2011. Extrusion-cooking and related technique. *Extrusion-cooking techniques: applications, theory and sustainability*. Wiley, Weinheim, 1-24.
- Muthukumarappan, K. y Karunanithy, C. 2012. Extrusion Process Design. *Handbook of Food Process Design*. 710-742.
- Onyango, A. N., Sila, D. N. y Njoki, J. W. 2017. Impact of processing techniques on nutritional composition and anti-nutrient content of grain amaranth. *JKUAT Annual Scientific Conference, Department of Food Science and Technology, Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology, Nairobi, Kenya*.
- Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M. y Zachwieja, Z. 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*. 115(3):994-998.
- Pedersen, B., Hallgren, L., Hansen, I. y Eggum, B. 1987a. The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*. 36(4):325-334.
- Pedersen, B., Kalinowski, L. S. y Eggum, B. O. 1987b. The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Plant Foods for Human Nutrition*. 36(4):309-324.
- Pedersen, B., Knudsen, K. B. y Eggum, B. O. 1990. The nutritive value of amaranth grain (*Amaranthus caudatus*). *Plant Foods for Human Nutrition*. 40(1):61-71.
- Písaříková, B., Kráčmar, S. y Herzig, I. 2005. Amino acid contents and biological value of protein in various amaranth species. *Czech Journal of Animal Science*. 50(4):169-174.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. y Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9-10):1231-1237.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., Peña, J., Kallio, H. y Salminen, S. 2009. Dietary fiber and other functional components in two varieties of crude and extruded kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Journal of Cereal Science*. 49(2):219-224.
- Sadasivam, S. 1996. *Biochemical methods*. New Age International. 2nd ed. New Delhi, India.
- Tovar, L. R., Brito, E., Takahashi, T., Miyazawa, T., Soriano, J. y Fujimoto, K. 1989. Dry heat popping of amaranth seed might damage some of its essential amino acids. *Plant Foods for Human Nutrition*, 39(4):299-309.
- Wang, T., He, F. y Chen, G. 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*. 7:101-111.
- Wong, K. H. y Cheung, P. C. 2003. Effect of fiber-rich brown seaweeds on protein bioavailability of casein in growing rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 54(4):269-279.
- Yu L. 2011. *Extrusion processing of protein rich food formulations*. Ph. D. dissertation. Department of Food Science and Agricultural Chemistry McGill University, Montreal.