



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Evaluación Nutrimental y Funcional
de Germinados de Amaranto
(*Amaranthus hypochondriacus L.*)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

ELIAS DAVID YOS SANCHEZ

ASESOR: DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MANRIQUE
COASESOR: I.A. VERÓNICA JIMÉNEZ VERA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Evaluación Nutricional y Funcional de Germinados de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.).

Que presenta el pasante: **Elias David Yos Sanchez**

Con número de cuenta: **302758500** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

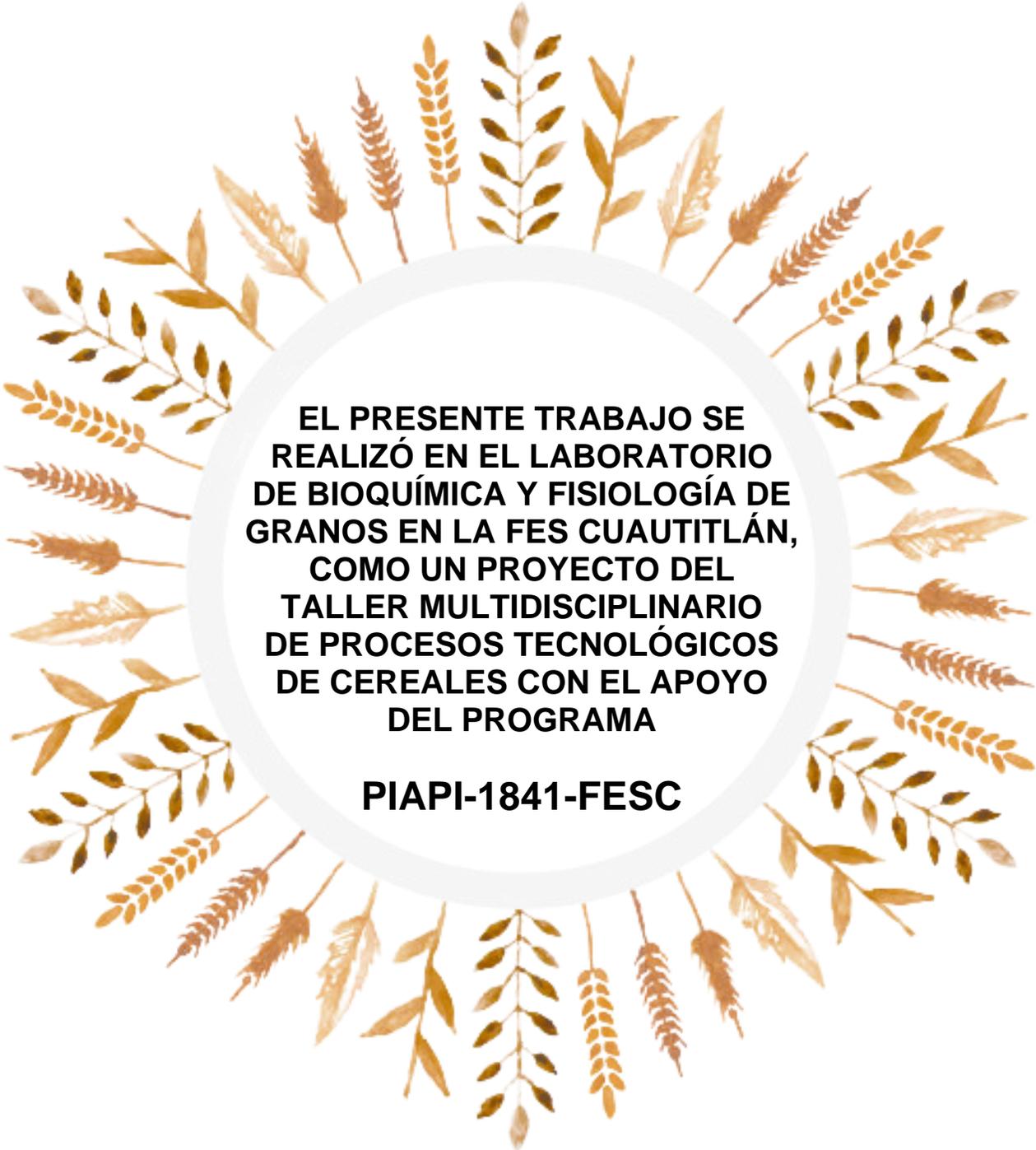
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Febrero de 2020.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>I.Q. María Elena Quiroz Macias</u>	
VOCAL	<u>I.A. Miriam Alvarez Velasco</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. Enrique Martínez Manrique</u>	
1er. SUPLENTE	<u>M. en C. Sandra Margarita Rueda Enriquez</u>	
2do. SUPLENTE	<u>Dra. Alma Adela Lira Vargas</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*



**EL PRESENTE TRABAJO SE
REALIZÓ EN EL LABORATORIO
DE BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGIA DE
GRANOS EN LA FES CUAUTILÁN,
COMO UN PROYECTO DEL
TALLER MULTIDISCIPLINARIO
DE PROCESOS TECNOLÓGICOS
DE CEREALES CON EL APOYO
DEL PROGRAMA**

PIAPI-1841-FESC

*A mi abue Lola y Alan,
mis grandes pilares de vida.*

AGRADECIMIENTOS

“La gratitud da sentido a nuestro pasado, trae paz al presente y crea una visión para el mañana” - Melody Beattie

A la Universidad Nacional Autónoma de México por facilitar mi formación académica, cultural y humana a lo largo de tantos años dentro de las instalaciones de la FES Cuautitlán.

A toda mi familia, que a pesar de la distancia me brindo su amor, apoyo y confianza, sin todos ellos no sería la persona que soy.

De nuevo a Alan, por tu amor, paciencia, apoyo y principalmente por creer en mi.

A mis asesores, el Dr. Enrique Martínez M. por su conocimiento y todo el tiempo dedicado a este trabajo. Y a mi coasesora I.A. Verónica Jiménez por todo el arduo trabajo dedicado a este proyecto y sus consejos. Gracias de nuevo a ambos por aceptarme en el laboratorio.

A mis amigos que me dio la carrera y también los que me dio la vida, por darme ese maravilloso regalo llamado amistad, y por brindarme su apoyo aún sin que yo se los pida.

A todos mis profesores durante la carrera por ayudarme a forjarme como profesionista.

A los miembros de mi jurado, por darse el tiempo de revisar mi tesis y por sus sugerencias.

Al M. en C. Crisóforo Mercado Márquez, responsable de la unidad de aislamiento animal y bioterio, por el apoyo técnico proporcionado en las pruebas PER y digestibilidad *in vivo* en ratones.

Y a todos aquellos que alguna vez me dieron la mano de forma desinteresada.

David Yos.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
1. ANTECEDENTES.....	4
1.1. Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L.).....	4
1.1.1. Origen e historia	4
1.1.2. Taxonomía	4
1.1.3. Características de la semilla.....	6
1.1.4. Composición nutrimental	6
1.1.4.1. Proteínas	7
1.1.4.2. Carbohidratos.....	8
1.1.4.3. Lípidos	9
1.1.4.4. Vitaminas	10
1.1.4.5. Minerales	10
1.1.5. Cultivo de Amaranto en México	11
1.1.6. Subproductos del Amaranto.....	12
1.2. Semillas y germinación	13
1.2.1. Aspectos generales de semillas	13
1.2.2. Germinación de semillas.....	13
1.2.3. Condiciones de germinación	14
1.2.4. Composición química y nutrimental de germinados	14
1.3. Alimentos funcionales	15
1.3.1. Germinados como alimentos funcionales	16
1.4. Calidad nutrimental.....	16
1.4.1. Digestibilidad <i>in vitro</i>	17
1.4.2. Digestibilidad <i>in vivo</i>	17
1.4.3. PER.....	18
1.4.4. Triptófano	18
1.5. Factores antinutrimientales	19
1.5.1. Taninos	20
1.5.2. Ácido fítico	20
1.5.3. Inhibidores de tripsina.....	20
1.6. Compuestos funcionales	21
1.6.1. Almidón total.....	21
1.6.1.1. Estructura química de la molécula de almidón	21
1.6.2. Almidón resistente	22
1.6.3. Fibra dietética	23
1.6.4. Capacidad antioxidante	25
1.6.5. Compuestos fenólicos	26
2. OBJETIVOS.....	27
2.1. Objetivo general.....	27
2.2. Objetivos particulares.....	27
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. Cuadro metodológico	28

3.2. Actividades preliminares.....	29
3.2.1. Material biológico.....	29
3.2.2. Germinación de la semilla de amaranto.....	29
3.2.3. Medición de la plántula.....	30
3.2.4. Índice de conversión.....	31
3.2.5. Obtención de muestra seca.....	31
3.3. Análisis químico proximal (AQP)	32
3.3.1. Determinación de humedad por el método rápido de la termobalanza.....	32
3.3.2. Determinación de humedad por el método de sólidos totales y humedad en harina.....	32
3.3.3. Determinación de porcentaje de proteínas por el método Microkjeldahl.....	33
3.3.4. Determinación de porcentaje de lípidos o extracto etéreo por extracción Soxhlet.....	33
3.3.5. Determinación de porcentaje de cenizas por el método de incineración.....	34
3.3.6. Determinación de fibra por el método de fibra cruda o Weende.....	35
3.3.7. Determinación de porcentaje de hidratos de carbono.....	36
3.4. Calidad nutrimental.....	36
3.4.1. Digestibilidad <i>in vitro</i>	36
3.4.2. Relación eficiencia proteica (PER).....	37
3.4.3. Determinación de triptófano.....	38
3.5. Factores antinutrimientales	39
3.5.1. Determinación de taninos.....	39
3.5.2. Determinación ácido fítico	39
3.5.3. Determinación de inhibidores de tripsina.....	40
3.6. Compuestos funcionales	41
3.6.1. Determinación de almidón total.....	41
3.6.2. Determinación de almidón resistente	41
3.6.3. Determinación de almidón digerible.....	42
3.6.4. Determinación de fibra dietética.....	42
3.6.5. Determinación de capacidad antioxidante.....	42
3.6.6. Determinación de compuestos fenólicos.....	43
3.7. Análisis estadístico	44
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
4.1. Crecimiento de plántula e índice de conversión.....	45
4.2. Análisis químico proximal	45
4.3. Calidad nutrimental: digestibilidad <i>in vitro</i> y contenido de triptófano	47
4.4. Factores antinutrimientales: taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina.....	48
4.5. Determinación del mejor tiempo de germinación	49
4.6. Compuestos funcionales: almidón total y resistente, fibra dietética, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos	50
4.7. Relación de eficiencia proteica y digestibilidad aparente.....	51
5. CONCLUSIONES	54
6. RECOMENDACIONES	55
7. REFERENCIAS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Amaranto _____	5
Tabla 2. Composición química de la semilla de Amaranto (por 100 g de parte comestible y en base seca) _____	7
Tabla 3. Contenido de proteína del amaranto comparado a los principales cereales (g./100 g. parte comestible) _____	7
Tabla 4. Contenido y cómputo de aminoácidos de la proteína de Amaranto (mg. de aminoácidos / g. de proteína) _____	8
Tabla 5. Contenido de ácidos grasos en el aceite de la semilla de Amaranto y otros productos. _____	9
Tabla 6. Contenido de vitaminas en semilla de Amaranto mg./100 g. _____	10
Tabla 7. Contenido de minerales en diferentes especies de Amaranto (mg./g. base seca) _____	10
Tabla 8. Producción anual de Amaranto por estado del año 2012 al 2017 _____	11
Tabla 9. Composición química de semillas y germinados (g. / 100 g. peso seco) _____	15
Tabla 10. Sustancias que se incluyen en el concepto de fibra _____	24
Tabla 11. Características del germinado de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	45
Tabla 12. Análisis químico proximal de germinados de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	45
Tabla 13. Resultados de digestibilidad <i>in vitro</i> y contenido de triptófano de germinados de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	47
Tabla 14. Resultados de factores antinutrientales de germinados de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	48
Tabla 15. Resultados de fibra dietética, almidón total y resistente de germinados de cuatro días de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	50
Tabla 16. Resultados de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de germinados de cuatro días de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	51
Tabla 17. Resultados de digestibilidad aparente y eficiencia proteica en germinados de cuatro días de Amaranto (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L) variedad Tulyehualco. _____	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fotografías de tres especies de <i>Amaranthus</i> (de izquierda a derecha: <i>A. hypochondriacus</i> , <i>A. cruentus</i> y <i>A. Caudatus</i>) _____	5
Figura 2. Diagrama de sección longitudinal de semilla de amaranto _____	6
Figura 3. Producción anual de Amaranto del año 2012 al 2017 _____	11
Figura 4. Estructura química del triptófano. _____	19
Figura 5. Efectos fisiológicos de la fibra _____	24
Figura 6. Cuadro Metodológico. _____	28
Figura 7. Semillas de amaranto pesadas (izquierda) y en remojo (derecha). ____	29
Figura 8. Esparcimiento de semillas y etiquetado. _____	30
Figura 9. Medición de plántula de 5 días de germinación. _____	30
Figura 10. Pesado del germinado de amaranto. _____	31
Figura 11. Germinados retirados de tela soporte (izquierda) y secado en horno (derecha). _____	32
Figura 12. Distribución homogénea de las ratas para el bioensayo. _____	37

RESUMEN

El amaranto es un pseudocereal que fue cultivado y utilizado desde la época prehispánica en México, pero su cultivo fue severamente penado por los españoles por su uso religioso, lo que originó su declive. En la actualidad ha sido revalorado por su contenido nutricional y el relativo fácil manejo para su procesamiento; sin embargo, el principal uso que se le da a esta semilla es el dulce típico “alegría”, por lo que una forma de diversificar su uso y aumentar su valor nutrimental podría ser la obtención de sus germinados. Los germinados son alimentos que se obtienen a partir de hacer germinar las semillas, son una excelente fuente de vitaminas, minerales, enzimas y oligoelementos por lo que también se les considera alimento funcional. Los germinados aumentan potencialmente su riqueza nutricional conforme se desarrollan hasta alcanzar un nivel óptimo, es por eso que en el presente proyecto se evaluó el efecto de la germinación de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) sobre su calidad nutricional y funcional al compararlo con el grano sin germinar. En primer lugar, se determinaron las condiciones de germinación del grano de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) mediante la medición del crecimiento de plántula y el índice de conversión de germinados de 2, 3, 4 y 5 días a 25 °C con ausencia de luz. Se tuvo un incremento en el tamaño de la plántula y el índice de conversión en relación directa con el tiempo de germinación. Una vez establecidas las condiciones de germinación, se procedió a evaluar el efecto que tuvo el tiempo de germinación sobre su calidad nutrimental mediante un análisis químico proximal, digestibilidad *in vitro* e *in vivo*, PER, contenido de triptófano y de factores anti nutrimentales (taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina), con estos resultados se seleccionó el mejor tiempo de germinación. Posteriormente se evaluaron los compuestos funcionales (fenoles, capacidad antioxidante, fibra dietética, almidón total, digerible y resistente) a la muestra seleccionada. Los resultados obtenidos indicaron que el mejor tiempo de germinación fue de 4 días, ya que el germinado presentaba buen crecimiento de plántula e índice de conversión, además, se tuvieron los mayores porcentajes de proteínas, grasa y fibra, una digestibilidad buena y el valor de triptófano mayor, y los factores antinutrientales, taninos y ácido fítico, fueron disminuyendo. La evaluación de los compuestos funcionales a los germinados de 4 días, mostraron que se obtuvo el doble de fibra dietética que en el grano y una disminución cercana al 50% en todos los almidones pues es la principal fuente de energía que se usa para crecimiento de la plántula, la germinación disminuyó la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos comparada con la semilla, aunque en todos los casos los valores son aun mayores al compararlos con otros granos y leguminosas, cumpliendo la definición de alimento funcional. Por lo que se puede decir que los germinados de amaranto presentaron una mejora en su calidad nutrimental comparada con la semilla y puede ser una opción diferente para el consumo de este alimento, apoyando la diversificación de usos de esta semilla.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de amaranto data de hace más de 4.000 años en el continente americano. Los principales granos que encontraron los españoles a su llegada a América fueron: maíz, frijol, quinua y amaranto, este último, además de alimento, formaba parte de ciertos ritos religiosos de los Aztecas o era utilizado como pago de tributos o impuestos. Por su uso en actos religiosos fue prohibido por los españoles y desde entonces, se ha ignorado su cultivo y valor alimenticio en América Latina (Nieto, 1990). Desde el punto de vista nutricional y alimentario, el amaranto es un alimento completo, ya que contiene ocho aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales. La variedad que se consume en México tiene un promedio de aproximadamente 16-18% de proteína, lo cual lo pone en ventaja con otras variedades de cereales y su calidad proteica es sobresaliente por su alto contenido de lisina. En lo que respecta a otros componentes nutricionales, el contenido de lípidos, fibra y cenizas de la semilla de amaranto por lo general es más alto que en los cereales. La semilla contiene sodio, potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre, manganeso, níquel y hierro. Además, contiene tocotrienoles y otros componentes con propiedades antihipertensivas recientemente investigadas y de gran interés científico (Suárez *et al.*, 2013).

A pesar de ser considerado por la FAO como el cultivo con mayor potencial técnico de desarrollo para las regiones andinas y costeras de América debido a las características nutritivas de la planta completa, así como su capacidad de resistencia a suelos y climas secos, presenta una curva de producción muy lenta debido principalmente a los bajos rendimientos (Luis *et al.*, 2018). Actualmente en México se cultiva en Puebla, Estado de México, Morelos, Tlaxcala, CDMX, Jalisco y Oaxaca. En la CDMX se cultiva amaranto preponderantemente en Santiago Tulyehualco, donde se ha ido transmitiendo de generación en generación la producción tradicional del amaranto (Escalante-Escoffié, 2010). El amaranto es principalmente usado para el consumo humano de varias maneras; destacando entre ellas la elaboración de dulces sólidos con sus semillas o bebidas a base de harina, también como verdura, como forraje para el ganado y para la obtención de aceites y productos cosméticos. (Luis *et al.*, 2018). Por el tipo de presentación del grano, en México se producen 79.9 % de productos a base de grano reventado, 17.2 % a base de harina y 2.9 % a base de extruido (Ayala-Garay *et al.*, 2016) por lo que es importante impulsar otras formas de consumo como los germinados.

Los germinados son ampliamente consumidos en países orientales y europeos desde la antigüedad y han mostrado tener un efecto benéfico sobre la salud al reducir el riesgo de adquirir enfermedades e incrementar la longevidad (Salas-Pérez *et al.*, 2016). Los germinados cobran gran importancia por el buen balance dietético, composición química y su contenido de vitaminas. Además, la presencia de nutraceuticos como antioxidantes y fitoestrógenos en germinados de algunas especies (alfalfa), proporcionan a los consumidores mecanismos de defensa endógeno de una manera natural (Barrón-Yañez *et al.*, 2009) los cuales son

influenciados por las condiciones de producción, la calidad de las semillas, y las condiciones de germinación (Dziki *et al.*, 2015).

En México, la obesidad y la desnutrición (malnutrición) son un grave problema de salud pública, ante lo que las políticas de disminución de la pobreza alimentaria han tenido resultados de bajo impacto y con efectos poco visibles, por lo que el rescate de cultivos nutritivos y funcionales como el amaranto surge como una alternativa para contribuir a mejorar la dieta alimenticia y favorecer la disminución de los problemas de malnutrición. Incentivar la producción, transformación y distribución de cultivos como el amaranto, constituye una opción en la búsqueda de la seguridad alimentaria nacional, mejorando las condiciones económicas de las localidades productoras de amaranto y contribuyendo en los alcances mínimos nutricionales de las dietas en comunidades en condición de vulnerabilidad (Martínez, 2016).

Aunque existen numerosos estudios sobre la ventaja del consumo de germinados (Zhu *et al.*, 2005); son pocos los que tratan sobre la variación del valor nutricional durante la germinación. Por lo tanto, el objetivo de este estudio será evaluar el efecto de la germinación de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L.*) sobre su calidad nutrimental y funcional.

Para lograrlo se evaluará la germinación de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L.*) variedad Tulyehualco durante 2, 3, 4 y 5 días a 25 °C con ausencia de luz para determinar las mejores condiciones de germinación, posteriormente se evaluará en las muestras secas y molidas el efecto que tuvo el tiempo de germinación sobre su calidad nutrimental, esto mediante un análisis químico proximal, digestibilidad *in vitro* e *in vivo*, PER, contenido de triptófano y de factores anti nutrimentales (taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina), y con ello determinar el mejor tiempo de germinación. Por último, a la muestra seleccionada se le determinarán los compuestos funcionales (fenoles, capacidad antioxidante, fibra dietética, almidón total, digerible y resistente) para concluir si es un alimento funcional.

1. ANTECEDENTES

1.1. Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

1.1.1. Origen e historia

El amaranto, nombre derivado del griego que significa "inmortal" e "inmarchitable", es uno de los más antiguos cultivos alimenticios conocidos (Nieto, 1990).

El cultivo de amaranto data de más de 4.000 años en el Continente Americano. Los principales granos que encontraron los españoles a su llegada a América fueron: maíz, frijol, quinua y amaranto, este último, además de alimento, formaba parte de ciertos ritos religiosos de los Aztecas o era utilizado como pago de tributos o impuestos. Por su uso en actos religiosos fue prohibido por los españoles y desde entonces, se ha ignorado su cultivo y valor alimenticio en América Latina, a pesar de que en otros continentes es muy relevante ya sea para la alimentación humana o animal. Actualmente se está retornando a su explotación en varios países latinos y en México debido entre otros factores a su excelente calidad nutritiva, y a su amplio rango de adaptación a ambientes desfavorables para otros cultivos (Nieto, 1990).

Durante la época prehispánica, el amaranto fue muy valioso por varias razones. Fue uno de los granos más cultivados entre los aztecas y uno de los alimentos más importantes en la dieta de varias culturas; por su alto contenido nutrimental, en temporadas de escasez de maíz, era un excelente sustituto alimenticio, ya fuera en semilla u hoja. Además, tenía un uso ritual: el grano era el ingrediente base para la elaboración de figuras de Dioses, mismas que eran consumidas en distintas ceremonias y finalmente, se llegó a emplear como un bien para el intercambio (Sahagún, 2006).

1.1.2. Taxonomía

El amaranto es una planta perteneciente a la familia de las Amarantáceas, la cual posee 70 géneros y más de 850 especies, de las cuales la mayoría son nativas de América y sólo 15 especies provienen de Europa, Asia, África y Australia (Robertson, 1981).

Las diferentes especies del género *Amaranthus* son plantas anuales, herbáceas, de tallos suculentos cuando tiernos y algo lignificados cuando maduros, pueden medir hasta 3 m de altura. Poseen raíces del tipo axonomorfo bien desarrolladas, con numerosas raíces secundarias y terciarias. La planta tiene por lo general un eje central bien diferenciado y muchas especies y variedades tienden a ramificar a media altura o desde la base del tallo. Las hojas son generalmente opuestas o alternas, sin estípulas de forma elíptica, aovada, lisa o poco pubescente con nervaduras pronunciadas. El color de la planta va desde verde hasta púrpura con varios colores intermedios como el rojo, rosado, café, etc. Las inflorescencias son muy vistosas y se presentan desde totalmente erectas hasta decumbentes y en cuanto a colores pueden observarse: amarillas, naranjas, cafés, amarillentas, rojas, rosadas o púrpuras (Nieto, 1990).

La clasificación Taxonomica completa del Amaranto se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Amaranto

Reino	Plantae
División	Fanerogama
Tipo	Embryophyta siphonogama
Subtipo	Angiosperma
Clase	Dicotiledoneae
Subclase	Archyclamidaeae
Orden	Centrospermales
Familia	Amaranthaceae
Género	<i>Amaranthus</i>
Sección	<i>Amaranthus</i>
Especies	<i>caudatus, cruentus e hypochondriacus</i>

Fuente: FAO 1985.

Técnicamente el grano de amaranto es considerado como un pseudocereal, ya que tiene características similares a las de los granos de cereales verdaderos de las monocotiledóneas. Al igual que éstos, contiene cantidades importantes de almidón, con la diferencia de que éste se encuentra almacenado en el perispermo y el embrión ocupa gran parte del grano, conformando así una buena fuente de lípidos y también de proteínas. Sin embargo, por ser una dicotiledónea, no es considerado como un cereal verdadero (Becerra, 2000). Sólo tres especies de amaranto se utilizan actualmente para la producción de grano: *A. cruentus* L., *A. caudatus* L. y *A. hypochondriacus* L. , las cuales se pueden observar en la figura 1 junto con sus inflorescencias.



Figura 1. Fotografías de tres especies de *Amaranthus* (de izquierda a derecha: *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. Caudatus*)

Fuente: (Sunil et al., 2014).

1.1.3. Características de la semilla

La semilla del amaranto es muy pequeña, mide de 1 a 1.5 mm de diámetro y el número de semillas por gramo oscila entre 1.000 y 3.000. Son de forma circular y de colores variados, así: existen granos blancos, blanco amarillentos, dorados, rosados, rojos y negros (Nieto, 1990).

La semilla esta constituida por cuatro partes principales las cuales se indican en la figura 2: episperma que viene a ser la cubierta seminal, endosperma que viene a ser la segunda capa, embrión formado por los cotiledones que es la más rica en proteínas y una interna llamada perisperma rica en almidones (Irving *et al.*, 1981).

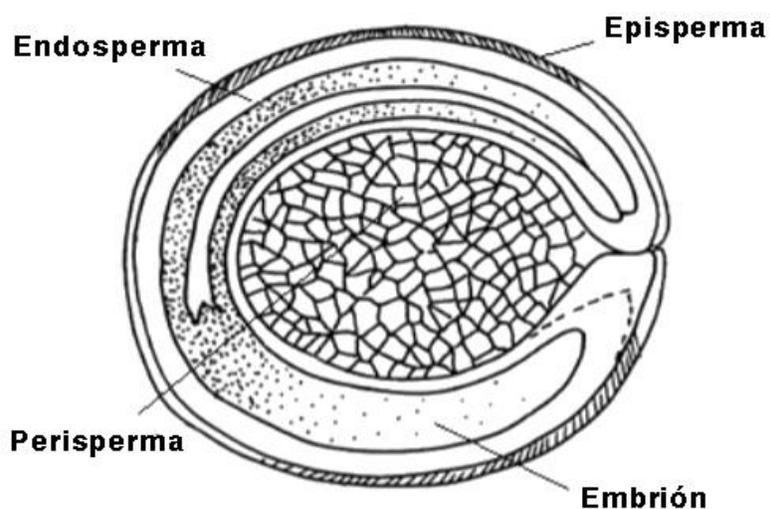


Figura 2. Diagrama de sección longitudinal de semilla de amaranto
Fuente: (Modificada de Irving *et al.*, 1981).

1.1.4. Composición nutrimental

El valor alimenticio del amaranto es relevante en proteína, y dentro de esta, su contenido de lisina es muy superior al de los demás alimentos de uso común. Son significativos los contenidos de grasa, fibra y minerales, dentro de estos últimos sobresalen el hierro y el calcio (Nieto, 1990).

La tabla 2 muestra la composición química del Amaranto, su aporte energetico y el contenido de algunos minerales y vitaminas presentes.

Tabla 2. Composición química de la semilla de Amarantho (por 100 g de parte comestible y en base seca)

Característica	Contenido
Proteína (g)	12 - 19
Carbohidratos (g)	71,8
Lípidos (g)	6,1 - 8,1
Fibra (g)	3,5 - 5,0
Cenizas (g)	3,0 - 3,3
Energía (kcal)	391
Calcio (mg)	130 - 164
Fósforo (mg)	530
Potasio (mg)	800
Vitamina C (mg)	1,5

Fuente: Nieto, 1990.

1.1.4.1. Proteínas

Sus proteínas tienen mejor calidad que las proteínas de cereales tan comunes como el trigo y el arroz. Su calidad se asemeja incluso a proteínas de origen animal como las de leche de vaca y huevo de gallina; además sus proteínas poseen un alto grado de digestibilidad (Terán *et al.*, 2015).

El contenido de proteína del grano de amaranto es elevado y algo mayor que el de otros cereales como se puede ver en la tabla 3. Las proteínas de amaranto están constituidas principalmente por albúminas que conforman alrededor del 49 al 65 % del total, seguidas en abundancia por las glutelinas, 22.4 al 42.3 %, las globulinas, 13.7 al 18.1 % y finalmente las prolaminas que conforman del 1 al 3.2 % del total de las proteínas (Terán *et al.*, 2015).

Tabla 3. Contenido de proteína del amaranto comparado a los principales cereales (g./100 g. parte comestible)

Cultivo	Proteína
Amaranto	13.6 – 18.0
Cebada	9.5 – 17.0
Maíz	9.4 – 14.2
Arroz	7.5
Trigo	14.0 – 17.0
Centeno	9.4 – 14.0

Fuente: Modificada de USDA, 2019.

El balance de aminoácidos y valor nutritivo en general es muy similar a los niveles recomendados por la FAO para la alimentación humana, como se puede ver en la tabla 4 (Nieto, 1990).

Tabla 4. Contenido y cómputo de aminoácidos de la proteína de Amaranto (mg. de aminoácidos / g. de proteína)

Aminoácidos	Patrón de aminoácidos(a)	A. <i>caudatus</i> (b)	A. <i>hypochondriacus</i> (c)	A. <i>cruentus</i> (c)
isoleucina	28	52	39	36
leucina	66	46	57	51
lisina	58	67	55	51
metionina + cistina	25	35	47	40
fenilalanina + tirosina	63	63 (d)	73	60
treonina	34	51	36	34
triptófano	11	11	---	---
valina	35	45	45	42
histidina	19	25	25	24
cómputo aminoacídico		70	86	77

Fuente: (a) FAO/OMS/ONU, 1985; (b) Collazos, 1975.

Es interesante que su alto contenido en lisina y metionina lo hace un alimento ideal para combinarse con cereales y leguminosas, debido a que éstos últimos son deficientes precisamente en esos aminoácidos respectivamente. Así mismo, el amaranto es deficiente en triptófano, aminoácido abundante en los cereales, de manera que la combinación de cereales con amaranto permite un balance de aminoácidos bastante equilibrado (Algara *et al.*, 2016).

La calidad de las proteínas no depende sólo de la composición de aminoácido sino también de la biodisponibilidad (digestibilidad). La digestibilidad proteica, la disponibilidad de lisina y la utilización proteica neta de las proteínas de amaranto son definitivamente superiores a las de los cereales y similares a las de la caseína (Salcedo-Chávez *et al.*, 2002).

1.1.4.2. Carbohidratos

En la semilla de amaranto se tiene como principal constituyente al almidón, ya que se encuentra en un rango del 62 a 72% para *A. hypochondriacus* del total de hidratos de carbono contenidos en la semilla.

Se ha descrito que el grano de amaranto contiene alrededor de 60% de su peso seco de almidón contenido en gránulos poligonales relativamente pequeños de entre 1 y 3 micrómetros, aunque en algunas ocasiones pueden ser gránulos esféricos. La temperatura de gelatinización del almidón de amaranto se encuentra en 68°C (Algara *et al.*, 2016).

El contenido de hidratos de carbono del amaranto con respecto a otros cereales es de 63g/100g, situándose así como el que menor contenido de azúcares tiene. Entre los hidratos de carbono de importancia que se reportan en el amaranto están: las amilopectinas que van de 4.8 a 7.2%, la sacarosa (1.08- 2.26%), rafinosa (0.45-1.23%), estaquiosa (0.02-0.15%), maltosa (0.02-0.36%) e inositol (<0.02), los dos últimos contenidos en poca proporción (Beltran, 2010).

1.1.4.3. Lípidos

El contenido de aceite en semillas de amaranto oscila entre 5 y 8% dependiendo de las condiciones ambientales, especies de planta y variedad, así como algunos otros factores. El aceite de amaranto es considerado un aceite comestible de alta calidad debido a los remarcables porcentajes de ácidos grasos: ácido linoléico (45%), oleico (29%), palmítico (22%) y en menor cantidad ácido esteárico (3%) (Algara *et al.*, 2016; Robles, 2017).

El contenido de ácidos grasos comparado con otros productos como el Maíz y Soya se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Contenido de ácidos grasos en el aceite de la semilla de Amaranto y otros productos.

Ácido graso	Ácido graso (%)		
	Amaranto	Maíz	Soya
Palmítico	18.8	11	10.7
Esteárico	3.8	2	3.9
Oléico (Ω 9)	24.1	24.1	22.8
Linoléico (Ω 6)	51	61.9	50.8
Linolénico (Ω 3)	0.8	0.7	6.8

Fuente: Robles, 2017.

El aceite de amaranto promueve actividades biológicas interesantes gracias a sus componentes entre los que hay que destacar a los tocoferoles y tocotrienoles conocidos por su actividad antioxidante, a los fitoesteroles y escualeno los cuales disminuyen el colesterol en sangre. Además, varios de los componentes del aceite se han utilizado para el cuidado de la salud de la piel o como cosméticos, lo cual amplía el campo de aplicación del aceite de amaranto además de su aplicación en alimentos funcionales (Robles, 2017).

1.1.4.4. Vitaminas

En la semilla de amaranto no se tienen grandes cantidades de vitaminas, comparado con otros cereales como se muestra en la tabla 6. Sin embargo, se tienen cantidades suficientes para una alimentación sana y balanceada (García, 2010).

Tabla 6. Contenido de vitaminas en semilla de Amaranto mg./100 g.

Vitaminas	Contenido
Tiamina	0.25-0.90
Riboflavina	0.03-0.29
Niacina	1.0-2.1
Biotina	42.5-51.3
Ac. Fólico	42.1-43.8
Vitamina C	1.7-2.8

Fuente: García, 2010.

Se puede señalar a la niacina como una vitamina que se encuentra en menor proporción en el amaranto con respecto a otros cereales. Por otro lado, la cantidad de biotina y ácido fólico que se tiene es similar (García, 2010).

1.1.4.5. Minerales

Dentro de los minerales son el calcio, fósforo, potasio y magnesio los de mayor importancia y abundancia en el amaranto. El gran contenido de potasio esta relacionado con una mayor resistencia de la planta a las bajas temperaturas donde se suele cosechar (García, 2010).

El contenido total de minerales se muestra en la tabla 7

Tabla 7. Contenido de minerales en diferentes especies de Amaranto (mg./g. base seca)

Mineral	<i>caudatus</i>	<i>hybridus</i>	<i>cruentus</i>	<i>hypochondriacus</i>
Fósforo	570	565	556	600
Potasio	532	532	525	563
Calcio	217	303	242	244
Magnesio	319	344	344	342
Sodio	22	26	25	23
Hierro	21	104	26	53
Cobre	0.86	4.10	1.69	2.40
Manganeso	2.9	5.2	3.4	3.5
Zinc	3.4	3.4	4.2	3.8

Fuente: García, 2010.

1.1.5. Cultivo de Amaranto en México

De acuerdo con datos del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola, del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) la producción de Amaranto ha ido variando a lo largo de los últimos seis años con un pico de producción durante el año 2016 como se muestra en la figura 3.

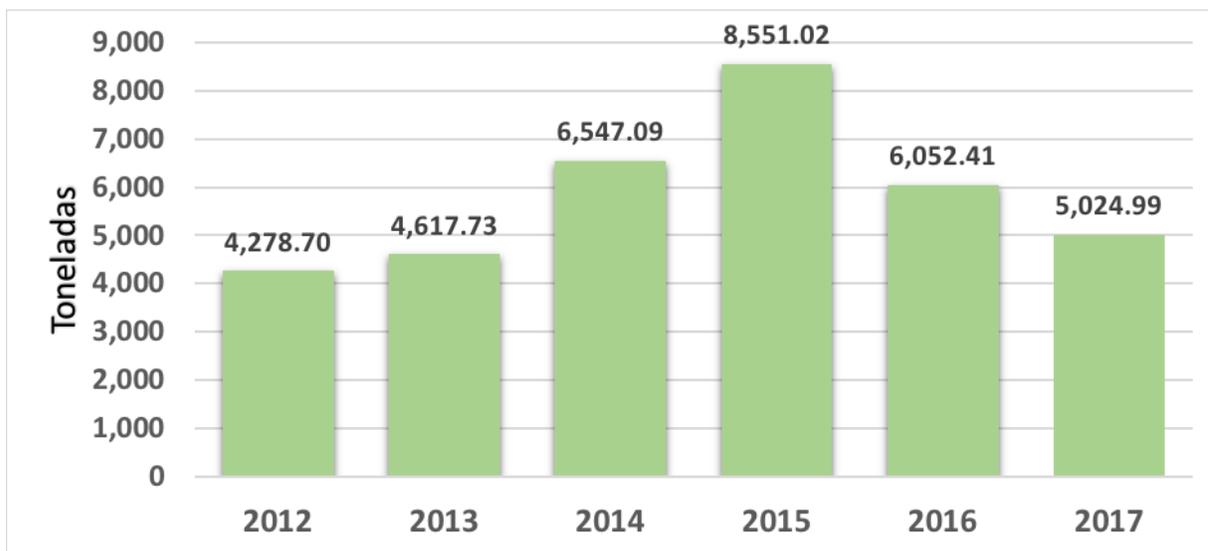


Figura 3. Producción anual de Amaranto del año 2012 al 2017

Fuente: Modificado de SIAP 2019.

Los cinco estados donde se concentra la producción del amaranto en México son Tlaxcala, Puebla, México, CDMX y Morelos como se puede ver en la tabla 8. En el caso de Puebla durante el 2012 y 2013 fue el mayor producto de Amaranto del país, pero durante el 2014 al 2016 lo rebasó el estado de Tlaxcala el cual tuvo una importante baja de producción durante 2017 lo que ocasionó que Puebla regresara al puesto de mayor productor.

Tabla 8. Producción anual de Amaranto por estado del año 2012 al 2017

Producción por año (Toneladas)						
Estados	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Ciudad de México / DF	157.2	161.1	161.18	150.4	205.99	139.91
México	362.08	305.83	300.6	1061.05	956.79	871.34
Morelos	372	130	300.9	101.5	340	7.25
Puebla	2,886.82	2,143.40	2,188.70	2,333.51	2,102.08	2,780.67
Tlaxcala	499.2	1,791.35	3,509.40	4,795.30	2,341.46	1117.91
Total	4,278.70	4,617.73	6,547.09	8,551.02	6,052.41	5,024.99

Fuente: Modificada de SIAP 2019.

1.1.6. Subproductos del Amaranto

El amaranto puede tener múltiples usos tanto en la alimentación humana y animal como en la industria, en las áreas de la medicina y en la ornamentación. Para la alimentación humana se usa el grano entero o molido en forma de harinas, ya sea tostada, reventada o hervida, las hojas tiernas en reemplazo de las hortalizas de hoja, con los granos enteros o molidos se puede preparar desayunos, sopas, postres, papillas, tortas, budines, bebidas refrescantes y otros (Singhal y Kulkarni, 1988; Nieto, 1990).

Pero por muchos años, el amaranto fue considerado como un cultivo secundario, con fines de autoconsumo y en algunos otros casos pequeñas producciones para elaborar grano reventado o harina. En nuestro país, por ejemplo, tenemos las alegrías, un dulce tradicional confeccionado a partir de grano de amaranto reventado, como las palomitas de maíz, mezclado con mieles o jarabes de piloncillo que se moldea en formas diversas y en algunos casos se baña con chocolate o se adicionan nueces, pasas o almendras (Cárdenas, 2012).

La harina de amaranto se puede utilizar como agente espesante en salsas, sopas, guisados y natillas, además, mezclado con harina de trigo se usa para elaborar algunos panes o con harina de maíz para fabricar tortillas, no obstante, la disponibilidad de estos productos en el mercado es aún limitada (Cárdenas, 2012).

Numerosos estudios e investigaciones se han desarrollado en diversas partes del mundo con los objetivos de rescatar, revalorar, caracterizar y utilizar el amaranto en diversos productos alimenticios ya que ofrece múltiples ventajas como la facilidad de cultivo, sus propiedades nutricionales y sensoriales, su versatilidad para incorporarse a diversos platillos y además de sus características como alimento funcional y nutraceutico (Cárdenas, 2012).

Uno de los productos novedosos para diferentes semillas como la del amaranto es el consumo de semillas germinadas que ha ido en aumento en los últimos años, debido a que aportan carbohidratos, fibra dietética, proteínas, vitaminas, nutrimentos esenciales y fitoquímicos en la dieta humana (Morales-Morales, 2016).

La germinación es un método para mejorar el valor nutritivo de las leguminosas, provocar cambios deseables en la disponibilidad de elementos minerales, fitoquímicos, características sensoriales y reducir el contenido de antinutrientes (Morales-Morales, 2016).

Debido a los beneficios reportados en la bibliografía de la germinación y para aumentar el uso de las semillas de amaranto, que como pudimos ver esta a la baja, se propone la realización de este estudio donde se realiza la evaluación nutrimental y funcional de germinados de amaranto para poder ver los cambios en las semillas en sus nutrientes, compuestos antinutrientales y algunos ingredientes funcionales.

1.2. Semillas y germinación

1.2.1. Aspectos generales de semillas

Una semilla es una estructura producida, generalmente como resultado de un evento de reproducción sexual, a partir de un óvulo de espermatofita. Suele estar constituida de tres componentes: una testa, tejido de almacenamiento y un embrión (Márquez-Guzmán, 2013).

Las semillas se pueden encontrar en una gran variedad de tamaños, formas y texturas, en combinaciones únicas, siendo esta diversidad un reflejo de la relación entre los organismos vegetales con las interacciones ecológicas que han mantenido a lo largo del tiempo (Baskin y Baskin, 2001; Bewley *et al.*, 2013).

Se podría afirmar que el fin biológico de una semilla es su germinación para continuar con el ciclo de vida de la planta, sin embargo, no necesariamente sucede de esta manera. Una vez que una semilla madura, puede pasar por un evento de dispersión ya sea por un vector biótico o abiótico; en este proceso, la semilla se desprende de la planta madre y es depositada en otro sitio. Si el traslado de la semilla a su destino final sucede en un solo evento, al proceso se le conoce como dispersión primaria o dispersión fase I, pero si es transportada una segunda ocasión se le denomina dispersión secundaria o dispersión fase II (Orozco-Segovia; Sánchez-Coronado, 2013).

El destino final de muchas semillas es el suelo, pero también habrá casos en los que lleguen a establecerse en otras superficies, como podrían ser otras plantas, rocas, cuerpos de agua e incluso habrá semillas que permanezcan en la planta progenitora (Lamont *et al.*, 1991; Baskin y Baskin, 2001; Zotz, 2016).

Si las semillas arriban a un sitio con condiciones de luz, agua, oxígeno y temperatura adecuadas para su germinación y completan este proceso, se trata de semillas quiescentes. En cambio, si las semillas en las mismas condiciones externas adecuadas para su germinación, no logran completar este proceso, se trata de semillas latentes. Por lo tanto, la latencia es un impedimento propio de la semilla para la germinación, de tal manera que ésta no se presenta aun cuando las condiciones externas parecerían ser las adecuadas para que inicie dicho proceso (Baskin y Baskin, 1989; 2001).

1.2.2. Germinación de semillas

La germinación es la reanudación del crecimiento embrionario produciendo una serie de transformaciones cualitativas y cuantitativas en la planta. Con el objetivo de que se logre la aparición de la radícula, formación de las partes aéreas del vegetal como son las hojas, inicio de la fotosíntesis y la síntesis de minerales en la raíz (Rodríguez 2003).

Durante la germinación se describen tres fases importantes:

1.- Imbibición (Absorción de humedad): Reactivación del metabolismo embrionario que se encuentra latente al entrar en contacto con el agua (humedad), se inicia la respiración e intercambio gaseoso de la semilla (Rodríguez, 2003).

2.- Movilización de nutrientes: Cuando la semilla tiene cierto volumen (hinchazón) a causa de la humedad absorbida, se da inicio a la actividad enzimática donde los almidones son transformados en azúcares, y los lípidos y proteínas son metabolizados, siendo estos últimos nutrientes conformados por los aminoácidos. El intercambio gaseoso es constante y la energía es disponible para el embrión (Rodríguez, 2003).

3.- Crecimiento (Diferenciación de tejidos): La actividad enzimática y la disponibilidad de energía inician un acelerado crecimiento celular, dando origen a las primeras estructuras diferenciadas. Estas son radícula (raíz) y la plúmula (tallo) (Rodríguez, 2003).

1.2.3. Condiciones de germinación

Para lograr una buena germinación de la semilla se requeriría que cubriese ciertas condiciones tales como:

Madurez: Para obtener adecuados resultados, es pertinente conocer el origen de la planta, fechas de siembra, edad de la cosecha y el tiempo de secado de la espiga con la semilla. Estos datos son importantes para conocer la calidad y el tipo de germinación que se espera

Integridad: semillas dañadas, fragmentos del endospermo y tegumento no son los mas adecuados en una producción de forraje hidropónico, ya que se convertirían en excelentes medios de cultivo para hongos y bacterias (Rodríguez, 2003).

Ausencia de plagas: un orificio causado por insectos, que ocupe más de la mitad de la cubierta de una semilla, tendrá poca o nula capacidad de germinación (Moreno, 1984). Libres de pesticidas, fungicidas y plaguicidas: estos elementos son tóxicos al ser ingeridos por el ganado, ya que su tiempo de disolución en agua es mayor a 40 días. Y un forraje hidropónico es cosechado en tan solo 12 días (Rodríguez, 2003; Santibañez, 2005).

1.2.4. Composición química y nutrimental de germinados

Los efectos de la germinación en la composición química y los constituyentes bioquímicos de las semillas varían mucho dependiendo las especies de plantas, variedades de semillas, las condiciones de germinación (temperatura, luz, humedad y el tiempo de la germinación), esto se puede observar en la tabla 9 donde se muestran cuatro especies de semillas y como se ven afectadas de forma diferente con la germinación.

Tabla 9. Composición química de semillas y germinados (g. / 100 g. peso seco)

Semilla	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Fibra (%)	CHOS (%)
Arroz	9.44	6.98	1.20	1.96	1.13	79.2
Arroz germinado	8.86	8.98	1.23	2.06	1.22	77.7
Huazontle	9.71	17.83	6.21	4.97	6.59	71
Huazontle germinado	12.78	21.19	2.26	5.22	10.77	71.32
Calabacita	7.91	31.56	18.75	6.77	22.68	42.91
Calabacita germinado	6.22	34.4	29.24	7.45	9.89	28.90
Canola	8.21	17.38	28.42	4.87	24.37	49.33
Canola Germinado	10.67	27.81	8.47	5.78	15.82	57.95

Fuente: Barrón-Yáñez *et al.*, (2009); Moongngarm y Saetung, (2010).

Diferentes investigadores centran sus trabajos en el aumento de vitamina C durante el proceso de germinación, teniendo en cuenta que esta vitamina es casi inexistente en las semillas secas (De Leon *et al.*, 2013).

1.3. Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales, también conocidos como nutraceuticos, fueron llamados de este modo por primera vez en Japón a mediados de los 80's y se referían a comidas procesadas que tenían una acción curativa o de ayuda al organismo, además de ser nutritivos. Se conocen como FOSHU, (siglas en inglés de Food for Specified Health Use) y son alimentos regulados en Japón por el Ministerio de Salud. A la fecha ya son más de 100 los alimentos que pueden ostentar este término, que es un reconocimiento dado a los alimentos en ese país (Garcia, 2003).

De acuerdo a los japoneses los “alimentos funcionales” pueden clasificarse en tres categorías:

1. Alimentos a base de ingredientes naturales (alimentos naturistas).
2. Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria (pirámide nutricional).
3. Alimentos que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano, incluyendo los 4 siguientes aspectos:
 - a) Mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica.
 - b) Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica.
 - c) Control de las condiciones físicas y mentales.
 - d) Retardo en el proceso de envejecimiento.

Actualmente los alimentos funcionales se definen como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona. El calificativo de funcional se relaciona con el concepto bromatológico de "propiedad funcional", o sea la característica de un alimento, en virtud de sus componentes químicos y de los sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo (Roberfroid, 2000).

En Europa se define alimento funcional a "aquel que satisfactoriamente ha demostrado afectar benéficamente una o mas funciones específicas en el cuerpo, mas allá de los efectos nutricionales adecuados en una forma que resulta relevante para el estado de bienestar y salud o la reducción de riesgo de una enfermedad" (Roberfroid, 2000).

En los Estados Unidos la categoría de alimentos funcionales no está legalmente reconocida. A pesar de esto, muchas organizaciones han propuesto definiciones para esta nueva área de las ciencias de los alimentos y de la nutrición. El Directorio de Alimentos y Nutrición de Instituto de Medicina ha definido a los alimentos funcionales como "cualquier alimento o ingrediente alimentario que pueda proporcionar beneficios de salud además de los tradicionalmente nutricionales". En México se tomó esta definición (García, 2010).

1.3.1. Germinados como alimentos funcionales

La germinación es un tratamiento sencillo y económico, que da como resultado un producto natural, permite eliminar o inactivar ciertos factores antinutricionales y aumenta la digestibilidad de proteínas y almidones. De esa manera, la germinación puede mejorar sus propiedades de alimentos funcionales (Davila *et al.*, 2003).

Durante la germinación se producen diferentes cambios en la distribución de metabolitos secundarios, movilización de proteínas de reserva que están almacenadas en los cuerpos proteicos de los cotiledones y cambios en la composición de aminoácidos soluble. El tiempo y las condiciones de germinación tales como luz y temperatura son factores determinantes en el desarrollo de olor y sabor en las semillas terminada. A su vez, la humedad determina cambios físicos y químicos tales como la composición de los carbohidratos solubles, cantidad de fitatos y alcaloides y niveles de vitamina C, cambios estos que modifican el valor nutritivo y por consiguiente el carácter de alimento funcional (Davila *et al.*, 2003).

1.4. Calidad nutrimental

La calidad nutrimental y funcionalidad de las semillas de amaranto está dada primordialmente por la biodisponibilidad de su proteína. Ésta es de muy buena calidad y absorción.

1.4.1. Digestibilidad *in vitro*

El conocimiento de la digestibilidad de los alimentos es básico para establecer su valor nutritivo. Sin embargo, la determinación *in vivo* de la digestibilidad es un proceso laborioso y costoso, por lo que se han propuesto distintos métodos *in vitro* para su estimación. El procedimiento propuesto por Tilley y Terry en 1963 es, con ligeras modificaciones, el más ampliamente utilizado en la mayoría de los laboratorios (Travieso, 1999).

1.4.2. Digestibilidad *in vivo*

La digestibilidad aparente *in vivo* se calcula a partir de la diferencia entre la cantidad consumida de alimento y lo excretado en heces, esta prueba implica el empleo de animales vivos y es más exacto en relación a los métodos alternos o *in vitro* (Maynard *et al.*, 1986; Church y Pond, 1987).

En una prueba de digestibilidad se alimenta a un animal con cantidades predeterminadas de una dieta de composición conocida, esto con la finalidad de medir la ingestión de los diferentes nutrimentos por parte del animal durante un período de tiempo determinado, este se acompaña de la recolección total de las heces. Se requiere que la coleta de las heces esté libre de contaminación urinaria y que represente la cantidad del residuo no digerido del alimento ingerido. Posteriormente, se analizan tanto el alimento como las heces para determinar el contenido de nutrimentos presentes en cada una de ellas (Maynard *et al.*, 1986; Church y Pond, 1987).

La digestibilidad de un alimento va a expresarse como porcentaje de todo el alimento o de un componente nutritivo en particular, el cual no es excretado por el animal, asumiendo que es aprovechado y absorbido en el tracto gastrointestinal y comúnmente ésta es expresada en términos de materia seca y como porcentaje de coeficiente de digestibilidad aparente (Maynard *et al.*, 1986; Church y Pond, 1987).

La digestibilidad aparente *in vivo* se calcula con la formula:

$$\% \text{ Digestibilidad} = (\text{consumo} - \text{excreción fecal}) / \text{consumo} \times 100.$$

1.4.3. PER

El índice de eficiencia proteica (PER, por sus siglas en inglés) se basa en el aumento de peso, de un sujeto de prueba dividido por su ingesta, de una proteína alimentaria particular durante el período de prueba. Un alimento con mejor cantidad de proteína tendría mayor tasa de eficiencia que otro con proteína de menor calidad. Desde 1919, el PER había sido un método ampliamente utilizado para evaluar la calidad de las proteínas en los alimentos. Los métodos oficiales de la FDA de EE. UU. Para calcular el PER son los establecidos en los Métodos oficiales de análisis de AOAC International, 16^a ed. (1995) Sección 45.3.05, Método oficial AOAC 982.30 Método de cálculo de la relación de eficiencia proteica; y Métodos oficiales de análisis de AOAC International, 18^a ed. (2005) (FDA, 2018).

Cabe señalar que el PER es un método que mide crecimiento en relación a la proteína cruda y no discrimina si el crecimiento se debe a un aumento de proteína tisular, de agua o de grasa corporal (Marin-Cardenas *et al.*, 1999).

1.4.4. Triptófano

Los aminoácidos son sustancias compuestas por carbono, oxígeno, hidrógeno y nitrógeno, caracterizados por contener un grupo ácido débil, llamado carboxilo (-COOH) y un grupo básico débil llamado amino (-NH₂) (Matito, 2014).

De todos los aminoácidos, 10 de ellos (treonina, lisina, metionina, arginina, valina, fenilalanina, leucina, triptófano, isoleucina e histidina) no pueden ser sintetizados por nuestro propio organismo y tienen que ser ingeridos en la dieta considerándose por ello “esenciales”. Si falta uno solo de los aminoácidos denominados esenciales no será posible sintetizar ninguna de las proteínas en las que sea requerido dicho aminoácido, dando lugar a diferentes tipos de desnutrición, según cual sea el aminoácido limitante (Wu, 2009).

El Triptófano (ácido 2-amino-3-(3'-indolil)-propanoico) (Figura 4) es un aminoácido que se engloba dentro de los aminoácidos LNAA (Large Neutral Amino Acid: Triptófano, Tirosina, Arginina, Leucina, Isoleucina, Valina, Metionina, Treonina). Es clasificado también como no polar, hidrófobo y aromático y es esencial en la síntesis de proteínas, participando como promedio en un 1.1% de la composición de las proteínas (Matito, 2014).

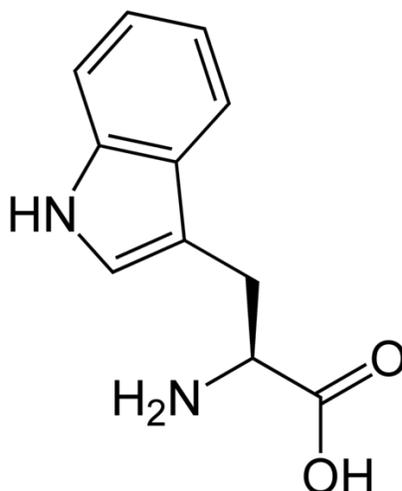


Figura 4. Estructura química del triptófano.
Fuente: Matito, 2014.

Además, es el principal precursor de algunos metabolitos tales como melatonina, serotonina, quinurenina y niacina, sustancias que influyen sobre el comportamiento del organismo, percepción del dolor, estrés, periodo de sueño y estado de ánimo, así como en el consumo de comida, interviniendo también en la reducción del estrés oxidativo y producción de radicales libres (Matito, 2014).

El triptófano circula en la sangre de forma libre o ligada a la seroalbúmina. Se sabe que entre el 80% y el 90% del triptófano ingerido está presente en el organismo de forma conjugada y es metabólicamente inactivo. Por otro lado la unión del triptófano a proteínas puede verse influenciada por diversas sustancias como los ácidos grasos no esterificados palmítico, oleico y linoleico (Abu-Sabbah, 2015).

Beckmann en su publicación del año 1983 estimó que el aporte de triptófano dietético en la dieta occidental habitual es cerca de 0,5g de triptófano diario, del que solo el 2% al 3% se utiliza en la producción central de serotonina (Abu-Sabbah, 2015).

1.5. Factores antinutrimientales

El término antinutrientes se utiliza para calificar a aquellos compuestos que afectan el valor nutricional de algunos alimentos, especialmente semillas, pues dificultan o inhiben la asimilación de nutrientes que provienen de alimentos generalmente de origen vegetal (proteínas y minerales); desde el punto de vista bioquímico estos factores son de naturaleza variada y pueden llegar a ser tóxicos o causar efectos fisiológicos poco deseables como la flatulencia; distensión estomacal, afectaciones pancreáticas, aglutinación de glóbulos rojos, disminución en la asimilación de nutrientes, entre otros (Elizalde *et al.*, 2009).

1.5.1. Taninos

Son compuestos polifenólicos de un amplio peso molecular que habitualmente se dividen en hidrolizables y condensados. Estos son capaces de unirse a enzimas, proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas, y formar complejos con el hierro del alimento, dificultando la digestión de los nutrientes. Aunque hay diferencias químicas entre ellos, todos son compuestos fenólicos y pueden precipitar la proteína. La capacidad de ligar proteínas por los taninos, se ha considerado como un elemento importante para predecir sus efectos en sistemas biológicos (Elizalde *et al.*, 2009).

1.5.2. Ácido fítico

El ácido fítico, mioinositol hexakisfosfato (ip6), y sus sales derivadas constituyen la mayor reserva de fósforo y mioinositol de las semillas de cereales y leguminosas. Los fitatos se encuentran tanto en semillas de maní, lupino, arveja, soya como en amaranto (en este ultimo con una proporción aproximada de 0.34% a 0.61%) (Elizalde *et al.*, 2009).

Desde el punto de vista nutricional, el interés del ácido fítico se debe principalmente a su capacidad de formar complejos con minerales esenciales (Cu, Zn, Fe, K, Mg y Ca), lo que disminuye la absorción intestinal y la biodisponibilidad de estos minerales para el hombre y los animales monogástricos; debido a que estos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasa endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar los minerales de la estructura del fitato. además, los fitatos interaccionan con residuos básicos de proteínas formando complejos, como proteína-fitato y proteína- fitatomineral, por lo que se paralizan muchas reacciones enzimáticas a nivel digestivo. sin embargo, se ha demostrado que durante el procesamiento de los alimentos y la digestión, la cantidad final de ácido fítico disminuye significativamente como consecuencia de su hidrólisis enzimática o química (Elizalde *et al.*, 2009).

1.5.3. Inhibidores de tripsina

Estos factores se pueden definir como compuestos termo lábiles de naturaleza proteica, que alteran la digestión de las proteínas, inhibiendo la acción de las enzimas digestivas que se enfocan hacia la hidrólisis de las proteínas de la dieta; los más conocidos son los que reaccionan con proteasas de serina, como la tripsina y la quimotripsina. No hay evidencia de que los inhibidores de proteasa tengan algún efecto adverso al crecimiento y la salud humana. De hecho, un número creciente de datos sugiere que estos compuestos pueden mejorar la salud humana a través de sus efectos preventivos del cáncer (Elizalde *et al.*, 2009).

1.6. Compuestos funcionales

1.6.1. Almidón total

El almidón es el principal carbohidrato de reserva y fuente de energía almacenada en plantas de todo el mundo (Buleon *et al.*, 1990; Luallen, 1998).

El almidón representa una fracción importante en un gran número de productos agrícolas como los cereales (maíz, trigo, arroz), cuyo contenido de este carbohidrato va del 30 al 80%; leguminosas (fríjol, chícharo, haba), con 25% a 50% de almidón; tubérculos (papa, yuca), en los que el almidón representa entre 60 y 90% (Bello-Pérez y Paredes-López, 1999).

El almidón está organizado en partículas denominadas gránulos cuya morfología, composición química y estructura supermolecular (arreglo relativo de las moléculas en estado sólido) son características de cada especie. La variación morfológica y composición química en los gránulos de almidón son características que afectan las propiedades funcionales de los gránulos, así como también su susceptibilidad al ataque enzimático (Guzmán-Maldonado y Paredes-López, 1995).

1.6.1.1. Estructura química de la molécula de almidón

Dependiendo de la especie vegetal, el almidón puede ser encontrado en una gran variedad de tejidos, incluyendo hojas, tubérculos, frutas y semillas (Thomas y Atwell, 1999).

El almidón sirve de reserva energética en el reino vegetal, y se encuentra en pequeños corpúsculos discretos que reciben el nombre de gránulos; en el tejido vegetal, éstos ejercen una presión osmótica muy baja, con lo que la planta almacena grandes cantidades de glucosa de una manera muy accesible sin romper el balance de agua interior. El tamaño y la forma del gránulo son característicos de cada especie botánica (Badui, 2006).

Este polisacárido está formado por una fracción esencialmente lineal llamada amilosa, y por una fracción ramificada llamada amilopectina, ambas están compuestas por moléculas de D-glucopiranososa (Thomas y Atwell, 1999).

En términos generales, los almidones contienen aproximadamente 17-27% de amilosa, y el resto de amilopectina. Algunos cereales, como el maíz, el sorgo y el arroz, tienen variedades llamadas "céreas" que están constituidas casi únicamente por amilopectina; hay otras que tienen hasta 90% de amilosa. La concentración relativa de estos dos polímeros está regida por factores genéticos típicos de cada cereal (Badui, 2006).

1.6.2. Almidón resistente

El almidón resistente (AR) es la fracción del almidón que no es hidrolizado por la α -amilasa salival y pancreática en el intestino delgado entre los 120 minutos después de ser consumido, pero el cual es fermentado en el colon. Muchos estudios han demostrado que el almidón resistente es una molécula lineal de α -1,4 glucano, esencialmente derivado de la retrogradación de la fracción de amilosa y que tiene un peso molecular relativamente bajo (1.2×10^5 Da) (Robles, 2017).

El almidón resistente se divide en 4 tipos (Escudero y Gonzalez, 2006; Robles, 2017)):

- Tipo 1 o AR1 (atrapado): se encuentran en los granos de cereales y en las legumbres. Estos gránulos de almidón se encuentran físicamente envueltos dentro de una matriz, de tal modo que las enzimas digestivas no pueden tener acceso a ellos o, si lo hacen, es con retraso. Esto puede suceder en granos enteros o parcialmente molidos, semillas, cereales o legumbres. El AR1 existente resultará afectado por la elaboración de los alimentos y puede disminuir o ser eliminado durante la molienda.

- Tipo 2 o AR2 (cristalizado): no puede ser atacado enzimáticamente si antes no se gelatiniza. Esto está relacionado con la naturaleza cristalina del almidón. Sus fuentes son las patatas crudas, plátano verde y la harina de maíz.

- Tipo 3 o AR3 (retrogradado): almidón que cambia su conformación ante fenómenos como el calor o el frío. Al calentar el almidón en presencia de agua se produce una distorsión de las cadenas polisacáridos adquiriendo una conformación al azar, este proceso se denomina gelatinización. Al enfriarse comienza un proceso de recristalización, llamado retrogradación. La velocidad a la cual la amilosa se retrograda, es superior a la de la amilopectina que posee cadenas mucho más cortas. La amilosa puede ser retrogradada hacia una forma que resiste la dispersión en agua y la hidrólisis de α -amilasa. La retrogradación es responsable por ejemplo del endurecimiento del pan. Sus fuentes son pan, copos de cereales, patatas cocidas y enfriadas y alimentos precocinados.

- Tipo 4 o AR4 (modificado): En este tipo de almidón se forman nuevos enlaces químicos además de los enlaces α -1,4 y α -1,6. Son incluidos en esta categoría los almidones modificados obtenidos por varios tipos o tratamientos químicos que interfieren con la digestión de las enzimas, ejemplos de ellos son almidones modificados químicamente por entrecruzamiento o por sustitución de grupos químicos como fosfatos, succinatos, acetatos, éteres, ésteres, etc. Los almidones con un leve grado de entrecruzamiento pierden la habilidad de hincharse durante la cocción, consecuentemente, los almidones altamente entrecruzados permanecen en su forma regular después de ser sometidos a altas temperaturas, con una ligera susceptibilidad enzimática, y no pueden ser hidrolizados por amilasas o fermentados por microorganismo. La adición de derivados químicos al almidón como los grupos octenil succinatos o grupos acetil, cambia la estructura del almidón y restringe la hidrólisis enzimática de la molécula de almidón, resultando en un almidón resistente. La región del almidón sin los derivados puede ser hidrolizado por las amilasas bacterianas y fermentado para producir ácidos grasos de cadena corta.

El AR4 es de particular interés debido a su estabilidad térmica, esto le permite ser estable en la mayoría de las operaciones de cocción y permite su uso como ingrediente en una variedad mundial de comidas convencionales. Se encuentra en los alimentos procesados como pasteles, aliños industriales y alimentos infantiles.

Estudios recientes señalan que la cantidad de almidón que alcanza el intestino grueso puede ser de 4 a 5 g/día, aunque en países donde la ingesta de hidratos de carbono es mayor, esta cantidad puede ser más elevada. Este almidón se comporta en el colon como un sustrato importante para la fermentación bacteriana colónica. (Robles, 2017).

1.6.3. Fibra dietética

La American Association of Cereal Chemist (2001) define a la fibra dietética como: "la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, y/o atenúa los niveles de colesterol en sangre y/o atenúa la glucosa en sangre" (Escudero y González, 2006).

Una definición más reciente, añade a la definición previa de fibra dietética el concepto nuevo de fibra funcional o añadida que incluye otros hidratos de carbono absorbibles como el almidón resistente, la inulina, diversos oligosacáridos y disacáridos como la lactulosa. Hablaríamos entonces de fibra total como la suma de fibra dietética más fibra funcional (Escudero y González, 2006).

Con las nuevas definiciones, el número de sustancias que se incluyen en el concepto de fibra ha aumentado y se puede ver las actuales en la tabla 10.

Tabla 10. Sustancias que se incluyen en el concepto de fibra

Tipo	<i>Polisacáridos no almidón</i>	<i>Oligosacáridos resistentes</i>	<i>Ligninas</i>	<i>Sustancias asociadas a polisacáridos no almidón</i>	<i>Almidones resistentes</i>	<i>Hidratos de carbono sintéticos</i>	<i>Fibras de origen animal</i>
Definición	Polímeros de carbohidrato que contienen al menos 20 residuos de monosacáridos	Hidratos de carbono con un nivel de polimerización menor, tienen de tres a diez moléculas de monosacáridos	Poliésteres de ácidos grasos e hidroxiácidos de cadena larga y fenoles.	Poliésteres de ácidos grasos e hidroxiácidos de cadena larga y fenoles	Son la suma del almidón y de sus productos de degradación que no son absorbidos en el intestino delgado de los individuos sanos	Son hidratos de carbono sintetizados artificialmente pero que tienen característica de fibra dietética.	Sustancias análogos a los hidratos de carbono que se encuentran principalmente en alimentos de origen animal

Fuente: Escudero y Gonzalez, 2006.

Desde un punto de vista clínico, probablemente son los efectos fisiológicos o biológicos de la fibra y por tanto su aplicación preventiva o terapéutica los que van a tener mayor importancia. En la figura 5 se puede ver un resumen de los efectos fisiológicos de la Fibra durante su transito en el sistema digestivo (Escudero & Gonzalez 2006).

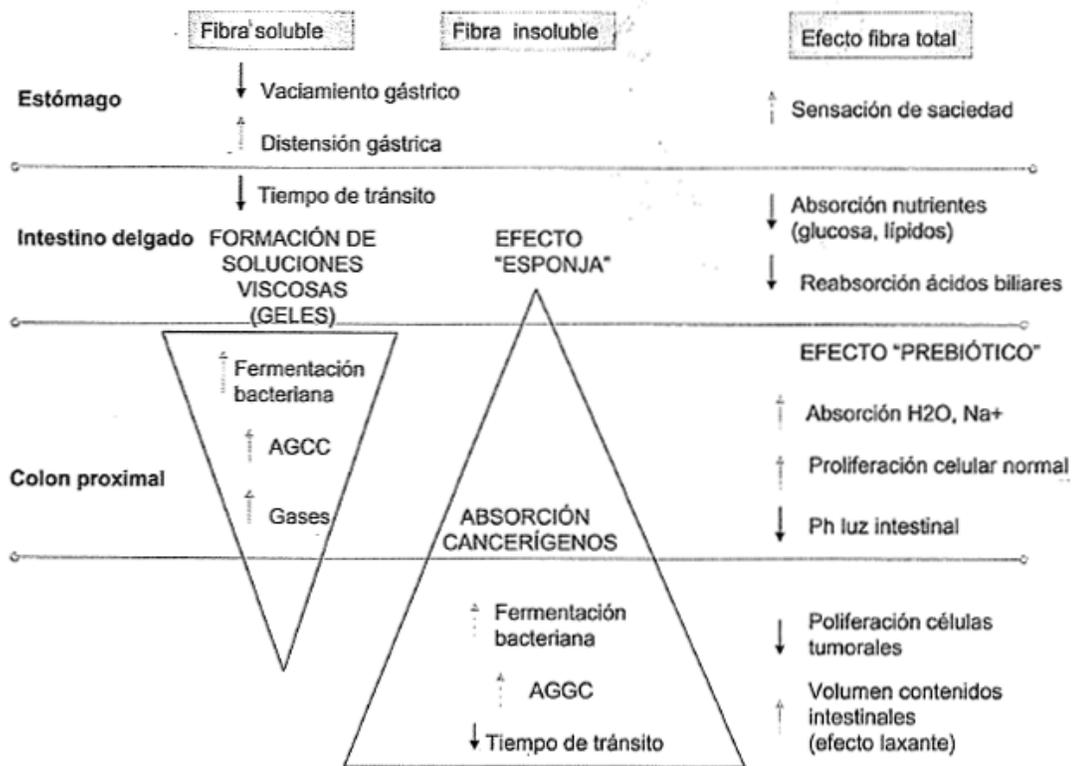


Figura 5. Efectos fisiológicos de la fibra

Fuente: Escudero y Gonzalez, 2006.

La fibra va a jugar un papel en todas las funciones del sistema digestivo desde la masticación hasta la evacuación de las heces. Las dietas con un contenido en fibra elevado requieren más tiempo de masticación por lo que enlentecen la velocidad de deglución y esto implica una mayor salivación que va a repercutir en la mejora de la higiene bucal (Escudero y González, 2006).

A nivel del estómago las fibras solubles, como consecuencia de su viscosidad, enlentecen el vaciamiento gástrico y aumentan su distensión prolongando la sensación de saciedad (Escudero y González, 2006).

En el intestino delgado la fibra soluble, nuevamente por la formación de soluciones viscosas, enlentece el tiempo de tránsito. También aumenta el espesor de la capa de agua que han de traspasar los solutos para alcanzar la membrana del enterocito, lo que provoca una disminución en la absorción de glucosa, lípidos y aminoácidos. Asimismo, se producirá una disminución en la absorción de los ácidos biliares ya que estos se unen a los residuos fenólicos y urónicos en la matriz de los polisacáridos. Esto puede alterar la formación de micelas y la absorción de las grasas. Como consecuencia de la depleción de ácidos biliares pueden disminuir los niveles de colesterol, al utilizarse éste en la síntesis de novo de nuevos ácidos biliares (Escudero y González, 2006).

1.6.4. Capacidad antioxidante

Los antioxidantes son compuestos que pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas, inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres (Moon y Shibamoto, 2009).

Algunos de los antioxidantes son vitaminas A, C y E, carotenoides, tocoferoles, compuestos fenólicos simples (ácido cafeico y ácido clorogénico) o complejos como los flavonoides (quercetina, catequina) y antocianinas (Rayn, 2012).

La capacidad antioxidante se considera como la actividad biológica responsable del efecto preventivo del daño celular (Heo *et al.*, 2007). Para prevenir el daño oxidativo, las células y los organismos utilizan tres estrategias de defensa. La primera consiste en el uso de mecanismos no enzimáticos en los que se utilizan antioxidantes de bajo peso molecular, como los carotenoides (β -caroteno) y las vitaminas (C o ácido ascórbico y E o α -tocoferol). La segunda estrategia comprende la reparación de daños causados por las ERO en componentes celulares y macromoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, a través de enzimas reparadoras. Finalmente, el tercer mecanismo es la transformación de las ERO a través de enzimas que son capaces de remover, neutralizar o depurar radicales libres o sus intermediarios (Rayn, 2012).

La actividad antioxidante total es una estimación fiable y global de la capacidad antioxidante de un alimento, además de ser un parámetro interesante para valorar la calidad nutracéutica del producto en cuestión (Arnao *et al.*, 1996).

1.6.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o fenoles son sustancias orgánicas que poseen un anillo aromático, unidos a uno o más grupos hidroxilo. Los cuales agrupan un amplio intervalo de sustancias que difieren en el número de átomos de carbono, que las constituyen en conjunto con el esqueleto fenólico básico, además del número y posición de los sustituyentes hidroxilo. Pueden ocurrir en la naturaleza en forma conjugada soluble o en formas insolubles, enlazados covalentemente a azúcares o componentes de la pared celular (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Los fenoles se consideran antioxidantes fuertes y secuestradores de radicales libres que inhiben la oxidación de lípidos, por eso han sido ampliamente estudiados y se han desarrollado diferentes técnicas para cuantificarlos. Se ha detectado también que se encuentran en la mayoría de los vegetales que consumimos. En las frutas y vegetales predominan las formas conjugadas solubles, mientras que en los cereales se encuentran en formas insolubles, aproximadamente el 85% (Miller *et al.*, 2000; Adom y Liu, 2002).

Algunas referencias indican (De León *et al.*, 2013; Davila *et al.*, 2003) que los germinados de amaranto presentan un aumento en compuestos antioxidantes como la vitamina C y compuestos fenólicos por lo que se cuantificaron para verificar la presencia y cantidad de estos. En el caso del almidón total, resistente y fibra no hay información para los germinados de amaranto ya que normalmente se cuantifican únicamente en semillas. Todos estos componentes son importantes para determinar si nuestros germinados cumplen la definición de alimento funcional.

Con base en los antecedentes anteriores, se propone elaborar germinados de amaranto y evaluar si existe un aumento en su calidad nutrimental y funcional comparado con el grano, además, para proponer un nuevo uso a la semilla de amaranto y con esto incentivar la producción de este grano, que es baja en el país, aprovechando la ventaja que da el ser originario de México.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la germinación de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) sobre su calidad nutrimental y funcional.

2.2. Objetivos particulares

Objetivo Particular 1

Determinar las condiciones de germinación de la semilla de amaranto a 25 °C y en ausencia de luz, por 2, 3, 4 y 5 días, mediante la medición del crecimiento de plántula y el índice de conversión.

Objetivo Particular 2

Evaluar el efecto del tiempo de germinación de la semilla de amaranto sobre su calidad nutrimental mediante un análisis químico proximal, digestibilidad *in vitro*, *in vivo*, PER, contenido de triptófano y de factores anti nutrimentales (taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina) para escoger el mejor.

Objetivo Particular 3

Evaluar los compuestos funcionales (fenoles, capacidad antioxidante, fibra dietética, almidón total, resistente y digerible) presentes en los germinados de amaranto obtenidos en el tiempo seleccionado para saber si puede considerarse un alimento funcional.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Cuadro metodológico

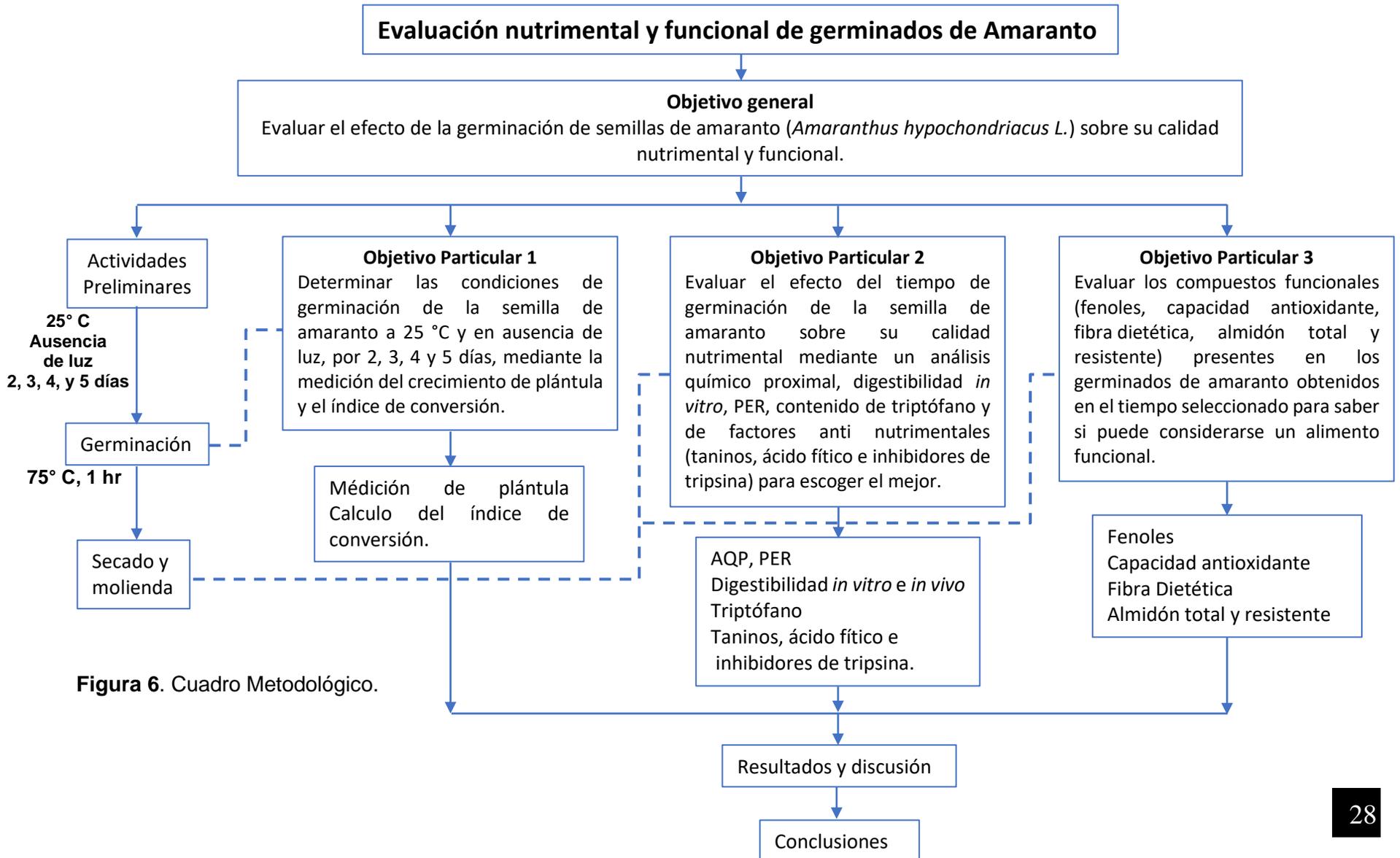


Figura 6. Cuadro Metodológico.

3.2. Actividades preliminares

3.2.1. Material biológico

Para la experimentación se trabajó con semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) cosecha 2014 cultivadas en Santiago Tulyehualco, delegación Xochimilco de la Ciudad de México.

3.2.2. Germinación de la semilla de amaranto.

Se pesaron 8 g de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) y se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% (figura 7), dejando remojar las semillas durante 1 minuto con agitación manual.



Figura 7. Semillas de amaranto pesadas (izquierda) y en remojo (derecha).

Posteriormente se esparcieron de manera uniforme sobre una tela soporte impregnada con la solución de hipoclorito de sodio, las telas de soporte se encontraban dentro de cajas plásticas de medidas 12 x 19 x 34.5 cm las cuales fueron previamente lavadas y desinfectadas, las cajas plásticas fueron tapadas y etiquetadas para su posterior identificación (figura 8).

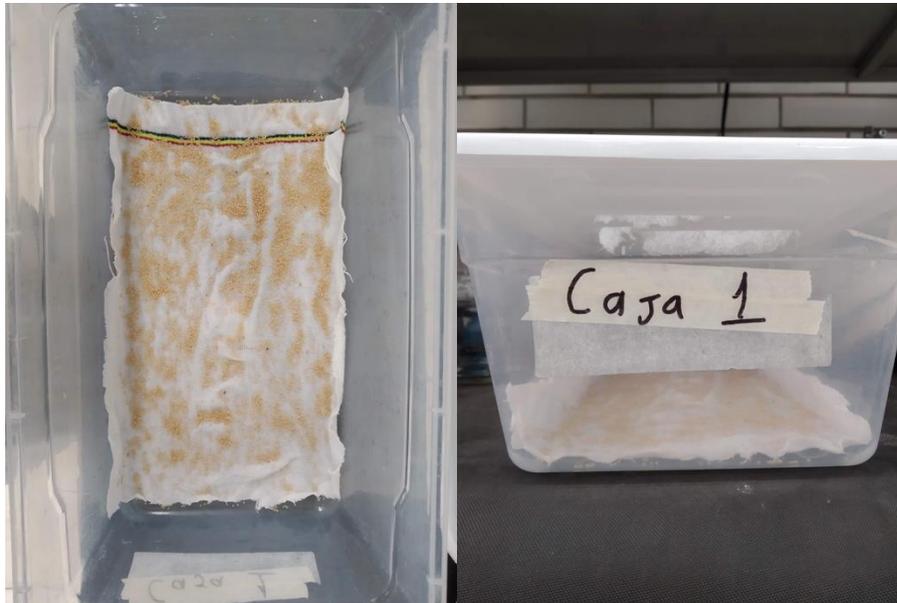


Figura 8. Esparcimiento de semillas y etiquetado.

La germinación de las semillas se llevó a cabo a 25° C y en ausencia de luz, hidratándolas asperjando con la solución de hipoclorito de sodio cada 24 horas, se mantuvo por 2, 3, 4 y 5 días.

3.2.3. Medición de la plántula.

Se tomaron 20 plántulas al azar a los cuatro diferentes tiempos de germinación; se midió con una regla de 15 cm la plántula y radícula (figura 9). Se calculó un promedio del tamaño del germinado en centímetros (cm).



Figura 9. Medición de plántula de 5 días de germinación.

3.2.4. Índice de conversión.

Se determinó el índice de conversión (IC) de semilla-germinado, pesando en una balanza analítica la cantidad de germinado obtenido a partir de los 8 g de semilla (figura 10)(Barrón-Yañez *et al.*, 2009).



Figura 10. Pesado del germinado de amaranto.

Este parámetro indica el porcentaje en peso de la semilla que fue transformado en germinado y el cálculo se realiza con la siguiente fórmula:

$$IC = \frac{\text{Peso del germinado (g)}}{\text{Peso de la semilla (g)}} * 100$$

3.2.5. Obtención de muestra seca.

El germinado se retiró manualmente con ayuda de una espátula de la tela soporte y se colocó en una charola de aluminio con papel encerado. Se deshidrató en horno de convección a 75° C durante una hora (figura 11). Una vez seco fue molido en un molino de cuchillas hasta que pasara la malla #40 serie Tyler USA. El germinado seco se almacenó en recipientes de vidrio etiquetados a temperatura ambiente.



Figura 11. Germinados retirados de tela soporte (izquierda) y secado en horno (derecha).

3.3. Análisis químico proximal (AQP)

Se realizó un Análisis Químico Proximal (AQP) al germinado deshidratado y molido (muestra seca) según los métodos de la A.O.A.C. (2005) y además la humedad del germinado fresco se determinó por termobalanza.

3.3.1. Determinación de humedad por el método rápido de la termobalanza.

La humedad es tomada como la pérdida de peso al secado, usando un instrumento de humedad, el cual emplea una balanza de torsión sensible para pesar la muestra y una lámpara infrarroja para secar según el método en la norma NMX-F-428-1982.

Procedimiento: Pesar 2 g de la muestra fresca en la misma balanza y distribuirla cuidadosamente y uniformemente en el platillo.

Se programa el tiempo y temperatura deseados en el equipo, en este caso se usó 30 minutos a 100°C, se baja la tapa de la balanza y se aprieta el botón de inicio; La muestra comenzará a perder humedad y se verá reflejado en el peso que muestra el display. Después de pasado el tiempo programado, deberá tomarse la lectura final dada como porcentaje total de humedad.

3.3.2. Determinación de humedad por el método de sólidos totales y humedad en harina.

La técnica se basa en una determinación gravimétrica en la que se obtiene la diferencia de pesos de una muestra antes y después de secarse en un horno a una temperatura constante de 130 ° C durante una hora. Método 925.09 A.O.A.C.

Procedimiento: Pesar de 3 a 5 gramos de muestra en una caja de aluminio (pasa filtro), la cual ha sido previamente puesta a peso constante durante 2 horas (pesado cada hora) a 130° C.

Secar la muestra 1 hora en la estufa a 130°C. Retirar de la estufa, dejar enfriar en el desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir el proceso de secado hasta que se llegue a peso constante. La prueba se realizó por triplicado (A.O.A.C., 2005).

El cálculo del porcentaje de humedad se realizó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% = \frac{W_2 - W_3}{W_1} * 100$$

Donde:

W₁= Peso de la muestra (g)

W₂= Peso de la muestra húmeda (g)

W₃= Peso de la muestra seca (g)

3.3.3. Determinación de porcentaje de proteínas por el método Microkjeldahl.

El contenido de proteína se determinó por el método micro Kjeldahl (954.01 A.O.A.C.); el cual se basa en la combustión húmeda de la muestra, el producto se digiere con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos para convertir el nitrógeno orgánico en iones de amonio. A la solución de la digestión se le añade álcali y se destila hacia una solución de ácido bórico. El destilado se titula con ácido clorhídrico. El resultado se expresó como porcentaje de proteína.

$$\text{Nitrogeno total} = [(V_2 - V_1)(N)(0.014)/W] * 100$$

$$\% \text{ Proteina cruda} = \text{Nitrogeno total} * (F)$$

Donde:

V₁: Volumen de HCl gastado en la muestra (ml)

V₂: Volumen de HCl gastado en el blanco (ml)

N: Normalidad del HCl (0.1)

W: Peso de la muestra (g)

F: Factor de conversión de nitrógeno a proteína (Para el amaranto es 5.87)

3.3.4. Determinación de porcentaje de lípidos o extracto etéreo por extracción Soxhlet.

El contenido de grasa se determinó por el método de Soxhlet (945.39, A.O.A.C.); se lleva a cabo mediante la extracción continua con éter etílico previamente desecado, obteniéndose el total de grasa tras la evaporación del solvente.

Procedimiento: Poner a peso constante un matraz bola de fondo plano con perlas o piedras de ebullición en la estufa a 110° C, aproximadamente 2 horas (pesando cada hora).

Pesar 3 gramos de muestra libre de humedad sobre papel poroso, enrollarlo y colocarlo en un cartucho, tapar con algodón y colocarlo en el extractor.

Conectar el matraz al extractor y éste al refrigerante. Agregar dos cargas de hexano (éter etílico) por el refrigerante y calentar el matraz con parrilla a ebullición suave. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, dejar caer una gota de la descarga sobre papel filtro, al evaporarse el hexano (éter) no debe dejar residuo de grasa. Una vez extraída toda la grasa, quitar el cartucho con la muestra desengrasada, seguir calentando hasta la casi total eliminación del éter recuperándolo antes de que se descargue. Quitar el matraz y secar el extracto a 75-80° C por 30 minutos, enfriar en desecador y, una vez alcanzada la temperatura ambiente, pesar. Realizar la prueba por triplicado.

Se utilizó la siguiente ecuación para obtener el porcentaje de lípidos:

$$\%Grasa\ extraible = \left(\frac{W_3 - W_2}{W_1} \right) * 100$$

Donde:

W₁: Peso de la muestra (g)

W₂: Peso del matraz sin grasa (g)

W₃: Peso del matraz con grasa (g)

3.3.5. Determinación de porcentaje de cenizas por el método de incineración.

Se realizó por el método de incineración directa (923.03, A.O.A.C.) , empleando una mufla. Su principio se basa en una determinación gravimétrica. El calentamiento se realiza en etapas primero para eliminar el agua, a continuación, para carbonizar el producto totalmente y finalmente, para incinerar en horno de mufla.

Procedimiento: pesar de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol (no pasar la mitad del crisol con la muestra), que ha sido puesto a peso constante durante 2 horas (pesado cada hora) a 600° C.

Calcinar la muestra, inicialmente con un mechero en la campana hasta que no se desprendan humos y posteriormente meter a la mufla 2 horas (pesando cada hora) a 530° C. Repetir la operación anterior si es necesario, hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises, homogéneas y que este a peso constante. Enfriar (fuera 8 minutos y posteriormente meter al desecador por 5 minutos, tiempo total de enfriado 13 minutos) y pesar. Realizar la prueba por triplicado.

Se utilizó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de cenizas:

$$\%Cenizas\ totales = \left(\frac{W_3 - W_2}{W_1} \right)$$

Donde:

W₁: Peso de la muestra (g)

W₂: Peso del crisol sin muestra (g)

W₃: Peso del crisol con cenizas (g)

3.3.6. Determinación de fibra por el método de fibra cruda o Weende.

El método (962.09, A.O.A.C.) se basa en tratar la muestra desengrasada, con soluciones de ácido sulfúrico (H₂SO₄) e hidróxido de sodio (NaOH) de concentraciones conocidas. Separar el residuo por filtración, lavar, secar y pesar el residuo insoluble, determinando posteriormente su pérdida de masa por calcinación a 550°C.

Procedimiento: Pesar de 1 a 3 gramos de muestra desengrasada y añadir 200 mL de H₂SO₄ al 1.25%. Llevar a ebullición y mantenerla durante treinta minutos. Transcurridos el tiempo adicionar 200 mL de NaOH al 2.5% y llevar a ebullición durante treinta minutos más.

Filtrar con el papel filtro que ha sido colocado a peso constante durante 1 hora (pesado cada 30 minutos) y embudo Büchner en un matraz, lavar con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro. Deshidratar lavando con alcohol dos o tres veces. Llevar el papel a la estufa y secarlo a 110° C durante una hora. Dejar enfriar en desecador y pesar. Colocar el papel en un crisol a peso constante y calcinar durante una hora a 550° C. Dejar enfriar en desecador y pesar rápidamente. Se utilizaron las siguientes ecuaciones para obtener el porcentaje de fibra:

$$PT1 = \text{Peso papel con fibra} - \text{Peso papel solo}$$

$$PT2 = \text{Peso crisol con cenizas} - \text{Peso crisol solo}$$

$$\% \text{ Fibra} = \left(\frac{PT1 - PT2}{\text{Peso de la muestra (g)}} \right) * 100$$

Donde:

PT1= Peso de fibra (g)

PT2= Peso de fibra incinerada (g)

3.3.7. Determinación de porcentaje de hidratos de carbono.

El contenido de carbohidratos se determinó por diferencia de los demás componentes con ayuda de la siguiente fórmula:

$$\%Carbohidratos = 100 - (\%Proteínas + \%Humedad + \%Grasas + \%Fibra + \%Cenizas)$$

3.4. Calidad nutricional

3.4.1. Digestibilidad *in vitro*.

La digestibilidad *in vitro* se lleva a cabo utilizando un sistema multienzimático (compuesto por tripsina, quimotripsina, peptidasa y proteasa) para determinar la digestibilidad de proteínas. Se encontró que el pH de una proteína en suspensión inmediatamente después de los 20 minutos de digestión tiene una gran correlación con la digestibilidad *in vivo* de ratas (Hsu *et al.*, 1977). El coeficiente de correlación entre el pH a los 20 minutos y la digestibilidad aparente *in vitro* es de 0.90, con un margen de error estimado de 2.23.

Para la experimentación se determinó la cantidad de nitrógeno (N) total del germinado y se prepararon 10 mL de solución a una concentración de 10 mg N. La solución se ajustó a pH 8 con ácido clorhídrico (HCl) 0.01N y se agitó en un baño de agua caliente a 37° C por 60 minutos. Paralelamente se preparó una solución multienzimática (tripsina, quimiotripsina, peptidasa), se ajustó el pH a 8 y se conservó en hielo hasta su utilización. A la suspensión de la muestra se le agregaron 1 mL de solución multienzimática y se mantuvo la agitación y la temperatura midiendo la caída de pH después de 20 minutos.

La ecuación de la regresión obtenida experimentalmente y con la que se calculó en porcentaje de digestibilidad es:

$$\%D = 234.84 - 22.56(X)$$

Donde:

X= el pH de la suspensión de proteína registrado inmediatamente después de los 20 minutos de digestión con la solución multienzimática.

3.4.2. Relación eficiencia proteica (PER).

Para evaluar la calidad proteica del germinado de amaranto que se seleccionó, se realizó la prueba de relación proteica, que por sus siglas en ingles se le conoce como PER (Protein Efficiency Ratio), determinado de acuerdo al método 960.48 A.O.A.C. (Herlich, 1990).

Fue el primer método adoptado como rutina de evaluación en la calidad proteica de los alimentos. El PER es un método estandarizado en el cual se realiza una dieta de estudio y una dieta control con caseína ambas contienen el mismo % de proteína, con ratas destetadas por un periodo de 4 semanas (Gilani & Lee, 2003).

Animales de prueba

Se emplearon ratas Wistar macho de 21 días de nacidas, cuyos pesos no oscilaran ± 5 g. Las ratas fueron obtenidas en el bioterio de la FES Cuautitlán Campo 4.

Composición de las dietas

Se elaboro una dieta isoproteica e isocalórica con el germinado de amaranto, y una dieta de referencia a base de caseína. Se utilizaron 12 ratas divididas en dos lotes, uno del germinado y otro de caseína con 6 ratas cada uno. Las dietas se prepararon de acuerdo a la formulación establecida por la Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.) (López *et al.*, 2006).

Razón de eficiencia proteica (PER)

Las ratas fueron pesadas inicialmente y distribuidas homogéneamente de acuerdo al método de la "culebra japonesa". Este método distribuye los pesos en orden ascendente y se van haciendo lotes de izquierda a derecha para una distribución homogénea (Figura 12). Esto se ve reflejado en los pesos promedio de cada lote en los que hubo una variación menor de 5g entre ellos (López *et al.*, 2006).

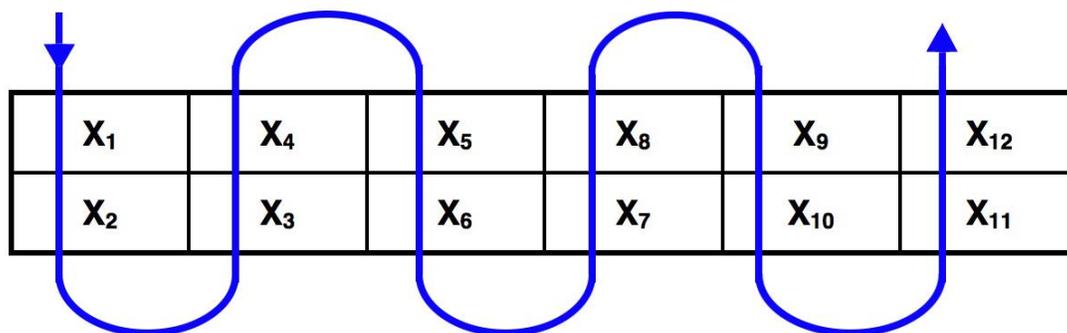


Figura 12. Distribución homogénea de las ratas para el bioensayo.

Las ratas fueron colocadas en jaulas individuales. Se mantuvo controlada la temperatura a 24°C y ciclos de 12 horas de luz y oscuridad. Se les suministró las dietas preparadas y agua *ad libitum*. Cada tercer día se registro el peso ganado y la cantidad de alimento consumido. Al concluir los 28 días del bioensayo se determinó

el valor de PER y PER ajustado, en base a las siguientes fórmulas indicadas por López *et al.*, 2006:

$$PER = \frac{\Delta P}{\Sigma AI * F}$$

$$PER \text{ ajustado} = PER_{exp} * \frac{PER_{caseina \text{ ref}}}{PER_{exp}}$$

Donde:

ΔP = Incremento de peso (en gramos)

ΣAI = Alimento ingerido total (en gramos)

F = % de proteína en la dieta/ 100

PER exp.= Valor PER obtenido en el bioensayo.

PER Caseína ref.= Valor de la caseína de referencia = 2.5

La digestibilidad aparente de la proteína se determinó mediante la cuantificación de nitrógeno ingerido y el de las heces secas y molidas, con el método de Micro Kjeldahl, de cada rata en la última semana de ensayo (A.O.A.C., 2005).

3.4.3. Determinación de triptófano.

La técnica (Rama *et al.*, 1974) se basa en la cuantificación espectrofotométrica del triptófano a partir de la digestión enzimática de la proteína en la muestra, y de la reacción del residuo del aminoácido con DMAB (p-dimetilaminobenzaldehído) para la formación de un complejo colorido.

Para la determinación se pesó el germinado seco y se agregó una solución de pepsina, se dejó reposar por unos minutos a temperatura ambiente. Se adicionó NaOH al 0.1N y pancreatina al 0.4% y se incubó por 24 horas. Posterior a este tiempo se aforó la solución a 50 mL con agua destilada y después se filtró.

Se tomó el extracto y se le adicionó HCl concentrado, DMAB al 0.5%, y Nitrito de sodio (NaNO₂) al 0.2%; se dejó reposar y se leyó el color formado a 590 nm en el espectrofotómetro.

Para el cálculo del contenido de triptófano se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\left(\frac{mg \text{ Trp}}{1 \text{ ml}}\right) \left(\frac{25 \text{ ml}}{0.5 \text{ g}}\right) (100) = \frac{mg \text{ Trp}}{100g \text{ de muestra}}$$

$$\left(\frac{mg \text{ Trp}}{100g \text{ de muestra}}\right) \left(\frac{100g \text{ de muestra}}{0x \text{ g proteína}}\right) (100) = \frac{g \text{ Trp}}{100g \text{ de proteína}}$$

3.5. Factores antinutrimientales

3.5.1. Determinación de taninos.

Este método (ISO 9684, 1988) se basa en la extracción de los taninos hidrolizables y condensados (fenoles totales) mediante dimetilformamida (DMF) al 75% y la posterior reducción del ión férrico debido a los iones polifenoles, formando un complejo colorido en condiciones alcalinas, el cual es cuantificado espectrofotométricamente a 525 nm.

Para la cuantificación se pesó la muestra, se le añadió DMF al 75% y se mantuvo en agitación, luego un reposo y finalmente se centrifugó el extracto. Se etiquetaron 2 tubos, uno para la determinación y otro como blanco, a cada uno se le agregó sobrenadante, agua destilada, citrato férrico e hidróxido de amoníaco. Una vez que se formó el complejo colorido se leyó la absorbancia a 525 nm y se realizaron los cálculos correspondientes para obtener el porcentaje de taninos en la muestra.

$$\% \text{ Taninos} = \frac{X}{m} * 100$$

Donde:

X=valor obtenido (g)

m=peso de la muestra (g)

3.5.2. Determinación ácido fítico

El extracto de una muestra se calienta con una solución de ácido férrico para conocer el contenido de hierro libre. La disminución del hierro (determinada colorimétricamente con 2,2-bipiridina) en el sobrenadante es la medida del contenido de ácido fítico (Haug y Lantzsch, 1983).

Se pesó la muestra y se le adicionó HCl 0.2N, se agitó la mezcla y se centrifugó a 5000 rpm. Se tomó el extracto y se colocó en un tubo de ensayo, donde se agregó sulfato férrico de amoníaco 0.2%, se tapó el tubo y se calentó a 95±2 °C. Posteriormente se enfrió el tubo y una vez que se encontró a temperatura ambiente se adicionó 2,2- Bipiridina y se agitó. A los 30 segundos exactamente de que se adicionó el reactivo se leyó la absorbancia a 519 nm. Se realizaron los cálculos correspondientes para obtener el porcentaje de ácido fítico en la muestra:

- Determinar el porcentaje de ácido fítico:

$$P = \frac{x * E}{T}$$

$$\%Acido\ Fitico = \frac{P * 100\%}{\left(\frac{Muestra}{ml\ HCL}\right)}$$

Donde:

E= Equivalente a 660.08g (1 mol de ácido fítico)

T= Equivalente a 185,82g (6 moles de P)

P= µg de P del ácido fítico/ml

3.5.3. Determinación de inhibidores de tripsina.

La técnica utilizada por Kakade *et al.* (1974) se basa en poner en contacto el extracto acuoso o diluido de una muestra con una solución estándar de tripsina, posteriormente se determina la actividad proteolítica remanente utilizando un sustrato sintético (benzoil-arginina-p-nitroanilide o BAPNA), el cual producirá coloración, que es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de tripsina, realizándose la lectura en el espectrofotómetro a una $\lambda = 410\text{ nm}$.

Para la determinación se pesó la muestra y se adicionó NaOH 0.01N, se ajustó el pH a 9.6 ± 0.2 . Se transfirió esta mezcla a un vaso de precipitados y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente. Después se dejó reposar para obtener un sobrenadante, posteriormente se centrifugó a 5000 rpm.

Se colocaron muestras de 0, 0.6, 1.0, 1.4 y 1.8 mL del extracto anterior en tubos de ensayo y se ajustó el volumen de cada uno a 2.0 mL con agua destilada. Se adicionó solución estándar de tripsina y se agitó; se mantuvo en contacto con el inhibidor de tripsina-tripsina en un baño a $37\text{ }^\circ\text{C}$. Se mantuvo esta reacción por 10 minutos exactamente en el baño. Pasado el tiempo se añadió ácido acético al 30% para detener la reacción enzimática. Se leyó la coloración producida en el espectrofotómetro a 410 nm .

Se procede a realizar los cálculos correspondientes:

- Se grafica en el eje de las x los ml de extracto vs en el eje de las y las Unidades de Tripsina Inhibidas por mililitro (UTI/mL) para calcular la regresión lineal.
- La r debe ser mayor a 0.9 y si es así, se sustituye el valor de la ordenada al origen (b) en la siguiente ecuación:

$$B \times Factor \times \frac{vol.\ aforo\ muestra}{mg\ de\ muestra} = \frac{UTI}{mg\ de\ muestra}$$

3.6. Compuestos funcionales

3.6.1. Determinación de almidón total

Se fundamenta en cuantificar la glucosa liberada como resultado de la hidrólisis enzimática de amiloglucosidasa que se hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1,4) y α -(1,6) de las cadenas de amilosa y amilopectina, según el método propuesto por Goñi *et al.* (1996).

Procedimiento: Se pesó la muestra y se colocó en matraz, después se dispersó con KOH 2M a temperatura ambiente y con agitación constante. Se le adicionó buffer de Acetato de Sodio 0.4M y se ajustó el pH= 4.75.

Posteriormente se le adicionó enzima amiloglucosidasa y se colocó en baño maría por 45 minutos para que el almidón solubilizado se gelatinizara. Después de dejarlo enfriar a temperatura ambiente, se centrifugó y se recuperó el sobrenadante.

Para determinar glucosa en el sobrenadante se usó el reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa colocando 1 ml reactivo de glucosa (SPIREACT, glucosa-LQ) con 10 μ l del sobrenadante, por duplicado, y también un blanco con únicamente el reactivo de glucosa (SPIREACT, glucosa-LQ) y dejar reposar por 20 minutos.

Se lee la absorbancia a 505 nm en el espectrofotómetro y se procede a realizar los cálculos.

3.6.2. Determinación de almidón resistente

Se realizó mediante el método de Goñi *et al.* (1996), en el cual hay una hidrólisis proteínica con pepsina a pH 1.5, seguida de la hidrólisis del almidón digestible con α -amilasa; una vez eliminado los productos de esta hidrólisis por centrifugación, en el residuo permanece la fracción indigestible que es dispersada en medio alcalino e hidrolizada en su totalidad con amiloglucosidasa, determinando la glucosa liberada.

Se fundamenta en realizar una digestión enzimática en donde se cortan las cadenas de almidón y almidón unido a proteínas. Posteriormente se realiza un lavado con agua, etanol y acetona para eliminar la fibra soluble quedando solamente los residuos de fibra insoluble. Se realiza nuevamente otra digestión para liberar los monómeros de glucosa, que son cuantificados por un método enzimático espectrofotométrico (Goñi *et al.* 1996).

Procedimiento:

Se pesó la muestra, se colocó en un matraz y se le agregó buffer KCL-HCL para un pH de 1.5, posteriormente se agregó pepsina y se puso en agitación constante a 40 °C en un termoagitador para después enfriar y adicionar el segundo buffer, Trismalato, para un pH de 6.9 y la segunda enzima α -amilasa, se mezcló de forma suave y se dejó incubar a 37 °C con agitación constante.

La muestra se centrifugo a 5000 rpm y se desecharon los sobrenadantes, despues se agrego KOH 2M a la muestra y se dejo a temperatura ambiente con agitaci3n constante para agregar el tercer buffer: Acetato de Sodio al 0.4M para un pH de 4.75 y la tercer enzima la cual que fue amiloglucosidasa y se incubo a 60 3C.

Se dej3 enfriar la muestra para despu3 volver a centrifugar a 5000 rpm, pero ahora midiendo cada cantidad de sobrenadante que se obtuvo ya que se uso para el c3lculo.

Se determin3 glucosa en el sobrenadante usando reactivo de glucosa y dejando reposar para leer la absorbancia a 505 nm en el espectrof3tmetro y despu3 proceder a realizar los c3lculos correspondientes.

3.6.3. Determinaci3n de almid3n digerible.

El contenido de almid3n digerible se determin3 por diferencia del total con el resistente con ayuda de la siguiente formula:

$$\% \text{ Almid3n digerible} = (\% \text{ Almid3n total} - \% \text{ Almid3n resistente})$$

3.6.4. Determinaci3n de fibra diet3tica.

Para este metodo indicado en AACCI Method 32-05.01 se peso por duplicado y con precisi3n el amaranto desengrasado en un matraz Erlenmeyer. Adicionar regulador de fosfato pH 6.0 y enzima α -amilasa.

El matraz se coloc3 a ebullici3n en una parrilla el3ctrica con agitaci3n constante para despu3 ajustar el pH a 7.5 acondicionados con soluci3n de NaOH 0.285 N y agregar proteasa. Se incub3 a 603C con agitaci3n continua en un ba3o con agua a temperatura controlada. Posteriormente se dej3 enfriar a temperatura ambiente, se agreg3 soluci3n de 3cido clorhidrico 0.329 M y nuevamente se ajust3 el pH a 4.5 adicionando la enzima amilomiglucosidasa y se incub3 durante 30 minutos con agitaci3n continua. Se dej3 reposar a temperatura ambiente durante 60 minutos hasta permitir la precipitaci3n de la fibra.

La soluci3n de la digesti3n enzim3tica se filtr3 a trav3s de un embudo vaci3 lavando secuencialmente con alcohol a 75%, alcohol al 95% y acetona. El contenido del papel filtro se seco hasta peso constante en una estufa previamente calibrada a temperatura de $100 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Finalmente el papel filtro y su contenido se inciner3 para discriminar el contenido de cenizas y el contenido de proteina.

3.6.5. Determinaci3n de capacidad antioxidante.

Este ensayo fue propuesto originalmente por Brand-Illiams y modificado por Kuskoski *et al.* (2005). El DPPH es uno de los pocos radicales libres org3nicos estable, presenta una fuerte coloraci3n violeta, es comercialmente disponible y no

tiene que ser generado *in situ* como el ABTS. El ensayo se fundamenta en la medición de la capacidad de un antioxidante para el radical DPPH, esta medición puede hacerse espectrofotométricamente siguiendo el decaimiento de la absorción a 518 nm. La reacción de estabilización se considera que transcurre principalmente mediante un mecanismo Transferencia de Electrones (TE), con un aporte marginal de transferencia de átomos de hidrógeno (TAH).

Se pesó la muestra y se diluyó en metanol-HCL al 1% , se hirvió en baño maría después enfriar y centrifugar a 9000 rpm para obtener un sobrenadante.

Se colocaron los tubos a 65 °C hasta su total evaporación y después se redisolvió en agua destilada agítandolo, para después volver a centrifugar a 9000 rpm y se obtuvo el extracto.

Del extracto obtenido se tomó una muestra y se le agregó solución DPPH 120 µM y se dejó reposar 30 minutos. Finalmente se midió la absorción a 518 nm y se leyó de forma adicional un control negativo para los cálculos.

Se realizaron los cálculos correspondientes.

3.6.6. Determinación de compuestos fenólicos.

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales (Prasad y Weigle, 1976). Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reaccionar con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.

Procedimiento:

Para la obtención del extracto se realizó de igual forma que para la capacidad oxidante.

Del extracto obtenido se tomó la muestra y se agregó agua destilada, reactivo de Folin y se agitó y se dejó reposar 5 minutos. Posteriormente se agregó Carbonato de sodio (Na_2CO_3) para volver a agitar y se dejó reposar.

Finalmente, se midió la absorción a 760 nm y se realizan los cálculos para la determinación de la cantidad de compuestos fenólicos.

3.7. Análisis estadístico

Todas las pruebas se realizaron por triplicado y se calculó su promedio, desviación estándar y coeficiente de variación. Para el análisis de los promedios se utilizó la prueba de rango múltiple t-student a un nivel de significancia de 0.05.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Crecimiento de plántula e índice de conversión

El comportamiento del crecimiento de la plántula y el índice de conversión se puede apreciar en la tabla 11. En la medición realizada a las plántulas y radículas de los germinados de amaranto a los diferentes tiempos de germinación se pudo observar un aumento gradual en su tamaño el cual fue proporcional al tiempo de germinación siendo la plántula final 2.4 veces mas grande que la del día 2.

Tabla 11. Características del germinado de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) variedad Tulyehualco.

Días de germinación	Índice de conversión (g)	Tamaño de plántula y radícula (cm)
2	2.79±0.52 ^a	2.14±0.11 ^a
3	3.21±0.09 ^b	3.00±0.10 ^b
4	3.16±0.66 ^b	4.35±0.52 ^c
5	3.11±0.32 ^b	5.12±0.13 ^d

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05)

También se puede apreciar que el índice de conversión fue aumentando de los dos a los tres días de germinación con una diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05) pero a partir de los tres y hasta los cinco días prácticamente se mantuvo constante. Esto concuerda con lo reportado por Alatorre-Cobos y Rodríguez-Trejo en 2009, ya que indican que el índice de conversión típicamente involucra inicialmente una rápida ganancia por humedad (imbibición), seguida por una larga meseta. En ambos casos se observó el comportamiento esperado en el crecimiento normal de una planta, es decir, que las condiciones de germinación fueron adecuadas.

4.2. Análisis químico proximal

Los resultados obtenidos a partir del análisis químico de las diferentes muestras se presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis químico proximal de germinados de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) variedad Tulyehualco.

Días de germinación	HUMEDAD %	PROTEÍNA %	GRASA %	CENIZAS %	FIBRA %	CHOS %
0	8.39±0.09 ^a	13.67±0.2 ^a	6.41±0.09 ^a	3.88±0.05 ^{ac}	9.45±0.16 ^a	58.2 ^a
2	6.94±0.08 ^b	15.47±0.42 ^{ab}	9.12±0.13 ^b	3.25±0.03 ^b	18.3±0.14 ^b	46.92 ^{bc}
3	4.30±0.18 ^c	16.57±0.59 ^{bc}	9.15±0.39 ^b	4.11±0.23 ^c	15.94±0.91 ^{bc}	49.95 ^{ab}
4	5.79±0.10 ^d	17.11±0.41 ^{bc}	9.19±0.13 ^b	3.41±0.16 ^{ab}	14.49±0.14 ^c	50.01 ^{abc}
5	4.41±0.25 ^c	18.76±0.66 ^c	9.25±0.86 ^b	4.04±0.09 ^c	15.18±0.20 ^c	48.36 ^{bc}

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa (P≤0.05)

En el caso de la humedad los resultados que se muestran corresponden a la “muestra seca” (germinado deshidratado y molido), se puede observar que hubo diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre los días de germinación y tuvo una tendencia a reducirse hasta obtener una humedad final de la mitad del control. Lo mismo fue reportado por Ghavidel y Prakash (2007) donde germinaron diferentes leguminosas y hubo una reducción de humedad en todas sus muestras.

Para la proteína se encontró que la concentración en la semillas sin germinar se incrementó un 37.23% a los cinco días de germinación. Además según datos bibliográficos, esta proteína es de buena calidad por elevado contenido de aminoácidos esenciales como la lisina, el triptófano, la cisteína y la metionina. (Teran *et al.*, 2015).

El incremento de proteínas en los germinados coincide con lo reportado por Mendoza *et al.* (2014) en su estudio del germinado de amaranto, también con Ghavidel y Prakash (2007) donde se germinaron leguminosas, esto comprueba que el proceso de germinación, en general, incrementa el contenido proteico del germinado en comparación con la semilla. El incremento de proteína puede deberse a la biosíntesis durante la germinación (Ghavidel y Prakash, 2007), aunque otra posibilidad es un aumento en el nitrógeno no proteico como resultado del remojo (Sattar *et al.*, 1989).

En cuanto a los lípidos totales, se aprecia un ascenso de tres por ciento a los dos días de germinación, pero luego se mantiene prácticamente constante y no hay diferencia estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$). Este comportamiento no coincide con lo reportado para otros germinados debido a que durante el proceso de germinación, la semilla hace uso de las reservas de nutrientes (especialmente almidón y grasas) para el crecimiento y elongación del embrión (Suárez y Melgarejo, 2011). En este estudio en particular los datos reflejan que, al parecer, los germinados hacen uso, principalmente, de los carbohidratos de reserva.

El contenido de cenizas fluctuó durante la experimentación, teniendo al final un valor el cual, no presenta diferencias estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con el control. Se ha mencionado que la concentración de minerales presentan diferencias con respecto al tiempo de germinación, tipo de mineral y tipo de semilla (Elizalde *et al.*, 2011). Por lo tanto, la fluctuación de minerales en los diferentes momentos del proceso germinativo podría deberse a la variación de cada mineral como lo reporto Elizalde *et al.* (2011) donde la germinación no afectó de forma significativa el contenido de hierro en las semillas de amaranto, pero el contenido de calcio se incrementó significativamente. Además, algunos investigadores han demostrado que el proceso de germinación incrementa la presencia y biodisponibilidad de minerales en semillas (Elizalde *et al.*, 2011; Ghavidel y Prakash, 2007).

Por otra parte el contenido de fibra tuvo un aumento estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) con un resultado final 60% mayor con respecto al control. Este resultado concuerda con lo reportado por Diaz *et al.* (2007) durante la germinación de Judías

(*Vigna unguiculata*) donde hubo un incremento de fibra en los distintos procesos de germinación (iluminación total, mixto, oscuridad total), siendo más acentuado en oscuridad total. El aumento se puede atribuir a que, en ausencia de luz, hay procesos metabólicos que conducen a la síntesis de componentes de la pared celular (Diaz *et al.*, 2007), también el aumento puede deberse al mayor tamaño de la plántula y por ende a la mayor presencia de celulosa (Colmenares de Ruiz y Bressani, 1990).

En cuanto a los carbohidratos todos disminuyeron al compararlo con el control en al menos 8%, aunque desde el día dos no hay diferencias estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), la disminución inicial se espera ya que durante la germinación la semilla hace uso de las reservas de nutrientes (especialmente almidón). La plántula se alimenta de estas reservas durante la germinación, hasta que es autosuficiente y fotosintetiza (Alatorre-Cobos y Rodríguez-Trejo, 2009).

4.3. Calidad nutrimental: digestibilidad *in vitro* y contenido de triptófano

En la tabla 13 se muestran los resultados obtenidos para los factores nutrimentales cuantificados en las diferentes muestras.

Tabla 13. Resultados de digestibilidad *in vitro* y contenido de triptófano de germinados de Amarantho (*Amaranthus hypochondriacus* L) variedad Tulyehualco.

Días de germinación	DIGESTIBILIDAD (%)	TRIPTÓFANO g aa / 100 g proteína
Control	86.09±4.78 ^a	1.59±0.028 ^a
2	95.34±0.77 ^b	0.98±0.026 ^b
3	93.39±1.6 ^b	0.59±0.03 ^c
4	92.59±0.68 ^b	0.45±0.016 ^d
5	94.43±0.91 ^b	0.36±0.01 ^e

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

En cuanto a la digestibilidad se puede apreciar un aumento estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) de cero a dos días de germinación, pero de dos días y hasta los cinco no hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en sus valores, pero desde el día dos ya cuenta con una muy buena digestibilidad.

Esto es lo que se esperaba ya que el proceso de germinación activa enzimas como proteasas, lo cual afectó la digestibilidad de las proteínas *in vitro* e indujo un aumento del valor (Ghavidel y Prakash, 2007). En el caso específico del Amarantho el aumento fue por que se sabe que la proteína del amaranto es fácilmente digerible, pues se ha reportado que 90% de la proteína se hidroliza y puede ser absorbida eficientemente (Algara *et al.*, 2016). Cabe mencionar que muchos de los productos de la digestión proteica del amaranto tienen utilidad funcional para el organismo regulando procesos de proliferación celular e inflamación, además de contribuir como fuente de aminoácidos esenciales para la síntesis de proteínas (Algara *et al.*, 2016).

En cuanto al triptófano al iniciar el proceso de germinación este va disminuyendo cada día hasta llegar a disminuir un 77% respecto al control. La literatura indica que el triptófano es utilizado por las plantas para generar fitohormonas llamadas auxinas; estas auxinas estimulan la germinación en las semillas al incrementar la extensibilidad de la pared celular favoreciendo la elongación celular del tallo (Bewley & Black, 1994; Arellano *et al.*, 2008). Por eso, se observa que al ir incrementándose el tamaño de la plántula se reduce el contenido de triptófano, que probablemente ha sido utilizado en la producción de auxinas.

4.4. Factores antinutrimientales: taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina

En la tabla 14 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes factores antinutrimientales cuantificados en los germinados de amaranto.

En el caso de los taninos, la germinación hace que las concentraciones bajen desde los dos días y se mantengan constantes, la reducción promedio equivale a 26% menos tanino que los presentes en la muestra control.

Tabla 14. Resultados de factores antinutrimientales de germinados de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L) variedad Tulyehualco.

Días de germinación	TANINOS (%)	ÁC. FÍTICO (%)	INHIBIDORES DE TRIPSINA (UTI/mg de mtra)
Control	0.38±0.004 ^a	1.27±0.04 ^a	11.16±0.6 ^a
2	0.28±0.005 ^b	1.03±0.01 ^b	8.61±0.22 ^b
3	0.27±0.005 ^b	1.01±0.02 ^b	3.91±0.014 ^c
4	0.27±0.005 ^b	1.01±0.01 ^b	4.06±0.09 ^d
5	0.28±0.013 ^b	0.99±0.01 ^b	2.42±0.08 ^e

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Savelkoul *et al.* (1992) indicaron que la degradación enzimática era la posible responsable de la pérdida de taninos durante la germinación. Siddhuraju y Becker (2001) encontraron que a medida que aumentaba el tiempo de germinación había una disminución más pronunciada de los taninos. Esto no se ve reflejado en estos resultados, pero podrían necesitar más días para poder ver estos cambios.

Para el ácido fítico los resultados se comportaron de la misma manera que con los taninos pues tuvieron una reducción de concentración en el segundo día de germinación y se mantuvieron sin diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) hasta los cinco días, en este caso la reducción es de aproximadamente el 20 % con respecto al control. El menor contenido de ácido fítico podría explicarse por la lixiviación de este compuesto en el agua y la activación de la fitasa endógena durante la germinación que proporciona mioinositol y ácido fosfórico para el crecimiento de las plántulas (Cornejo *et al.*, 2015).

Martínez *et al.* (2002) nos indica que el ácido fítico se encuentra en los alimentos en niveles del 0,1- 6%, dependiendo su concentración de la parte de la planta que se consuma: en semillas los niveles son elevados ya que se localiza fundamentalmente en el cotiledón. El consumo medio de ácido fítico en la dieta se ha estimado en 0.75-0.79 g/persona/día, siendo estos niveles 2 o 3 veces mayores en países en vías de desarrollo (Martínez *et al.* 2002) por lo que nuestro producto esta dentro de los rangos normales.

La existencia de una correlación negativa entre el ácido fítico y la digestibilidad proteica ha sido puesta de manifiesto en varios alimentos (Martínez *et al.* 2002), siendo en este caso el amaranto uno de ellos ya que también se vio un aumento de la digestibilidad (tabla 13).

Con los inhibidores de tripsina hubo diferencias estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con una tendencia a la baja hasta obtener un valor final equivalente a un 78% menos en comparación con el control. El límite máximo permitido establecido es 10 (UTI/mg de mtra) de acuerdo a Kakade *et al.* (1974), lo que cumplen los germinados.

Recordemos que es importante reducir estos factores antinutricionales ya que, aunque son un método de defensa de la planta contra plagas, su presencia es indeseable en productos destinados a la alimentación por que alteran la digestión de las proteínas, inhibiendo la acción de las enzimas digestivas que se enfocan hacia la hidrólisis de las proteínas y carbohidratos.

4.5. Determinación del mejor tiempo de germinación

Conforme lo indicado en el objetivo particular 2 se determinó el mejor tiempo de germinación a partir de los resultados de AQP, digestibilidad *in vitro*, contenido de triptófano y de factores antinutrimientales.

El mejor tiempo de germinación fue el de 4 días, ya que en este tiempo se obtiene mayor cantidad de proteínas, grasas y fibra, una digestibilidad estadísticamente igual al de los otro días y un valor de triptófano mayor al día cinco. En el ambito de los antinutrimientales los taninos y ácido fítico son estadísticamente igual en los días 4 y 5. Es importante mencionar que un menor tiempo de germinación es mejor desde el punto de vista de costos del proceso, por esta razón, aunque los resultados de cinco días de germinación son en algunos casos mayores que a cuatro días, se seleccionó el menor tiempo de germinación.

Por lo tanto, las pruebas de compuestos funcionales correspondientes al objetivo particula 3 solo se realizaron a la muestra seleccionada con cuatro días de germinación.

4.6. Compuestos funcionales: almidón total y resistente, fibra dietética, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos

En la tabla 15 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes compuestos funcionales en la muestra control y los germinados de cuatro días.

Tabla 15. Resultados de fibra dietética, almidón total y resistente de germinados de cuatro días de Amarantho (*Amaranthus hypochondriacus L*) variedad Tulyehualco.

Días de germinación	FIBRA DIETÉTICA (%)	ALMIDÓN TOTAL (%)	ALMIDÓN RESISTENTE (%)	ALMIDÓN DIGERIBLE (%)
Control	14.03±0.37 ^a	51.01 ± 7.82 ^a	11.4 ± 1.47 ^a	39.61 ^a
Cuatro días	33.10±0.71 ^b	25.97±1.66 ^b	5.11±0.14 ^b	20.86 ^b

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

La fibra dietética aumentó en los germinados de cuatro días con respecto al control de forma estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$), siendo un 1.4 veces mayor que el control, esto es beneficioso ya que el consumo de fibra dietaria se ha asociado con propiedades de alimentos funcionales, que, además de nutrir, proveen condiciones que favorecen la disminución de hipercolesterolemia y disminución de la glucosa sanguínea y control de peso (Montero *et al.*, 2015).

En el caso del almidón total se ve disminuido de forma significativa ($P \leq 0.05$), casi en un 50%, este resultado es esperado ya que durante la germinación la plántula obtiene su energía, principalmente, de estas reservas, hasta que es autosuficiente y fotosintetiza (Alatorre-Cobos y Rodríguez-Trejo, 2009). El aumento de la actividad de la α -amilasa durante la germinación podría ser una posible explicación de la pérdida total de almidón y una mejora en el porcentaje de glucosa liberada (Ghavidel y Prakash, 2007).

El almidón resistente también se ve reducido de forma significativa ($P \leq 0.05$), un 55%, aún así, el valor de 5.11 % es mayor que el reportado en otras especies como guisantes (2.45%), garbanzos (3.39%), lentejas (3.25%), frijol de la especie Vicia faba (4.8%), etcétera (Miranda-Villa *et al.*, 2013).

Este almidón es fermentado en el colon por la microbiota intestinal donde producen una variedad de productos que incluyen ácidos grasos de cadena corta que pueden proporcionar una gama de beneficios fisiológicos (Rivera-Quixchan *et al.*, 2018).

Algunos autores indican que el contenido de almidón resistente de los alimentos depende del porcentaje de amilosa que poseen, ya que esta es más fácilmente retrogradada que la amilopectina cuando es sometido a varios ciclos de calentamiento y enfriamiento, lo que favorece a los alimentos donde son adicionados porque le proporcionan mayor estabilidad térmica (Miranda-Villa *et al.*, 2013).

El almidón digerible se ve reducido un 47%, lo cual es estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$), este resultado es el esperado ya que el almidón digerible es el carbohidrato de depósito de las plantas y la principal fuente dietaria de carbohidratos al crecer (Parado & Rozowski, 2008), este se puede explicar por el estado amorfo (desordenado) del almidón del amaranto que lo hace más accesible para las enzimas digestivas que el estado cristalino (ordenado) (Parado & Rozowski, 2008).

La degradación y la movilización de los carbohidratos durante la germinación ha sido investigada en especies como el sorgo (*Sorghum bicolor L.*) y el palo de rosa (*Aniba rosaeodora Ducke*), con reducción de almidones y azúcares hasta la emisión de la radícula (Alatorre-Cobos y Rodríguez-Trejo, 2009).

Tabla 16. Resultados de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de germinados de cuatro días de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) variedad Tulyehualco.

Muestra	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (%)	COMPUESTOS FENÓLICOS (meq EAG/g mta)
Control	62.94±0.98 ^a	1.46±0.032 ^a
Germinado	51.13±0.23 ^b	1.17±0.02 ^b

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Se puede observar que la germinación disminuyó la capacidad antioxidante comparada con la semilla en un 18.7%, esto es contrario a lo esperado y a lo que reportan algunos autores (De León *et al.*, 2013; Davila *et al.*, 2003) que indican aumento en vitamina C y otros antioxidantes, esto se puede explicar por el hecho que el ácido ascórbico es un componente muy sensible a la temperatura, por lo que se degrada por efecto del calor, además del efecto degradativo producto de la oxidación (Castañeda *et al.*, 2010).

En el caso de los compuestos fenólicos también hubo una reducción casi 20%. Según Howard *et al.* (2000), el contenido de compuestos fenólicos presentes en los vegetales, está influenciado por el tipo de cultivar, las condiciones agronómicas, estado de madurez, así como el manejo y tratamientos poscosecha a los que son sometidos. El contenido elevado de fenoles puede afectar el valor nutricional de las semillas y la oxidación de sus productos, e interactuar con aminoácidos libres, especialmente con los grupos amino de la lisina (Chavan *et al.*, 1999).

4.7. Relación de eficiencia proteica y digestibilidad aparente.

Tabla 17. Resultados de digestibilidad aparente y eficiencia proteica en germinados de cuatro días de Amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L*) variedad Tulyehualco.

Muestra	PER	PER Ajustado	DA (%)
Caseina	2.87	--	
Germinado	1.04	0.91	92.87

*Diferentes letras entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Para la evaluación biológica de la calidad proteica del germinado de amaranto se determinó la Relación de Eficiencia Proteica (PER). Este método tiene por base la variación de peso corporal en función de la cantidad de proteína ingerida. Considerando que ocurren variaciones en el total de proteína ingerida debido a las diferencias de calidad proteica de la dieta, es común medir la variación del peso como consecuencia global del funcionamiento de la proteína ingerida. PER es definido por la razón entre el aumento de peso de los animales y el consumo de proteína entre los días cero y 28 (Lenzi de Almeida *et al.*, 2008).

El valor PER para la caseína fue similar al valor reportado por otros investigadores y la FAO (Silva *et al.*, 2003; López *et al.*, 2006; FAO, 1970). Pero en el caso del PER del amaranto germinado el valor obtenido es muy bajo, incluso comparandolo con otros granos como la cebada con PER entre 1.9 - 1.8 (López *et al.*, 2006), el Arroz con PER de entre 1.5 y 2.0 (FAO, 1970) o la proteína del maíz (*Zea mays L.*) cuyo valor PER varia entre 1.4 y 1.7 (López *et al.*, 2006; FAO, 1970).

Este valor no es el esperado y suponemos es debido a que el sabor del germinado de amaranto no fue del agrado de los ratones y por ende no hubo mucho consumo, o puede deberse también a la cantidad de fibra dietética en el amaranto germinado (33.10%) haciendo que los animales tengan una sensación mayor de saciedad, lo que conduce a menor consumo (Lenzi de Almeida *et al.*, 2008).

La digestibilidad es el método empírico óptimo para medir la disponibilidad de nutrientes de un alimento. Un alimento formulado puede estar bien balanceado y contener todos los nutrientes esenciales en la dieta, pero no producir un buen crecimiento porque los nutrientes no se encuentran disponibles. El valor nutritivo verdadero de un alimento formulado depende en última instancia de la disponibilidad de sus nutrientes y no simplemente de su composición (Suárez *et al.*, 1998).

La digestibilidad del huevo, leche, carne y proteína aislada de soya es mayor de 95% y la de los cereales, guisantes y arroz se encuentra entre 80% y 90% (Olza Meneses, *et al.*, 2008). Por lo que el valor obtenido (92.87%) es mayor. Esto es lo que se esperaba ya que el proceso de germinación activa enzimas como las proteasas, lo cual afectó la digestibilidad de las proteínas e indujo un aumento del valor (Ghavidel y Prakash, 2007). Además, este valor no presenta diferencias significativas ($P \leq 0.05$), al compararlo con el de la digestibilidad *in vitro* (92.59 %).

En conclusión los resultados del estudio indicaron que el procedimiento empleado en la germinación es factible para la obtención de nuevos productos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus L.*). Con el avance del proceso de germinación, se incrementó el peso de los granos germinados, la longitud de la radícula y el índice de conversión. Esto dio lugar a cambios en la composición química de los germinados, como el aumento de proteína, grasa y fibra, una reducción en los compuestos antinutrientales que trajo como consecuencia mejoras en su calidad nutricional junto con una mejor digestibilidad *in vitro*, pero con una reducción en su contenido de triptófano.

Con todos estos parámetros se pudo escoger el mejor tiempo de germinación que fue de cuatro días. Por tanto, las modificaciones que se produjeron durante la germinación implicaron cambios en las propiedades físico-químicas de este pseudocereal. Esto puede considerarse como un método efectivo y prometedor pues aumenta su calidad nutricional y la funcionalidad del germinado de amaranto y mejora la calidad del producto.

5. CONCLUSIONES

Se logró obtener de manera satisfactoria el germinado de amaranto bajo las condiciones experimentales a 25 °C y en ausencia de luz, por 2, 3, 4 y 5 días, consiguiendo un incremento adecuado en el tamaño de la plántula y el índice de conversión.

La germinación de semillas de amaranto tuvo un efecto positivo sobre su calidad nutrimental pues aumento su contenido de proteína, grasa, fibra y la digestibilidad de su proteína.

La germinación de semillas de amaranto disminuyó la concentración de los factores anti nutrimentales como taninos y ácido fítico lo que resulta favorable para su calidad nutrimental.

Se determinó que el mejor tiempo de germinación para la semilla de amaranto fue de cuatro días.

La germinación disminuyó la concentración de almidón (resistente, digerible, total) y aumento la fibra dietética, pero la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos se vieron disminuidas.

Los germinados de semillas de amaranto pueden considerarse como un alimento funcional ya que presentan un aporte significativo de fibra dietética, almidón resistente y un buen porcentaje de capacidad antioxidante.

Se obtuvo un valor del PER bajo, probablemente debido al alto contenido de fibra dietética en el amaranto germinado que genera una sensación mayor de saciedad, lo que conduce a menor consumo.

Finalmente se puede concluir que la germinación demuestra ser una opción para aumentar la calidad nutrimental y funcional del amaranto y lograr la diversificación de productos y poder elevar la producción de este grano.

6. RECOMENDACIONES

- Se debe realizar un análisis microbiológico a los germinados para asegurar su inocuidad ya que no se les somete a ningún tratamiento térmico.
- Realizar un perfil de aminoácidos a la proteína del germinado para observar si mantiene un perfil similar al requerido por la FAO.
- Realizar un estudio de factibilidad financiera para saber si es rentable su producción.

7. REFERENCIAS

- AACC Intl. Approved Method 32-05.01. *AACC International Approved Methods of Analysis, 11th Ed.* (2010). AACC International PRESS, St Paul, MN, U.S.A.
- Abu-Sabbah M.S., (2015). Estudio sobre proporciones de triptófano, aminoácidos neutros y glucosa para la síntesis de serotonina cerebral en niveles fisiológicos normales relacionados a la neuroconducta (Tesis de Maestría) USMP Facultad de Medicina, Lima Peru.
- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food chemistry*, 152, 46-55.
- Adom, K. K., y Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50 (21), 6182-6187.
- Alatorre-Cobos, J., y Rodríguez-Trejo, D. A. (2009). Concentración de carbohidratos y peso fresco durante la germinación de *Chamaedorea elegans* Mart. y factores que la afectan. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 15(1), 73-79.
- Algara S.P., Gallegos M.J. & Reyes-Hernández J., (2016). El amaranto y sus efectos terapéuticos. *Tlatemoani Revista Académica de Investigación*. 21.
- A.O.A.C: Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, (2005). Methods 925.09:Moisture in cassava –air oven methods, Washington D.C., USA.
- Arellano, Y., García, E. & Vázquez-Ramos, J.M. (2008). Estimulación de la síntesis de ADN y de proteínas de ciclo celular por auxinas durante la germinación de maíz. *Agrociencia*, 42, 637-644
- Arnao, M. B., Cano, A., Hernandez-Ruiz, J., Garcia-Cánovas, F., & Acosta, M. (1996). Inhibition by ascorbic acid and other antioxidants of the 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic Acid) oxidation catalyzed by peroxidase: A new approach for determining total antioxidant status of foods. *Analytical Biochemistry*, 236(2), 255-261.
- Ayala-Garay, A. V., Espitia-Rangel, E., Rivas-Valencia, P., Martínez-Trejo, G., & Almaguer-Vargas, G. (2016). Análisis de la cadena del valor de amaranto en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 13(1), 87-104.
- Badui, D. S. (2006). Química de los alimentos. Pearson Educacion, México DF.
- Barrón-Yáñez, M. R., Villanueva-Verduzco, C., García-Mateos, M. R., & Colinas-León, M. T. (2009). Valor nutricional y contenido de saponinas en germinados de huauzontle (*Chenopodium nuttalliae* Saff.), calabacita (*Cucurbita pepo* L.), canola (*Brassica napus* L.) y amaranto (*Amaranthus leucocarpus* S. Watson syn. *hypochondriacus* L). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(3), 237-243.
- Baskin, C.C., y Baskin, J.M. (2001). Seeds ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press. New York, E.U.A.
- Bello-Pérez, L. A. y Paredes-López, O. (1999). El almidón lo comemos, pero no lo conocemos. *Conversa*. 29–33.
- Bewley, J.D. y Black, M. (1994). Seeds Physiology of Development and Germination. Nueva York, EUA: Plenum Press.

- Bewley, J.D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M. y Nonogaki, H. (2013). *Seeds physiology of development, germination and dormancy*. Springer. New York, E.U.A.
- Becerra, R. (2000). El amaranto: nuevas tecnologías para un antiguo cultivo. *CONABIO. Biodiversitas* 30, 1-6.
- Beltrán, M. D. C., Ordaz-Trinidad, N., Pineda, T. S., & Arana-Errasquín, R. (2010). Desarrollo de un pan adicionado con semilla de chía y amaranto destinado a personas celíacas. In *Extensos del XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica-VI Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica-VIII Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular* (pp. 24-26).
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1990). Starch granules: structure and biosynthesis. *International journal of biological macromolecules*, 23(2), 85-112.
- Cárdenas H. A, (2012). Composición química, características de calidad y actividad antioxidante de pasta enriquecida con harina de amaranto y hoja de amaranto deshidratada (Tesis de Maestría), Universidad Autónoma De Queretaro, Facultad de Química, Queretaro.
- Castañeda, J., Arteaga, H., Siche, R., & Rodriguez, G. (2010). Estudio comparativo de la pérdida de vitamina C en chalarina (*Casimiroa edulis*) por cuatro métodos de deshidratación. *Scientia Agropecuaria*, 1(1), 75-80.
- Chavan, U.D., F. Shahidi, A.K. Bal and D.B. McKenzie. (1999). Physico-chemical properties and nutrient composition of beach pea (*Lathyrus maritimus L.*). *Food Chemistry* 66(1): 43–50.
- Church, C.D. and Pond, G.W. (1987). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 1a. Ed. México, D. F., Editorial Limusa, S. A. de C.V. pág. 21-24, 26, 31-48, 51-54, 104, 120, 137-142 y 218. Capitulo 1 y 2
- Collazos, C., White, P. H., White, H. S., Vifias, E., Alvistur, E., Uriqueta, R., ... & Hegsted, D. M. (1975). La Composición de los Alimentos Peruanos (Quinta Ed.). *Ministerio de Salud, Lima*.
- Colmenares de Ruiz, A.S. & Bressani, R. (1990). Effect of Germination on the Chemical Composition and Nutritive Value of Amaranth Grain. *Cereal Chemistry*, 67(6), 519-522.
- Cornejo, F., Caceres, P. J., Martínez-Villaluenga, C., Rosell, C. M., & Frias, J. (2015). Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. *Food Chemistry*, 173, 298-304.
- Davila, M. A., Sangronis, E., & Granito, M. (2003). Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 53(4), 348-354.
- De León, C. P., Torija, M. E., & Matallana, M. C. (2013). Utilidad en la alimentación de algunas semillas germinadas: brotes de soja y trigo. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología*, 107, 47-55.
- Díaz, M. F., Cabrejas, M. Á. M., González, A., Torres, V., & Noda, A. (2007). Biotransformación de *Vigna unguiculata* durante el proceso de germinación. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(2), 169-174.

- Dziki, D., Gawlik-Dziki, U., Kordowska-Wiater, M., & Domań-Pytka, M. (2015). Influence of elicitation and germination conditions on biological activity of wheat sprouts. *Journal of Chemistry*, 2015.
- Escalante-Escoffié, M. C. (2010). Rescate y revaloración del cultivo del amaranto. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), *Fundación Grupo Produce Distrito Federal*. Primera Edición. México
- Escudero Álvarez, E., y González Sánchez, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*, 21, 61-72.
- Elizalde, A. D. D., Pismag, R. Y., & Chaparro, D. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 45-54.
- Elizalde, A. D. D., Pismag, R. Y., & Chaparro, D. (2011). Efecto de la germinación sobre el contenido de hierro y calcio en amaranto, quinua, guandul y soya. *Bioteología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(1), 51-59.
- FAO (1970). Contenido de aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas. Servicio de ciencia y política de la alimentación. Dirección de Nutrición. Roma. pp. 187-205 disponible en: <http://www.fao.org/3/AC854T/AC854T78.htm>
- FAO/OMS/UNU. (1985). Necesidades de energía y proteínas. OMS., Ginebra. Serie de Informes técnicos N° 724.
- FAO (1985) Los carbohidratos en la nutrición humana: informe de una consulta mixta FAO/OMS de expertos, Roma, 14-18 de abril de 1997. Roma.
- FDA - C.F.R.106.160 Code of Federal Regulations Title 21 (2018) recuperado el 30 de Abril del 2019 de <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=106.160>
- García, O (2003). Alimentos funcionales: Aspectos científicos y regulatorios. Dieta y salud, publicación de Kellog's America. 10 (1).
- Garcia, V. (2010). Trabajo Monográfico de actualización^[SEP] Amaranto: Una alternativa de alimento para personas de edad avanzada. (Tesis Licenciatura). UNAM Facultad de Química, México DF.
- Ghavidel, R. A., y Prakash, J. (2007). The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 40(7), 1292-1299.
- Gilani, G. y Lee, N. (2003). Quality. Bureau of Nutritional Sciences. 1: 4847-4854
- Goñi, I., Garcia-Diz, L., Mañas, E., & Saura-Calixto, F. (1996). Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food chemistry*, 56 (4), 445-449.
- Guzmán-Maldonado, H. y Paredes-López, O. (1995). Amylolitic enzymes and products derived from starch: A review. *Critical review in food science and nutrition*. 35: 373-403.
- Haug; W. y Lantsch, H.J. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and products. *Journal Science Food Agriculture*, 34, 1423-1426.

- Herlich, K. (1990). Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. 15th edition, published by A.O.A.C. Inc, Arlington. 2:1020.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., & Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1713-1720.
- Hsu, H., Vavak, I., Satterlee & Miller, G., (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal Food Science and Technology*, 42(5), 1269-1273.
- Irving, D. W., Betschart, A. A., Shepherd, A. D., & Saunders, R. M. (1981). *Amaranthus cruentus*: milling characteristics, distribution of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality. *Journal of Food Science*, 46(4), 1181-1187.
- ISO 9648; (1988). Determinación del contenido de taninos en sorgo. International Organization of Standardizations, ISO/DIS 9648. 175-215
- Kakade M. L., Rackis J. J., McGhee J. E. & Puski G. (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy product: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry*, 51, 376-381.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
- Lamont, B. B., Le Maitre, D. C., Cowling, R. M., & Enright, N. J. (1991). Canopy seed storage in woody plants. *The Botanical Review*, 57(4), 277-317.
- Lenzi de Almeida, K. C., Spreafico Fernandes, F., Teles Boaventura, G., & Guzmán-Silva, M. A. (2008). Efecto de la semilla de linaza (*Linum usitatissimum*) en el crecimiento de ratas Wistar. *Revista chilena de nutrición*, 35(4), 443-451.
- López, P., Sánchez, I., & Román, A. D. (2006). Evaluación biológica de la calidad proteica de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* jess) cultivadas en los estados de Hidalgo y Tlaxcala, México. *Revista chilena de nutrición*, 33(1), 86-90.
- Luallen, T. E. (1988). Structure, characteristics, and uses of some typical carbohydrate food ingredients. *Cereal Foods World*, 33(11), 924-927.
- Luis, G. M., Hernández, B. R. H., Caballero, V. P., López, N. G. T., Espinoza, V., & Pacheco, L. R. (2018). Usos actuales y potenciales del Amarantho (*Amaranthus spp.*). *Journal of Negative and No Positive Results: JONNPR*, 3(6), 423-436.
- Marin-Cardenas, A., Hevia, P., & Ana, M. (1999). Evaluación nutricional del follaje de plátano y su incorporación en las raciones para pollos. *Respuestas*, 4(1), 28-31.
- Márquez-Guzmán, J. (2013). Tema IV. Capítulo VII. Semilla. En: Márquez-Guzmán, J., Collazo-Ortega, M., Martínez-Gordillo, M., Orozco-Segovia, A., y Vázquez-Santana, S. (Eds.) *Biología de angiospermas*. Las Prensas de Ciencias. México, D.F., México. Pp. 137-149.
- Martínez S. L. (2016). Seguridad alimentaria, autosuficiencia y disponibilidad del amaranto en México. *Problemas del desarrollo*, 47(186), 107-132.

- Martínez D.B., Ibáñez Gómez, M., & Rincón León, F. (2002). Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 52(3), 219-231.
- Matito, C. S. (2014). Efecto de la ingesta de cereales enriquecidos con triptófano sobre el sueño, niveles de melatonina, serotonina, cortisol y estado antioxidante en personas mayores (Tesis de Doctorado) Universidad de Extremadura, Facultad de Ciencias, Badajoz, España.
- Maynard, A.L. Loosli, K.J.; Hintz, F.H. y Warner, G.R. (1986). Nutrición Animal. 4a. ed., México, DF., Ed. MacGraw-Hill. Págs: 23-27, 34-35, 49-54, 63-77, 95-97, 113-114, 119-122, 144,162-165.
- Mendoza C. F., Jacinto C. O., Argueta T. K., Jiménez-Vera, V., Martínez-Manrique, E. (2014). Evaluación nutrimental de germinados de amaranto. Memorias del VII Simposio Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Villahermosa, Tabasco, México.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., & Kanter, M. (2000). Whole-grain products and antioxidants. *Cereal foods world*, 45(2), 59-63.
- Miranda-Villa, P. P., Marrugo-Ligardo, Y. A., & Montero-Castillo, P. M. (2013). Caracterización Funcional del Almidón de Frijol Zaragoza (*Phaseolus Lunatus* L.) y Cuantificación de su Almidón Resistente: Functional Characterization of Bean Zaragoza Starch (*Phaseolus Lunatus* L.) and Quantification of the Resistant Starch. *Tecno Lógicas*, (30), 17-32.
- Montero, K. C., Moreno-Rojas, R., Molina, E. A., Colina, M. S., & Sánchez-Urdaneta, A. B. (2015). Evaluación de panes enriquecidos con amaranto para regimenes dietéticos. *Interciencia*, 40(7), 473-478.
- Moon J., y Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1655-1666.
- Moongngarm, A., y Saetung, N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food chemistry*, 122(3), 782-788.
- Morales-Morales, A. E., de la Cruz-Lázaro, E., Osorio-Osorio, R., Sánchez-Chávez, E., Trejo, A. M., & Márquez-Quiroz, C. (2016). Contenido mineral y rendimiento de germinados de frijol caupí biofortificados. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (17), 3415-3425.
- Nieto, C. (1990). El cultivo de amaranto (*Amaranthus* spp) una alternativa agronómica para Ecuador. INIAP, EE. Santa Catalina. Publicación Miscelánea N°52. Quito, Ecuador.
- NMX-F-428-1982. (1982). Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- Olza Meneses, J., Porres Foulquie, J., Urbano Valero, G., Martínez de Victoria, E., & Gil Hernández, A. (2008). Evaluación biológica de la calidad de una mezcla de proteínas para uso en nutrición enteral. *Nutrición Hospitalaria*, 23(3), 206-211.
- Orozco-Segovia A. y Sánchez-Coronado, M.E. (2013). Tema VI. Capítulo VI. Banco de semillas. En: Márquez-Guzmán, J., Collazo-Ortega, M., Martínez-Gordillo, M., Orozco-Segovia, A. y Vázquez-Santana, S. (Eds.) Biología de angiospermas. Las prensas de Ciencias. México, D.F., México. Pp. 236-240.

- Parada, J. A., y Rozowski, J. (2008). Relación entre la respuesta glicémica del almidón y su estado microestructural. *Revista chilena de nutrición*, 35(2), 84-92.
- Prasad, K., y Weigle, J. L. (1976). Rhizoctonia solani in Phaseolus vulgaris. *Phytopathology*, 66, 342-345.
- Rama, M., Tara, R. & Krishnan, C., (1974). Colorimetric estimation of tryptophan content of pulses. *Journal Food Science and Technology*. 11: 213-216.
- Rayn, C. A. (2012). Evaluación del contenido del verbascósido, compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante en plantas de Buddleja cordata Kunthpropagadas in vitro (Tesis de Maestría), UAM Iztapalapa, Ciudad de Mexico
- Rivera-Quixchan, J. M., González-Cortés, N., García-Zarracino, R., & Jiménez-Vera, R. (2018). Componentes prebióticos del plátano: fibra dietética y almidón resistente. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 5(3), 40-50.
- Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1660S-1664S.
- Robertson, K.R. (1981). The General of Amarantaceae in the south eastern United States. *Journal of The Arnold Arboretum*, 62 (3), 267-314.
- Robles A. M. A., (2017). Aprovechamiento de almidón de amaranto (A. hypochondriacus) como almidón resistente (Tesis de maestría) Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, Ciudad de México.
- Rodríguez, S. A. C. (2003). Forraje Verde Hidropónico. 1ª ed. Diana, México (DF).
- Sahagún, B. (2006). Historia general de las cosas de la Nueva España. México: Porrúa.
- Salas-Pérez, L., Gaucín-Delgado, J. M., Preciado-Rangel, P., Fortis-Hernández, M., Valenzuela-García, J. R., & Ayala-Garay, A. V. (2016). Efecto del ácido benzoico en la capacidad antioxidante de germinados de trigo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (17), 3397-3404.
- Salcedo-Chávez, B.; Osuna-Castro J. A.; Guevara-Lara F.; Domínguez-Domínguez J. y Paredes-López O. (2002). "Optimization of the isoelectric precipitation method to obtain protein isolates from Amaranth (*Amaranthus cruentus* seeds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. V. 50, p. 6515-6520.
- Santibañez, A.A. (2005). Productividad del cultivo hidropónico de Avena sativa y Vicia benghalensis cv. atropurpurea y su utilización como forraje complementario en la alimentación de Oryctolagus cuniculus, en etapa de engorda. (Tesis de licenciatura); Universidad Católica de Valparaíso. Fac. de Agronomía. (Valparaíso, Chile).
- Sattar, A., Durrani, S. K., Mahmood, F., Ahmad, A., & Khan, I. (1989). Effect of soaking and germination temperatures on selected nutrients and antinutrients of mungbean. *Food Chemistry*, 34(2), 111-120.
- Savelkoul, F. H. M. G., Van der Poel, A. F. B., & Tamminga, S. (1992). The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42(1), 71-85.

- Siddhuraju, P. y K. Becker. (2001). Effect of various domestic processing methods on antinutrients and in vitro protein digestibility and starch digestibility of two indigeous varieties of Indian tribal pulse, *Mucuna pruriens* var. *Utilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 3058–3067.
- Silva, W., Arbaiza, T., Carcelén, F., & Lucas, O. (2003). Evaluación biológica en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) de fuentes proteicas usadas en alimentos comerciales para perros. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(1), 18-23.
- Singhal, R.S. y P.R. Kulkarni. (1988). Review: amaranth and under utilized resource. *Int. J. Food Sci. Tech.* 23: 125-139.
- SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, Anuario Estadístico de la Producción Agrícola Recuperado el 10 de abril del 2019 <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Suárez, L. E. C., Marie, D. R., López, M. N., & Salazar M. T. (1998). Revisión Sobre Calidad de Harinas y Aceites de Pescado para la Nutrición de Camarón, *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 298-326.
- Suárez, P. A., Martínez, J. G., & Hernández, J. R. (2013). Amarantho: Efectos en la nutrición y la salud. *Tlatemoani*, (12).
- Suárez, D. y Melgarejo, L. (2011). *Biología y Germinación de Semillas en Experimentos en la fisiología de plantas*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Sunil, M., Hariharan, A. K., Nayak, S., Gupta, S., Nambisan, S. R., Gupta, R. P. y Srinivasan, S. (2014). The draft genome and transcriptome of *Amaranthus hypochondriacus*: a C4 dicot producing high-lysine edible pseudo-cereal. *DNA research*, 21(6), 585-602.
- Terán, W., Vilcacundo, R., & Carpio, C. (2015). Compuestos bioactivos derivados de amarantho y quinua. *Actualización en Nutrición*, 16(1), 18-22.
- Thomas, D. J. y Atwell, W. A. (1999). Starch Structure, In: *Starches*, Thomas, D. J. and Atwell, W. A., Eds. Cap. 1, Eagan Press, USA. 1999; pp: 1-11.
- Travieso, M. D. C., Álvarez, J. S. G., Puente, S. L., Solís, C. V., & Bochi-Brum, O. (1999). Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. *Archivos de zootecnia*, 48(181).
- USDA: The United States Department of Agriculture, FoodData Central, Recuperado el 25 de Abril del 2019 <https://fdc.nal.usda.gov/index.html>
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*. 37, 1-17.
- Zotz, G. (2016). *Plants on plants: the biology of vascular epiphytes*. Berlin: Springer.
- Zhu, D., Hettiarachy, N. S., Horax, R., & Chen, P. (2005). Isoflavone contents in germinated soybean seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(3), 147-151.