

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

*Amaranthus hypochondriacus*  
ESTUDIO DE LA FIBRA DIETÉTICA TOTAL Y SU  
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

AGUILAR ALANIZ AMELIA REYNA

MÉXICO, D.F.

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## *Agradecimientos*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme formado académicamente y haber sido mi segunda casa todo este tiempo además de mostrarme que hay un universo más allá de la ciencia.*

*A la maestra Ángeles Valdivia por la oportunidad y el apoyo para desarrollar esta tesis bajo su tutoría, agradeciendo sus valiosos consejos y su tiempo invertido en mi desarrollo profesional.*

*A la profesora Julieta Sandoval por sus consejos y la ayuda prestada en el desarrollo experimental y teórico de este trabajo, además de auxiliarme con los trámites de liberación de mi título.*

*A todas y cada una de las personas que contribuyeron en la realización de esta tesis.*

*Dedicatorias*

*A Pablo, mi papá por haber guiado mis primeros pasos y alentar a superarme cada día*

*y*

*A Teresa, mi mamá por su gran fortaleza y sus cuidados hasta ahora*

*Gracias a ustedes tengo vida y conciencia.*

*A mis hermanos: Elvira, Ceci, Luisa, Leti, Eliza, Pablo y Paulino por los consejos, regaños, desvelos, pláticas, confidencias, financiamiento y juegos de toda una vida.*

*Han sido y seguirán siendo una hermosa compañía.*

*A mis amigos: Jannely, Elva, Mta. Elena, Xochitl, Ricardo, Brenda, Fernando, Claudia, Gabi, Edgar, Ivon y Vianey por todas las quemas compartidas, los desvelos estudiando, su compañía durante la carrera y por su gran amistad.*

*A Angel, por todo tu amor, ayuda, apoyo y comprensión. Me miran con tus ojos las estrellas más grandes.*

---

**ÍNDICE**

<b>Introducción</b>	1
<b>Objetivos</b>	3
<b>CAPÍTULO 1. Antecedentes</b>	
1.1. EL AMARANTO	
1.1.1. Generalidades	5
1.1.2. Historia del amaranto	6
1.1.3. Composición del grano	6
1.1.4. Usos del amaranto	7
1.2. IMPORTANCIA DE LA FIBRA DIETÉTICA	9
1.2.1. Definición	10
1.2.2. Composición	11
1.2.3. Clasificación	13
1.2.4. Propiedades Tecnológicas y fisiológicas	14
1.2.5. Aplicaciones	18
1.2.6. Funcionalidad de la fibra	19
1.2.7. Efecto del procesamiento sobre la funcionalidad de la fibra	19
1.2.8. Determinación de la Fibra Dietética	20
1.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS ASOCIADOS A LA FIBRA DIETÉTICA	
1.3.1. Compuestos fenólicos	22
1.3.2. Clasificación de interés nutricional: polifenoles solubles e insolubles	23
1.3.3. Compuestos fenólicos como antioxidantes	24
1.3.4. Defensa antioxidante en alimentos y en sistemas biológicos	25

---

---

1.3.5. Relación estructura-actividad antioxidante de fenoles	27
1.3.6. Determinación de la Actividad Antioxidante	28
1.3.6.1. Métodos para determinar la capacidad antioxidante	29

## **CAPÍTULO 2. Materiales y métodos**

DIAGRAMA GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN	33
2.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	34
2.2. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS	
2.2.1. Análisis de la muestra	34
2.2.2. Contenido de Fibra Dietética	34
2.2.2.1. Determinación de Fibra Dietética Total	34
2.2.2.2. Determinación de Fibra Dietética Soluble y Fibra Dietética Insoluble (Método de Mañas)	35
2.3. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES	
2.3.1. Extracción de polifenoles	36
2.3.2. Determinación de polifenoles totales	36
2.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	
2.4.1. Capacidad secuestrante sobre el radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)	36
2.4.2. Capacidad secuestrante sobre el radical Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS)	37
2.4.3. Actividad antioxidante determinada por el blanqueo del $\beta$ - Caroteno	37
2.4.4. Inhibición de la oxidación lipídica	38
2.4.5. Efecto antioxidante sobre la peroxidación de liposomas	39

---

---

2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
<b>CAPITULO 3. Resultados y Discusión</b>	
3.1. Rendimiento en la obtención de la muestra	41
3.2. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS	
3.2.1. Análisis proximal	42
3.2.2. Análisis de los métodos empleados para determinar FD	43
3.2.3. Caracterización de la FD	46
3.2.4. Relación entre las fracciones soluble e insoluble de la FD	47
3.3. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES	48
3.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	50
3.4.1. Capacidad secuestrante sobre el radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)	51
3.4.2. Capacidad secuestrante sobre el radical Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS)	53
3.4.3. Actividad antioxidante determinada por el blanqueo del $\beta$ - caroteno	56
3.4.4. Inhibición de la oxidación lipídica	57
3.4.5. Efecto antioxidante sobre la peroxidación de liposomas	60
<b>CONCLUSIONES</b>	64
<b>Bibliografía</b>	66

---

## INTRODUCCIÓN

Se ha reportado que la ingesta de fibra dietética (FD) en México tiene una alta variabilidad entre diferentes grupos de la población. En promedio la dieta rural contiene hasta cuatro veces más fibra dietética que la consumida en las áreas urbanas. El bajo consumo de fibra, se debe principalmente al proceso de urbanización, que se traduce en una mayor ingesta de alimentos refinados, productos industrializados y alimentos de origen animal teniendo implicaciones fisiológicas importantes. Una baja ingesta de FD ha sido asociada con incidencias altas de enfermedades como hipertensión, enfermedades coronarias, desórdenes intestinales, diabetes y cáncer en el colon, lo que demuestra el enorme potencial terapéutico de la incorporación de la FD a productos de consumo humano y que ha sido causa de búsqueda de nuevas fuentes de fibra.

Recientes avances en el desarrollo de productos nutraceuticos a partir de alimentos o de sus aislados han marcado énfasis en la obtención de metabolitos secundarios como los polifenoles, que se asocian con propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias y químico protectores, las cuales se atribuyen a su actividad antioxidante. La incorporación de fibra en productos alimenticios otorga características de nutraceutico debido a las propiedades fisiológicas de la fibra dietética aunadas a las propiedades de los polifenoles ligados a ella.

El amaranto (*Amaranthus spp.*) es una dicotiledónea que tuvo enorme importancia en la dieta de la América precolombina. Los granos presentan un contenido de proteína, grasas y fibra superior al de cereales convencionales, la calidad de su proteína es comparable al de la soya y la levadura, presenta un alto contenido de lisina y aminoácidos azufrados, lo que permite su uso para complementar dietas con cereales y leguminosas obteniendo una calidad proteínica similar a la de origen animal. Debido a la estructura y morfología del grano de amaranto es posible la separación de sus partes obteniendo fracciones con diferentes propiedades nutritivas.

La National Academy of Science reconoció que el amaranto puede representar un recurso agrícola potencialmente explotable, particularmente para países emergentes y que es necesario el trabajo de investigación y desarrollo de alimentos para saber la funcionalidad de los concentrados de proteína a partir del grano, el tiempo de caducidad y los efectos del

proceso sobre la funcionalidad y calidad nutricional del amaranto. El principal desafío es incorporar al amaranto en formulaciones existentes de alimentos para modificar su calidad funcional y nutrimental, así como crear nuevos productos del grano y del vegetal del amaranto.

Su contenido nutrimental, su alta tolerancia a condiciones áridas donde los cereales no pueden crecer fácilmente, y por su potencial como una nueva fuente de alimento para el mundo, el amaranto ha sido motivo de investigaciones tanto de la calidad de la proteína, la caracterización de los aceites, el estudio de los almidones de su harina, y los nuevos productos alimenticios en los que se puede incluir. Sin embargo no existe un estudio completo de su Fibra Dietética y la actividad antioxidante, el cual es un aspecto muy importante que debe conocerse y tiene que considerarse si se quiere incluir como aditivo en productos alimenticios industrializados o si se quiere usar como un alimento funcional.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- \* Conocer la composición y la propiedad antioxidante de una fracción rica en pericarpio proveniente de *Amaranthus hypochondriacus* para ampliar sus aplicaciones como aditivo en productos alimenticios industrializados.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- \* Conocer el perfil composicional de la fibra soluble e insoluble de la fibra dietética del amaranto.
- \* Conocer la cantidad de polifenoles ligados a la fibra dietética del amaranto.
- \* Conocer la capacidad antioxidante de la fibra dietética del amaranto.

# *Capítulo 1*

## *Antecedentes*

## 1.1 EL AMARANTO

### 1.1.1 Generalidades

El papel del amaranto como una planta no explotada con un valor económico prometedor ha sido reconocida recientemente por la National Academy of Sciences. La familia *Amaranthaceae* comprende más de 60 géneros y alrededor de 800 especies. Son plantas herbáceas de 1.5 a 2m de altura, tallo ramificado desde la base, hojas largamente pecioladas y ovadas que miden aproximadamente 15cm de largo y 10cm de ancho, contienen numerosas flores rojas o púrpura de 4 a 5mm. El fruto es una cápsula pequeña que se abre transversalmente y contiene una sola semilla blanca, lisa y brillante, ligeramente aplanada y del tamaño de un grano de mostaza que posee notables propiedades nutricionales.

El amaranto es una de esas plantas que pueden ser consumidas como vegetales mientras que las semillas son usadas como cereales. Varias especies de amaranto han sido cultivadas tanto en América como en Europa desde tiempos antiguos como plantas ornamentales, plantas secas, hierbas o cereales. Actualmente el rendimiento para la semilla es de 3 toneladas/hectárea en un monocultivo por 3-4 meses, y un rendimiento para los vegetales de 4.5 toneladas/hectárea (materia seca) después de 4 semanas (*Teutonico y Knorr, 1985*).



### 1.1.2 Historia del amaranto

Las evidencias arqueológicas muestran que las hojas y semillas del amaranto fueron utilizadas por los habitantes de América antes de que se diera el proceso de domesticación de esas plantas, que fue paralelo al del maíz de 5200 a 3400 A. C. El amaranto fue introducido y cultivado en muchas partes del mundo, por ejemplo, en el sur de Estados Unidos; en Argentina, a través de los Andes; en Guatemala; India, en el sureste de Asia y en el este de África.

El amaranto es una dicotiledónea que tuvo enorme importancia en la alimentación de la América precolombina, junto al frijol, la chía y el maíz, eran cultivos de suma importancia en las culturas de México. Debido a que el Amaranto estaba muy relacionado con rituales religiosos Hernán Cortés ordenó su destrucción castigando con la muerte a cualquiera que la cultivara; así la producción de amaranto fue decayendo. Hoy en día su alto contenido nutricional, su alto rendimiento y resistencia, dado que la mayor parte de cultivos en México son de temporal, hacen del amaranto una opción viable de cultivo en México con énfasis en zonas de temporal muy variables y de baja o nula tecnología moderna. En la actualidad su cultivo está reducido a pequeñas zonas, de las cuales las principales se encuentran en Puebla, Tlaxcala, Distrito Federal, Estado de México y Morelos.

### 1.1.3 Composición del grano de amaranto

El grano pequeño, aproximadamente de 1 mm de diámetro, posee notables propiedades nutricionales. Comparando las composiciones de granos convencionales (tabla 1), se observa que los niveles de proteína, grasa, fibra y cenizas son más altos en el amaranto, mientras que la humedad y carbohidratos totales son más bajos. El alto potencial del amaranto como fuente alimenticia se basa en su alto contenido de proteína, además esa proteína está compuesta por un buen balance de aminoácidos esenciales, debido a lo interesante de la composición de la proteína, varios investigadores han estudiado el contenido de fracciones proteínicas. El amaranto contiene altos niveles de lisina, sin embargo la leucina es invariablemente el principal aminoácido limitante (*Saunders et al.*, 1984). El contenido de lípidos oscila entre el 3.1 y 6.5%, para *A. hypochondriacus* (*Sánchez-Moreno et al.*, 1980), el aceite de amaranto contiene una cantidad considerable de ácido linoleico, oleico, palmítico, unas trazas de linolénico y otros ácidos grasos, en total alrededor del 76 % del aceite es altamente insaturado.

Tabla 1. Análisis proximal de harinas integrales en diferentes cereales

Componentes %	Amaranto	Triticale	Cebada Desnuda	Maíz	Trigo	Arroz integral	Arroz blanco
Humedad	10.0	11.0	11.0	11.72	10.10	12	15.5
Cenizas	2.50	2.06	2.07	1.56	1.05	1.2	0.6
Proteínas	15.74	12.46	14.19	8.51	12.00	7.5	6.2
Grasa	7.03	1.46	4.18	5.51	1.80	1.9	0.8
Fibra cruda	4.94	2.38	2.18	1.75	1.20	0.9	0.3
Carbohidratos	60.82	70.6	66.37	70.95	76.60	77.4	76.9

Referencia: Sánchez-Moreno, et al 1980

Un trabajo reciente (Sandoval, 2005) reporta que el aceite del grano de amaranto contiene grandes cantidades de escualeno (entre el 5.5 y 5.6% del total) producto altamente demandado por la industria farmacéutica ya que se ocupa en la manufactura de cosméticos de calidad. Además la cantidad de almidón varía entre 58 y 66%, con una baja temperatura de gelificación, contiene un 9 a 16% de fibra, que es más fina y blanda que la del trigo y posee un 2.7-5 % de cenizas y la humedad varía desde un 8 hasta 10% (Tosi, et al., 2000).

Las altas concentraciones de calcio, fósforo, hierro, potasio, zinc, vitamina E y del complejo vitamínico B, así como las bajas concentraciones de factores antinutricionales, hacen de este grano un producto de interés en la elaboración de nuevos alimentos.

#### 1.1.4 Usos del amaranto

El empleo del grano de amaranto en productos alimenticios es diverso; se consume reventando térmicamente en forma de rosetas o palomitas, formando parte de alguna golosina o para preparar atoles. Las harinas provenientes de la molienda del grano entero o reventado se utilizan para fabricar productos de panificación. Teutonico y Knorr (1985) emplearon la harina en la producción de galletas y pan, reemplazando hasta un 20% de la harina de trigo de la formulación original (Tosi et al., 2000), Sánchez-Marroquín y sus colaboradores (1987) usaron la harina de amaranto como suplemento en la harina de maíz para hacer tortillas y Huerta (2004) utilizó un concentrado proteínico de amaranto con harina de trigo y maíz en el desarrollo de formulaciones para elaborar botanas. En este

último trabajo se lograron incrementos de proteína del 75% cuando se mezcla con harina de trigo y 42% cuando se usó harina de maíz, además de que la sustitución no afectó las propiedades funcionales que caracterizan al producto.

También se ha usado harina integral de amaranto en la fabricación de galletas para regímenes especiales, particularmente en la enfermedad celiaca, que es una dolencia intestinal debida a la susceptibilidad al gluten y como consecuencia del daño producido por esta enfermedad en las microvellosidades intestinales, se reduce la absorción de sustancias alimenticias. Este efecto, de largo alcance, puede llevar a la carencia de calcio y vitamina D, sumadas a la sintomatología general que se manifiesta con diarreas y dolores gastrointestinales. Las galletas obtenidas se encontraron libres de gluten y el contenido de proteína fue superior al que se encuentra en las tradicionales galletas para celíacos (*Tosi et al.*, 1996).

A partir del grano de amaranto se ha desarrollado una bebida de tipo lácteo que por sus características y bajo costo puede ser importante para paliar los problemas de desnutrición. Esta bebida podría competir con la leche de soya, además de su solubilidad y sus propiedades funcionales puede elaborarse en polvo. (*Tosi et al.*, 2000)

La composición, las propiedades, su historia, las presentes y futuras aplicaciones del amaranto demuestran el potencial alimenticio de este grano que no es ampliamente aprovechado en México. Sin embargo, existen problemas en la comercialización del amaranto, principalmente porque es cultivado, cosechado y consumido por las prácticas tradicionales, además de que se tienen pocos datos experimentales relacionados con pruebas de alimentación en los humanos. Con respecto a la siembra de este grano es necesario estudiar con más detalle los requerimientos nutrimentales específicos para la planta de amaranto, los efectos de los fertilizantes sobre su rendimiento, la composición de la planta en diferentes etapas de la cosecha, la selección de aquellas variedades que son más tolerantes al estrés y más productivas en climas templados. En el área de alimentos procesados es necesario el trabajo de desarrollo e investigación sobre la funcionalidad del grano de amaranto y los concentrados de proteína, así como los efectos de diversos procesos sobre la funcionalidad y la calidad nutricional de éstos (*Teutonico y Knorr*, 1985).

## 1.2 IMPORTANCIA DE LA FIBRA DIETÉTICA

El rol de la fibra dietética (FD) en la salud y en la nutrición ha estimulado una gran cantidad de investigaciones que han atraído la atención pública. Numerosos estudios atribuyen a la fibra propiedades diversas como la de ser un regulador intestinal, actuando como laxante, factor preventivo del cáncer de colon, adsorbente de ácidos biliares y retardador de la absorción intestinal, además de que favorece la disminución del colesterol y de la glucosa en sangre. (*Periago et al.*, 1993). El tema ha generado tal atención que una variedad de alimentos ricos en fibra están bien posicionados en los estantes de todos los supermercados. Los nutriólogos aún no tienen establecido exactamente cuanta fibra dietética se debe consumir.

El consumo de 20 a 40 g FD/día es considerado un intervalo seguro, el cual no tiende a causar algún efecto adverso en la mayoría de las personas. El Instituto de Cancerología de los E. U. A. sugirió en 1986 que las personas deberían consumir entre 25-30 gramos de FD por día y la relación entre las fracciones insoluble y soluble debe ser 3:1 (*Borderias et al.*, 2005), sin embargo otros autores reportan que la relación debe estar entre el 1.0-2.3 para obtener los efectos fisiológicos asociados con ambas fracciones (*Grigeldo-Miguel et al.*, 1999). Parte de las razones de la falta de recomendaciones dietéticas establecidas para la ingesta de fibra, se relacionan a la larga historia de métodos pobres para el análisis de fibra, las cuales han limitado la habilidad de catalogar el verdadero contenido de Fibra Dietética Total (FDT) de los alimentos. Un vegetariano estricto puede consumir alrededor de 60g FD/día, lo cual puede ser potencialmente perjudicial, especialmente para los niños, mujeres embarazadas y personas ancianas, debido a la reducción en la disponibilidad de ciertos minerales, a menos que sean prescritos en suplementos alimenticios.

Los granos de cereales, legumbres, vegetales, y frutas son buenas fuentes de FD, generalmente los alimentos pueden dividirse en tres tipos de fuentes: fibra-total, fibra-agotada, y libre de fibra (*Dreher*, 1987).

Los alimentos fibra-total incluyen ingredientes que no han sido procesados como los vegetales y frutas frescos o procesados ligeramente tales como la harina integral de trigo y el arroz integral; los alimentos fibra-agotada pueden variar ampliamente dependiendo del grado de procesamiento, por ejemplo con el pan integral y el pan blanco, ambos pertenecen

a este grupo la diferencia es que un producto contiene más cantidad de fibra; y las fuentes libres de fibra incluyen aquellos alimentos que han sido procesados y concentrados, como el azúcar o el aceite vegetal. La fibra dietética no es un derivado de fuentes animales (excepto por la quitina, obtenida de desperdicios procesados del cangrejo y camarón y considerada FD no convencional). El tipo y la cantidad de FD varían ampliamente entre los alimentos y pueden ser afectados significativamente por las condiciones de proceso. Cada componente tiene diferentes propiedades físicas y químicas las cuales pueden causar efectos fisiológicos variables.

Hoy en día, muchos consumidores están haciendo cambios en su dieta en respuesta a la información nutricional. Por ejemplo, la publicidad involucrada con la relación entre la dieta y la reducción del riesgo de padecer cáncer o la reducción de peso han incrementado las ventas de cereales para desayuno ricos en fibra. Muchos científicos y grupos gubernamentales están defendiendo el consumo de carbohidratos más complejos, los cuáles incluyen FD y tales recomendaciones son rápidamente reportadas en la prensa común, creando una mayor demanda de los alimentos ricos en fibra existentes, así como el desarrollo de nuevos alimentos ricos en fibra con mejores características nutricionales y organolépticas.

### 1.2.1 Definición de Fibra Dietética

El interés acelerado en la investigación de la FD no ha aumentado sin problemas, como la controversial nomenclatura, la información incompleta o inconsistente sobre el contenido de fibra en los alimentos y metodologías analíticas no estandarizadas.

Mientras el significado del término “fibra dietética” está aún desarrollándose, una definición no oficial, lo establece como un grupo complejo de sustancias que provienen de plantas, las cuales son resistentes a las enzimas digestivas de los mamíferos. Esta definición se usa comúnmente, todavía no es claro si una sola y/o una simple definición es posible o deseable. Parte de la dificultad en la comprensión de la fibra dietética es que ésta consiste de muchos componentes que son parte de un sistema vegetal viviente y que está cambiando continuamente (*Dreher, 1987*).

El significado de fibra depende del campo del investigador. El término “fibra”, en un sentido estrictamente botánico, se refiere a la rigidez de los constituyentes fibrosos de las

paredes celulares. Desde un punto de vista nutricional/médico la FD es resistente a la digestión, proporciona volumen a las heces, retiene agua, actúa como un sitio para intercambiar iones y unir moléculas orgánicas. Para los analistas químicos el término es usado para describir la fibra soluble e insoluble encontrada en los alimentos (*Dreher*, 1987).

La fibra dietética puede ser definida químicamente como “la suma de polisacáridos y lignina que no sean digeridos por enzimas secretadas por el tracto gastrointestinal humano” (*Thebaudin et al.*, 1997). Sin embargo las bacterias intestinales pueden degradar parcialmente aquella fibra dietética que es resistente a las enzimas digestivas humanas, produciendo ácidos grasos volátiles y otras sustancias que pueden ser absorbidas por el intestino que influyen en la actividad funcional del colon y el recto.

### 1.2.2 Composición de la Fibra Dietética

La fibra dietética está formada por un número de compuestos químicos complejos y altamente variables, cada uno con arreglos estructurales únicos, los cuales imparten propiedades fisicoquímicas, funcionales y nutricionales específicas. Esos compuestos son dinámicos y sufren numerosos cambios durante el crecimiento y la maduración de la planta, así como durante el proceso y almacenamiento de los productos alimenticios.

En general, los *componentes convencionales* de la fibra dietética pueden ser divididos de acuerdo a las funciones en la planta en:

1. Polisacáridos estructurales. Están asociados con la pared celular, e incluyen celulosa y polisacáridos no celulósicos.
  - a. Celulosa. Es el componente más común encontrado en las paredes celulares de las plantas, por lo tanto es la sustancia orgánica más abundante en el mundo. La celulosa comprende un 20 a 50% de materia seca de muchos alimentos fibrosos como los vegetales y cereales. Es usualmente encontrado en combinación con hemicelulosa, lignina y pectina, formando una matriz compleja. Es un polisacárido lineal de alto peso molecular, consiste de unidades de glucosa con uniones  $\beta$ -1, 4 y con un alto grado de polimerización.

- b. Hemicelulosa. Consiste de una mezcla de polímeros de unidades de azúcar con cadenas laterales de galactosa, arabinosa, unidades de ácidos urónicos, usualmente metiladas. Algunos tipos de hemicelulosa incluyen, xilanos glucomananos y galactanos.
  - c. Amiloides. Constituidos de xiloglucanos, (componente de paredes celulares de dicotiledoneas). Este grupo de polisacáridos deriva su nombre de su reacción con yodo que se tiñe de azul. Tienen una cadena principal de  $\beta$ -1,4 glucosa y que está ligada a unidades de D-xilosa, D-galactosa y L-fucosa.
  - d. Sustancias pécticas. Consisten de ácidos pécticos, pectinas y ácidos pectínicos. Los ácidos pécticos hacen referencia a ácidos galacturónicos sin el grupo metilo, mientras que las pectinas tienen solo una porción de grupos ácido-metilados. La pectina es usualmente encontrada en la pared celular primaria y en las capas intercelulares de las plantas. El contenido de ésta es mayor en frutas que en hortalizas y cereales.
  - e.  $\beta$ -glucano. Contiene unidades no ramificadas de D-glucosa unidas con enlaces  $\beta$ -1,4 alternadas con uniones  $\beta$ -1,3. Comúnmente está presente en el endospermo y en la aleurona de los cereales. Se han encontrado altas concentraciones en avena y en cebada.
  - f. Carragenatos. Son obtenidos por la extracción con agua o soluciones alcalinas de paredes celulares de ciertos miembros de las clases *Rhodophyceae*. Hay algunos tipos de carragenatos compuestos de residuos de galactosa alternando enlaces 1,3 y 1,4 y unidos con iones sulfato. Son solubles en agua a temperaturas elevadas y forman soluciones viscosas.
  - g. Alginatos. El ácido algínico es un coloide hidrofílico extraído de las paredes celulares de las algas cafés. Es descrito como un copolímero lineal de uniones  $\beta$ -1,4 con ácido D-manurónico y con ácido L-gulurónico.
2. No-polisacáridos estructurales. Los componentes no polisacáridos forman una proporción menor de la pared celular, pueden tener un impacto significativo en sus propiedades, y subsecuentemente en sus características funcionales y nutrimentales.

Su concentración tiende a incrementarse en las paredes celulares maduras. Son predominantemente lignina.

- a. Lignina. Está asociada usualmente con las paredes celulares maduras y es encontrada comúnmente en grupos celulares con funciones especiales, como mecanismos de soporte, conducción de solutos y resistencia a la degradación microbiana. La lignina es amorfa con alto peso molecular, es un polímero aromático compuesto de residuos de fenilpropano los cuales forman un arreglo tipo matriz por la condensación de alcoholes fenólicos. Las fuentes de fibra pueden variar ampliamente en su contenido de lignina, la madera puede contener hasta un 50% de lignina en su pared celular, mientras que la col tiene sólo 6%

3. Polisacáridos no estructurales. Incluyen gomas y mucílagos secretados por células. Los mucílagos son una mezcla de polisacáridos complejos los cuales forman parte de la pared celular, y están asociados con el endospermo y las mezclas con almidón, usualmente son polisacáridos neutros, (p.e. goma guar, goma tragacanto, goma arábica etc.).

Las formas *no convencionales* de la fibra dietética deben ser revisadas. Pueden incluir compuestos fenólicos, glicoproteínas, minerales, compuestos de Maillard, almidones resistentes e ingredientes artificiales (p.e. povidona). Muchos investigadores creen que esas sustancias no deben ser considerados componentes de la fibra dietética porque es imposible extender el concepto para incluir todas las sustancias heterogéneas. Potencialmente pueden tener un impacto significativo sobre las propiedades funcionales y actividades fisiológicas. La suma de formas convencionales y no convencionales puede ser llamada “complejo de fibra dietética” (Schneeman, 1986).

### 1.2.3 Clasificación de la Fibra Dietética.

La FD puede clasificarse: 1) según su relación con la estructura de las paredes celulares. 2) según su naturaleza química (polisacáridos no relacionados con el almidón y polisacáridos no relacionados con la celulosa), y 3) según la solubilidad en el agua, siendo esta última la más importante desde el punto de vista de la nutrición humana.

La FD se clasifica en fibra dietética soluble y en fibra dietética insoluble en agua. En todos los alimentos la FD constituye una mezcla de fibras con distinta solubilidad y como consecuencia existe una necesidad por parte de los investigadores en definir los componentes de la fibra con el fin de poder llevar a cabo una prevención y tratamiento de determinadas enfermedades.

La *fibra dietética soluble (FDS)* incluye pectinas, gomas, mucílagos y ciertos tipos de hemicelulosas solubles. La fracción de la FDS es variable, existiendo altas proporciones en frutas, vegetales de hojas u hortalizas y en legumbres. La FDS se caracteriza porque gran parte de ella sufre un proceso de fermentación en el colon con producción de gases (hidrógeno, metano, dióxido de carbono) y ácidos grasos de cadena corta que son absorbidos y metabolizados, teniendo una relación estrecha con los procesos metabólicos del aparato digestivo, cuyos efectos fisiológicos se asocian generalmente con la disminución del colesterol en la sangre, con el control de la glucosa en sangre y por lo tanto de la diabetes.

La *fibra dietética insoluble (FDI)* incluye la celulosa, la lignina y algunas fracciones de hemicelulosa. Predomina en las hortalizas, verduras, leguminosas frescas y en los granos de cereales. La FDI apenas sufre procesos fermentativos y tiene un efecto más marcado en la regulación intestinal, con reducción del tiempo del tránsito de los alimentos y aumento de la excreción (*Periago et al.*, 1993).

#### **1.2.4 Propiedades Tecnológicas y Fisiológicas de la Fibra Dietética.**

La forma en la que es percibido un alimento en las grandes ciudades ha cambiado en los últimos 20 años, se ha recordado el principio de Hipócrates que dice “Deja al alimento ser tu medicina y a la medicina ser tu alimento” y continuando con la tradición de las culturas orientales de atribuirles propiedades terapéuticas y curativas a los alimentos. El resultado ha sido crear conciencia a la población de la necesidad del uso de dietas como significado de permanente salud. Esta tendencia ha traído el concepto de alimentos funcionales, en la cual el énfasis ha cambiado de la búsqueda para proveerse de alimentos seguros a la identificación de las potencialidades de alimentos como promotores tanto de la salud física como mental y a reducir el riesgo de padecer desórdenes coronarios. La noción

de funcionalidad es quizá hoy en día el motor principal para desarrollar nuevos productos alimenticios.

La fibra como un ingrediente alimenticio puede considerarse como poseedor de dos clases de propiedades: (a) tecnológicas y (b) fisiológicas. Las propiedades varían ampliamente dependiendo del tipo de fibra

#### *Propiedades tecnológicas.*

- \* Capacidad de unir agua (CUA): la más importante propiedad desde el punto de vista tecnológico, es la habilidad para unir agua. Las fibras solubles, tales como las pectinas y las gomas, poseen una CUA mayor que las fibras con alto contenido de celulosa, por ejemplo las cáscaras de cereales, unen varias veces su peso en agua; esta capacidad está relacionada con el largo y el grueso de la partícula de la fibra. Las fibras provenientes de las algas pueden unir hasta 20 veces su propio volumen en materia seca. El pH del medio generalmente influye en la CUA (*Borderías et al., 2005*).
- \* Capacidad para unir grasa (CUG): la capacidad de la fibra para unir grasa depende más de la porosidad de la fibra que de la afinidad molecular. Por esta razón, para prevenir la unión de altos niveles de grasa es aconsejable poner la fibra en agua, para que ésta llene los poros y prevenga la entrada de grasa. Esto es útil para eliminar la absorción excesiva cuando las fibras son usadas en productos que se tendrán que freír (*Borderías et al., 2005*).
- \* Viscosidad: las fibras como la pectina, gomas,  $\beta$ -glucano y polisacáridos extraídos de las algas forman soluciones altamente viscosas. Las gomas derivadas de plantas son generalmente las sustancias más usadas como espesantes. La viscosidad de algunas fibras solubles e insolubles, tales como la inulina, es mínima (*Borderías et al., 2005*).
- \* Capacidad para formar geles: gel es el nombre dado a una asociación de unidades poliméricas para formar una red en las cuales el agua y otros solutos son incluidos. Muchas fibras solubles forman geles, por ejemplo, las carragenatos (iota y kapa), pectinas, etc. La capacidad para formar un gel y la característica de éste dependerán de un número de factores incluyendo la concentración, temperatura, presencia de ciertos iones y pH (*Borderías et al., 2005*).

- \* Capacidad quelante: muchos tipos de fibra poseen la capacidad para intercambiar cationes *in vitro*, eso significa que pueden unir minerales; uno de las posibles consecuencias de esto es que esos iones pueden estar impidiendo la activación de los radicales que oxidan a los lípidos. Se ha demostrado que algunas fibras poseen la capacidad de intercambiar iones con el cobre (*Borderías et al., 2005*).
- \* Capacidad Fermentativa: las fibras están listas para fermentar a diferentes puntos, dependiendo del tipo de fibra, así mientras la celulosa se fermenta poco, las pectinas son totalmente fermentadas (*Borderías et al., 2005*).
- \* Texturizante: el uso de fibras puede ayudar a la reestructuración de productos basados en pescado o en carne. En la mayoría de productos cárnicos y algunos productos de pescado, el uso de esas fibras puede ayudar a lograr la textura correcta si ésta se muele previamente. Ciertas fibras como la avena son usadas para reemplazar la grasa en algunos productos cárnicos (*Borderías et al., 2005*).

Otras propiedades son la modificación del sabor, el control de cristalización de azúcar, la modificación de la viscosidad y formación del gel, y la estabilización de productos congelados. Una característica importante es la habilidad de las fibras para prevenir la deformación o la reducción de los productos reestructurados durante el cocimiento.

#### *Propiedades fisiológicas*

- \* Reducción de colesterolemia: la fracción soluble de la fibra tiene un efecto hipocolesterolémico. Un número de mecanismos han sido propuestos para explicar el efecto: uno de ellos supone que se aumenta el contenido gastrointestinal interfiriendo con la formación de micelas y la absorción de los lípidos, y así puede prolongarse la presencia de lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen intestinal en el plasma. Otro mecanismo posible es hacer que la excreción de ácidos biliares se incremente reduciendo el colesterol, ya que el aumento de la síntesis de esos ácidos exige la conversión de colesterol en esa ruta. Otra explicación posible para la eliminación de colesterol es la producción de ácido propiónico y otros gases a través de la fermentación, la cual retarda la formación de colesterol (*Borderías et al., 2005*).
- \* Modificación de la respuesta glucémica: las fibras que incrementan la viscosidad, reducen la respuesta de insulina. El mecanismo más importante

parece retardar el vacío del tracto gástrico por el incremento en la liberación de colecistoquinina en respuesta a cantidades grandes en la ingesta de fibra. Otro mecanismo es impedir el contacto con la epitelio intestinal para la absorción de nutrientes debido al incremento de viscosidad (*Borderías et al., 2005*).

- \* Cambios en la función intestinal: El hecho de que la fibra pueda unir una gran cantidad de agua, la hace muy útil desde un punto de vista fisiológico, ya que aumenta el volumen del bolo alimenticio y retarda la absorción de nutrientes en el intestino. En el caso de la fibra soluble, su papel más importante es incrementar la viscosidad del bolo alimenticio, y así se reduce la velocidad en el tránsito y amplía el intervalo en la absorción intestinal. La FD modifica la función del intestino acortando el tiempo de tránsito, aumentando el volumen fecal y la frecuencia de evacuación, diluyendo los contenidos y supliendo los sustratos que se fermentarán en el intestino. El tipo de fuente y la cantidad de fibra influye la función intestinal de diferentes maneras; en general, las fibras que son resistentes a la fermentación tales como las del trigo, incrementan el contenido del intestino, sin embargo fibras altamente fermentables generan una gran cantidad de microorganismos y también incrementan el contenido intestinal (*Borderías et al., 2005*).
- \* Reducción de la disponibilidad de nutrientes: Los resultados de experimentos *in vitro* han mostrado que algunas fibras pueden inhibir la actividad de enzimas pancreáticas, las encargadas de digerir a los carbohidratos, lípidos y proteínas, aunque todavía no se sabe como. Las fibras pueden interferir con la absorción de algunas vitaminas y la absorción de minerales tales como calcio, hierro, zinc y cobre. La reducción de minerales puede deberse a la presencia de ácido fítico y otros quelantes en la fibra. Existen varios tipos de fibra que poseen la habilidad de retener ácidos biliares y fosfolípidos, provocando el aumento en la absorción de éstos. La capacidad para retardar la absorción de ácidos grasos e interferir con la absorción del colesterol, favorece la reducción de lípidos en el torrente sanguíneo, lo que podría ser muy útil en el tratamiento de la obesidad (*Borderías et al., 2005*).

### 1.2.5 Aplicaciones de la fibra dietética

Actualmente se está realizando un gran esfuerzo en el desarrollo de nuevos productos con altos contenidos de FD para tratar de elevar su ingesta en la dieta diaria. De forma general, estos productos presentan defectos sensoriales como el sabor, lo que limita la cantidad de fibra incorporada hasta alrededor del 10%, provocando la necesidad de consumirlos en cantidades relativamente grandes para lograr una función fisiológica particular. Larrauri y sus colaboradores (1995) elaboraron tabletas con fibra dietética en polvo obtenida a partir de cáscaras de piña. Idealmente las tabletas contienen un alto contenido de fibra dietética y pueden ser masticadas o tragadas varias veces al día, lo que permite una dosificación rápida, cómoda y exacta de este componente en el organismo humano, además de presentar mejor conservación debido a su menor superficie de contacto con los agentes externos y un menor volumen, facilitando su envasado y transportación.

Aparte de los usos clásicos de la FD en productos de panificación, surgen nuevas aplicaciones de la fibra en alimentos como el pescado o en productos reestructurados como el surimi. El hecho de adicionar fibra a tales productos, que en principio no la contienen puede verse inapropiado cuando uno sigue con una dieta balanceada (fruta, vegetales, legumbres, carne y pescado). Pero la verdad es que un gran número de niños consumen productos que contienen esencialmente proteínas y grasas, consumiendo muy esporádicamente alimentos que contengan fibra. Borderías y sus colaboradores (2005) usaron quitosana (su precursor es la quitina) en productos reestructurados y obtuvieron un producto alimenticio con mejor funcionalidad y un mayor beneficio nutricional.

La fibra en cantidades grandes puede cambiar la consistencia, la textura, el comportamiento reológico y las características sensoriales de los productos finales; en ciertos casos el uso de FD es limitado. La emergencia de novedosas fuentes de fibra y la mejora en su funcionalidad (todos los parámetros que hacen de un alimento aceptable para procesarlo y consumirlo) han ido ofreciendo nuevas oportunidades de su uso en la industria de alimentos. Aparte del propósito nutricional, la fibra puede ser usada para propósitos tecnológicos y económicos. Como agente tecnológico sus usos pueden abarcar desde agentes que proporcionen volumen o sustitutos para grasas (*Guillon et al.*, 2000).

### 1.2.6 Funcionalidad de la fibra.

No toda la fibra puede ser incorporada de la misma manera (cantidades y formas) y en el mismo tipo de alimentos (bebidas, productos secos, aderezos, carnes, pastelitos y productos de panificación). Sus propiedades funcionales son factores determinantes de su uso. También dependen de la manera en la que el alimento es procesado, de la interacción de los elementos estructurales y el arreglo espacial entre ellos.

Las propiedades fisicoquímicas de la FD juegan un papel importante en su funcionalidad: dimensiones, porosidad del área de superficie, capacidad de hidratación, comportamiento reológico, capacidad de unir grasa. El color y el sabor son también de suma importancia. Por ejemplo, las gomas han sido usadas por años como espesantes o para impartir viscosidad a la fase acuosa en sistemas alimenticios, ellas proveen textura y cuerpo, también hacen más difícil dispersar o separar materiales, estabilizan suspensiones (sólidos dispersos en agua), emulsiones (aceite disperso en agua o agua dispersa en aceite) y espumas (gas disperso en líquido o sólido). También imparten estabilidad en productos congelados y control en la sinéresis. Generalmente son usadas en pequeñas cantidades.

La FD (sea soluble o insoluble) se usa como agente texturizante o para impartir volumen, esos efectos se deben a su propiedades de hidratación. Las propiedades de la FD logran repercutir en efectos desagradables tales como el cambio en la textura y el sabor. Las fibras insolubles pueden resultar en una textura granular y en la degradación de las propiedades funcionales de un alimento. El tamaño de las partículas también influye para obtener esos efectos y debe ser adaptada a la aplicación (*Guillon et al.*, 2000).

### 1.2.7 Efecto del procesamiento sobre la funcionalidad de la fibra.

Las propiedades fisiológicas de la fibra pueden ser manipuladas a través de tratamientos: químicos, enzimáticos, mecánicos (molienda), térmicos (extrusión) para mejorar su funcionalidad. La fuente de fibra, su historia y las condiciones de operación influyen en el tratamiento. En los tratamientos enzimáticos y químicos, si las sustancias químicas o las enzimas escogidas son las apropiadas, resultan en un incremento en la cantidad de fibra soluble con posible depolimerización de la fibra soluble a costa de la fibra insoluble. La fibra soluble depende de su peso molecular y su concentración puede contribuir al aumento de la viscosidad. La matriz de la fibra insoluble puede exhibir mejor hinchamiento probablemente debido a un incremento en su porosidad y baja o alta retención

de agua dependiendo de la distribución del tamaño del poro. La energía mecánica puede tener un efecto profundo sobre los polisacáridos. La fuerza cortante puede depolimerizar a los polisacáridos solubles tales como  $\beta$ -glucanos. La molienda puede afectar las propiedades de hidratación, como resultado del incremento del área de superficie, las fibras se hidratan más rápidamente. El calentamiento generalmente provoca cambios en el intervalo de solubilidad. En particular grandes cantidades de pectinas, arabinosilanos y  $\beta$ -glucanos se encuentran en la fracción soluble porque son parcialmente degradadas por los tratamientos (Guillon *et al.*, 2000).

### 1.2.8 Determinación de Fibra Dietética

La evolución en la metodología de la FD ha sido lenta, principalmente por la creencia en los valores no nutritivos de la Fibra. El desarrollo de la metodología no ha sido fácil debido a que la FD no es una entidad simple, es un complejo mixto de diferentes componentes. Los antiguos métodos, los cuales subestimaban el contenido de la FD han sido expuestos y los métodos oficiales han sido desarrollados dando un buen estimado de ésta.

Los primeros métodos para la estimación del contenido de la FD fueron desarrollados para el análisis de alimento para ganado y no para humanos. En la primera mitad de 1800, Einhof obtuvo un estimado por la extracción de alimento molido con agua caliente. Unos pocos años más tarde, se desarrolló un método de Fibra Cruda basado en la extracción secuencial de alimento por ácido y álcali. El método de la Fibra Cruda fue adaptado por la AOAC en el segundo periodo de 1800. Este método fue continuamente usado para el análisis de fibra en alimento para humanos y animales hasta 1960 sólo por la falta de un método alternativo que diera resultados rápidos y reproducibles. Con el tiempo el método de la fibra cruda mostró que daba un conteo incompleto de la FD debido a la gran cantidad de hemicelulosa, lignina y algo de celulosa que era extraída con soluciones ácidas y alcalinas.

En la mitad de la década de los 70', la definición de FD evolucionó para reemplazar el término de Fibra cruda debido a la relación entre la FD y el desarrollo de ciertas enfermedades donde la medición de la fibra y sus componentes se volvió más crítica.

A pesar del gran progreso que se ha hecho para desarrollar métodos analíticos para la determinación de fibra dietética en alimentos, no ha sido desarrollado un método ideal, rápido, confiable y barato para el análisis de rutina. Actualmente los métodos más usados son el método enzimático gravimétrico de la Association of Official Analytical Chemist (AOAC) y el enzimático-químico de Englyst; el primero es el método recomendado en al menos diez países, incluido Estados Unidos. El segundo es el método oficial en el Reino Unido (*Prosky et al.*, 1985).

El método oficial 985.29 de la AOAC (AOAC, 2000) está basado en la remoción enzimática de almidón y proteína, seguida de una precipitación de la FDS con etanol, que se seca y se pesa. Los valores obtenidos por el método enzimático se corrigen por el contenido de proteína y cenizas. Han sido propuestas nuevas modificaciones al método de la AOAC porque a pesar de ser el método oficial, se han reportado una serie de problemas asociados a la sobreestimación de FD en frutas, vegetales y algunos cereales ya que la cuantificación de la FDS no es precisa, debido a la precipitación incompleta de la fracción soluble y a la co-precipitación de componentes no fibrosos. Además los constituyentes de la FDI forman una matriz, la cual puede retener otras sustancias como las sales de los reactivos. Algunos de estos compuestos pueden ser constituyentes de la fracción soluble, los cuales pueden ser cuantificados como FDI y no como FDS. Este método no puede determinar las diferentes fracciones que componen la FD como son las fracciones soluble e insoluble, la Lignina de Klason (LK), tampoco puede identificar los polisacáridos que componen las fracciones soluble e insoluble.

Para obtener valores precisos del contenido de FD, el método enzimático-gravimétrico de la AOAC se lleva a cabo omitiendo la precipitación etanólica para evitar la pérdida de la FDS, como lo reporta Mañas (1994). Este método cuantifica la FD químicamente lo que hace más exacta la determinación y permite obtener información acerca de la composición de la fibra.

Los valores gravimétricos de FD en frutas generalmente son mayores que los valores obtenidos por el método de Mañas. Las mayores diferencias entre los resultados gravimétricos y los químicos se encuentran en las muestras de cítricos.

### 1.3 COMPUESTOS BIOACTIVOS ASOCIADOS A LA FIBRA DIETÉTICA

Los compuestos bioactivos son constituyentes extranutricionales que están presentes en pequeñas cantidades en los alimentos y están siendo estudiados intensamente para evaluar sus efectos en la salud, dando como resultado una mejoría en la condición de pacientes con enfermedades cardiovasculares y con cáncer sometidos a la ingesta de una dieta a base de plantas. Estos compuestos varían ampliamente en estructuras y funciones (*Kris-Etherton, et al., 2002*).

#### 1.3.1 Compuestos Fenólicos.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios (compuestos no esenciales para la supervivencia de la planta o de ciertas partes de ella) que se derivan de rutas metabólicas en plantas (pentosa fosfato y fenilpropanoide) (*Balasundram et al., 2005*), están presentes en todas las plantas y así en nuestra dieta. Existen más de 8000 estructuras que han sido identificadas y que varían de ser simples moléculas (p.e. ácido fenólico con un anillo aromático) a ser compuestos altamente polimerizados (p.e. taninos). A pesar de esta diversidad estructural, el grupo de compuestos son a menudo llamados como polifenoles. Más de 10 clases de polifenoles han sido definidos sobre la estructura química básica. Están divididos dentro de los siguientes grupos principales:

- \* Ácidos fenólicos que son derivados hidroxilados del ácido benzoico ( $C_6 - C_1$ ) y son bastante comunes tanto en estado libre como combinados como ésteres o glicósidos (ácido gálico).
- \* Ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico ( $C_6 - C_3$ ) (ácido cumárico, ferúlico y cafeíco), están ampliamente distribuidas y raramente presentes en estado libre y a menudo se encuentran esterificadas.
- \* Ésteres glicosídicos fenilpropanoides.

Los flavonoides son un grupo de derivados benzo- $\gamma$ -pirano, se encuentran predominantemente en células vegetales, están presentes como agliconas, glicósidos y derivados metilados. Dependiendo del grado de oxidación del anillo pirano central, pueden estar subdivididos en varias clases de flavonoides y compuestos relacionados con

flavonoides: flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos, flavanoles y antocianinas. El anillo pirano puede ser abierto (charcones) y reciclados dentro de un anillo furano (auronas) (*Skerget et al.*, 2005).

Los fenoles principales en cereales y leguminosas son los flavonoides, los ácidos fenólicos y los taninos, también la fracción soluble de los cereales poseen  $\beta$ -glucano que está fuertemente asociada con la reducción del riesgo de padecer de enfermedades coronarias, ya que ayuda disminuir los niveles de colesterol (*Kris-Etherton et al.*, 2002). Aparte de las flavonas y los flavonoles, las antocianinas son los más abundantes y ampliamente distribuidos, en el amaranto se encuentran presentes en una gran proporción (*Czerwiński et al.*, 2004) y a las cuales se les atribuyen algunos beneficios terapéuticos como propiedades antiinflamatorias, anticancerígenos, vaso-protectores y químico-protectores (*Awika et al.*, 2004).

Los compuestos fenólicos son especies altamente reactivas lo cual complica su extracción y su recuperación ha llegado a ser un poco problemática. La extracción es complicada por la distribución desigual de los fenoles. A nivel subcelular, los fenoles se encuentran principalmente en las vacuolas, en pequeñas cantidades. La presencia de compuestos fenólicos en forma soluble, suspendida o coloidal y en combinación con componentes de la pared celular, puede tener un impacto significativo en su extracción (*Robards et al.*, 1999).

### **1.3.2 Clasificación de interés nutricional: polifenoles solubles e insolubles.**

La localización de los compuestos polifenólicos en la planta (libres en la fracción soluble de la célula o unidos a componentes de la pared celular), junto con su estructura química, permite diferenciar entre polifenoles solubles e insolubles. Esta clasificación es útil, desde un punto de vista nutricional, ya que el destino metabólico en el tracto gastrointestinal y los efectos fisiológicos de cada grupo van a depender en gran medida de sus características de solubilidad.

Los polifenoles solubles son aquellos compuestos de bajo e intermedio peso molecular, extraíbles por diferentes solventes. Este grupo incluye a los compuestos polifenólicos de bajo y medio peso molecular no unidos a componentes de membrana, tales como fenoles sencillos, flavonoides y taninos que cumplan esas condiciones.

Los polifenoles insolubles o taninos condensados son aquellos polifenoles de alto peso molecular, superior a los 5000 daltones, o compuestos unidos a fibra y proteína que no se solubilizan en los solventes utilizados habitualmente y que requieren de una hidrólisis ácida para ser extraídos. Este grupo está constituido, básicamente por los taninos condensados, que tienen un elevado peso molecular y por ácidos fenólicos y otros polifenoles de bajo peso molecular unidos a polisacáridos de la pared celular y a proteínas formando complejos estables insolubles.

Las características de solubilidad de los compuestos fenólicos son un factor importante en la biodisponibilidad, y en consecuencia, en los efectos fisiológicos de los mismos. Los polifenoles insolubles (taninos condensados o proantocianidinas) no se digieren y se pueden recuperar parcial o totalmente de forma cuantitativa en heces. Mientras que una parte de los polifenoles solubles, tales como flavonoides, isoflavonoides, etc., pueden llegar a atravesar la barrera intestinal y se pueden encontrar en sangre como tales o como metabolitos, siendo responsables de sus efectos fisiológicos (*Sánchez-Moreno, 2002*).

### **1.3.3 Compuestos fenólicos como antioxidantes.**

La peroxidación lipídica juega un papel importante en el deterioro de alimentos durante su almacenamiento. Los lípidos y las sustancias que pueden ser susceptibles a la oxidación están presentes en casi todos ellos. El problema del daño oxidativo es un aspecto importante para la preservación de alimentos, especialmente cuando propicia el desarrollo de sabores y olores desagradables. Es vital para la industria alimentaria resolver este problema.

Los radicales libres atacan los ácidos grasos insaturados en la biomembrana, resultando en la oxidación lipídica de la membrana, en un decremento de la fluidez, y en daño a las proteínas membranales lo que lleva a la inactivación celular. El daño celular debido a la oxidación lipídica está fuertemente asociada con el envejecimiento, carcinogénesis y otras enfermedades. Está reportado que el malonaldehído (MDA) toma parte en las reacciones con DNA y proteínas causando mutaciones que conducen al cáncer y puede ser un catalizador en la formación de N-nitrosaminas en alimentos que contienen aminas secundarias y nitritos (*Duh et al., 1999*).

Para evitar el daño de radicales libres y especies reactivas de oxígeno es necesaria la adición de antioxidantes. Antioxidantes sintéticos tales como el hidroxianisol butilado (BHA) y el hidroxitolueno butilado (BHT) son adicionados comúnmente a los alimentos, sin embargo han mostrado efectos tóxicos y mutagénicos lo cual ha llevado a preferir el consumo de productos naturales sobre los compuestos sintéticos y a la eliminación de antioxidantes sintéticos en la aplicación de alimentos por parte de las industrias, motivando la búsqueda de alimentos que exhiban actividad antioxidante.

Varios estudios muestran que el amaranto es un pseudocereal que posee propiedades nutraceuticas relacionadas con antioxidantes y que pueden ayudar al cuerpo humano a reducir daños oxidativos. Así los antioxidantes se han convertido en el interés tanto de investigadores como de los profesionales de la salud, los flavonoides son el grupo de compuestos polifenólicos con más potente actividad antioxidante, Robards y sus colaboradores (1999) reportan que los radicales fenoxi de los flavonoides exhiben potenciales de reducción en el intervalo de 540-700mV, por lo que se espera que inactiven eficientemente varias especies reactivas de oxígeno con potenciales mayores (2000-950mV).

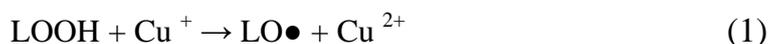
#### **1.3.4 Defensa antioxidante en alimentos y en sistemas biológicos.**

El papel de los antioxidantes es importante en la prevención de la oxidación de los alimentos y de sistemas biológicos. Existe un gran número de mecanismos diferentes por los cuales los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes: vía secuestrador de radicales libres, interrumpiendo la fase de propagación de la oxidación lipídica; donador de hidrógenos; secuestrador del oxígeno singulete, lo que impide la iniciación de la reacción por los radicales libres; quelantes de iones metálicos o como sustratos para el ataque de superóxidos (*Sánchez-Moreno, 2002*).

La oxidación de los ácidos grasos poli-insaturados es muy compleja en sistemas biológicos, las principales rutas son mostradas en el esquema 1 [ecuaciones (1)-(8)]. Los ácidos grasos poli-insaturados (LH) forman radicales alquilo (L●) en la presencia de un iniciador, generalmente compuesto de metales e hidroperóxidos [ecuaciones (1) y (2)]. Los radicales alquilo reaccionan rápidamente con oxígeno para producir radicales peroxilo (LOO●), y propagarse en una reacción en cadena [ecuaciones (3) y (4)]. Los hidroperóxidos

se descomponen en presencia de metales para producir radicales alcohoxi (LO●) los cuales se parten en una compleja mezcla de aldehídos [ecuación (5)]. Los aldehídos son los principales responsables del daño causado a los tejidos biológicos y en lipoproteínas de baja densidad (LDL), esos aldehídos reaccionan con las proteínas (B) de las LDL.

*Iniciación:*



*Propagación:*



*Descomposición de hidroperóxidos:*



*Peroxidación inhibida:*



## ESQUEMA 1

En la presencia de antioxidantes (AH), la peroxidación lipídica es retardada o inhibida por la demora en el estado de propagación del ciclo de autooxidación [ecuaciones (3) y (4), esquema 1]. Varias clases de antioxidantes pueden interrumpir la formación de radicales libres reaccionando con (1) radicales peroxilo [ecuación (7)] para inhibir la formación de hidroperóxidos y (2) de radicales alcohoxi [(ecuación (8)] para inhibir la formación de aldehídos (*Frankel*, 1999).

Para que un antioxidante sea considerado como eficiente, el radical fenoxi formado en las reacciones anteriores no debe iniciar la formación de radicales posteriores y debe ser una especie relativamente estable ya sea por deslocalización y por la ausencia de sitios apropiados para el ataque de una molécula de oxígeno (*Robards et al.*, 1999).

### 1.3.5 Relación estructura-actividad antioxidante de fenoles.

La actividad química de los polifenoles en términos de sus propiedades reductoras como agentes donantes de electrones o hidrógenos predice su potencial para actuar como secuestrador de radicales libres (antioxidantes). La actividad de un antioxidante está determinada por:

- \* Su reactividad como un agente donador de electrones o hidrógenos (lo cual se relaciona con su potencial reductor)
- \* El destino del derivado de la reacción del radical con el antioxidante el cual está dirigido por su habilidad para estabilizar y deslocalizar al electrón impar.
- \* Su reactividad con otros antioxidantes.
- \* La transición metal-quelante.

Los polifenoles poseen una estructura química ideal para ser secuestradores de radicales libres, y han demostrado ser antioxidantes más efectivos (*in vitro*) que las vitaminas E y C. Esto se ejemplifica por estudios en donde se usó radiólisis para la investigación de las interacciones en el radical hidroxilo (\*OH), el radical azida (N<sub>3</sub>), el anión superóxido (O<sub>2</sub>\*<sup>-</sup>), y el radical peroxil lipídico (LOO\*) con polifenoles, el intervalo de constantes de reacción y la estabilidad del radical antioxidante.

Los arreglos estructurales determinados por estos estudios imparten la máxima actividad antioxidante en varios compuestos:

- \* El orto 3'4'-dihidroxi en el anillo B (p.e. en la catequina, luteolina y quercetina).
- \* En los arreglos del meta 5,7-dihidroxi en el anillo A (p.e. en el kaemferol, asparginina).
- \* El doble enlace 2,3 en combinación con el grupo 4-ceto y el grupo 3-hidroxilo en el anillo C, por deslocalización electrónica (p.e. en la quercetina), mientras la estructura orto dihidroxi en el anillo B de la molécula también está presente. Sin embargo, las alteraciones en los arreglos de los grupos hidroxilo y la sustitución de la contribución de los grupos hidroxilo por la glicosilación decrece la actividad antioxidante.

La eficiencia de los compuestos fenólicos como antioxidantes depende, en gran parte, de su estructura química. El fenol por si mismo es inactivo como antioxidante, sin embargo, los compuestos *orto-* y *para-*difenólicos poseen actividad antioxidante, la cual

incrementa con la sustitución de sus átomos de hidrógeno por grupos *etil* o *n-butil*. La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos y sus ésteres depende del número de grupos hidroxilo en la molécula. La propiedad de captar electrones del grupo carboxilato en los ácidos benzoicos tiene una influencia negativa en la capacidad de donación de H de los hidroxibenzoatos. De forma general, los ácidos cinámicos hidroxilados son más efectivos que sus ácidos benzoicos homólogos.

La mitad del potencial de reducción ha sido descrito como un parámetro apropiado para la representación de la actividad secuestradora de los flavonoides. Esto fue razonado con base en que la oxidación electroquímica y la donación de hidrógenos libres de radicales, implica el rompimiento del mismo enlace fenólico entre el oxígeno y el hidrógeno, produciendo el radical fenoxi y el H\*, el cual consiste de un electrón y un ión H<sup>+</sup>. Así un flavonoide con un valor bajo para la mitad del potencial de reducción (p. e. menor a 0.2 mV es un buen secuestrador). Es interesante notar que los polifenoles con la mayor actividad secuestrante incluyen aquellos con la estructura orto dihidroxi en el anillo B. Esto ha sido reportado para flavonoides con valores de la mitad del potencial de reducción menores a 0.06mV que sufren los ciclos redox bajo condiciones fisiológicas y así estar disponibles para reducir la transición de metales (*Rice-Evans et al.*, 1997).

### 1.3.6 Determinación de la Actividad Antioxidante

Con el actual interés en la eficacia y función de antioxidantes naturales en alimentos y en sistemas biológicos, los métodos para medir la actividad antioxidante han recibido mucha atención. Varios métodos rápidos han sido publicados y muchos protocolos *in vitro* son usados actualmente para evaluar antioxidantes de interés en alimentos y en la nutrición. Sin embargo, la actividad de los antioxidantes en alimentos y en sistemas biológicos es dependiente de una multitud de factores, incluyendo las propiedades coloidales de los sustratos, las condiciones, y el estado de oxidación y la localización de antioxidantes en diferentes fases. Cuando se prueba la actividad antioxidante *in vitro*, es muy importante considerar la composición del sistema, el tipo de sustrato oxidable, el modo de acelerar la oxidación, los métodos para medir la oxidación y como vamos a cuantificar la actividad antioxidante.

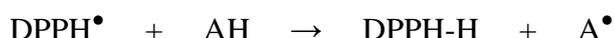
La efectividad del antioxidante es también determinada por el sistema, dependiendo si es acuoso, lipídico o heterofásico, del tipo de sustrato lipídico (triacilgliceroles, metil

esteres, ácidos grasos libres) incluyendo su estado fisicoquímico, el grado de insaturación y el tipo de iniciadores. Por esta razón la actividad antioxidante no puede ser determinada por un solo método. Cada evaluación debe ser llevada bajo varias condiciones de oxidación, usando diferentes métodos para medir los diferentes productos de oxidación. Porque la mayoría de los antioxidantes naturales son multifuncionales, un protocolo confiable requiere la medición de más de una propiedad relevante para alimentos o sistemas biológicos (Frankel *et al.*, 2000).

### 1.3.6.1. Métodos para determinar la capacidad antioxidante

Se han desarrollado diversos protocolos para medir la capacidad secuestrante de los antioxidantes usando una amplia variedad de sistemas generadores de radicales y métodos para observar el punto final de la oxidación. En algunos los reactivos se mezclan y el punto final de la oxidación se mide después de un tiempo determinado, mientras que en otros la reacción es monitoreada. Sin embargo, esto ha llegado a incrementar la dificultad para comparar e interpretar la actividad antioxidante de diferentes compuestos, en especial si se determina la actividad antioxidante de extractos, aunque debe decirse que la actividad también depende del modo de extracción (Madhavi, 1996). Las características de varios métodos comúnmente usados se describen enseguida.

*Método del radical DPPH:* El radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) fue uno de los primeros radicales sintéticos en usarse para estudiar los efectos estructurales sobre la actividad de los antioxidantes fenólicos. Funciona como oxidante el cual debe ser reducido por el antioxidante (AH), llevándose a cabo la siguiente reacción:



La desaparición del radical DPPH por la acción de los antioxidantes es medida espectrofotométricamente a una longitud de onda de 515 nm, en una solución metanólica, hasta que la absorbancia permanece constante, el tiempo de prueba puede variar de 10 a 20 min o hasta 6 h. El método es empleado para medir la “eficiencia antirradical” de polifenoles como el ácido cafeico y en diferentes vinos y jugos de uva. Las pendientes de la absorbancia en función del tiempo requerido para alcanzar su estabilidad, varían significativamente con los diferentes tipos de antioxidantes y con sus concentraciones. Este método es limitado porque el radical sólo puede ser disuelto en medio orgánico y porque los

radicales DPPH interactúan con otros radicales (alquilo), además el tiempo de respuesta de la curva para alcanzar la estabilidad no es lineal en diferentes proporciones de antioxidante y DPPH, sin embargo presenta algunas ventajas, por ejemplo; es un radical libre que no requiere de ser preparado con reacciones químicas o enzimáticas, además es un radical cromógeno muy estable y presenta un pico de absorbancia máxima a 515 nm en medio metanólico (*Frankel et al.*, 2000).

*Método del radical ABTS:* Es un método de decoloración para medir la actividad antioxidante usando el sistema enzimático ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Peroxidasa y midiendo la pérdida de la absorbancia. El radical ABTS<sup>•+</sup> es pre-generado por medio de reacciones químicas (dióxido de manganeso, persulfato de potasio) o enzimáticas (peroxidasa, mioglobina) y el antioxidante o muestra a analizar es adicionado al medio de reacción. El resultado es la desaparición del radical ABTS<sup>•+</sup>, la cual es medida por el decremento en la absorbancia (para evitar interferencias se selecciona una longitud de onda entre 400 a 750 nm). Este método presenta numerosas ventajas: es fácil y rápido y no se requiere altas temperaturas para generar los radicales y la actividad antioxidante puede ser estudiada sobre un amplio intervalo de valores de pH (*Arnao, et al.*, 2001).

*Inhibición de la oxidación lipídica:* La peroxidación lipídica implica la generación de radicales libres, de manera que para medir la actividad antioxidante es necesario propiciar la producción de radicales libres y determinar el grado de inhibición de la oxidación por la adición de antioxidantes. La literatura describe métodos para determinar el comportamiento de los antioxidantes enfocados sobre la actividad en alimentos o la bioactividad en humanos. En el caso de los sistemas alimenticios, la necesidad es determinar la eficacia de un antioxidante para proteger a los alimentos del daño oxidativo. La efectividad de los antioxidantes se mide monitoreando la inhibición de la oxidación de un sustrato, después de que es oxidado bajo condiciones estándar, los productos de la oxidación son medidos por métodos químicos o instrumentales. Los hidroperóxidos, son determinados por iodometría o por colorimetría con tiocianato férrico y el resultado se expresa como el índice de peróxidos (IP), los carbonilos totales se miden después de la reacción con 2,4-dinitrofenilhidrazina, mientras que el malonaldehído, es determinado espectrofotométricamente a 532 nm debido a la reacción con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) (*Robards et al.*, 1999).

*β-caroteno*: los carotenoides son conocidos por secuestrar y desactivar radicales libres *in vivo* e *in vitro*. Especialmente el *β*-caroteno es conocido por proteger membranas lipídicas aisladas, lípidos provenientes del hígado, lipoproteínas de baja densidad contenidas en lípidos, aunque teóricamente todos los carotenoides con un doble enlace conjugado deben actuar similarmente. A diferencia de los antioxidantes que actúan previniendo la formación del radical libre y consecuentemente la iniciación de la oxidación lipídica, la molécula de *β*-caroteno interviene en la reacción de oxidación secuestrando al radical libre e impidiendo la formación de radicales en cadena, este efecto se le atribuye a los dobles enlaces conjugados que tiene la molécula y que son muy susceptibles al ataque por radicales peroxilo. Taga (*Robards et al.*, 1999) describe un procedimiento para determinar la actividad antioxidante en el cual se prepara una emulsión acuosa de los polifenoles extraídos, el caroteno y el ácido linoleico. La destrucción oxidativa del caroteno por los productos de degradación del ácido linoleico en el sistema es medida espectrofotométricamente a 470 nm.

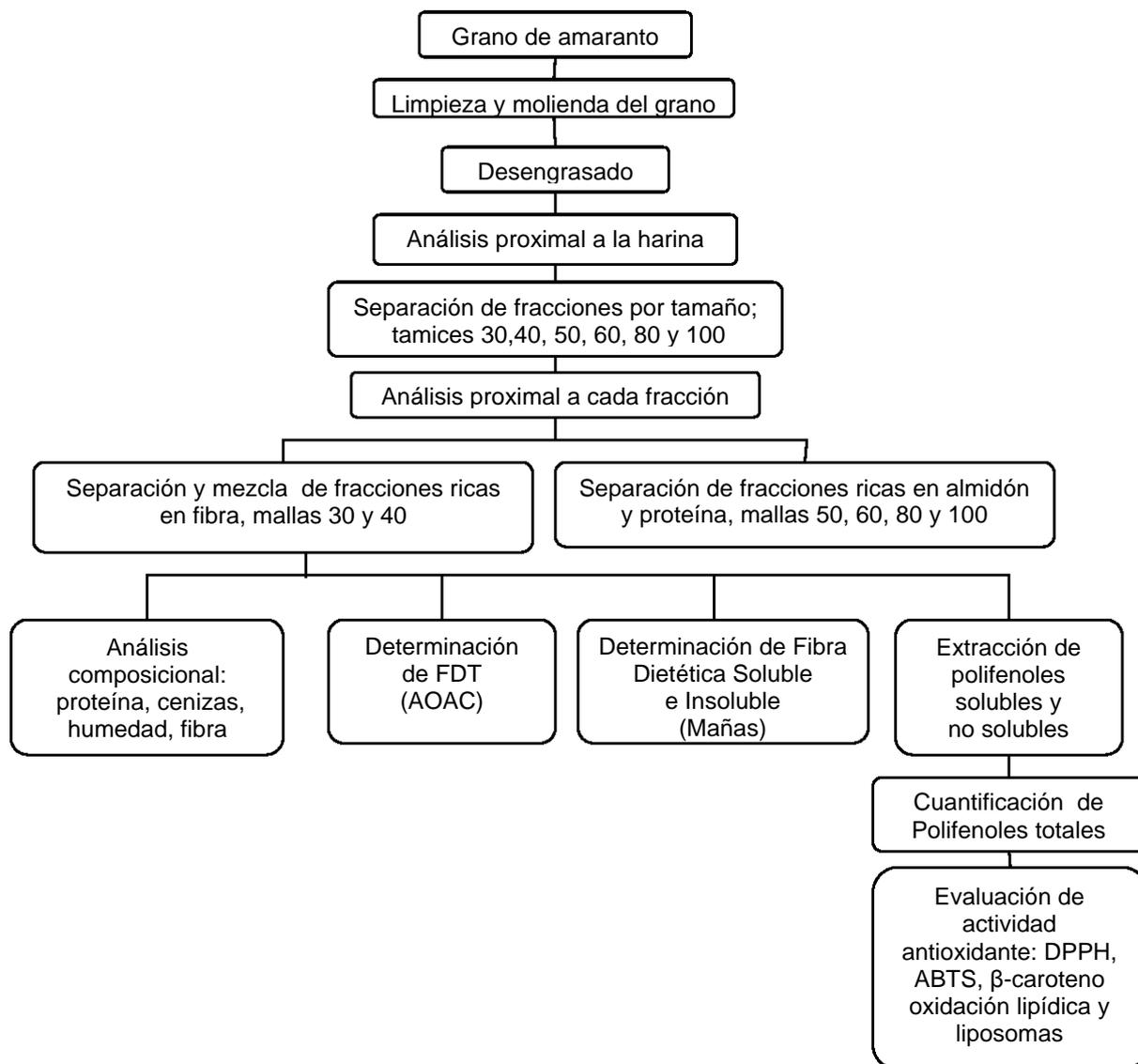
*Liposomas*: El método de Liposomas es usado a menudo como modelo para estudiar la actividad antioxidante *in vitro* porque los liposomas pueden estar relacionados con la estructura laminar de las membranas encontradas *in vivo*. Para investigar el comportamiento del antioxidante en sistemas biológicos se emplea lecitina de soya preparada como liposoma. El efecto inhibitorio del extracto se determina espectrofotométricamente a 532 nm, cuantificando la formación de productos secundarios de la oxidación del liposoma.

# *Capítulo 2*

# *Materiales y Métodos*

El siguiente diagrama muestra los pasos que se siguieron para el estudio de una fracción rica en pericarpio de amaranto.

### DIAGRAMA GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN



A continuación se describe el procedimiento para la obtención de una fracción rica en pericarpio proveniente del amaranto y los análisis para la caracterización de la fibra y su actividad antioxidante.

## 2.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se empleó grano de amaranto (*Amaranthus hypocondriaccus*) comprado en el pueblo de Tulyehualco, delegación Xochimilco. El grano se limpió a mano y se molió (Flour Grinding Mill, Type SC, Marca Chuo Boeki Goshi Kaisha) la harina obtenida se desengrasó para concentrar los componentes en la muestra y evitar que sufriera daño oxidativo (método de Soxhlet 963.15, AOAC, Electromantle, Modelo ME), y se realizó un análisis proximal para conocer la proporción de los componentes, después la harina se separó granulométricamente usando un juego de tamices, números de malla: 30, 40, 50, 60, 80 y 100 y de nuevo se les determinó el análisis proximal para saber como se repartieron los componentes y en cual malla se encontraba la mayor proporción de fibra.

## 2.2 ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS

### 2.2.1 Análisis proximal

A la harina completa y a las fracciones obtenidas en los diferentes tamices (números 30-100), se les determinaron: contenido de proteína (método 991.20, AOAC), cenizas (método 925.12, AOAC), humedad (método 927.05, AOAC) y fibra cruda (NMX-F-090-S-1978), para conocer la proporción en todas las fracciones y así determinar la o las fracciones que nos interesaban para este estudio y cuáles se destinarían a estudios paralelos.

### 2.2.2 Contenido de Fibra Dietética

#### 2.2.2.1 Determinación de Fibra Dietética Total

Se siguió el método oficial 985.29 de la AOAC para fibra dietética total en alimentos (Método enzimático-gravimétrico, AOAC 1995), (Kit enzimático para fibra dietética SIGMA).

#### 2.2.2.2 Determinación de Fibra Dietética Soluble y Fibra Dietética Insoluble (Método de Mañas)

Las fracciones de fibra dietética fueron obtenidas usando el método modificado de la AOAC reportado por Mañas (1994). Omitiendo la precipitación etanólica para evitar la pérdida de la fracción soluble. La muestra desengrasada se somete al mismo tratamiento enzimático, con las mismas condiciones. La FDI se obtuvo mediante la centrifugación de la muestra (Centrifuga Damon/IEC Division, Modelo 856), colectando los sobrenadantes y los

lavados con una pipeta Pasteur. La FDS fue obtenida después de una Diálisis, el sobrenadante junto con el agua de los lavados obtenidos en la centrifugación de la FDI se dializaron por 48h con recambios continuos de agua (cada 2h), para eliminar compuestos solubles de bajo peso molecular y se utilizaron bolsas para diálisis Sigma (12,000-15,000PM). Después de que el sobrenadante fue dializado, se le determinaron ácidos urónicos (Bitter *et al.*, 1962) y azúcares neutros (Método de fenol-sulfúrico) la suma de los valores de azúcares neutros y ácidos urónicos se expresaron como FDS.

Para determinar la FDI los residuos obtenidos después de la centrifugación fueron hidrolizados con ácido sulfúrico 12M (1h, 35°C) seguida de otra hidrólisis con ácido sulfúrico 1M (2h, 100°C). En los hidrolizados se cuantificaron ácidos urónicos y azúcares neutros siguiendo el mismo procedimiento como en el análisis de la FDS. El material residual de la hidrólisis se secó (105°C, toda la noche; Estufa de vacío, Marca National Appliance Co., Modelo 5831) posteriormente se pesó y cuantificó como lignina de Klason. La suma de ácidos urónicos, azúcares neutros y lignina de Klason se expresaron como FDI.

## 2.3 DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES

### 2.3.1 Extracción de polifenoles

Con base en estudios previos sobre las propiedades fisiológicas y nutricionales de los polifenoles asociados a la FD, se han clasificado, de acuerdo con su solubilidad, en dos categorías: polifenoles solubles (PS) y polifenoles no solubles (PNS). Las propiedades de los PS están relacionadas a la FDS, mientras que las propiedades de los PNS se relacionan a la FDI (Jiménez *et al.*, 2001). Los PS fueron extraídos de la muestra usando disolventes orgánicos. El procedimiento para la extracción se describe enseguida: 500mg de muestra se extrajeron secuencialmente con 40mL de metanol/agua (50:50 v/v) y 40mL de acetona/agua (70:30 v/v) a temperatura ambiente por una hora, después se centrifugaron a 2500xg/15min. Los sobrenadantes fueron combinados, se concentraron en un rotavapor (BÜCHI modelo R-205 V800) a 50°C y se redisolviaron en 10mL de etanol (Larrauri *et al.*, 1996). La fracción que no se solubilizó en el etanol se filtró y redisolvió en 10mL de agua destilada.

Para obtener los PNS se pesaron 500mg de muestra y se extrajeron con 50mL de 1.2mol/L de ácido clorhídrico en metanol mezclado con agua (50:50 v/v) a 90° C por 3h agitándola cada 30 minutos, transcurrido este tiempo se enfrió y se centrifugó a 5000xg por

5min (Centrífuga Damon/IEC División, Modelo 856) después el sobrenadante se concentró en un rotavapor (BÜCHI modelo R-205 V800) a 40°C y se disolvió en 10mL de metanol absoluto (Czerwinski *et al*, 2004). El contenido total de polifenoles fue determinado en todos los extractos.

### 2.3.2 Determinación de polifenoles totales

Los fenoles totales fueron determinados con el método descrito por Matthäus (2002) usando el reactivo de Folin-Ciocalteu y ácido tánico como estándar, sin hacer diluciones del extracto en ácido clorhídrico. La absorbancia se midió a una longitud de onda 750 nm usando un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Modelo C618-0432) Los resultados se expresan como mg de ácido tánico por gramo de muestra.

## 2.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes interrumpen la oxidación de lípidos ya sea en la fase de propagación (rompiendo las reacciones en cadena) o protegiendo la oxidación de los sustratos contra los primeros radicales formados en la fase de iniciación. Para determinar si un compuesto es un buen antioxidante, la actividad no debe determinarse con un solo método, es importante incluir varias pruebas tanto en la fase de iniciación y de propagación. (Hu *et al.*, 2002). Para comprender mejor las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos del amaranto, los extractos se sometieron a una serie de métodos comparándose con la actividad antioxidante del Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico), ácido carboxílico derivado del  $\alpha$ -tocoferol (Aldrich, 23,881-3)

La concentración de polifenoles totales en los extractos se ajustó a 200 ppm en todos los ensayos al igual que el Trolox.

### 2.4.1 Capacidad secuestrante sobre el radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)

Secuestrar radicales no lipídicos es muy importante para protección contra el daño oxidativo. La actividad secuestrante sobre los radicales libres fue determinada usando (1,1-Difenil-2-picrilhidrazil) DPPH un radical estable. Se adicionan 2mL de una solución metanólica de DPPH  $3.6 \times 10^{-5} M$  a 50 $\mu$ L del extracto (200ppm). El decremento en la absorbancia a 515 nm se registra continuamente durante 30min a temperatura ambiente. El

efecto secuestrante (decremento en absorbancia a 515 nm) se grafica en función del tiempo (Siddhuraju *et al.*, 2002).

El porcentaje de la capacidad secuestrante sobre el radical DPPH se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% CS_{DPPH} = \frac{\text{absorbancia } a_{t=\text{inicial}} - \text{absorbancia } a_{t=\text{final}}}{\text{absorbancia } a_{t=\text{inicial}}} \times 100$$

Donde el  $t_{\text{final}} = 30$  min

#### 2.4.2 Capacidad secuestrante sobre el radical Ácido 2,2'-azino-bis (3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS)

El método de decoloración del catión radical ABTS fue adoptado para comparar la actividad antioxidante de los extractos del amaranto. El decremento en la concentración del catión radical preformado (ABTS\*-, generado por la oxidación del ABTS con la enzima peroxidasa) por la exposición a los extractos fue medida espectrofotométricamente. En una celda se colocan 0.5mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15μM, 0.5mL de ABTS 2mM, y 0.5mL de peroxidasa (1mg/mL en buffer de fosfato de sodio 50mM pH 7.5; Donador: hidrogeno-peroxidasa oxidoreductasa; EC 1.11.1.7, 50000 units, P-8250, Sigma), se mezclan y se registra la absorbancia a 730 nm cada minuto, después de 3min, se adicionan 0.5mL del extracto del antioxidante a la mezcla de reacción y se registra el decremento en absorbancia hasta que el cambio sea mínimo. La capacidad sobre el radical ABTS se calcula con la fórmula:

$$\% CS_{ABTS} = \frac{\text{absorbancia}_{t=0} - \text{absorbancia}_{t=\text{final}}}{\text{absorbancia}_{t=0}} \times 100$$

Donde el  $t_{\text{final}} = 13$  min

#### 2.4.3 Actividad antioxidante determinada por el blanqueo del β- Caroteno

En este método la actividad antioxidante de los extractos de amaranto se evaluó induciendo la oxidación por calentamiento al sistema de una emulsión acuosa de β-caroteno y ácido linoléico. Se mezclaron 0.2mg de β-caroteno en 1mL de diclorometano, 20mg de ácido linoléico y 200mg de Tween, el diclorometano se removió a 40°C por un rotavapor y la mezcla resultante se diluyó con 50mL de agua destilada previamente aireada, mezclándose muy bien. Alícuotas de 5mL de esta emulsión se transfirieron a varios tubos de ensayo que contenían 0.2mL del extracto (200ppm) y Trolox (200ppm) en etanol (usado

como antioxidante estándar). Un control que contenía 0.2mL de etanol y 5mL de la emulsión se preparó. Los tubos fueron puestos dentro de un baño de agua a 50° C y la absorbancia a 470 nm se tomó al tiempo cero (t= 0min) las medidas de la absorbancia continuaron hasta que el color del β-Caroteno desapareció en el tubo control (t=120min) (Abdille *et al.*, 2005), como blanco se usó 0.2mL de metanol en 5mL de agua destilada La actividad antioxidante de los extractos se evaluaron en términos del blanqueamiento del β-Caroteno usando la siguiente fórmula:

$$\% AA = \frac{(absorbancia_{extracto\_tiempo\_final} - absorbancia_{control\_tiempo\_final})}{absorbancia_{control\_tiempo\_final} - absorbancia_{extracto\_tiempo\_final}} \times 100$$

Donde t<sub>final</sub>= 120 min

Los resultados se expresaron en porcentaje, basándose en la prevención del blanqueamiento del β-Caroteno.

#### 2.4.4 Inhibición de la oxidación lipídica

La actividad antioxidante de los extractos se determinó induciendo la oxidación por calor en una emulsión de aceite y usando el método del complejo de hierro/tiocianato. El aceite utilizado fue el de chía ya que posee 88% de ácidos grasos insaturados de los cuales el 60% es ácido linolénico, 20% de ácido linoleico, 7.6% de ácido oleico y sólo un 9.9% de ácidos saturados (palmítico y esteárico) y el cual no tenía antioxidantes. La emulsión fue preparada con aceite de chía (0.3g), Tween 80 (0.1g) en buffer de fosfato (50mL, 0.2M, pH 7.0). En varios tubos de ensayo se agregaron 0.5mL del extracto (200ppm), 2.5mL de la emulsión y 2mL de buffer. La mezcla de reacción fue incubada a 37°C. Alícuotas de 0.1mL fueron tomadas a diferentes intervalos durante la incubación.

El grado de oxidación fue medido de acuerdo al método del complejo hierro/tiocianato, adicionando secuencialmente diclorometano:metanol (0.7mL, 70:30), tiocianato de amonio (0.1mL, 30%), solución de la muestra (0.1mL) y cloruro ferroso (0.1mL, 0.02M en ácido clorhídrico al 3.5%). Después de que la mezcla reposó por 3min se determinó el valor de peróxido leyendo la absorbancia a 500 nm usando un espectrofotómetro (Perkin-Elmer, Modelo C618-0432). Se corrió un control sin los extractos para conocer el periodo de inducción en la oxidación del aceite. (Sidhuraju *et al.*, 2002).

### 2.4.5 Efecto antioxidante sobre la peroxidación de liposomas

Las membranas celulares contienen fosfolípidos en abundancia tales como la fosfatidilcolina (lecitina) que son los principales objetivos que están sujetos al daño causado por radicales libres. La peroxidación lipídica es una reacción deteriorativa importante en el proceso y almacenamiento de los alimentos que contienen lípidos. Los liposomas han sido usados extensamente como modelos biológicos para estudios de peroxidación lipídica *in vitro*.

Se pesaron 580g de lecitina de soya y se disolvieron en 29mL de diclorometano, una vez que se mezcló bien, el disolvente fue removido con rotavapor (BÜCHI modelo R-205 V800) a 30° C, enseguida se hidrató con 58mL de buffer de fosfatos (0.05M, pH 7.4) y se hidrató una hora con agitación constante, después de este tiempo se sonicó por 2h en un baño de hielo (el agua no debe calentarse ni sobre pasar el volumen de la mezcla) (Morrissey, 2001). Los extractos de amaranto (0.25mL) fueron mezclados con liposomas (1mL), cloruro férrico 25mM (0.05mL) y buffer de fosfatos 0.05M pH 7.4 (0.6mL). La mezcla de reacción fue incubada a 37° C por 2h. Al final de la incubación, 1mL de butilhidroxianisol (20mg/mL de metanol) fue adicionado para parar la reacción de oxidación (Sidhuraju *et al.*, 2002). El grado de oxidación de los liposomas fue determinado por medición de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico. Para la mezcla de reacción fue adicionado 1mL de ácido tiobarbitúrico al 1% y 1mL de ácido clorhídrico al 10% enseguida se calentó en un baño de agua a 100° C por 30min, después ésta fue enfriada; 5mL de diclorometano fueron adicionados y la mezcla se centrifugó a 3000xg por 20min. La absorbancia del supernadante fue medida espectrofotométricamente a 532 nm. Se corrió un blanco con 0.25mL de metanol en lugar de los extractos y 1mL de agua en lugar de liposomas, para el control se usaron 0.25mL de metanol en lugar de los extractos. El porcentaje de inhibición de la formación de productos de sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico fue calculada como:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{\text{absorbancia}_{\text{control}} - \text{absorbancia}_{\text{muestra}}}{\text{absorbancia}_{\text{control}}} * 100$$

### 2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis se realizaron por triplicado y se determinaron la media y la desviación estándar.

# *Capítulo 3*

## *Resultados y Discusión*

### 3.1 Rendimiento en la obtención de la muestra.

Durante la molienda del grano se recuperó 95.82% de harina de un peso inicial de 200g, del fraccionamiento físico de la harina se obtuvieron fracciones con rendimientos diferentes entre sí, los cuales se indican en la tabla 3.1. Mediante la separación manual del grano se pretendió separar la fracción pericarpio/germen del perispermo, confirmándose después con el análisis composicional del grano. Una de las fracciones, el pericarpio/germen se caracteriza por un alto contenido de grasa y proteína, vitaminas y minerales; la otra fracción, el perispermo se caracteriza por un alto contenido de almidón (*Saunders y Becker, 1984*).

La morfología del grano de amaranto ha sido descrita en detalle por Irving *et al.*, 1981 (figura 1). Debido a la morfología y a la estructura del grano de amaranto, donde el pericarpio (o cáscara) y el perispermo son adyacentes, éstos se encuentran firmemente unidos y es complicado separarlos, así mismo con la región donde el perispermo está unido con la pared celular gruesa y larga del endospermo, además de que la cáscara sólo comprende una delgada capa y la parte exterior de ésta contiene pigmentos que dan a la semilla su color. Estudios de molienda muestran que se puede separar la cáscara/germen del perispermo con una trituración abrasiva, las cenizas son concentradas en la fracción cáscara/germen y con una molienda abrasiva secuencial el hierro y cobre son concentrados en el germen mientras que minerales como el calcio, sodio y manganeso son concentrados en la cáscara (*Saunders y Becker, 1984*).

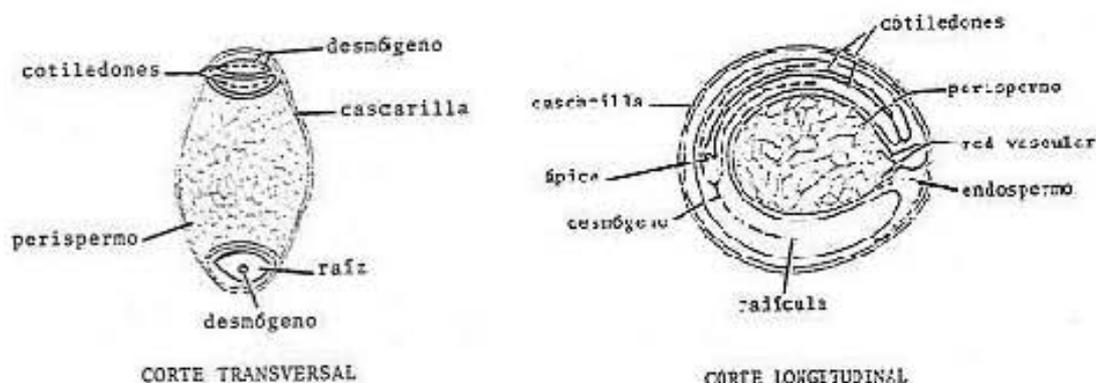


Figura 1. Estructura del grano de amaranto.

## 3.2 ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

### 3.2.1 Análisis proximal

Se realizó el análisis proximal de la harina integral de amaranto para saber en que proporción se encontraban los componentes, y a cada fracción obtenida mediante tamización para conocer como se distribuyeron éstos y se procedió a separar la porción con mayor contenido de fibra de las que resultaron con un alto contenido de proteína y almidón para aplicarlas en diferentes estudios.

La tabla 3.1 muestra la composición de la harina integral de amaranto así como el rendimiento y la composición de las fracciones obtenidas por medio de la tamización. En la tabla se incluye la composición de la Fracción Rica en Pericarpio (FRP) de amaranto que se obtuvo mezclando las fracciones con mayor contenido de Fibra (mallas 30 y 40). El intervalo de humedad en las fracciones fue de 9.13% en la fracción retenida en la malla número 100 a 9.55% en la fracción retenida en la malla número 60, la variación de humedad entre la fracción de malla 40 y la FRP hace suponer que la fracción de malla 30 presentaba un contenido de humedad inferior al de todas las fracciones resultando un abatimiento en el contenido de humedad, lo que ayuda a que no se desarrollen microorganismos en la muestra.

Como se observa en la tabla 3.1, la fracción con mayor valor de fibra cruda fue la obtenida por la malla 30 (8.38%) que también presenta un alto contenido de proteína, sin embargo tiene un rendimiento muy pequeño por lo que se adicionó a la fracción obtenida por la malla 40 que tiene un valor menor de fibra cruda (5.84%) pero con un mayor rendimiento, obteniéndose una fracción con un porcentaje alto de fibra cruda (6.4%) en comparación con la harina integral de amaranto (3.05%) y con un buen contenido de proteína.

En algunas plantas dicotiledóneas, el desarrollo del embrión utiliza grandes cantidades de energía que se encuentran en el endospermo, dejando poco o nada de éste en la célula madura. En el amaranto el endospermo remanente es apenas una capa muy delgada que contiene reservas en forma de proteína y la cual se encuentra unida fuertemente a la cáscara (*Saunders y Becker, 1984*). En el perispermo el mayor componente es el almidón aunque también tiene un alto contenido de proteína la cual está presente en pequeños

depósitos entre los gránulos de almidón, lo que explica la presencia de proteína en las fracciones de malla 30 y 40.

**Tabla 3.1** Distribución y composición de la harina integral de amaranto y de las fracciones obtenidas mediante separación por tamización. Incluye FRP.

	<b>Distribución %</b>	<b>Humedad %</b>	<b><sup>a, b</sup> Proteína %</b>	<b>Carbohidratos*</b> %	<b><sup>a, b</sup> Fibra Cruda %</b>	<b><sup>a, b</sup> Cenizas %</b>
Harina integral	95.82	8.50 ± 0.37	16.96 ± 0.56	68.35	3.05 ± 0.37	3.14 ± 0.03
<b>Malla 30</b>	<b>0.28</b>	<b>ND</b>	<b>19.63 ± 0.38</b>	<b>ND</b>	<b>8.38 ± 0.36</b>	<b>ND</b>
<b>Malla 40</b>	<b>6.31</b>	<b>9.30 ± 0.19</b>	<b>16.87 ± 0.43</b>	<b>65.13</b>	<b>5.84 ± 2.59</b>	<b>2.86 ± 0.01</b>
Malla 50	20.86	9.45 ± 0.42	17.23 ± 0.42	67.22	3.70 ± 0.08	2.40 ± 0.06
Malla 60	12.26	9.55 ± 0.25	16.23 ± 0.01	68.81	3.00 ± 0.09	2.41 ± 0.06
Malla 80	17.73	9.50 ± 0.10	17.78 ± 0.72	67.56	2.82 ± 0.19	2.29 ± 0.03
Malla 100	38.38	9.13 ± 0.26	26.29 ± 2.50	59.71	2.24 ± 0.06	2.63 ± 0.01
FRP	6.59	8.40 ± 0.14	17.70 ± 2.00	64.67	6.40 ± 0.20	2.90 ± 0.03

<sup>a</sup> cada valor es el promedio ± desviación estándar de un experimento por triplicado  
<sup>b</sup> base seca (g/100 g)

\*Obtenidos por diferencia, incluye almidón y Fibra Dietética Soluble y parte de Insoluble  
ND = No determinado

Asimismo se observa que en las fracciones donde disminuye la proporción de fibra cruda, los carbohidratos aumentan y el porcentaje de cenizas disminuye, confirmándose que la separación del pericarpio/germen y perispermo fue exitosa. Cabe recordar que la fibra cruda representa una parte de la fracción insoluble de la fibra. Esta metodología no cuantifica la fibra soluble, y subestima la fibra insoluble. Es por esta razón que dentro de los carbohidratos calculados por diferencia a partir del análisis proximal se incluyen a la fibra soluble y parte de la insoluble.

### 3.2.2 Análisis de los métodos empleados para determinar Fibra

Para este trabajo se utilizaron 3 métodos para medir la fibra: el método de fibra cruda; el método enzimático gravimétrico de la AOAC y el método reportado por Mañas et al, (2004).

El método de Fibra Cruda es un método rápido y barato que proporciona un valor estimado del contenido de fibra en la muestra, es un método empírico y no pretende medir alguna clase específica de sustancia química, simplemente cuantifica el residuo no digerible de un alimento.

El uso de este método no es recomendable, cuando se quiere saber con certeza la cantidad de fibra ya que el procedimiento de extracción es muy agresivo y provoca la solubilización de los polisacáridos estructurales (hemicelulosas, pectinas y parte de celulosa), determinando una pequeña y variable fracción de los componentes de la fibra dietética (*Bach Knudsen, 2001*). La susceptibilidad, en especial de la celulosa, a la hidrólisis ácida parece estar muy relacionada con la extensión de las *regiones no cristalinas* de su estructura, debido a que en esas regiones se reducen el número de puentes de hidrógeno, permitiendo el libre acceso a los reactivos que llevan a cabo la hidrólisis. Mientras que con la hidrólisis básica se extraen la mayor parte de las hemicelulosas, sin evitar su degradación debido a que la extracción se realiza en presencia de oxígeno (*Southgate, 1995*) A pesar de lo anterior se usa y se aplica en granos, carnes, harinas y en alimento para animales. Sin embargo es un método insatisfactorio desde muchos puntos de vista, por lo que el desarrollo de metodologías para la determinación de la FD ha evolucionado extensamente en las dos décadas pasadas.

En el método de la AOAC se siguen pasos enzimáticos y químicos para la extracción de los componentes no fibrosos, el residuo pesado y corregido por cenizas y proteína es reportado como FDT; este método involucra la precipitación etanólica de la fibra soluble, y su principal limitación es la precipitación incompleta de la fibra soluble además de co-precipitación de componentes no fibrosos, sales inorgánicas de los reactivos, (compuestos inorgánicos y orgánicos presentes en la muestra).

En el método reportado por Mañas se considera hacer una diálisis en lugar de la precipitación etanólica para obtener la FD soluble, sin pérdidas además de que cuantifica los componentes individuales de la FD, sin embargo también tiene sus desventajas, ya que este método considera la FDS como la fracción de la FD solubilizada a 100 °C, con base en lo anterior los polisacáridos solubilizados cuando la FDI es tratada en agua hirviendo pudieran ser considerados como FDS

En la tabla 3.2 se observa que los valores de fibra cruda son poco más de la tercera parte de los valores de FDT según el método oficial. Cabe resaltar que la lignina (4.12%)

(Tabla 3.3) aparentemente se cuantifica por completo en la fibra cruda y si se resta al valor encontrado se obtiene que el porcentaje de celulosa cuantificado es de 2.29%.

**Tabla 3.2** Contenido de fibra en la FRP de amaranto de acuerdo a diferentes métodos (base seca, g / 100 g)

<b>Fibra Cruda</b>	<b>Fibra Dietética Total (Método AOAC)</b>	<b>Fibra Dietética Total (Método de Mañas)</b>
6.40 ± 0.20	15.80 ± 0.30	15.10

Sin embargo si se compara con los valores de FDT (obtenida por el método reportado por Mañas), se encuentra que existe una diferencia de 8.7%, que representa al resto de polisacáridos no cuantificados por el método de fibra cruda. Lo anterior confirma que los valores de fibra cruda son poco representativos del contenido de fibra en un alimento ya que no cuantifica la fibra soluble y subestima el valor de fibra insoluble.

Los datos en la tabla 3.2 muestran que el valor de FDT (15.8%) obtenido por el método enzimático gravimétrico de la AOAC, en el cual se emplea la precipitación etanólica es muy cercano al valor de FDT (15.1%) obtenido por el método de Mañas. Esto se explica porque la muestra es un pseudocereal y como es sabido en general los cereales tienen una pequeña cantidad de FDS y por consecuencia no hay muchos problemas para precipitarla, además la fracción soluble de los cereales pueden contener nada o muy poca sustancias pecticas las cuales aportan viscosidad a las soluciones que pudieran favorecer la retención de diferentes compuestos.

El método propuesto por Mañas presenta ciertas ventajas: cuantifica la FD químicamente lo que lo hace una determinación más exacta, además permite obtener información acerca de la composición de la fibra; como el contenido de hemicelulosa y celulosa en la fracción soluble e insoluble por medio de la concentración de ácidos urónicos y azúcares neutros respectivamente; los cuales son importantes en la predicción de propiedades fisiológicas y funcionales de las fuentes de FD. Es un método ideal para muestras con una gran cantidad de FDS ya que elimina fuentes de error presentes en la determinación por el método de la AOAC para este tipo de muestras, como la retención y la co-precipitación de otros compuestos.

Hay que indicar que, a pesar de las discrepancias, el método de la AOAC es el más utilizado debido a que se adapta a las necesidades del control de calidad, es más rápido que

el de Mañas y cuantifica por completo la FDT, Además, tiene la ventaja de que los residuos se podrían caracterizar en término de los policacáridos que los componen, obteniendo la misma información detallada de los métodos enzimáticos-químicos (*Hernández et al.*, 1995). En general los valores de FDT son muy parecidos al reportado por Czerwiński et al, (2004) para el amaranto ( $14.5 \pm 0.9$ ).

### 3.2.3 Caracterización de la Fibra Dietética.

Como se muestra en la tabla 3.3 la fracción soluble de la FD es muy pequeña (1.63%) y contiene más Azúcares Neutros (AN) que Ácidos Urónicos (AU), lo que indica que hay una cantidad pequeña de hemicelulosa soluble o de pectinas porque ambos provienen de la hidrólisis de éstas moléculas. Las hemicelulosas incluyen xilanos, mananos y xiloglucanos los cuales están formados por unidades de glucosa unidas a cadenas cortas de arabinosa (que se cuantifican como AN) y/o ácido glucorónico los cuales se cuantifican como AU.

**Tabla 3.3** Composición de la Fibra Dietética en la Fracción Rica en Pericarpio de amaranto (Método de Mañas) (base seca, g / 100 g)

Componente	FDI %	FDS %
Azúcares neutros	$6.53 \pm 0.47$	$1.45 \pm 0.25$
Ácidos urónicos	$2.82 \pm 0.49$	$0.18 \pm 0.05$
Lignina de Klason	$4.12 \pm 0.41$	-
Total	13.47	1.63
<b>FDT = (FDI +FDS)</b>	<b>15.10</b>	

La fracción insoluble fue la fracción mayoritaria de la FDT, los principales componentes de la FDI son AN los cuales provienen de la hidrólisis de la celulosa y de la hemicelulosa. Los AU se encuentran en menor proporción aunque su valor en la FDI es mayor que en la FDS lo que indica que hay mayor cantidad de hemicelulosa insoluble o bien que la fracción insoluble arrastró algunos componentes solubles como la pectina.

La molécula de lignina está construida por la condensación de alcoholes fenólicos, es esencialmente un polímero aromático que contiene un número de grupos orgánicos

funcionales y es extremadamente resistente tanto a la degradación química como a la enzimática.

La lignina está relacionada con el efecto hipocolesterolémico asociado al consumo de fibra, ya que tienen la capacidad de adsorber ácidos biliares. (Grigelmo *et al.*, 1999). El contenido de lignina de Klason, 4.12%, se encuentra en un intervalo aceptable para los cereales, es un valor menor que el reportado para el pan integral (5.5%), para el salvado de avena (5.3%) (Grigelmo *et al.*, 1999) y es mayor que el de las hojuelas de avena (2.22%) (Mañas *et al.*, 1994).

Es importante considerar que la lignina favorece la formación de productos condensados con celulosa, sustancias pécticas y proteínas que no pueden ser hidrolizadas por el tratamiento ácido y dan lugar a un residuo que también se cuantifica dentro de la fracción de lignina de Klason. Por otro lado los tejidos vegetales contienen polifenoles libres o taninos condensados que al ser calentados en medio ácido forman un compuesto tipo lignina que es resistente a la hidrólisis ácida y permanece en el residuo para ser cuantificado como lignina, lo que ocasiona que ésta sea sobreestimada.

### **3.2.4 Relación entre las fracciones soluble e insoluble de la FD.**

La relación entre las fracciones soluble e insoluble de la FD debe estar en el intervalo de 1.0-2.3 para poder obtener el efecto fisiológico asociado con ambas fracciones (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999).

En la Tabla 3.4 se muestran los valores de la relación FDI/FDS para la FD de diversos cereales incluyendo la FRP de amaranto. Como puede notarse, a excepción del salvado de avena, ningún cereal tiene una relación de fibra insoluble-fibra soluble óptima. La FRP de amaranto presenta una relación de FDI/FDS de 8.56 que es 3 veces mayor a la recomendada, debido a su alto contenido de fibra insoluble y su bajo contenido de fibra soluble.

Las fracciones soluble e insoluble de la fibra dietética presentan respuestas desiguales en el tracto gastrointestinal humano. La FDS incrementa la viscosidad del contenido estomacal, por consiguiente, retarda la absorción de los nutrientes. La FDI es importante para la regulación intestinal porque sus efectos están en relación con las características fisicoquímicas de la FD como son la fermentación y la capacidad de retención de agua.

**Tabla 3.4** Relación FDI/FDS en la FRP del amaranto y en algunos derivados de cereales

Fuente de Fibra	Fibra Dietética Soluble	Fibra Dietética Insoluble	Fibra Dietética Total	Relación FDI/FDS
*Salvado de maíz	0.40	87.47	87.87	218.7
*Salvado de trigo	2.87	41.59	44.46	14.5
*Salvado de avena	3.17	7.07	10.24	2.2
*Bagazo de cebada	1.69	41.42	43.11	24.5
FRP Amaranto	1.63	13.47	15.10	8.56

\*Grigelmo, et al., 1999

Existe una relación inversa entre la capacidad de fermentación de la fibra y el volumen fecal observado, por lo cual la FDI, cuyo componente mayoritario es la celulosa, es la responsable de todos estos efectos, ya que la celulosa es poco fermentable, y en las heces aparece el 60% o más de la celulosa consumida. La fibra insoluble también favorece el tránsito del quimo alimenticio a través del intestino delgado, porque la celulosa hace que se produzcan bolos alimenticios que se desplazan por el tubo digestivo con más rapidez, mientras que la fracción soluble está involucrada en la reducción de niveles de colesterol y de absorción de glucosa (*Periago et al.*, 1993). En muchos alimentos, la FDS y la FDI están íntimamente mezcladas y se ingieren juntas, la gran mayoría son ricos en un tipo de fibra o en otro (*Olson et al.*, 1987).

### 3.3 DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES

Estudios epidemiológicos han sugerido que dietas ricas en cereales tienen un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas. El efecto benéfico en la salud deriva en la ingesta de cereales con un elevado contenido en fibra dietética y/o algunos componentes asociados con la fibra incluyendo a los polifenoles (*Yuan et al.*, 2005) ya que están asociados con las capas exteriores, particularmente con la capa de aleurona (*Esposito et al.*, 2005)

Para evaluar a la FRP del amaranto como una fuente natural de antioxidantes se analizó el contenido de polifenoles solubles (PS) y los no solubles (PNS). Los polifenoles solubles se obtuvieron después de concentrar los sobrenadantes de las extracciones en un rotavapor, el concentrado resultante se disolvió en etanol y debido a que éste no fue totalmente soluble en el etanol se filtró, la parte insoluble se redisolvió en agua. Como resultado se obtuvieron un extracto etanólico y un extracto acuoso. Para obtener los polifenoles no solubles se hidrolizó la muestra con metanol acidificado, el sobrenadante fue evaporado en un rotavapor para disminuir el volumen del extracto metanólico y concentrarlos.

La Tabla 3.5 muestra el contenido de PS en etanol y en agua y PNS. Los valores para los PS en la FRP de amaranto son muy bajos si se comparan con el valor obtenido para los PNS, esto se debe a que las propiedades de los PS están relacionadas a la fracción soluble de la fibra, mientras que las propiedades de los PNS se relacionan a la fracción insoluble, por lo tanto si la FRP tiene un contenido mayoritario de fibra insoluble, habrá más PNS.

**Tabla 3.5** Contenido de polifenoles solubles (PS) y no solubles (PNS) o polifenoles hidrolizados en la Fracción Rica en Pericarpio de Amaranto (base seca)

Polifenoles Solubles		Polifenoles no Solubles (hidrolizados)	Total
Etanol (mg ac. Tánico/g muestra)	Agua (mg ac. Tánico/g muestra)	Metanol (mg ac. Tánico/g muestra)	
0.80 ± 0.05	0.16 ± 0.01	4.81 ± 0.45	5.77

Los valores mostrados en la tabla 3.5 para PNS son mayores para otros tipos de cereales tales como el salvado de trigo (3.0) y para el salvado de avena (0.2-0.3), pero es muy bajo si se compara con el reportado para el salvado de sorgo (26.3), limón mexicano maduro (8.0), limón persa maduro (19.9), salvia (47.6) y manzanilla (24.8). Los salvados de cereales del trigo, cebada y arroz, entre otros son promovidos como buenas fuentes de antioxidantes y son vendidos en el mercado para fortificar productos horneados. La FRP de amaranto ofrece una ventaja en términos de valor antioxidante por gramo de muestra (*Awika et al.*, 2004; *Bandoniene et al.*, 2000; *Ubando*, 2003).

El nivel de polifenoles en los alimentos está determinado, no solo por factores genéticos y condiciones medioambientales, sino también por el estado de germinación,

grado de madurez, procesado y almacenamiento al que hayan sido sometidos. Así, el contenido de polifenoles puede variar entre cultivos de las mismas especies.

Es conocido que los polifenoles totales determinados de acuerdo al método de Folin-Ciocalteu no son una medida absoluta de la cantidad de material fenólico y que compuestos reductores como azúcares o ácido ascórbico pueden interferir (*Matthaiis*, 2002). Por otra parte, el contenido de polifenoles no es el único factor que influye en la actividad antioxidante de los extractos, el tipo de polifenoles presentes determina en gran medida la capacidad antioxidante (*Sánchez-Moreno et al.*, 1999).

La extracción por disolventes es usada muy frecuentemente para aislar los antioxidantes, pero se ha comprobado que tanto el rendimiento como la actividad antioxidante de los extractos son fuertemente dependientes del disolvente, debido al diferente potencial antioxidante de compuestos con diferente polaridad; el efecto del pH en la extracción ha sido reportado, por ejemplo Baublis y su equipo de trabajo reporta un incremento en la actividad antioxidante de extractos acuosos de salvado de trigo después de un tratamiento ácido, probablemente debido a que altera la composición de los polifenoles (*Moure et al.*, 2001). Varios estudios han mostrado que el metanol es un disolvente efectivo para la extracción de polifenoles y otras sustancias polares en cereales (*Ragae et al.*, 2005), en este estudio los extractos metanólicos fueron usados para la determinación de las propiedades antioxidantes debido a que se obtuvo un mayor rendimiento.

### 3.4 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Adicionalmente al tipo de polaridad del disolvente de extracción, la actividad antioxidante también depende del procedimiento de aislamiento, de la naturaleza lipofílica de la molécula y de la afinidad del antioxidante por los lípidos. El potencial antioxidante de un compuesto es diferente dependiendo del método de prueba, o para el mismo método cuando la polaridad del medio es diferente. Un fenómeno conocido como la “Paradoja polar” ha sido reportada en varias investigaciones; los antioxidantes hidrofílicos son más efectivos que los antioxidantes lipofílicos en aceites, mientras que los antioxidantes lipofílicos presentan mayor actividad en emulsiones (*Moure et al.*, 2001).

La actividad antioxidante debe ser evaluada con diferentes métodos para diferentes mecanismos. Los métodos más usados prueban: el daño oxidativo en el DNA, los niveles de

antioxidantes de bajo peso molecular o de enzimas antioxidantes, el daño oxidativo a lípidos y el daño a proteínas. La mayoría de estos métodos están basados en la habilidad para secuestrar diferentes radicales libres, pero también la habilidad quelante es responsable de la actividad antioxidante en sistemas lipídicos.

Medir la acción protectora hacia la oxidación de lípidos es muy frecuente, con triacilgliceroles, aceites vegetales o aceites de pescado. Y debido a que los sistemas alimenticios son emulsiones, el estudio de la peroxidación lipídica en emulsiones es básico para estudiar la estabilidad, y la influencia en la actividad antioxidante de las sustancias solubles presentes en la fase acuosa.

Los liposomas también se han usado para estudiar la oxidación en sistemas parecidos a las condiciones en vivo, debido a la similitud entre la composición de las membranas lipídicas y a las membranas biológicas (*Moure et al.*, 2001).

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos de amaranto se usaron los siguientes métodos: el efecto secuestrante sobre los radicales DPPH y ABTS, el método del blanqueo del  $\beta$ -Caroteno, el método del tiocianato férrico para estimar el nivel de peróxidos y la peroxidación de liposomas.

En las evaluaciones de la actividad antioxidante se empleó Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametil-croman-2-carboxílico), ácido carboxílico derivado del  $\alpha$ -tocoferol, como antioxidante estándar ya que este puede ser disuelto en agua (como sal) o en medio orgánico (como ácido). En ambos medios de reacción, 1 mol de Trolox secuestra 2 moles de ABTS o DPPH.

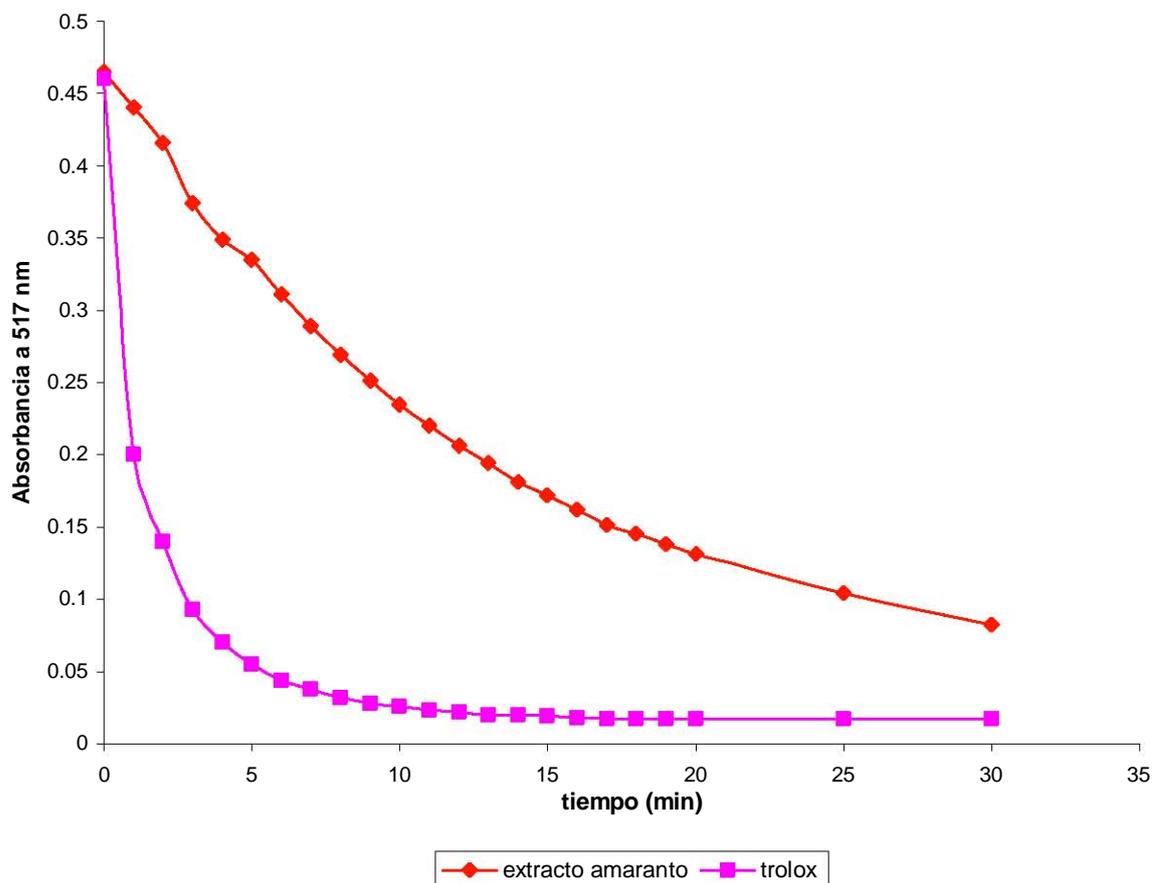
#### **3.4.1. Capacidad secuestrante sobre el radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)**

La actividad secuestrante del extracto metanólico de amaranto que contiene polifenoles insolubles fueron probados a través del método de DPPH el cual es un método ampliamente usado para evaluar actividad antioxidante en un tiempo relativamente corto comparado con otros métodos, los resultados se presentan en la gráfica 1.

La esencia del método es la interacción de los antioxidantes con el radical estable libre, 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (color violeta) para convertirlo a su forma reducida DPPH-H (1,1-Difenil-2-picrilhidrazina) (color amarillo). El grado de decoloración indica el potencial secuestrante de los extractos, mientras más rápido decrece la absorbancia es más

potente la actividad antioxidante de los compuestos en términos de su habilidad para donar átomos de hidrógeno.

**Gráfica 1. Efecto secuestrante sobre el radical DPPH. Concentración de polifenoles en los extractos = 200 ppm  
Concentración del trolox = 200 ppm**



En la gráfica 1 se observa que el Trolox presenta una excelente actividad antioxidante ya que la absorbancia disminuye rápidamente, prácticamente a los diez minutos la absorbancia se estabilizó alcanzando su máximo poder secuestrante. Mientras que los extractos de amaranto disminuyen lentamente la absorbancia, aún a los treinta minutos no alcanza su máximo poder secuestrante.

Esta prueba evalúa la rapidez en el efecto secuestrante del antioxidante sobre el radical DPPH, así se sabe que tan eficientes son los compuestos fenólicos de un extracto. Tiempos cortos y bajas concentraciones son importantes para definir si una actividad antioxidante es buena, y aunque los extractos de amaranto poseen la capacidad de donar

átomos de hidrógeno a una concentración de 200 ppm, lo hacen en un tiempo muy largo lo que lo hace un antioxidante de actividad baja, de acuerdo a la clasificación de Sánchez-Moreno y sus colaboradores. Ellos clasifican el comportamiento cinético de diferentes compuestos antioxidantes por el tiempo necesario para alcanzar un estado estable. Si la reacción cinética tarda menos de cinco minutos se le considera “rápida”: de cinco a treinta minutos es una reacción “intermedia” y si tarda más de treinta minutos es una reacción cinética muy “baja” (Montero *et al.*, 2005).

La tabla 3.6 muestra el porcentaje de la capacidad secuestrante de los extractos de amaranto sobre el radical DPPH. Al comparar con la capacidad secuestrante del trolox, los extractos de la FD del amaranto presentan una actividad antioxidante moderada en lo que respecta a la capacidad de secuestrar radicales.

**Tabla 3.6** Capacidad secuestrante sobre el radical DPPH a los treinta minutos.

Antioxidante	Concentración (ppm)	% Capacidad secuestrante
Extracto de amaranto	200	71.80 $\pm$ 5.40
Trolox	200	96.30 $\pm$ 1.80

Las diversas estructuras y sus proporciones en los polifenoles de los extractos son factores importantes que influyen en la efectividad de antioxidantes naturales, por lo que la actividad antioxidante de los extractos de amaranto no puede ser explicada sobre la base de su contenido fenólico, ya que sería necesaria su caracterización.

### 3.4.2. Capacidad secuestrante sobre el radical Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS)

Esta prueba también emplea un cromógeno de naturaleza radical, la presencia de antioxidantes resulta en la desaparición del radical, que es seguida por la medida en la absorbancia. Dos estrategias pueden usarse para evaluar la actividad antioxidante de una muestra dada; monitoreando la inhibición en la generación de radicales libres (método inhibitorio) o evaluando la propiedad secuestrante contra un radical generado (método post-adición).

Los primeros ensayos con ABTS fueron designados como métodos inhibitorios en los cuales los antioxidantes eran adicionados al medio de reacción antes de que los radicales fueran formados, esta estrategia tiene la desventaja de que los antioxidantes en la muestra pudieran reaccionar con los reactivos, como ocurre con la quercetina, y la actividad sea sobreestimada (Villaño *et al.*, 2004).

Por esta razón en este estudio se utilizó el método post-adición, en donde el radical se genera primero, entonces, la muestra es adicionada, con la cual decrece la concentración del radical. La longitud de onda usada fue de 730 nm con el fin de evitar las interferencias debidas a la presencia de compuestos coloridos en las muestras o a la aparición de productos de reacciones secundarias.

Algunas ventajas de este método son que; se evitan reacciones no deseadas, no se requieren altas temperaturas para generar los radicales, la actividad antioxidante puede ser estudiada en un amplio intervalo de pH y evita las interferencias debidas a la actividad de peroxidases endógenas en la muestra (Arnao *et al.*, 2001).

El extracto de amaranto presenta una menor capacidad secuestrante comparada con el Trolox. El porcentaje de la capacidad secuestrante, de los extractos de amaranto es del 70.8% mientras que el Trolox presenta un porcentaje de 97.8% (Tabla 3.7)

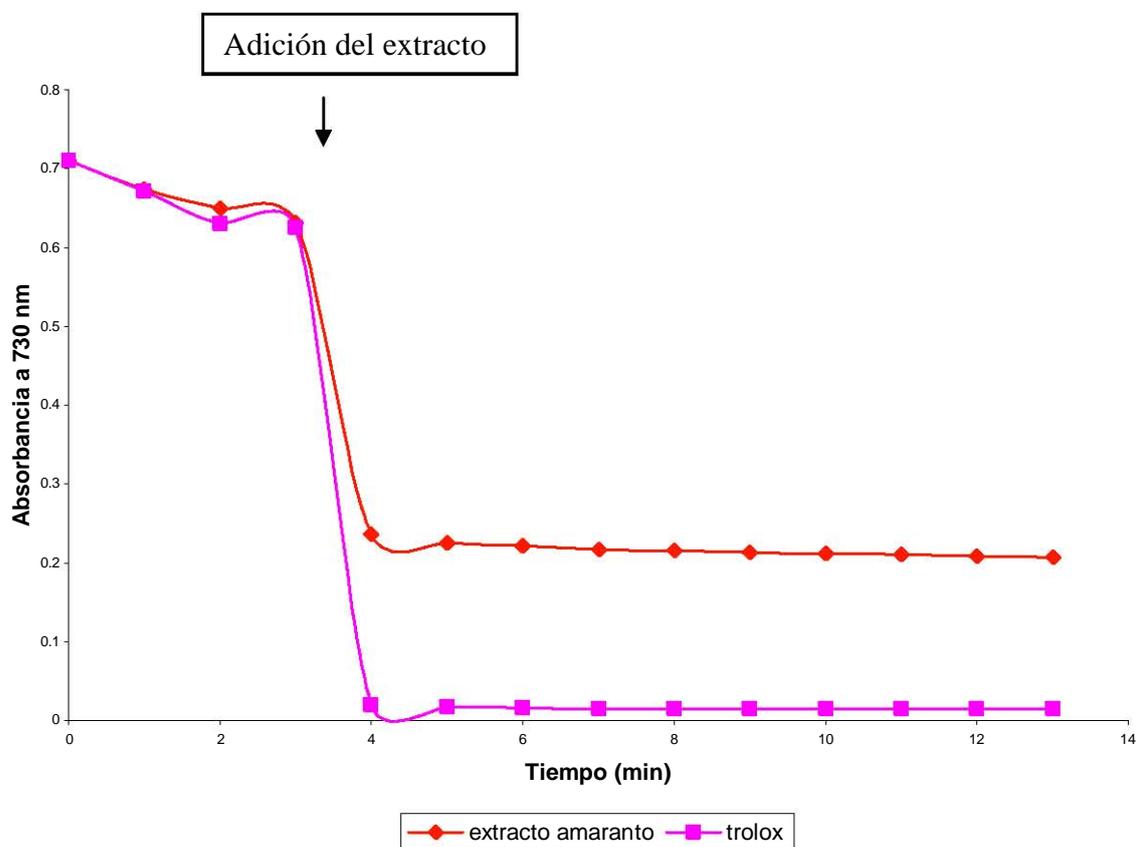
**Tabla 3.7** Capacidad secuestrante sobre el radical ABTS a los trece minutos.

Antioxidante	Concentración (ppm)	% Capacidad secuestrante
Extracto de amaranto	200	70.80 ± 1.52
Trolox	200	97.80 ± 1.36

Cabe destacar que el ensayo con ABTS tiene lugar en medio orgánico, por lo que se evalúan antioxidantes hidrofóbicos al igual que el ensayo del DPPH, eso explica la similitud en los valores del porcentaje de la actividad antioxidante obtenidos en ambas pruebas. Recientemente se ha reportado la superioridad del método del ABTS sobre el DPPH por que es un método más rápido además de las características antes mencionadas (Iqbal *et al.*, 2005).

En la gráfica 2 se observa el efecto secuestrante de los extractos de amaranto sobre el radical ABTS. Aquí también se observan diferencias en las curvas de respuesta.

**Grafica 2. Efecto secuestrante sobre el radical ABTS. Concentración de polifenoles en el extractos = 200ppm  
Concentración del trolox = 200 ppm**



Algunos autores describen reacciones cinéticas bifásicas entre el radical ABTS y algunos polifenoles en alimentos (*Villaño et al., 2004; Arnao et al., 2001*) y en este caso también se observó. Este tipo de reacción consiste de una actividad secuestrante inicial muy rápida en donde los compuestos más activos reaccionan inmediatamente con el radical, son formados los productos de reacción y, junto con los polifenoles menos reactivos, dan una segunda y lenta reacción. El periodo del minuto tres (adición del extracto) al minuto cuatro corresponde a la actividad secuestrante “rápida” (minuto tres: 0.631 nm - minuto cuatro: 0.236 nm), mientras que el punto final a los trece minutos (0.207 nm) es conocido como actividad secuestrante “total”.

Esta prueba indica que tan activo es el antioxidante ya que tanto el extracto de amaranto como el Trolox, se estabilizan casi al mismo tiempo. De los resultados anteriores

se tiene que los extractos de amaranto poseen una capacidad secuestrante moderada sobre el radical ABTS, en comparación con los extractos de limón, los cuales muestran una actividad antioxidante entre 98% a 99.6% en las mismas condiciones que el ensayo (Ubando, 2003).

### 3.4.3. Actividad antioxidante determinada por el blanqueo del $\beta$ -caroteno

La prueba del  $\beta$ -caroteno se escogió por su simplicidad y por la evidencia visual de los resultados. La actividad antioxidante de los compuestos del extracto de amaranto sobre la autoxidación del ácido linoleico son reportados en la Tabla 3.8. Los lípidos de la membrana son ricos en ácidos grasos insaturados, que son más susceptibles a los procesos oxidativos, en especial el ácido linoleico. Como resultado del blanqueamiento del  $\beta$ -caroteno, causado por la oxidación del ácido linoleico, la absorbancia de las soluciones de prueba decreció con el tiempo. El proceso de decoloración en el sistema modelo progresó diferente para la muestra y el control.

**Tabla 3.8** Actividad antioxidante determinada por el  $\beta$ -Caroteno a los 120 min.

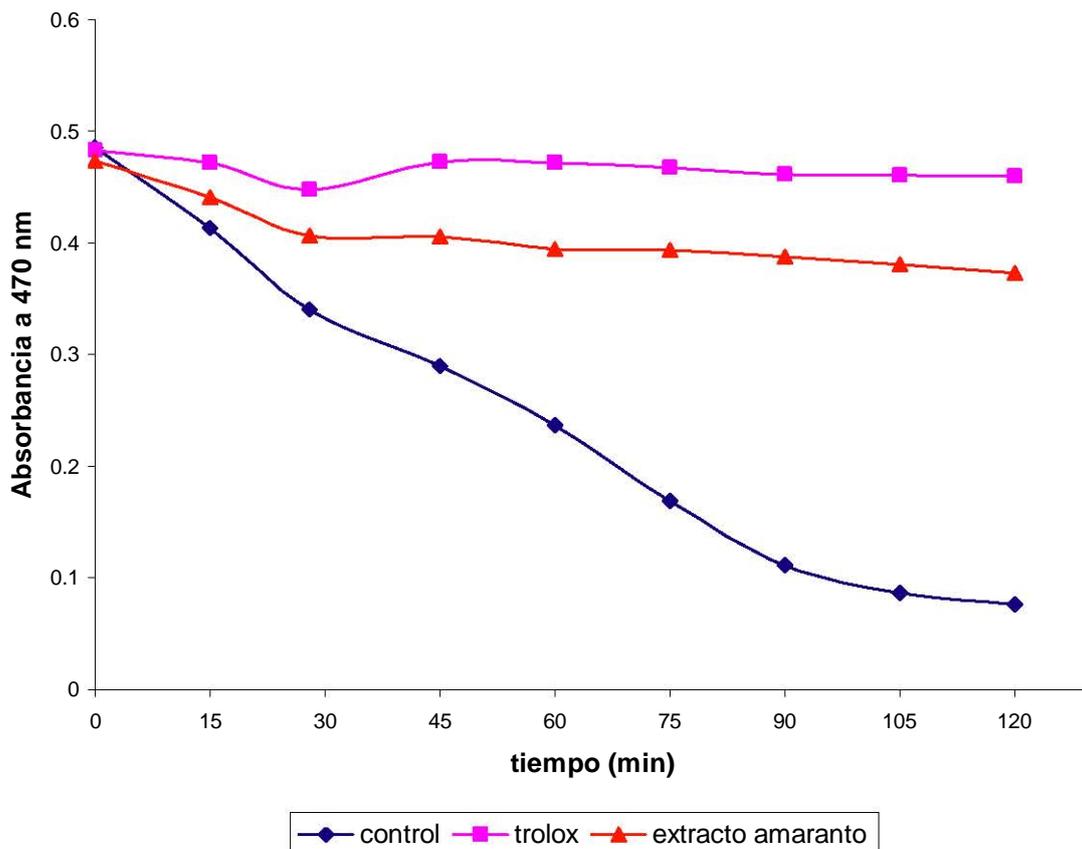
Antioxidante	Concentración (ppm)	% Actividad antioxidante
Extracto de amaranto	200	72.40 $\pm$ 0.56
Trolox	200	93.60 $\pm$ 2.60

El extracto de amaranto muestra una buena actividad antioxidante ya que evita en un gran porcentaje el blanqueo del  $\beta$ -Caroteno, lo que indica que reduce de manera satisfactoria los radicales generados por la oxidación del ácido linoléico, aunque su actividad es menor que la del Trolox, este comportamiento se debe a las diferencias en las solubilidades de los compuestos fenólicos en la emulsión (aceite-agua), por lo que se reparten entre las dos fases, influyendo en los resultados de la oxidación (Montoro *et al.*, 2005).

Otro factor importante es que el ácido linoleico forma micelas en sistemas acuosos, las cuales tienen propiedades coloidales diferentes que afectan fuertemente el comportamiento de los iniciadores de la oxidación y de los antioxidantes (Frankel *et al.*, 2000).

Como se observa en la gráfica 3 el Trolox muestra la mayor actividad antioxidante, seguida del extracto de amaranto.

**Gráfica 3. Actividad antioxidante determinada por el blanqueo del  $\beta$ -Caroteno.**  
Concentración de los polifenoles en los extractos = 200ppm  
Concentración del trolox = 200 ppm



En este modelo el  $\beta$ -Caroteno sufre una rápida decoloración en ausencia de un antioxidante (control). Esto ocurre por la oxidación del  $\beta$ -Caroteno y del ácido linoleico, que generan radicales libres. El radical libre formado a partir del ácido linoleico ataca la molécula altamente insaturada de  $\beta$ -Caroteno. Como resultado ésta es oxidada y dividida en partes, subsecuentemente el sistema pierde al cromóforo y el característico color naranja (Abdille *et al.*, 2005).

#### 3.4.4. Inhibición de la Oxidación Lipídica

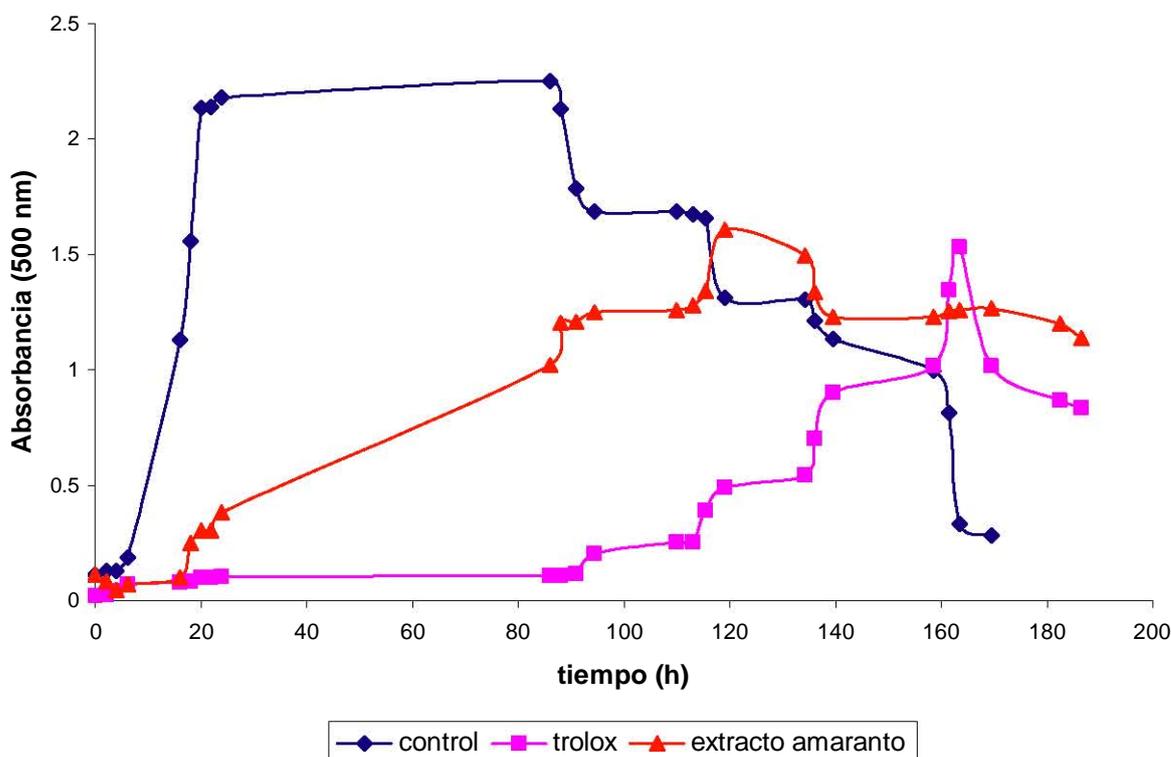
Con el objeto de tener datos más representativos del comportamiento de los polifenoles asociados a la FD del amaranto, como antioxidantes en alimentos, se evaluó su actividad antioxidante en una emulsión *aceite de chía:agua*. El contenido de peróxidos en las emulsiones se determinó de acuerdo al método colorimétrico del tiocianato férrico.

Éste método mide la efectividad de los antioxidantes ya que monitorea la estabilidad oxidativa de los lípidos. Después de que la emulsión se oxidó bajo condiciones estándar, se

midió la extensión en el periodo de inducción. El periodo de inducción es el tiempo que requiere la muestra para comenzar a oxidarse rápidamente y coincide con el mal sabor que desarrollan los lípidos (Madhavi, 1996).

Los resultados que se muestran en la Gráfica 4 se reportan como absorbancia porque la relación de la molécula de peróxido con la molécula de fierro oxidado es de uno, en esta gráfica se observa que el periodo de inducción del control fue menor de 2h, en este tiempo el contenido de peróxidos en todas las muestras se encuentra por debajo del control. A las 16h el tiempo de inducción del extracto de amaranto termina, en ese tiempo la absorbancia a 500nm es de 0.100, valor cercano a la muestra con Trolox; el cual presenta una absorbancia de 0.071.

**Gráfica 4. Actividad antioxidante en una emulsión aceite: agua**



Transcurridas las 16h el contenido de peróxidos comienza a incrementarse en la muestra con extracto de amaranto, lo que se observa como un cambio de pendiente. El Trolox presenta la máxima actividad antioxidante, a pesar de que a las 24h da un pequeño

salto en la absorbancia (0.105) todavía logra mantenerse hasta las 91h, transcurrido este tiempo el contenido de peróxidos comienza a incrementarse.

Los cambios en el periodo de inducción de la emulsión después de la adición de los extractos de amaranto y del Trolox, fueron determinados en función de su concentración, el cual es muy notorio por el incremento en la absorbancia a 500nm. El periodo de inducción se consideró como el número de horas necesarias para que el valor de peróxidos comenzara a incrementarse rápidamente y sobrepasara una lectura de absorbancia de 0.105 que es el límite que impone la capacidad antioxidante del estándar. El valor de protección o Factor Antioxidante (FA) del extracto de amaranto y del Trolox fueron calculados por la siguiente fórmula:

$$FA = \frac{PI_x}{PI_k};$$

Donde -PI<sub>x</sub> es el periodo de inducción de la muestra con antioxidante, (h)

-PI<sub>k</sub> es el periodo de inducción del control, (h)

La siguiente escala es propuesta para los valores del factor de protección: 1.0-1.5 (muy bajo), 1.5-2.0 (bajo), 2.0-2.5 (medio), 2.5-3.0 (alto), >3.0 (muy alto), (Bandoniene *et al.*, 2000). Actualmente, el factor antioxidante es definido como un valor de estabilidad.

En la tabla 3.9 se muestran los valores del factor antioxidante para el extracto de amaranto y el Trolox. De acuerdo con la escala propuesta para el FA, el amaranto tiene un valor muy alto, lo que pone en evidencia su efectividad en este sistema, sin embargo el FA del Trolox bajo las mismas condiciones de ensayo es mucho mayor.

**Tabla 3.9** Factor antioxidante del extracto de amaranto y del Trolox.

Antioxidante	Concentración (ppm)	Periodo de inducción del control (h)	Periodo de inducción de la muestra (h)	Factor antioxidante
Trolox	200	2	91.60	45.50
<b>Extracto de amaranto</b>	<b>200</b>	<b>2</b>	<b>16.00</b>	<b>8.00</b>

Comparado con el valor reportado para extractos de limón (Tabla 3.10), el amaranto tiene una factor antioxidante mayor (Ubando, 2003), Bandoniene *et al.*, (2000) reportan valores altos de factor antioxidante para extractos de salvia y manzanilla a concentraciones

de 200 y 2000 ppm. Se sabe que la actividad antioxidante de varios compuestos fenólicos difiere significativamente, por lo tanto, el contenido de fenoles totales no es un indicador exacto de su actividad antioxidante. Los constituyentes deben ser aislados para ser probados individualmente y así obtener resultados más precisos.

**Tabla 3.10** Factor antioxidante de extractos de limón, salvia y manzanilla.

Antioxidante	Concentración (ppm)	Periodo de inducción del control (h)	Periodo de inducción de la muestra (h)	Factor antioxidante
<sup>a</sup> Limón mexicano maduro	200	60	160	2.60
<sup>a</sup> Limón persa maduro	200	60	80	1.30
<sup>b</sup> Extracto de salvia	200	168	504	3.00
<sup>b</sup> Extracto de salvia	2000	168	1176	7.00
<sup>b</sup> Extracto de manzanilla	200	168	294	1.70
<sup>b</sup> Extracto de manzanilla	2000	168	504	3.00

<sup>a</sup>Ubando, 2003; <sup>b</sup>Bandoniene et al., 2000

El Factor Antioxidante proporciona información importante porque indica cuando un antioxidante deja de funcionar o cual conviene usar.

### 3.4.5. Efecto antioxidante sobre la peroxidación de liposomas

Los fosfolípidos, son derivados del ácido fosfatídico, tales como la fosfatidilcolina (lecitina), están presentes en grandes cantidades en las membranas celulares. Para estudiar en detalle los extractos del amaranto en sistemas biológicos; el fosfolípido, preparado como liposoma, se usó como sistema modelo para evaluar la actividad inhibitoria de los extractos metanólicos de amaranto frente a la peroxidación lipídica en membranas celulares.

El comportamiento de los extractos fue medido espectrofotométricamente a 532 nm después de dos horas a partir de inducir la oxidación en lecitina de soya. La inhibición de la

peroxidación de liposomas fue determinada por la cantidad de sustancias producidas que reaccionan con el TBA tales como al malonaldehído (MDA).

En la tabla 3.10 se muestran las absorbancias del extracto de amaranto, el Trolox y el control, así como los porcentajes de inhibición en la peroxidación lipídica de la muestra comparada con el Trolox. El extracto de amaranto mostró un porcentaje bajo de actividad inhibitoria en comparación con el mostrado por el Trolox, sin embargo es un valor mayor comparado con el que Siddhuraju et al., (2002) reportan para el tallo de la leguminosa *Indian laburnum* (20-22%) a una concentración de 250 ppm, los autores probaron varias concentraciones y encontraron que a 1000 ppm los extractos del tallo de la leguminosa exhiben una actividad inhibitoria del 91.7% que es similar a la mostrada por el trolox en su ensayo. Otra semilla con un comportamiento similar es el ajonjolí que a 1000 ppm exhibe una actividad inhibitoria de 11.3% y a 10,000 ppm de 51.1% (*Chang et al.*, 2002), lo que hace suponer que pasaría igual con el extracto de amaranto.

**Tabla 3.10** Absorbancias y porcentajes de inhibición lipídica en el sistema de liposomas

Antioxidante	Concentración (ppm)	Absorbancia (532nm)	% Inhibición de peroxidación lipídica
Extracto de amaranto	200	0.793 ± 0.079	39.60 ± 7.60
Trolox	200	0.263 ± 0.030	90.60 ± 2.90
Control	-	1.206	

Es evidente que la actividad protectora de antioxidantes naturales es dependiente del sistema y de la concentración de los mismos. Un intervalo amplio de actividades puedan observarse acorde al método de oxidación lipídica usado como sustrato. Se ha reportado que el MDA está asociado con la peroxidación de lípidos. Siendo un aldehído bifuncional, el MDA es muy reactivo, se ha encontrado que toma parte en las reacciones con DNA y proteínas, además de que puede actuar como catalizador en la formación de nitrosaminas en alimentos. Los resultados anteriores implican que los compuestos en los extractos de amaranto si pueden proteger contra daños a las membranas celulares debido a que reducen el nivel de productos secundarios derivados de la oxidación de los lípidos.

En esta investigación se usaron varios métodos para medir el potencial antioxidante, cada uno tiene sus propias limitantes, de acuerdo a Czerwiński et al (2004) algunos métodos

dan diferentes tendencias de actividad antioxidante, debido al estado físico del sistema lipídico usado como sustrato y a las diferentes condiciones de oxidación. Existen dos maneras en la cual la reacción en cadena puede ser inhibida; por un lado, la adición de antioxidantes los cuales retardan la formación de radicales libres (método de oxidación lipídica) y por otra parte, la introducción de aceptores de radicales libres (métodos: DPPH y ABTS), por lo tanto el mecanismo es diferente.

Los resultados de la determinación del potencial antioxidante de estos ensayos mostraron el siguiente comportamiento; la actividad fue más alta en muestras con mayor contenido de compuestos antioxidantes, lo cual corroboran Czerwiński et al (2004) y Abdille et al (2005). Se sabe que la composición química y la estructura de los componentes activos de un extracto son factores importantes que dirigen la eficacia de antioxidantes naturales, la actividad de un extracto no podría ser explicada en base a su contenido fenólico por que se necesitaría también de su caracterización. En este caso se reporta que los compuestos fenólicos con hidroxilación *-orto* y *-para* o con grupos metoxi e hidroxilo son más efectivos que los simples compuestos fenólicos. Sin embargo, el comportamiento sinérgico de los fenoles presentes en los extractos no siempre se manifiesta. Es necesario tomar en cuenta como influyen otros compuestos en la biodisponibilidad de los antioxidantes; que los principales compuestos presentes en los cereales son los ácidos fenólicos y los taninos, los cuales se encuentran unidos covalentemente a la pared celular junto con los carotenoides, tocoferoles y tocotrienoles (*Esposito et al.*, 2005).

El amaranto puede ser una buena fuente de antioxidantes fenólicos, sin embargo se requieren otros estudios para la caracterización de estos compuestos, así como separar a los antioxidantes hidrofóbicos de los hidrofílicos y evaluar su contribución al potencial antioxidante en los diferentes sistemas de oxidación (emulsiones y en aceites puros), porque su efectividad depende de su polaridad, solubilidad, localización, movilidad y estabilidad; además de ensayos *in vivo* para la mayor comprensión de su mecanismo de acción como antioxidantes.

# *Conclusiones*

**CONCLUSIONES.**

- ✓ El fraccionamiento físico de la harina (uso de tamices) permite obtener una fracción rica de pericarpio (FRP).
- ✓ La FRP proveniente del amaranto comparada con otros cereales es una buena fuente de fibra dietética pese a no tener el balance adecuado de las fracciones soluble e insoluble.
- ✓ La FRP del amaranto presenta un contenido de polifenoles superior al que se encuentra en otros cereales.
- ✓ Los polifenoles asociados a la FD del amaranto presentan una moderada capacidad secuestrante de radicales.
- ✓ El método del  $\beta$ -Caroteno indica que el extracto de amaranto si posee actividad antioxidante en un sistema aceite:agua.
- ✓ En la cuantificación del factor antioxidante se demuestra que el extracto de amaranto puede actuar en un sistema alimenticio aunque sea por un tiempo menor.
- ✓ En sistemas biológicos como en los liposomas, los extractos de amaranto si funcionan como antioxidantes.

# *Bibliografía*

**BIBLIOGRAFÍA**

- ABDILLE, M. D. H., SINGH, R. P., JAYAPRAKASHA, G. K., JENA, B. S., (2005), Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. Food Chemistry, 90, 891–896.
- A.O.A.C. (2000). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist International, 17th Edition, Dr William Horwitz, Editor. A.O.A.C International. USA.
- ARNAO, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. Trends in Food Science and Technology, 11, 419-421.
- ARNAO, M. B. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. Food Chemistry, 73, 239-244.
- AWIKA, J. M., ROONEY, L. W., WANISKA, R. D. (2004), Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. Food Chemistry, 1-9.
- BACH KNUDSEN, K. E. (2001). The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. Animal Feed Science and Technology, 90, 3-20.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. (2005). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 1-8.
- BANDONIENE, D., PUKALSKAS, A., VENSKUTONIS, P. R., GRUZDIENE, D. (2000), Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. Food Research International, 33, 785-791.
- BORDERIAS, A. J. SÁNCHEZ-ALONSO, I., PÉREZ-MATEOS, M. (2005), New applications of fibres in foods: addition of fishery products. Trends in Food Science and Technology, 1-8.
- CHANG, L. W., YEN, W. J., HUANG S, C., DUH, P. D. (2002), Antioxidant activity of sesame coat. Food Chemistry 78, 347–354.

- CZERWIŃSKI, J., BARTNIKOWSKA, E., LEONTOWICZ, H., LANGE, E., LEONTOWICZ, M., KATRICH, E., TRAKHENBERG, S., GORINSTEIN, S. (2004), Oat (*Avena sativa* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) meals positively affect plasma lipid profile in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Nutritional Biochemistry* 36, pp 622-629.
- DREHER, M. (1987), *Handbook of Dietary Fiber and Applied Approach*. Editorial M. Dekker, New York 1-10, 17-34, 42, 54-57.
- DUH, P. D., DU, P. C., YEN, G. C. (1999), Action of methanolic extract of mung bean hulls as inhibitors of lipid peroxidation and non-lipid oxidative damage. *Food and Chemistry Toxicology*, 37, 1055-1061.
- ESPOSITO, F., ARLOTTI, G., BONIFATI, A. M., NAPOLITANO, A., VITALE, D., FOGLIANO, V. (2005), Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Research International*, 38, 1167–1173.
- FRANKEL, E. N. (1999) Antioxidant activity by headspace gas chromatography of volatile oxidation products of  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 polyunsaturated lipids. *Methods in Enzymology*, 299, 190-201.
- FRANKEL, E. N., MEYER, A. S. (2000), Review: The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of Science Food Agricultural*. 80, 1925-1941.
- GRIGELMO-MIGUEL, N., MARTÍN-BELLOSO, O. (1999), Comparison of dietary fibre from by-products of processing fruits and greens and from cereals. *Lebensm-Wiss. U.-Technology*, 32, 5.3-508.
- GUILLON, F., CHAMP, M. (2000), Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33, 233-245.
- HERNÁNDEZ, F., HERNÁNDEZ, A., MARTÍNEZ, C. (1995), Fibra alimentaria, concepto, propiedades y métodos de análisis. *Alimentaria*, Abril, 19-30.
- HU, M., SKIBSTED, L. H. (2002), Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nuficera*). *Food Chemistry*, 76, 327–333.

- HUERTA HERNÁNDEZ, F. (2004), Desarrollo de alimentos formulados con concentrado proteínico de amaranto; estudio fisicoquímico y propiedades de textura. Tesis Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- IQBAL, S., BHANGER, M. I., ANWAR, F. (2005), Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*, 93, 265-272.
- IRVING, D. W., BETSCHART, A. A., SAUNDERS R. M. (1981), Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. *Journal of Food Science*, 46, 1170-1180.
- JIMENEZ-ESCRIG, A., RINCON, M., PULIDO, R., SAURA-CALIXTO, F. (2001), Guava fruit (*psidium guajava L*) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Food Chemistry*, 49, 5489-5493.
- KRIS-ETHERTON, P., HECKER, K. D., BONANOME, A., COVAL, S. M., BINKOSKI, A. E., HILPERT, K. F., GRIEL, A. E. ETHERTON, T. D. (2002), Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113 (9B), 71s-88s.
- LARRAURI, J., PERDOMO, U., FERNÁNDEZ, M., BORROTO, B. (1995), Selección del método más apropiado para la elaboración de tabletas de fibra dietética. *Alimentaria*, septiembre, 67-70.
- LARRAURI J., RUPEREZ P., SAURA-CALIXTO F., BORROTO, B. (1996) Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *Lebensm-Wiss. U.-Technology*, 29, 729-733.
- MADHAUI, D. L. (1996), Food antioxidants: technological, toxicological, and health perspectives. Ed. Marcel Dekker. Inc U.S.A, 99.
- MAÑAS, E., BRAVO, L., SAURA-CALIXTO, F. (1994), Sources of error in dietary fibre analysis. *Food Chemistry*, 50, 331-342.
- MAÑAS, E., SAURA-CALIXTO, F. (1993), Ethanolic precipitation: A source of error in dietary fibre determination. *Food Chemistry*, 47, 351-355.
- MONTERO, P., GIMÉNEZ, B., PÉREZ-MATEOS, M., GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. (2005), Oxidation stability of muscle with quercetin and rosemary during thermal and high-pressure gelation. *Food Chemistry* 93, 17–23.

- MONTORO, P., BRACA, A., PIZZA, C., DE TOMMASI, N. (2005), Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chemistry*, 92, 349–355.
- MORRISEY, J. H. (2001). Morrisey lab protocol for preparing phospholipids vesicles (SUV) by sonication. <http://www.avantilipids.com/PreparationOfLiposomes.html>
- MOURE, A., CRUZ, J. M., FRANCO, D., DOMÍNGUEZ, J. M., SINEIRO, J., DOMÍNGUEZ, H., NUÑEZ, M. J., PARAJÓ, J. C. (2001) Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145-171.
- OLSON, A., GRAY, G. M., CHIU, M. (1987), Most methods available for analyzing soluble dietary fiber have considerable merit; what is needed is a reference procedure that will reduce discrepancies in reported soluble fiber values. *Food Technology*, 41, 71-80.
- PERIAGO, J. M., ROS, G., LÓPEZ, G., MARTINEZ, M. C., RINCÓN, F. (1992), Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. *Revista española de ciencia y tecnología de alimentos*, 33 (3), 229-246.
- PROSKY, L., ASP, N. G., SCHWEIZER, T.F., DEVRIES, J. W. & FURDA, I. (1988), Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: laboratory study. *Journal Association Official Analytical Chemistry*. 75 (2), 360-367.
- PROSKY, L., ASP, N. G., SCHWEIZER, T. F., DEVRIES, J. W. & FURDA, I. (1984), Determination of total dietary fiber in foods , food products and total diets: interlaboratory study. *Journal Association Official Analytical Chemistry*. 67 (6), 1044-1052.
- RAGAEI, S., ABDEL-AAL, M. (2005), Pasting properties of starch and protein in selected cereals and quality of their food products. *Food Chemistry*, abril, 1-7.
- RICE-EVANS, C., MILLER, N., PAGANGA, G., (1997), Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2 (4), 152-159.
- SÁNCHEZ-MARROQUIN, A. (1980), Potencialidad agroindustrial del amaranto. Centro de estudios económicos y sociales del tercer mundo, Editorial CEESTEM México, DF. 238.

- SÁNCHEZ-MARROQUIN, A., FERIA-MORALES, A., MAYA, S., RAMOS-MORENO, V. (1987), Processing nutritional quality and sensory evaluation of amaranth enriched corn tortilla. *Journal of Food Science*, 52, 1611-1615.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. (2002), Compuestos polifenólicos: estructura y clasificación. Presencia en alimentos y consumo. Biodisponibilidad y metabolismo. *Alimentaria*, Ene-Feb, 19-27.
- SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A., SAURA-CALIXTO, F. (1999), Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32, 407-412.
- SANDOVAL CORTÉS, E. (2005), Desarrollo de un proceso de extracción para la obtención de fracciones enriquecidas de Escualeno a partir de amaranto. Tesis Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- SAUNDERS, R. M., BECKER, R. (1984), *Amaranthus*: A potential food and feed resource. *Advances in Cereal Science and Technology*, 6, 357-393.
- SHENEEMAN, B. (1986) Physical and chemical properties, methods of analysis and physiological effects. *Food Technology*, 40(2), 104-110.
- SIDDHURAJU, P., MOHAN, P. S., BECKER, K. (2002), Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula L.*): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chemistry*, 79, 61-67.
- SKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., HRAS, A. R., SIMONI, M., KNEZ, Z. (2005), Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89, 191-198.
- SOUTHGATE, D. A. T. (1995) Dietary fibre analysis. Ed Royal Society of Chemistry. Cambridge, 77-78, 85.
- TEUTONICO, R. T., KNORR, D. (1985), Amaranth: composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. *Food Technology*, 39, 49-52
- THEBADUIN, J. Y., LEFEBVRE, A. C., HARRINGTON, M. B., BOURGEOIS, C. M. (1987), Dietary fibres: nutritional and technological interest. *Food Science and Technology*, 8, 41-47.

- 
- TOSI, E. A., CIAPPINI, M. C., MASCIARELLI, R. (1996), Utilización de la harina integral de amaranto (*Amaranthus cruentus*) en la fabricación de galletas para celíacos. *Alimentaria*, enero-febrero, 49-51.
  - TOSI, E. A., LUCERO, H., RÉ H., MASCIARELLI, R. (2000), Acondicionamiento del grano de amaranto (*Amaranthus spp.*) para la obtención de una harina hiperproteica mediante molienda diferencial. *Food Science and Technology International* 6 (6), 441-443
  - TOSI, E. A., LUCERO, H., RÉ H., MASCIARELLI, R. (2000), Dietary Fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. *Food Chemistry*, pp 441-443.
  - UBANDO RIVERA, J. T. (2003) Influencia del estado de madurez en las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la fibra dietética del limón (*Citrus aurantifolia*, *Citrus latifolia*). Tesis licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
  - VILLAÑO, D., FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S., TRONCOSO, A. M., GARCÍA-PARRILLA, M. C., (2004), The antioxidant activity of wines determined by ABTS<sup>•+</sup> method: influenced of sample dilution and time. *Talanta*. 64, 501-509.
  - YUAN, X., WANG, J., YAO, H., CHEN, F. (2005), Free radical-scavenging capacity and inhibitory activity on rat erythrocyte hemolysis of feruloyl oligosaccharides from wheat bran insoluble dietary fiber. *Lebensm-Wiss. U.-Technology*, 38, 877–883.

## **APENDICE**

**A1.-** Reglamento del Centro de Mediación y Conciliación del Poder Judicial del Estado de México.

**A2.-** Estadística mensual de Juzgados Civiles de Cuantía Mayor.

**A3.-** Estadística mensual de Juzgados Civiles de Cuantía Menor.

**A4.-** Estadística del Centro de Mediación y Conciliación del Poder Judicial del Estado de México.

**Reglamento del Centro de Mediación y Conciliación del  
Poder Judicial del Estado de México**



**CAPÍTULO I.  
DISPOSICIONES GENERALES.**

**Objeto.**

Artículo 1.1. El objeto de este reglamento es regular el servicio de la mediación y la conciliación extrajudicial para la pronta, pacífica y eficaz solución de las controversias.

**Naturaleza**

Artículo 1.2. La mediación y la conciliación son medios alternativos, auxiliares y complementarios de la función jurisdiccional. No sustituyen la prestación del servicio de los órganos jurisdiccionales.

**Mediación y Conciliación.**

Artículo 1.3. Para los efectos de este reglamento se entiende por mediación, el trámite en el que uno o más mediadores intervienen en una controversia entre partes determinadas, facilitando la comunicación entre ellas con el objeto de construir un convenio.

Se entiende por conciliación el proceso en el que uno o más conciliadores, asisten a las partes en conflicto, para facilitar las vías de diálogo, proponiendo alternativas y soluciones al conflicto.

**Oportunidad.**

Artículo 1.4. La mediación y conciliación pueden llevarse a cabo aun antes de iniciar cualquier proceso judicial, con la única condición de que los particulares manifiesten su voluntad de hacer uso de dichos medios alternos de solución de controversias.

Una vez iniciado un juicio civil o penal, las partes podrán someter su conflicto a mediación o conciliación, sujetándose a los términos previstos en las leyes adjetivas correspondientes.

En materia civil, familiar y mercantil, las partes podrán someter a mediación o conciliación la regulación del cumplimiento de la sentencia ejecutoriada.

En materia penal, la ejecución de la sentencia sólo podrá ser regulada en cuanto a la reparación del daño; también podrá hacerse uso de la mediación o conciliación para restaurar las relaciones humanas y sociales afectadas por el delito.

**Acuerdo de sumisión.**

Artículo 1.5. El acuerdo para someterse a la mediación o conciliación podrá constar en contrato privado o en cualquier otro medio fehaciente.

#### **Materia de la mediación o conciliación.**

Artículo 1.6. Pueden ser materia de mediación o conciliación, todas o algunas de las diferencias que se susciten en relación con un determinado hecho, derecho, contrato, obligación, acción o pretensión. Si éstas no se especificaren, se presumirá que el acuerdo se extiende a todas las diferencias que hayan surgido o puedan surgir entre los interesados.

#### **Asuntos que admiten la mediación o conciliación.**

Artículo 1.7. La mediación y la conciliación sólo se admitirán en los asuntos que sean susceptibles de transacción, cuyo conocimiento esté encomendado a los Tribunales del Poder Judicial del Estado, siempre que no se afecte la moral, o derechos de terceros, ni se contravengan disposiciones de orden público.

#### **Mediación o conciliación en materia penal.**

Artículo 1.8. Tratándose de conductas delictivas se admitirá la mediación y la conciliación en los delitos perseguibles por querrela; sin embargo, en los perseguibles de oficio, sólo el pago de la reparación del daño podrá sujetarse a mediación o conciliación.

#### **Principios de la mediación o conciliación.**

Artículo 1.9. La mediación y la conciliación se rigen por los principios de voluntariedad, gratuidad, neutralidad, confidencialidad e imparcialidad.

#### **Principio de voluntariedad.**

Artículo 1.10. La mediación y la conciliación son voluntarias por lo que no podrán ser impuestas a persona alguna.

#### **Principio de gratuidad.**

Artículo 1.11. La mediación y la conciliación es un servicio totalmente gratuito por lo que el Centro de Mediación y Conciliación del Poder Judicial no cobrará retribución alguna por la prestación de sus servicios. Queda prohibida toda clase de dádiva o gratificación a los empleados del Centro.

#### **Principio de neutralidad.**

Artículo 1.12. Los mediadores-conciliadores no deben hacer alianza con ninguno de los participantes en conflicto.

#### **Principio de confidencialidad.**

Artículo 1.13. No debe divulgarse lo ocurrido dentro de los procesos de mediación o conciliación, excepto con el consentimiento de la totalidad de los participantes involucrados.

#### **Principio de imparcialidad.**

Artículo 1.14. El mediador-conciliador asignado a un determinado asunto, no debe actuar a favor o en contra de alguno de los participantes en conflicto.

## **CAPÍTULO II.**

### **DEL CENTRO DE MEDIACIÓN Y CONCILIACIÓN.**

#### **Naturaleza del Centro.**

Artículo 2.1. El Centro de Mediación y Conciliación es un órgano del Poder Judicial y tendrá a su cargo los servicios de mediación y conciliación extrajudicial.

#### **Dependencia.**

Artículo 2.2. El Centro de Mediación y Conciliación, dependerá del Consejo de la Judicatura.

#### **Encargado del Centro.**

Artículo 2.3. El Centro de Mediación y Conciliación estará a cargo de un Director designado por el Consejo de la Judicatura.

#### **Regulación de funciones.**

Artículo 2.4. El Centro de Mediación y Conciliación desarrollará sus funciones conforme a la legislación aplicable, a este reglamento, a los manuales de organización, de procedimientos y demás disposiciones que expida el Consejo de la Judicatura.

#### **Desconcentración de funciones.**

Artículo 2.5. El Consejo de la Judicatura, podrá desconcentrar total o parcialmente las funciones del Centro de Mediación y Conciliación, estableciendo unidades en las distintas regiones judiciales del Estado. Los servidores públicos que se adscriban a dichas oficinas desconcentradas tendrán las atribuciones que señalen los ordenamientos legales aplicables, el Manual General de Organización y las que acuerde el Consejo de la Judicatura.

#### **Promoción y difusión.**

Artículo 2.6. El Centro de Mediación y Conciliación, deberá promover y difundir los medios alternativos de solución de controversias con objeto de fomentar la cultura de la paz.

#### **Registro de convenios.**

Artículo 2.7. El Centro de Mediación y Conciliación, contará con un registro de convenios a cargo del Director, quien estará facultado para expedir copias certificadas a los participantes del procedimiento de mediación o conciliación.

**CAPÍTULO III.  
DEL DIRECTOR DEL CENTRO DE MEDIACIÓN Y CONCILIACIÓN.**

**Atribuciones no delegables.**

Artículo 3.1. Son atribuciones no delegables del Director del Centro de Mediación y Conciliación:

- a) Representar al Centro de Mediación y Conciliación;
- b) Conducir el funcionamiento del Centro de Mediación y Conciliación vigilando el cumplimiento de sus objetivos;
- c) Coordinar a los mediadores-conciliadores y demás personal que labore en el Centro de Mediación y Conciliación;
- d) Emitir acuerdos y determinaciones en los asuntos de la competencia del Centro de Mediación y Conciliación; y
- e) Informar mensualmente al Consejo de la Judicatura sobre los asuntos y actividades del Centro de Mediación y Conciliación.

**Atribuciones delegables.**

Artículo 3.2. Son facultades delegables del Director del Centro de Mediación y Conciliación, las siguientes:

- a) Evaluar las solicitudes de los interesados con objeto de designar al mediador-conciliador y determinar el medio alternativo idóneo para el tratamiento del asunto de que se trate;
- b) Cambiar el medio alterno cuando con acuerdo de los participantes resulte conveniente emplear uno distinto al inicialmente elegido;
- c) Dar por terminado el procedimiento de mediación o conciliación cuando alguno de los participantes lo solicite;
- d) Vigilar el cumplimiento de este reglamento, de los manuales, oficios, circulares y acuerdos emitidos para el correcto funcionamiento del Centro de Mediación y Conciliación;
- e) Acordar las reglas para la designación de mediador-conciliador en cada caso;
- f) Revisar y en su caso aprobar, los acuerdos o convenios a que hayan llegado los participantes a través de la mediación o de la conciliación, los cuales deberán ser firmados por ellas y autorizados por el mediador-conciliador que intervino;
- g) Negar el servicio o dar por concluido el procedimiento de mediación o conciliación, en caso de advertir alguna simulación en el trámite del medio alterno.
- h) Todas aquellas previstas en la ley, no comprendidas en el artículo anterior.

**CAPÍTULO IV.  
DEL MEDIADOR-CONCILIADOR.**

**El mediador-conciliador.**

Artículo 4.1. El mediador-conciliador es la persona, con nombramiento oficial, capacitada para facilitar la comunicación y en su caso, proponer una solución a las partes que intervienen en una controversia dentro del Centro de Mediación y Conciliación del Poder Judicial del Estado de México.

**Obligaciones del mediador-conciliador.**

Artículo 4.2. El mediador-conciliador tendrá las obligaciones siguientes:

- a) Desarrollar su función imparcial y neutralmente;
- b) Realizar la mediación o conciliación en la forma y términos establecidos en el presente reglamento y demás disposiciones aplicables;
- c) Vigilar que en el trámite de mediación o conciliación no se afecten derechos de terceros o intereses de menores o incapaces;
- d) Cerciorarse de que los interesados tengan correcto entendimiento del proceso y alcances de la mediación o conciliación desde su inicio hasta su conclusión;
- e) Cerciorarse que la voluntad de los interesados no sufra algún vicio del consentimiento;
- f) Abstenerse de prestar servicios profesionales diversos al de la mediación o conciliación en cualquier tipo de asuntos;
- g) Excusarse de conocer del trámite de la mediación o conciliación en los mismos casos previstos para los jueces, conforme al Código de Procedimientos Civiles del Estado de México;
- h) Mantener la confidencialidad de las actuaciones;
- i) Facilitar la comunicación directa de los interesados;
- j) Propiciar una satisfactoria composición de intereses, mediante el consentimiento informado de las partes;
- k) Auxiliar al órgano jurisdiccional en los casos de conciliación en que sea requerido;
- l) Asistir a los cursos de capacitación o actualización que convoque el Consejo de la Judicatura; y

- m) Acatar las demás disposiciones contenidas en las leyes, reglamentos, manuales, circulares, oficios y acuerdos relativos al servicio de la mediación o conciliación extrajudicial.

## **CAPÍTULO V. DE LOS PARTICIPANTES EN LA MEDIACIÓN O CONCILIACIÓN.**

### **Los participantes en la mediación o conciliación.**

Artículo 5.1. Los participantes en la mediación o conciliación, son las personas que han manifestado expresamente la voluntad de someter al Centro de Mediación y Conciliación, el conflicto existente entre ellas. Las personas jurídicas podrán acudir a esos medios a través de su representante legal, o apoderado, con facultades para transigir y comprometer sus intereses.

### **Derechos de los participantes**

Artículo 5.2. Los participantes tendrán en los procedimientos de mediación y conciliación, los siguientes derechos:

- a) Se les asigne un mediador-conciliador;
- b) Recusar con justa causa al mediador-conciliador que les haya sido designado, en los casos previstos para los jueces, conforme el Código de Procedimientos Civiles del Estado de México;
- c) Intervenir en todas y cada una de las sesiones;
- d) Allegarse por sus propios medios la asistencia técnica o profesional que requieran;
- e) Renunciar o pedir que se suspenda o concluya el trámite de mediación o conciliación en cualquier tiempo; y
- f) Los demás que se les confieran en las leyes, reglamentos, manuales, circulares, oficios y acuerdos correspondientes.

### **Acceso a los Tribunales.**

Artículo 5.3. Los participantes tendrán en todo tiempo el derecho para someter su controversia al conocimiento de los tribunales; sin embargo, no podrán iniciar o continuar un proceso judicial en tanto no concluya el trámite no adversarial al que se haya sometido, salvo cuando signifique la pérdida de un derecho.

**Obligaciones de los participantes.**

Artículo 5.4. Los participantes tendrán en los procedimientos de conciliación o mediación, las siguientes obligaciones:

- a) Mantener la confidencialidad de los asuntos sometidos a un trámite no adversarial;
- b) Observar una conducta respetuosa, tolerante y cortés durante la mediación o conciliación;
- c) Cumplir con los compromisos asumidos en el convenio que pongan fin a la controversia; y
- d) Las demás que se contengan en las leyes y reglamentos.

**CAPÍTULO VI.  
DE LA APERTURA, TRÁMITE Y CONCLUSIÓN DE LA MEDIACIÓN O  
CONCILIACIÓN.**

**Trámite.**

Artículo 6.1. Todo asunto sometido al conocimiento del Centro de Mediación y Conciliación, deberá seguir en su totalidad el trámite que establece este reglamento, por lo que sólo podrán autorizarse los convenios que fueren resultado de las sesiones de mediación y conciliación que se celebren en el Centro.

**Inicio del trámite.**

Artículo 6.2. La apertura del trámite de la mediación o conciliación, será dispuesta por el Director del Centro de Mediación y Conciliación a solicitud de parte interesada, la cual deberá usar el formulario que se le proporcionará para ese efecto.

**Invitación a la sesión inicial.**

Artículo 6.3. Abierto el trámite de la mediación o conciliación, un trabajador social del Centro de Mediación se constituirá en el domicilio de la parte complementaria del solicitante, en el lugar donde trabaje o pudiere localizarla, para invitarla a asistir a una sesión inicial, debiendo asentar la constancia relativa.

**Elementos de la invitación.**

Artículo 6.4. La invitación deberá contener los siguientes elementos:

- a) Nombre y domicilio del destinatario;
- b) Nombre del solicitante;
- c) Fecha de la solicitud;

- d) Indicación del día, hora y lugar de celebración de la sesión inicial;
- e) Nombre del mediador-conciliador.
- f) Síntesis de los hechos que motivan la solicitud.
- g) Nombre y firma del Director del Centro de Mediación y Conciliación; y
- h) Fecha de la invitación.

#### **Explicación de los principios, medios y fines.**

Artículo 6.5. En la sesión inicial el mediador-conciliador informará y explicará a los interesados los principios, medios y fines de la mediación o conciliación.

#### **Nueva invitación.**

Artículo 6.6. Si la primera sesión no pudiere celebrarse por motivos justificados, a petición verbal o por escrito del solicitante, el mediador-conciliador deberá convocar a otra.

#### **Celebración de cuantas sesiones sean necesarias.**

Artículo 6.7. Durante el trámite, el mediador-conciliador podrá convocar a los participantes a cuantas sesiones sean necesarias para el cumplimiento de los fines previstos en este reglamento.

#### **Sesiones orales.**

Artículo 6.8. Las sesiones de mediación o conciliación serán orales; sólo deberá dejarse constancia escrita de su realización, precisando hora, lugar, participantes y fecha de la próxima reunión, la que será firmada únicamente por el mediador-conciliador.

#### **Auxiliares.**

Artículo 6.9. El mediador-conciliador podrá auxiliarse de expertos en la materia de la controversia, para lograr su solución. También podrá hacerse uso de psicólogos que proporcionen terapias a los participantes, con la finalidad de lograr un equilibrio en su estado emocional que les permita iniciar o continuar el procedimiento de mediación o conciliación.

#### **Co-mediación.**

Artículo 6.10. El mediador-conciliador designado en un determinado asunto, podrá auxiliarse de otro u otros mediadores-conciliadores o del Director del Centro de Mediación y Conciliación del Poder Judicial del Estado, con el objeto de garantizar la pronta, pacífica y eficaz solución de las controversias.

#### **Conclusión de la mediación o conciliación.**

Artículo 6.11. El trámite de mediación o conciliación se tendrá por concluido en los siguientes casos:

- a) Por convenio o acuerdo final;
- b) Por decisión de los interesados o alguno de ellos;
- c) Por inasistencia de los interesados a dos o más sesiones sin motivo justificado;
- d) Por negativa de los interesados o alguno de ellos a suscribir el convenio final.

#### **Requisitos del convenio.**

Artículo 6.12. El mediador-conciliador deberá vigilar que el convenio satisfaga los siguientes requisitos:

- a) Constar por escrito, indicando lugar y fecha de celebración;

Nombre, edad, nacionalidad, estado civil profesión u ocupación y domicilio de los interesados;

- b) Describir el documento con el que el apoderado o representante de los interesados acredita su carácter, debiendo agregar copia certificada del mismo;
- c) Declaraciones: Las que contendrán una breve relación de los antecedentes que motivaron el trámite;
- d) Cláusulas: Las que contendrán las obligaciones de dar, hacer o tolerar, así como las obligaciones morales convenidas por los interesados;
- e) El juez competente para el caso de incumplimiento;
- f) Firma y huella digital de los participantes o sus representantes; en caso de que alguno de ellos no supiere firmar, otra persona lo hará a su ruego;
- g) El nombre y firma del mediador-conciliador; y
- h) La certificación del Director del Centro de Mediación y Conciliación de haber revisado el convenio, y en su caso, la certificación de haber sido él quien función como mediador conciliador.

#### **Autorización del Convenio.**

Artículo 6.13. Los convenios sólo serán autorizados en caso de que no contravengan la moral o disposiciones de orden público.

El Director del Centro deberá de asegurarse que los convenios no adolezcan de vicios del consentimiento por lo que no podrán autorizarse convenios que no fuesen resultado de las sesiones de mediación o conciliación desarrolladas en el centro.

### **Efectos de cosa juzgada.**

**A1**

Artículo 6.14. Una vez autorizado el convenio final por el Director del Centro, tendrá respecto de los interesados el carácter de sentencia ejecutoriada con efectos de cosa juzgada.

### **Incumplimiento del convenio.**

Artículo 6.15. Cuando se incumpla el convenio se procederá a su ejecución en la vía de apremio ante el Juez competente, conforme al Código de Procedimientos Civiles. Las obligaciones de contenido ético o moral no serán susceptibles de ejecución coactiva.

### **Juez competente.**

Artículo 6.16. Es juez competente para la ejecución del convenio el que inicialmente haya conocido de la controversia en sede judicial, en su defecto, el señalado en el convenio y a la falta de señalamiento expreso, el del lugar del convenio.

## **CAPÍTULO VII. RESPONSABILIDAD Y SANCIONES.**

### **Vigilancia.**

Artículo 7.1. El Consejo de la Judicatura podrá practicar de oficio o a petición de las partes, visitas de supervisión al Centro de Mediación y Conciliación, para verificar su correcto funcionamiento.

### **Ordenamientos aplicables.**

Artículo 7.2. La responsabilidad del Director del Centro de Mediación y Conciliación y de los mediadores-conciliadores por faltas administrativas, se regirá conforme a lo establecido en la Ley Orgánica del Poder Judicial del Estado de México, la Ley de Responsabilidades de los Servidores Públicos del Estado de México y demás disposiciones legales.

## **ARTÍCULOS TRANSITORIOS.**

ARTICULO PRIMERO.- El presente Reglamento, podrá ser modificado de acuerdo con las circunstancias de funcionamiento del Centro de Mediación y Conciliación.

ARTICULO SEGUNDO.- Publíquese el presente Reglamento en el periódico oficial "Gaceta del Gobierno".

ARTICULO TERCERO.- Este Reglamento entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el periódico "Gaceta del Gobierno".

Así lo acordaron por unanimidad de votos y firmaron los integrantes del Consejo de la Judicatura del Estado de México, en sesión celebrada el día cinco de marzo del año 2003.

**PRESIDENTE.**  
**MGDO. LIC. ABEL VILICAÑA ESTRADA.**  
**(RUBRICA).**

**MAGISTRADO CONSEJERO**  
**LIC. RIGOBERTO F. GONZALEZ TORRES.**  
**(RUBRICA).**

**MAGISTRADO CONSEJERO.**  
**LIC. JOSE C. CASTILLO AMBRIZ.**  
**(RUBRICA).**

**JUEZ CONSEJERO**  
**LIC. MIGUEL ANGEL PULIDO GARCIA.**  
**(RUBRICA).**

**JUEZ CONSEJERO.**  
**LIC. T. ISAIAS MEJIA AVILA.**  
**(RUBRICA).**

**SECRETARIO GENERAL DE ACUERDOS.**  
**LIC. GUILLERMO ESTRADA CARRASCO.**  
**(RUBRICA).**

**APROBACION:**  
**PUBLICACION:**  
**VIGENCIA:**

05 de marzo del 2003  
19 de marzo del 2003  
20 de marzo del 2003



EXHORTOS RECIBIDOS	73	EXHORTOS DILIGENCIADOS	9	EXHORTOS DEVUELTOS POR DIVERSAS CAUSAS	24
AUDIENCIAS CELEBRADAS	71	AUDIENCIAS SUSPENDIDAS	38	SENTENCIAS PENDIENTES POR DICTAR	1
AMPAROS NEGADOS	3	AMPAROS CONCEDIDOS	0	AMPAROS PARA EFECTOS	0
APELACIONES INTERPUESTAS	7	CONFIRMADAS	4	MODIFICADAS	0
				REVOCADAS	0

OBSERVACIONES

DEBERA PRECISARSE EL MOTIVO DEL A CONCLUSION

LA FORMA NORMAL POR LA CUAL TERMINA UN ASUNTO ES POR SENTENCIA DEFINITIVA DICTADA POR EL JUEZ DEL CONOCIMIENTO MEDIANTE LA CUAL

SE RESUELVE EL FONDO DEL ASUNTO

LA FORMA ANORMAL (OTROS MOTIVOS)

POR CADUCIDAD DE LA INSTANCIA

POR DESISTIMIENTO DE LA ACCION DE LAS PARTES

POR MUERTE DE UNA DE LAS PARTES

OTROS (ESPECIFICAR):

---



---



---



---



---



---



EXHORTOS RECIBIDOS	82	EXHORTOS DILIGENCIADOS	33	EXHORTOS DEVUELTOS POR DIVERSAS CAUSAS	22
AUDIENCIAS CELEBRADAS	65	AUDIENCIAS SUSPENDIDAS	15	SENTENCIAS PENDIENTES POR DICTAR	2
AMPAROS NEGADOS	5	AMPAROS CONCEDIDOS	2	AMPAROS PARA EFECTOS	0
APELACIONES INTERPUESTAS	10	CONFIRMADAS	5	MODIFICADAS	0
				REVOCADAS	3

OBSERVACIONES

DEBERA PRECISARSE EL MOTIVO DEL A CONCLUSION  
 LA FORMA NORMAL POR LA CUAL TERMINA UN ASUNTO ES POR SENTENCIA DEFINITIVA DICTADA POR EL JUEZ DEL CONOCIMIENTO MEDIANTE LA CUAL SE RESUELVE EL FONDO DEL ASUNTO  
 LA FORMA ANORMAL (OTROS MOTIVOS)  
 POR CADUCIDAD DE LA INSTANCIA  
 POR DESISTIMIENTO DE LA ACCION DE LAS PARTES  
 POR MUERTE DE UNA DE LAS PARTES  
 OTROS (ESPECIFICAR):

---



---



---



---



---



---

A2



EXHORTOS RECIBIDOS	80	EXHORTOS DILIGENCIADOS	50	EXHORTOS DEVUELTOS POR DIVERSAS CAUSAS	15
AUDIENCIAS CELEBRADAS	50	AUDIENCIAS SUSPENDIDAS	15	SENTENCIAS PENDIENTES POR DICTAR	2
AMPAROS NEGADOS	5	AMPAROS CONCEDIDOS	2	AMPAROS PARA EFECTOS	0
APELACIONES INTERPUESTAS	9	CONFIRMADAS	4	MODIFICADAS	2
				REVOCADAS	0

OBSERVACIONES

DEBERA PRECISARSE EL MOTIVO DEL A CONCLUSION  
 LA FORMA NORMAL POR LA CUAL TERMINA UN ASUNTO ES POR SENTENCIA DEFINITIVA DICTADA POR EL JUEZ DEL CONOCIMIENTO MEDIANTE LA CUAL SE RESUELVE EL FONDO DEL ASUNTO  
 LA FORMA ANORMAL (OTROS MOTIVOS)  
 POR CADUCIDAD DE LA INSTANCIA  
 POR DESISTIMIENTO DE LA ACCION DE LAS PARTES  
 POR MUERTE DE UNA DE LAS PARTES  
 OTROS (ESPECIFICAR):

---



---



---



---



---

**A3**



EXHORTOS RECIBIDOS	75	EXHORTOS DILIGENCIADOS	45	EXHORTOS DEVUELTOS POR DIVERSAS CAUSAS	15
AUDIENCIAS CELEBRADAS	63	AUDIENCIAS SUSPENDIDAS	15	SENTENCIAS PENDIENTES POR DICTAR	2
AMPAROS NEGADOS	3	AMPAROS CONCEDIDOS	0	AMPAROS PARA EFECTOS	0
APELACIONES INTERPUESTAS	15	CONFIRMADAS	6	MODIFICADAS	0
				REVOCADAS	0

OBSERVACIONES

DEBERA PRECISARSE EL MOTIVO DEL A CONCLUSION

LA FORMA NORMAL POR LA CUAL TERMINA UN ASUNTO ES POR SENTENCIA DEFINITIVA DICTADA POR EL JUEZ DEL CONOCIMIENTO MEDIANTE LA CUAL

SE RESUELVE EL FONDO DEL ASUNTO

LA FORMA ANORMAL (OTROS MOTIVOS)

POR CADUCIDAD DE LA INSTANCIA

POR DESISTIMIENTO DE LA ACCION DE LAS PARTES

POR MUERTE DE UNA DE LAS PARTES

OTROS (ESPECIFICAR):

---



---



---



---



---



---

**A3**



PODER JUDICIAL  
CONSEJO DE LA JUDICATURA  
DEPARTAMENTO DE OFICIALIA DE PARTES Y  
ESTADISTICA

---

RESUMEN DE ESTADISTICA INFORME ANUAL CENTRO DE MEDIACIÓN Y CONCILIACIÓN
--

CENTRO DE MEDIACIÓN Y CONCILIACIÓN DE TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO DICIEMBRE DE 2005

TOTAL DE EXPEDIENTES DE MEDIACIÓN	7,003
TOTAL DE EXPEDIENTES DE MEDIACIÓN CONCLUIDOS POR CONVENIO	4,193
TOTAL DE SESIONES DE MEDIACIÓN	8,759

SELLO DEL CENTRO

NOMBRE Y FIRMA DEL DIRECTOR DEL  
CENTRO DE MEDIACIÓN Y CONCILIACIÓN

---

SELLO DE RECEPCION

**A4**