



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

Área Académica de Química

“Mejoramiento de las propiedades fisicoquímicas
y sensoriales de la fórmula comercial de una bebida
a base de amaranto”

T E S I S

Que para obtener el título de:

Licenciado en QUÍMICA EN ALIMENTOS

PRESENTAN:

Juan Francisco Gutiérrez Rodríguez
Sandy Lozano García

ASESORAS:

Dra. Elizabeth Contreras López
Dra. Judith Jaimez Ordaz



Pachuca, Hgo. Diciembre, 2008

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas, en el laboratorio de Alimentos II. Algunos de los análisis se llevaron a cabo en el Centro de Investigaciones en Ciencias y Tecnología de los Alimentos, ICAP – UAEH.

Agradecemos a Héctor J. Mancera Medoza, de la empresa MANFLOW, S.A por la donación de muestras y materias primas para la elaboración de este proyecto.

Al programa anual de investigación 2006 “Dra. Honoris Causa Eliza Vargas-Lugo Rangel”, con el título “Desarrollo y optimización de una fórmula a base de amaranto rica en proteína” (Clave 3A)

Al CONACYT por el apoyo al proyecto “Optimización de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de una bebida a base de amaranto” con número 067187.

A la Dra. Adriana I. Rodríguez Hernández por su tiempo y asesoría en el área de Reología y permitir el acceso a los equipos necesarios.

A la Dra. Elizabeth Contreras López por la ayuda brindada durante la realización del proyecto, así como también por su tiempo.

A la Dra. Judith Jaimez Ordaz por su ayuda en la realización de éste proyecto.

A la Dra. Eva María Santos, por la ayuda y comprensión

A nuestros amigos Gaby Yañez, Laura Andrea, Eliel, Carmen (S), Mario Heyvar, Bethsua, por estar en los momentos difíciles, por apoyarnos, por hacernos reír y hacernos enojar a veces, por compartir un cachito de vida en este tiempo. Gracias por su apoyo incondicional.

Dedicatorias

Gracias a Dios por darme la oportunidad de nacer y existir, por darme a unos grandes padres que me apoyaron y me cuidaron día a día, por estar conmigo siempre que los necesitaba.

Gracias a mi mamá por consentirme, mimarme y apoyarme cada vez que estaba triste gracias por su tiempo y por sus palabras de apoyo. Gracias mamá.

A mi papá por apoyarme y regañarme para salir adelante.

A mis compañeros de la carrera de química en alimentos por darme su amistad a Sandy, Gaby, Mario Heyvar y a todos los que estuvieron a mi lado.

A mis amigos Roberto y Osvaldo por sus consejos y por enseñarme que siempre hay algo nuevo que aprender cada día gracias por todo.

*"Todo lo puedo en Cristo que me fortalece"
Fil 4:13*

Juan Francisco Gutiérrez R.

Dedicatorias

Le agradezco a Dios, por la vida que me ha dado, por todo el amor que ha depositado en mi vida, por que siempre me ayudó a salir adelante durante este tiempo.

Te amo papi

A mis papas, porque gracias a ellos les debo la vida y todo el sacrificio que han hecho por mi durante estos años.

Mami, te agradezco tu paciencia, y todo el amor que me has dado, por luchar junto a mi en muchas ocasiones, por levantarme cuando lo necesitaba, por alentarme cuando ya no podía más, por buscar la manera de que saliera adelante en cada momento, por ser mi amiga y estar en los momentos que necesitaba a alguien que me escuchara. Gracias por estar en los momentos más difíciles y también en los buenos.

Gracias

A mis hermanas por soportarme y pasar junto a mi este tiempo, Ruth gracias por las bellas horas que hemos pasado platicando, gracias por el tiempo que me das para escucharme y aconsejarme. Bere gracias por los pequeños instantes de alegría que pasamos jugando.

A todas las personas que están y aún las que ya no están con nosotros, gracias por confiar en mi y ser parte de mi familia. Familia García García, Lozano Ines, García Lozano, García Jiménez.

A mis amigas Mayen, July, por ser una gran bendición en mi vida.

Gaby, gracias por tu amistad, y por la confianza que me has dado.

Sandy Lozano

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 EL AMARANTO	2
2.1.1 Origen del amaranto	2
2.1.2 Clasificación y características botánicas de <i>Amaranthus</i> <i>spp.</i>	3
2.1.3 Producción del amaranto	4
2.1.3.1 Producción mundial	4
2.1.3.2 Producción nacional	4
2.1.3.3 Producción regional	6
2.1.4 Propiedades químicas y toxicológicas del amaranto	6
2.1.4.1 Composición química	6
2.1.4.2 Composición toxicológica	9
2.1.4.2.1 Ácido fítico	9
2.1.4.2.2 Lectinas	9
2.1.4.2.3 Taninos	10
2.1.4.2.4 Inhibidores de tripsina	10
2.1.5 Usos del amaranto	10
2.2 VIDA ÚTIL	12
2.3 ANÁLISIS SENSORIAL	13
2.3.1 Usos y aplicación de la evaluación sensorial	14
2.3.2 Prueba de preferencia	15
2.3.3 Prueba de grado de satisfacción	15
2.4 ENSAYOS BIOLÓGICOS	15
2.4.1 Relación de eficiencia proteínica	15
2.4.2 Digestibilidad <i>in vivo</i>	16

3. OBJETIVOS 17

4. MATERIALES Y MÉTODOS 18

4.1 MEJORAMIENTO DE LA FÓRMULA ORIGINAL ELABORADA A BASE DE AMARANTO 19

4.1.1 Preparación de la muestra 19

4.1.2 Detección de puntos débiles en la fórmula original (Prueba de grado de satisfacción) 19

4.1.3 Sustitución de materias primas 19

4.1.4 Análisis sensorial de la fórmula mejorada 20

4.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, TOXICOLÓGICA Y PRUEBA BIOLÓGICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR 20

4.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR 20

4.2.1.1 Humedad 20

4.2.1.2 Grasa 21

4.2.1.3 Cenizas 22

4.2.1.4 Proteínas 23

4.2.1.5 Fibra cruda 25

4.2.2 CARACTERIZACIÓN TOXICOLÓGICA 26

4.2.2.1 Contenido de taninos 26

4.2.2.2 Determinación de inhibidores de tripsina 29

4.2.2.3 Determinación de hemaglutininas (prueba semicuantitativa) 31

4.2.2.4 Determinación de ácido fítico 33

4.2.3 PRUEBA BIOLÓGICA: Determinación de la relación de eficiencia proteínica (REP) 36

4.2.3.1 Medición de la digestibilidad de una proteína mediante un método *in vivo* 38

4.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FÓRMULA MEJORADA 40

4.3.1	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FÓRMULA MEJORADA	40
4.3.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	40
4.3.2.1	Bacterias mesófilas aerobias (BMA)	40
4.3.2.2	Coliformes totales	41
4.3.2.3	Mohos y levaduras	43
4.4	DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DE LA FÓRMULA MEJORADA	44
4.5	ANÁLISIS SENSORIAL	44
4.5.1	Pruebas afectivas	44
4.5.1.1	Prueba de preferencia	45
4.6	VIDA ÚTIL	45
4.6.1	Determinación del índice de acidez	46
4.6.2	Determinación del índice de yodo: Método de Kaufmann	47
4.6.3	Análisis microbiológico	48
4.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
5.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	49
5.1	MEJORAMIENTO DE LA FÓRMULA ORIGINAL ELABORADA A BASE DE AMARANTO	49
5.1.1	Detección de los puntos débiles a corregir en la fórmula original (Prueba de grado de satisfacción)	49
5.1.2	Sustitución de materias primas en la fórmula original	50
5.2	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, TOXICOLÓGICA Y PRUEBA BIOLÓGICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR	52
5.2.1	CARACTERIZACIÓN QUÍMICA	52
5.2.2	CARACTERIZACIÓN TOXICOLÓGICA	53
5.2.2.1	Contenido de taninos	54
5.2.2.2	Determinación de inhibidores de tripsina	54
5.2.2.3	Determinación de hemaglutininas (prueba	

semicuantitativa)	55
5.2.2.4 Determinación de ácido fítico	56
5.2.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS: Determinación de la relación de eficacia proteínica (REP)	56
5.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FÓRMULA MEJORADA	58
5.3.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA	58
5.3.1.1 Humedad	58
5.3.1.2 Proteína	59
5.3.1.3 Grasa	60
5.3.1.4 Cenizas	60
5.3.1.5 Fibra	61
5.3.1.6 Carbohidratos	62
5.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	63
5.3.2.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA)	63
5.3.2.2 Coliformes totales	64
5.3.2.3 Mohos y levaduras	64
5.4 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DE LA FÓRMULA MEJORADA	65
5.5 ANÁLISIS SENSORIAL DE LA FÓRMULA MEJORADA	68
5.5.1 Prueba de preferencia	68
5.6 VIDA ÚTIL	70
5.6.1 Determinación del índice de acidez	70
5.6.2 Determinación del índice de yodo: Método de Kaufmann	72
5.6.3 Análisis microbiológico	74
<hr/> 6. CONCLUSIONES	75
<hr/> 7. BIBLIOGRAFÍA	76
<hr/> 8. ANEXOS	81

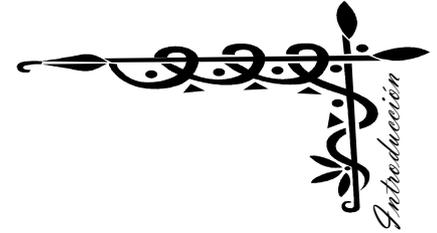
ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Figura 1.	Distribución del amaranto en épocas prehispánicas	2
Figura 2.	Planta de amaranto (FAO, 2000)	4
Figura 3.	Principales productores de amaranto en el país (SAGARPA, 2006)	5
Figura 4.	Reómetro de esfuerzo controlado	44
Gráfica 1.	Curvas de crecimiento de las ratas alimentadas con harina de amaranto reventado y sin reventar	57
Gráfica 2.	Comportamiento de la viscosidad de la fórmula mejorada en función de la temperatura en los tres diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez)	66
Gráfica 3.	Comportamiento de la viscosidad de la fórmula original en función de la temperatura en los tres diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez)	67
Gráfica 4.	Resultados de la prueba de preferencia de las fórmulas mejoradas a base de amaranto reconstituidas con agua: a) nuez, b) fresa, c) chocolate	68
Gráfica 5.	Resultados de la prueba de preferencia para las fórmulas reconstituidas con leche: a) nuez, b) fresa, c) chocolate	69
Gráfica 6.	Índice de acidez en las fórmulas mejoradas en los tres diferentes sabores a) chocolate b) fresa c) nuez	71
Gráfica 7.	Índice de yodo en las fórmulas optimizadas en los diferentes sabores a diferentes temperaturas a) chocolate b) fresa c) nuez	73
Diagrama 1.	Descripción general del estudio realizado	18

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Producción agrícola de amaranto en la república mexicana (modalidad: temporal y riego 2005)	5
Tabla 2.	Producción de amaranto en el estado de Hidalgo en el 2005	6
Tabla 3.	Composición nutricional del amaranto comparada con otros cereales	7
Tabla 4.	Contenido de proteína en diferentes especies de amaranto (g/100g)	7
Tabla 5.	Contenido de aminoácidos esenciales en <i>A. hypochondriacus</i> respecto a otros cereales	8
Tabla 6.	Contenido de ácidos grasos en semilla de amaranto	8
Tabla 7.	Dieta de referencia (caseína)	37
Tabla 8.	Temperatura requerida según el microorganismo	41
Tabla 9.	Materias primas que pueden ser sustituidas	51
Tabla 10.	Composición química del amaranto sin reventar y reventado	52
Tabla 11.	Contenido de inhibidores de tripsina en harina de amaranto (UTI/mg) reventado y sin reventar	55
Tabla 12.	Contenido de ácido fítico en harina de amaranto sin reventar y reventado	56
Tabla 13.	Resultados del REP para amaranto sin reventar, reventado y el control	57
Tabla 14.	Contenido de humedad de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	58
Tabla 15.	Contenido de proteína de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	59
Tabla 16.	Contenido de grasa de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	60
Tabla 17.	Contenido de cenizas de las fórmulas mejoradas a base	

	de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	61
Tabla 18.	Contenido de fibra de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	62
Tabla 19.	Contenido de carbohidratos de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores	63
Tabla 20.	Recuento de bacterias mesófilas aerobias en las materias primas y en las fórmulas mejoradas (chocolate, fresa y nuez)	64
Tabla 21.	Recuento de mohos y levaduras en las materias primas y en las fórmulas mejoradas (chocolate, fresa y nuez)	65
Tabla 22.	Viscosidad máxima y temperatura de gelatinización en las fórmulas mejoradas de la bebida a base de amaranto	66
Tabla 23.	Viscosidad máxima y temperatura de gelatinización en fórmulas originales de la bebida a base de amaranto	67



1. INTRODUCCIÓN

El amaranto, *Amaranthus sp.*, cultivo con más de 5000 años de antigüedad, constituyó el alimento básico de los incas, aztecas y otros grupos precolombianos en toda América (Sauer, 1950).

Diversos estudios han demostrado que el amaranto es un alimento con alto valor nutritivo, debido en parte a su contenido proteico que oscila entre 13 y 16% y que presenta un balance adecuado de aminoácidos esenciales principalmente lisina, metionina y triptófano que son deficientes en los demás cereales (Instituto Nacional de Tecnología Industrial [INTI], 2004; Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación [FAO], 2000).

Algunas propiedades funcionales atribuidas a este pseudocereal son la prevención de problemas cardiovasculares, de diversos tipos de cáncer, de colesterol alto, entre otras. También es ideal para tratar la desnutrición y diferentes tipos de anemia.

El amaranto se puede utilizar para preparar una gran diversidad de alimentos como las alegrías, mazapán, pinole, harinas para cereal, bebidas chocolatadas o atoles.

El desarrollo de productos a base de amaranto se presenta como una alternativa tecnológica importante para diversificar el uso actual del mismo, contribuyendo de esta manera a ampliar el mercado, para una materia prima de alto valor nutritivo y buena aceptabilidad.

Actualmente en el estado de Hidalgo la microempresa MANFLOW S.A. se dedica a elaborar productos a base de amaranto, entre los que se encuentra el atole, mismo que presenta deficiencias en el sabor, el color y en su consistencia. Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue mejorar las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de esta bebida a fin de obtener un producto de mayor aceptación entre los consumidores.

2. ANTECEDENTES

2.1 EL AMARANTO

2.1.1 Origen del amaranto

La palabra amaranto proviene del griego y significa “eterno o perdurable”. Es una planta que pertenece a la familia *Amaranthaceae* (*Dicotyledoneae*, orden *Caryophyllales*), está compuesta por 60 géneros y más de 800 especies (Becerra, 2000). Sólo 3 especies de amaranto se utilizan para la producción del grano y para el consumo humano: *hypochondriacus*, *cruentus* y *caudatus*, originarios de México, Guatemala y América del Sur, respectivamente (Trinidad y Gómez, 1986).

En tiempos prehispánicos *A. cruentus* se encontraba desde el Norte de México hasta América Central, *A. hypochondriacus* comenzaba desde el sudoeste de Estados Unidos hacia América Central y *A. caudatus* se encontraba en la zona andina sudamericana (figura 1) (FAO, 2000).





Figura 1. Distribución del amaranto en épocas prehispánicas

2.1.2 Clasificación y características botánicas de *Amaranthus spp.*

La clasificación botánica del amaranto se presenta a continuación (FAO, 2000):

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

La planta de amaranto (figura 2) es anual, monoica, de tallos erectos, su altura varía entre los 0.8-2.5 m. El tallo principal se ramifica de forma irregular en la parte posterior, puede tener una ramificación densa o simple y de colores pálidos, verdes o rojizos. La hojas pueden ser lanceoladas, de forma ovoide, nervadas, de base cuneada; las hojas completamente desarrolladas pueden llegar a medir de 6-20 cm de longitud y de 2-8 cm de ancho, pueden ser de color verde, comúnmente teñidas de rojo.

La semilla es pequeña, lisa, brillante de 1-1.5 mm de diámetro, ligeramente aplanada, de color blanco, aunque existen amarillentas, doradas, rojas, rosadas, púrpuras y negras; el número de semillas varía de 1000 a 3000 por gramo.



Figura 2. Planta de amaranto (FAO, 2000)

La planta de amaranto es tolerante a las sequías, altas temperaturas y plagas. Tiene una extraordinaria resistencia, crece en casi cualquier sitio donde incida la luz solar y con suficiente humedad, además algunas especies pueden cultivarse bajo condiciones salinas. El amaranto es muy resistente a los cambios de clima, puede crecer en terrenos al nivel de mar o en valles altos de 3000 msnm, en climas semiáridos o en zonas tropicales y en temperaturas que van de los 14°C hasta los 29°C.

2.1.3 Producción del amaranto

2.1.3.1 Producción mundial

En la actualidad, el principal productor de amaranto es China, seguida por India y Perú, México y EUA; con 150 mil, 1800, 900 y 500 ha cultivadas respectivamente (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos [SAGPyA], 2001).

2.1.3.2 Producción nacional

En México, hoy en día ha desaparecido el cultivo de amaranto en muchas comunidades, aunque existen pequeñas poblaciones que lo producen a baja

escala o para consumo personal, las principales regiones productoras se ubican en la Mesa Central (tabla 1).

Tabla 1. Producción agrícola de amaranto en la República Mexicana (modalidad: temporal y riego 2005)

Estado	Distrito	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción	Valor producción (miles de pesos)
DISTRITO FEDERAL	XOCHIMILCO	139.00	139.00	172.50	1,972.00
MÉXICO	COATEPEC HARINAS	30.00	30.00	60.00	420.00
MÉXICO	TEXCOCO	64.00	64.00	134.25	998.47
MORELOS	ZACATEPEC-GALEANA	216.00	216.00	221.70	1,116.15
PUEBLA	CHOLULA	706.00	706.00	1,188.00	4,752.00
PUEBLA	IZUCAR DE MATAMOROS	660.00	660.00	952.00	3,808.00
PUEBLA	TECAMACHALCO	4.00	0.00	0.00	0.00
TLAXCALA	TLAXCALA	184.00	184.00	190.00	1,938.00
		2,008.00	2,004.00	2,922.45	15,056.63

Fuente: SAGARPA, 2006.

El estado de Puebla es el principal productor de amaranto, seguido de Morelos, Tlaxcala y el Distrito Federal. Se cultiva en menor proporción en el Estado de México y Guanajuato (figura 3) (SAGARPA, 2006).





Figura 3. Principales productores de amaranto en el país (SAGARPA, 2006)

2.1.3.3 Producción regional

El estado de Hidalgo no figura como región productora puesto que la producción de este cultivo se destina para el autoconsumo, además que son escasas las comunidades donde se siembra. El cultivo del amaranto se encuentra distribuido en 3 municipios del distrito de Mixquiahuala (INEGI, 2005), Mixquiahuala de Juárez, Progreso de Obregón y Tezontepec de Aldama (tabla 2).

Tabla 2. Producción de amaranto en el estado de Hidalgo en el 2005

Distrito Municipio	Sup. sembrada (ha)	Sup. cosechada (ha)	Volumen (ton)	Valor (Miles de pesos)
063 Mixquiahuala	15.00	15.00	21.00	199.50
Mixquiahuala de Juárez	6.00	6.00	8.00	76.00
Progreso de Obrégon	6.00	6.00	9.00	85.50
Tezontepec de Aldama	3.00	3.00	4.00	38.00

Fuente: INEGI, 2005 Sup. = superficie

2.1.4 Propiedades químicas y toxicológicas del amaranto

2.1.4.1 Composición química

El amaranto es considerado como un pseudocereal ya que tiene propiedades similares a las de los cereales pero botánicamente no lo es (Lehmann, 1991) debido a que el almidón es almacenado en el perispermo; 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. En la tabla 3 se muestra la composición nutricional del amaranto y otros cereales, donde se observa que éste tiene un contenido mayor de proteína, grasa y fibra (Paredes y col., 1994).



Tabla 3. Composición nutricional del amaranto comparada con otros cereales

Composición %	Amaranto	Trigo	Maíz	Sorgo	Arroz
Humedad	8.0	12.5	13.8	11.0	11.7
Proteína cruda	15.8 ^a	14.0 ^c	10.3 ^d	12.3 ^b	8.5 ^d
Grasa	6.2	2.1	4.5	3.7	2.1
Fibra	4.9	2.6	2.3	1.9	0.9
Cenizas	3.4	1.9	1.4	1.9	1.4
Calorías/100g	366	343	352	359	353

Factor de conversión: ^a N x 5.85; ^b N x 5.7; ^c N x 6.25; ^d N x 5.8 (Paredes y col., 1994)

El almidón es el componente principal en la semilla del amaranto, pues representa entre 50 y 60% de su peso seco. El almidón del amaranto posee dos características distintivas: tiene propiedades aglutinantes inusuales y el granulo de almidón es muy pequeño (aproximadamente un décimo del tamaño del almidón del maíz). Estas características se pueden aprovechar para espesar o pulverizar ciertos alimentos o para imitar la consistencia de la grasa (Becerra, 2000). El germen y el salvado constituyen 26% del peso total de la semilla y el 74% restante corresponde al endospermo. El germen puede contener como máximo 30% de proteína y un 20% de aceite.

Dependiendo de la especie, la semilla de amaranto es una fuente importante de proteína que varía del 13-16% (tabla 4).

Tabla 4. Contenido de proteína en diferentes especies de amaranto (g/100 g)

Especie	Rango de proteínas	Promedio de proteínas
<i>A. caudatus</i>	11.1 – 19.4	13.5
<i>A. hypochondriacus</i>	12.7 – 17.9	15.5
<i>A. cruentus</i>	13.0 – 20.6	15.7
<i>A. hybridus</i>	13.1 – 14.3	13.7

Fuente: Bressani, 1989



El amaranto presenta un balance completo y en mayor proporción de aminoácidos esenciales por ejemplo lisina y triptófano con respecto a otros cereales verdaderos como el maíz y el trigo, (tabla 5) (Casillas, 1984).

Tabla 5. Contenido de aminoácidos esenciales en *A. hypochondriacus* respecto a otros cereales

Aminoácido	<i>A. hypochondriacus</i>	Maíz	Trigo
	%		
Lisina	5.11	2.84	2.76
Isoleucina	2.80	4.43	4.17
Treonina	4.4	3.9	2.89
Valina	3.0	5.06	4.59
Leucina	4.9	12.89	6.70
Triptófano	3.69	0.62	1.25
Metionina	1.25	1.85	1.52
Fenilalanina	3.5	4.61	4.87

Fuente: Casillas, 1984

La semilla de amaranto contiene ácidos grasos, como el ácido linoleico (tabla 6), un ácido graso esencial que forma parte de la familia omega-6, el cual se ha asociado con el retraso en los procesos de coagulación y la disminución de enfermedades cardiovasculares (Carlsson, 1980).

Tabla 6. Contenido de ácidos grasos en semilla de amaranto

Ácidos grasos	%
Palmítico	18.1
Esteárico	4.6
Oléico	26.7
Linoleico	49.4
Linolénico	0.90

Fuente: Carlsson, 1980



2.1.4.2 Composición toxicológica

El amaranto contiene una gran cantidad de compuestos nutricionales, así como también diversos compuestos antifisiológicos. La toxicidad de estos compuestos dependerá de la cantidad o niveles en los que se encuentre, del tipo de compuesto antinutricional del que se esté hablando así como también de su estabilidad ante los diferentes procesos que sufre un alimento (Aguilar y col., 2005).

2.1.4.2.1 Ácido fítico

El ácido fítico o ácido mioinositol hexafosfórico (IP₆) pertenece a cierto tipo de sustancias denominadas antinutricionales que se encuentran generalmente en cereales y leguminosas. Es considerado un factor antinutricional debido a que reduce la biodisponibilidad de proteínas y minerales (Maga, 1982). Debido a que la molécula de ácido fítico contiene seis grupos fosfato con carga, es un excelente agente quelante que forma complejos, muchos de ellos insolubles con cationes minerales y proteínas.

El ácido fítico y sus sales constituyen la principal forma de almacenamiento de fósforo (P) en semillas de cereales y leguminosas. Sin embargo, en esta forma el P permanece no disponible para el hombre y animales monogástricos, debido a que éstos no están provistos de fitasas que sean capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato (Walsh y col., 1994).

2.1.4.2.2 Lectinas

Las lectinas son glicoproteínas que cumplen funciones de transporte e inmovilización de los carbohidratos (Rodríguez y col., 1994). Cuando éstas se encuentran en las membranas de los eritrocitos provocan su aglutinación, es por esto que reciben el nombre de hemaglutininas; fitohemaglutininas en el caso de ser lectinas vegetales.



Cuando se ingieren leguminosas con fitohemaglutininas, éstas se unen a las membranas de las células del tubo digestivo, produciendo rápidamente náuseas y vómitos, y posteriormente diarrea y molestias abdominales.

2.1.4.2.3 Taninos

Estas sustancias son derivados de los ácidos gálico y elágico y se encuentran en un gran número de productos vegetales, como el sorgo y diversos helechos. Desde hace tiempo se conoce la reducción en la biodisponibilidad de las proteínas cuando éstas se administran junto con los taninos; sin embargo, no es concluyente que estos compuestos provoquen cáncer. A pesar de esta situación, se considera que algunas poblaciones de África desarrollan cáncer del esófago al consumir una dieta basada en sorgo con un alto contenido de taninos (Valle y Lucas, 2000).

2.1.4.2.4 Inhibidores de tripsina

Los inhibidores de proteasas son muy frecuentes en la alimentación humana, inhiben los sistemas enzimáticos de microorganismos o insectos, tienen una función reguladora, interviniendo en el proceso de autorregulación proteolítica o de almacenamiento en el organismo que los contiene.

Gran parte de los alimentos de origen vegetal, presentan inhibidores de proteasas; sin embargo, es de destacar la amplia presencia de los inhibidores de tripsina en alimentos de origen vegetal, en donde la mayor proporción se manifiesta en la semilla (Savelkoul y col., 1992).

2.1.5 Usos del amaranto

El amaranto tiene múltiples usos ya sea en la alimentación humana o animal. En el primer caso se usa como grano entero o molido en forma de harina. La hoja de amaranto se puede utilizar para preparar sopas, ensaladas, jugos, tortillas, tamales y una gran variedad de alimentos, es excelente para su consumo en



fresco. Además contiene hierro el cual es importante para prevenir la anemia en mujeres embarazadas y niños principalmente (Masoni y Ercali, 1994).

De las semillas se pueden extraer colorantes como la amarantina, también se obtienen polvos o liofilizados que se pueden utilizar en infusiones para la preparación de desayunos o en la industria cosmética. Al ser reventadas proveen de un cereal para elaborar productos terminados como las alegrías, mazapanes, cereal reventado, granolas y harinas de amaranto. Con estas últimas, en algunos países como en Estados Unidos se han preparado panes de consistencia esponjosa aprovechando sus buenas condiciones para el horneado. Aunque se puede mezclar con otras harinas como con la de trigo o maíz para darle un mayor valor nutritivo a los productos derivados de estos. También se elaboran productos industrializados como harinas, concentrados, extruidos, almidones y aceites como el escualeno utilizado en la industria cosmética y farmacéutica.

Un producto que se encuentra en desarrollo es la “leche de amaranto”, semejante nutricionalmente a la leche animal y que puede ser una alternativa viable y económica para las personas que son intolerantes a la lactosa (SAGPyA, 2001).

Con el amaranto también se pueden preparar bebidas como la Chicha de Quinoa o Kiwicha (*Amaranthus caudatus*); una bebida refrescante, no alcohólica, la cual es consumida en los andes peruanos. En nuestro país, el consumo de bebidas (atole) a base de cereales como el maíz, y recientemente de amaranto, son tradicionales en los desayunos de una gran parte de la población. En México se encuentran dos empresas importantes que se dedican a la elaboración de harinas para la preparación de atoles a partir de almidones de maíz (UNILEVER) y de arroz (Pasta CORA S.A. de C.V.). En el estado de Hidalgo, se localiza la microempresa MANFLOW S.A. de C.V. dedicada a elaboración de harina para preparar atole a base de amaranto (sabores chocolate, fresa y nuez).



2.2 VIDA ÚTIL

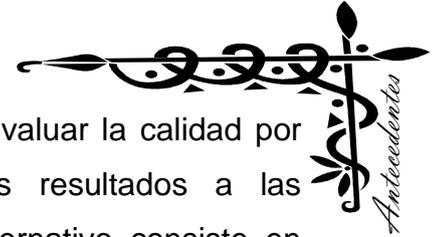
La harina es el producto obtenido de la molienda de algún grano o semilla sano, entero o quebrado, seco, que se tamiza hasta obtener un polvo fino el cual se puede utilizar en diversas áreas como la de alimentos, la farmacéutica o la de cosméticos.

Las harinas pueden sufrir diversas alteraciones, una de ellas es el deterioro por hongos, para evitar esto debe tener una humedad inferior al 15% durante el envasado. Durante el almacenamiento las harinas, por tener un carácter de polvo higroscópico, pueden alterarse fácilmente si la conservación no es adecuada provocando un sin número de cambios en sus propiedades físicas y químicas, que se traducen en pérdidas en cantidad y calidad (Serna, 2001).

Las harinas durante su almacenamiento tienden a perder peso por alteraciones físicas y químicas. Las pérdidas físicas incluyen materia consumida por insectos, roedores, etc., también pérdidas de tipo secundario ocasionadas por el deterioro en las condiciones del producto. Los cambios más evidentes en el almacenamiento de las harinas ocurren en los lípidos. Existen básicamente dos tipos de cambios en la fracción lipídica de las harinas: a) rancidez oxidativa y b) hidrólisis o producción de ácidos grasos libres. Aunque en los cereales la semilla contiene antioxidantes (tocoferoles y compuestos fenólicos) una vez que se lleva a cabo el proceso de molienda la rancidez oxidativa aumenta. En esta etapa la humedad también tiende a aumentar haciendo susceptible a la harina por contaminación de bacterias, hongos y parásitos (Fennema, 2000).

Para cada alimento particular, hay un periodo de tiempo determinado, después de su producción, durante el cual mantiene el nivel requerido de sus cualidades organolépticas y de seguridad, bajo ciertas condiciones de conservación a lo que se conoce como vida útil (Jiménez y Pérez, 2007).

Existen dos métodos generales para predecir la vida útil de un alimento. El más común es seleccionar una condición extrema, exponer el alimento a dicha



condición durante diferentes tiempos de almacenamiento, evaluar la calidad por métodos sensoriales, físicos, químicos y extrapolar los resultados a las condiciones de almacenamiento normales. El método alternativo consiste en utilizar un diseño más elaborado basado en principios de la cinética química y determinar la dependencia de la temperatura real de diversos atributos de calidad, aunque este método es más costoso.

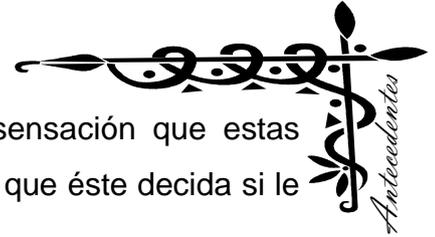
2.3 ANÁLISIS SENSORIAL

La evaluación sensorial es un sistema de metrología que utiliza a los sentidos como instrumento de medición. Es el estudio sistemático de las respuestas de los humanos a las propiedades físicas y químicas de alimentos y bebidas. (Villanueva, 2003).

Otras y distintas son las definiciones de análisis sensorial según procedan de la literatura técnica o de las normas. El *Institute of Food Technologists –IFT* (1975) la define como “una disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de los alimentos que se perciben por los sentidos de la vista, el oído, el olfato, el gusto y el tacto”.

La Organización Internacional de Normalización (ISO, 1981), en su proyecto de norma internacional ISO/DIS 5568, la define como “el examen de las propiedades organolépticas de un producto realizable por los órganos de los sentidos”. Y para Ureña y D’Arrigo (1999) el análisis sensorial puede ser definido como el “método experimental mediante el cual los jueces perciben y califican, caracterizando y/o midiendo, las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas, bajo condiciones ambientales preestablecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico”.

El objetivo general de la Evaluación Sensorial es explorar las características físicas y químicas de alimentos y bebidas por medio de los sentidos para:



- Conocer y evaluar la *magnitud, tipo y duración* de sensación que estas características producen en los consumidores antes de que éste decida si le agrada o no el producto.
- Conocer y evaluar el efecto que el conjunto de características físicas y químicas propias del alimento o bebida tiene sobre la *aceptación y preferencia* de un producto (Villanueva, 2003).

2.3.1 Usos y aplicación de la evaluación sensorial

Los principales usos de la evaluación sensorial son en control de calidad, desarrollo de nuevos productos e investigación. Estos no sólo encuentran aplicaciones en la caracterización y evaluación de alimentos y bebidas, sino también en otros campos tales como olores ambientales, productos de higiene personal, diagnóstico de enfermedades, pruebas de químicos puros, etc. La función principal de la evaluación sensorial es conducir pruebas válidas y confiables, que provean datos que permitan tomar decisiones correctas (Meilgaard y col., 1999).

La identificación y cuantificación de sensaciones y la evaluación de la aceptación y preferencia permite evaluar la calidad de un producto en función del consumidor más que en función de datos fisicoquímicos sin relación con la apreciación de quien lo va a consumir. De esta manera, una vez que se ha identificado el perfil o las características sensoriales del producto, es posible medir el impacto que, sobre esas características pueden tener, desde la materia prima, hasta las condiciones de almacenamiento, el empaque e incluso el diseño del envase y la etiqueta, pasando por los ingredientes, equipo y condiciones de proceso.

Si los rangos de calidad de un alimento o bebida se definen por la correlación de propiedades físicas y químicas con las características percibidas sensorialmente, podremos confiar que el producto estará muy cerca o cumplirá con las expectativas del consumidor (Torre, 1999).



2.3.2 Prueba de preferencia

Esta prueba es muy sencilla y consiste en pedirle al juez que diga cuál de las dos muestras prefiere. No deben usarse letras ni figuras para codificar las muestras. Pueden usarse números de tres o cuatro cifras que no le sugiera nada a los jueces. Incluir instrucciones para que los jueces prueben las muestras en un determinado orden, ya que algunos alimentos dejan impresiones en la lengua o al olfato y esto puede inferir con la apreciación de la segunda muestra que sea probada (Anzáldua – Morales, 1994).

Se desea saber si los jueces prefieren una muestra sobre otra, sin determinar sí los jueces pueden distinguir diferencias entre las muestras.

2.3.3 Prueba del grado de satisfacción

Este tipo de prueba se realiza cuando se pretende evaluar más de dos muestras a la vez, o se quiere obtener más información acerca de un producto. Para ello se recurre a unas escalas hedónicas que serán los instrumentos para medir las sensaciones producidas por el alimento en el juez, ya sean placenteras o desagradables (Anzáldua-Morales, 1994).

2.4 ENSAYOS BIOLÓGICOS

Para evaluar la calidad de una proteína existen dos categorías de ensayos biológicos, una de ellas se basa en el incremento de pesos en animales y la otra en el balance de nitrógeno (nitrógeno absorbido o retenido).

2.4.1 Relación de eficiencia proteínica (REP)

La REP nos ayuda a conocer el grado de crecimiento de un animal en condiciones bien definidas, provee información para evaluar la calidad nutritiva de una proteína, ya que si ésta presenta una deficiencia en uno a más de sus



aminoácidos, el crecimiento del animal se verá reducido al compararse con una proteína patrón utilizada al mismo tiempo en esta prueba.

2.4.2 Digestibilidad *in vivo*

La digestibilidad es un indicador inicial de la calidad nutritiva de un alimento, y se define como “la disponibilidad de los aminoácidos constituyentes de la proteína para ser absorbidos por el organismo de prueba” (Robinson, 1991). En general se conoce que los alimentos proteínicos de origen animal son más digeribles que los de origen vegetal (Swaisgood y Catignani, 1991) debido a que tienen un menor contenido de fibra lo que provoca una mayor absorción de los nutrimentos, a diferencia de los de origen vegetal los cuales tienen un contenido significativo de fibra.

Aunque se puede determinar la cantidad de proteína por diferentes métodos químicos, estos no consideran su digestibilidad, es por ello que se emplean procedimientos para medir la digestibilidad *in vivo* e *in vitro*. Los métodos *in vitro* simulan las condiciones y reacciones fisiológicas que se llevan a cabo dentro del organismo aunque pueden dar resultados inexactos por lo que los ensayos *in vivo* son los más confiables (Swaisgood y Catignani, 1991; Boisen y Eggum, 1991).



3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ✓ Mejorar las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de la formulación de una bebida comercial a base de amaranto a fin de lograr una mayor aceptabilidad de los consumidores.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Detectar los atributos sensoriales deficientes en la fórmula original de amaranto mediante la prueba de grado de satisfacción.
- ✓ Sustituir algunas de las materias primas empleadas en la formulación original para mejorar las propiedades sensoriales y fisicoquímicas de la misma.
- ✓ Evaluar la calidad toxicológica y nutricional de la harina de amaranto sin reventar empleada en la fórmula mejorada.
- ✓ Caracterizar fisicoquímica y microbiológicamente la fórmula mejorada a base de amaranto sin reventar.
- ✓ Determinar la vida de anaquel de la formulación mejorada a base de amaranto sin reventar a través del seguimiento del enranciamiento (índice de yodo e índice de acidez).
- ✓ Evaluar las preferencias de los consumidores por la formulación de atole de amaranto mejorada comparada con la fórmula original.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó en conjunto con la microempresa Hidalguense MANFLOW localizada en Vista Hermosa municipio de Pachuca, en el diagrama 1 se presenta la descripción general del estudio realizado a la fórmula original hecha a base de amaranto.

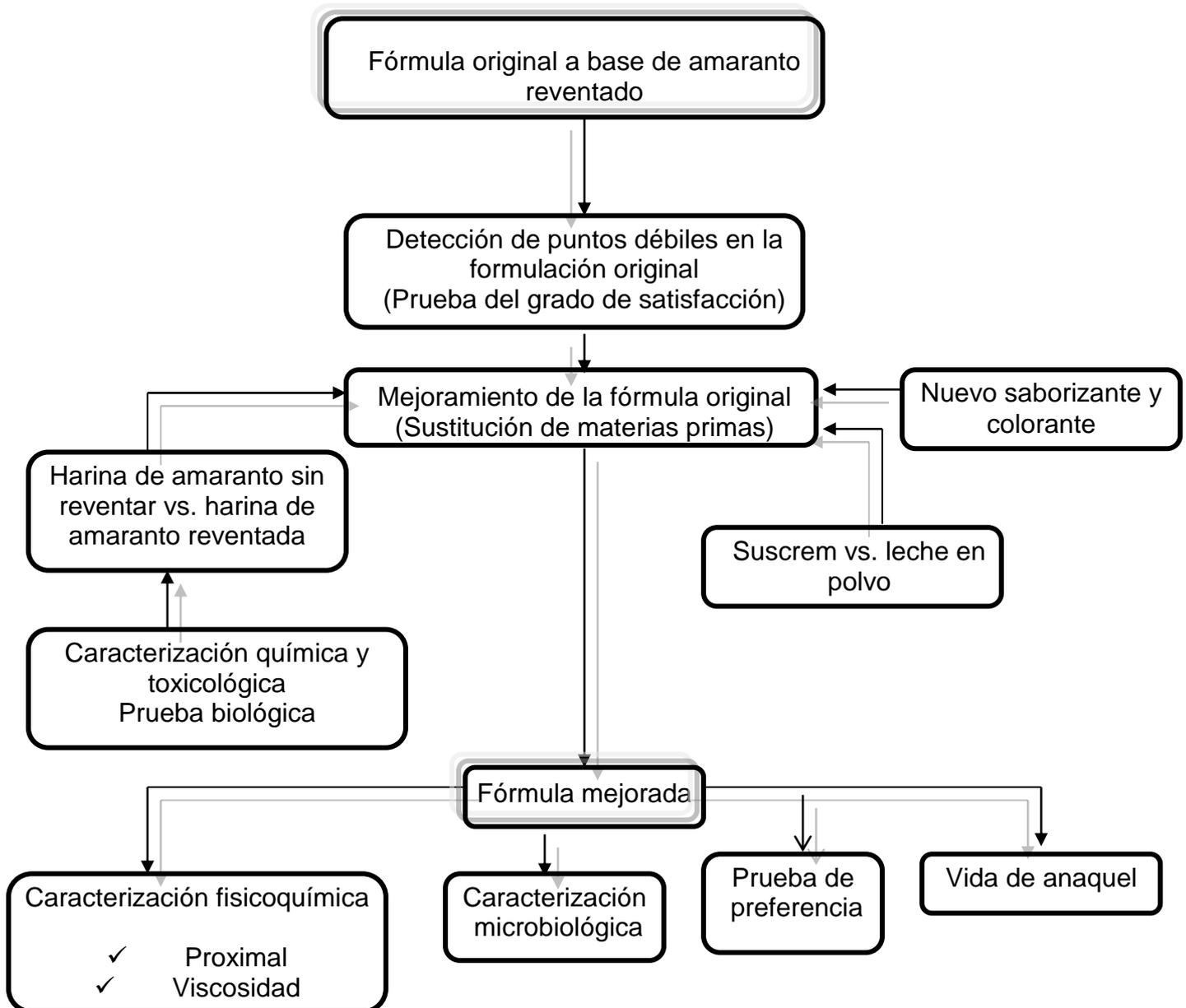


Diagrama 1. Descripción general del estudio realizado

4.1 MEJORAMIENTO DE LA FÓRMULA ORIGINAL ELABORADA A BASE DE AMARANTO

4.1.1 Preparación de la muestra

Los ingredientes que componen la fórmula original son los siguientes:

- Harina de amaranto reventado
- Azúcar
- Fécula de maíz
- Sustituto de crema
- Colorante y saborizante artificial
- Benzoato de sodio

Por motivo de confidencialidad no se mencionan las cantidades. Se vertió un sobre de 150 g en 1 000 mL de agua hervida, se agitó hasta disolver por completo y obtener una muestra homogénea y sin grumos.

4.1.2 Detección de puntos débiles en la fórmula original (Prueba de grado de satisfacción)

Se les presentó a 180 consumidores un cuestionario (anexo I) con una escala verbal de 5 puntos donde se les pidió que evaluaran parámetros como el sabor, color y viscosidad, de los atoles preparados con leche y/o agua, a base de amaranto en sus tres sabores (chocolate, fresa y nuez).

4.1.3 Sustitución de materias primas en la fórmula original

Los resultados de la prueba de grado de satisfacción indicaron que los parámetros deficientes en los atoles eran el sabor, color y viscosidad. En base a esto se sugirieron las siguientes pruebas:

- Sustitución de algunos de los componentes de la fórmula original
- Ensayo de diferentes concentraciones de las materias primas sustituidas

4.1.4 Análisis sensorial de la fórmula mejorada

Las pruebas sensoriales de la fórmula mejorada se llevaron a cabo en Pachuca, Hgo, en Plaza Universidad, en las instalaciones de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en las colonias de Campestre y Villas del Álamo. En total se encuestaron a 180 consumidores para la prueba del grado de satisfacción con jueces no entrenados, 240 jueces no entrenados para la prueba de preferencia.

Se realizaron pruebas de grado de satisfacción y de preferencia (anexo I y II), para cada uno de los atoles de amaranto en sus tres sabores (chocolate, fresa y nuez), preparados tanto con agua como con leche, tratando de que el número de consumidores o jueces en cada una de las pruebas sensoriales fuera equitativo.

4.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, TOXICOLÓGICA Y PRUEBA BIOLÓGICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR

4.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR

4.2.1.1 Humedad

Fundamento. La humedad es el material que se volatiliza de las muestras bajo condiciones de temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Material. Estufa con recirculación de aire (Fisher Scientific), balanza analítica (Ohaus), desecador, pinzas para crisol, charolas de aluminio y espátula.

Procedimiento. Las charolas de aluminio se pusieron a peso constante, colocándolas en la estufa a 105°C de 2 a 4 horas. Una vez a peso constante se adicionaron de 2-3 g de muestra, se distribuyó de tal manera que presentara la mayor superficie de evaporación. Las charolas se introdujeron en la estufa previamente caliente a 105°C \pm 1°C y se dejaron ahí hasta que el peso final fue constante. Se consideró a peso constante una muestra cuando al pesarla en la balanza analítica solo se presentó variación en la cuarta cifra posterior al punto.

Cálculos. El porcentaje de humedad se calculó bajo la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{m} \times 100$$

Donde:

P_i = Peso de la charola con muestra antes del secado de la muestra (g)

P_f = Peso de la charola con muestra después del secado de la muestra (g)

m = Peso de la muestra (g)

4.2.1.2 Grasa

Fundamento. La cantidad de grasa cruda de una muestra puede determinarse al someter una muestra a reflujo con éter. La fracción extraída, llamada también extracto etéreo, puede tener uno o varios de los siguientes grupos funcionales: ácidos grasos, ésteres, vitaminas liposolubles, aceites esenciales y carotenoides.

Equipo y material. Dispositivo de extracción Soxhlet, pinzas y soporte para dispositivo, matraces de fondo redondo de borde esmerilado (250 mL), cartuchos de celulosa, canastilla de calentamiento con regulación, estufa, desecador y rotavapor.

Reactivos. Éter de petróleo (Baker) (0.001 máximo de residuos después de la evaporación).

Procedimiento. Previo a la determinación, los matraces balón, limpios, rotulados y con dos perlas de vidrio en su interior, se pusieron a peso constante a 105°C \pm 5°C. Por otra parte, se pesaron de 3 a 5 g de muestra previamente seca

(se recomienda usar la que proviene del análisis de humedad) y se colocaron en cartuchos de celulosa, tapándolos con un trozo de algodón e introduciéndolos en el compartimiento de extracción del equipo soxhlet. El matraz a peso constante se colocó sobre la parrilla de calentamiento y se le adicionó el éter de petróleo suficiente para producir varias descargas sin que el matraz llegara a sequedad. Finalmente, se terminó de armar el dispositivo, cuidando desde el inicio, que el flujo de agua saliera con una potencia constante, manteniendo el refrigerante lo más frío posible. A continuación se procedió a un calentamiento moderado, regulando que el reflujo fuera gota a gota y constante hasta el término del calentamiento. La duración de la determinación fue aproximadamente de 8 horas para las muestras del atole de amaranto de la fórmula optimizada. Una vez completa la extracción, el solvente se recuperó con ayuda del rotavapor. Para una total eliminación del solvente, el matraz se dejó en la estufa hasta peso constante (65°C) al cabo de lo cual se pesó.

Cálculos. Se calculó bajo la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{\text{Pf} - \text{Po}}{\text{m}} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso constante del matraz con el extracto etéreo (g)

Po = Peso constante del matraz antes de la determinación (g)

m = Peso de la muestra referido al peso original (g)

4.2.1.3 Cenizas

Fundamento. Las cenizas son el residuo que se obtiene después de la incineración de una muestra, comprendiendo el material inorgánico de la misma.

Equipo y Material. Mufla (Fisher Scientific), balanza analítica (Ohaus), desecador, crisoles de porcelana, pinzas para crisol, parrilla de calentamiento, espátula.

Procedimiento. Antes de colocarles la muestra, los crisoles limpios y lavados con agua destilada se pusieron a peso constante en la mufla a 550°C. Posteriormente se colocaron de 2 a 3 g de muestra, y se incineraron en parrilla de calentamiento (a su máxima temperatura), hasta observar que todo el humo de la muestra quedó eliminado. Después se introdujeron en la mufla a 550°C y se mantuvieron en esas condiciones hasta obtener un color homogéneo en las cenizas, así como un peso constante del crisol.

Cálculos. El porcentaje de cenizas se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Pf} - \text{Po}}{m} \times 100$$

Donde:

Pf = Peso del crisol con la muestra después de incinerada (g)

Po = Peso del crisol a peso constante (g)

m = Peso de la muestra (g)

4.2.1.4 Proteínas

Fundamento. En el método Kjeldahl, la materia orgánica es oxidada produciendo dióxido de carbono, agua y nitrógeno, el cual forma una sal ácida de amonio con los iones sulfato. La destilación de este amonio en forma de amoniaco se consigue en un medio fuertemente alcalino con sosa y el amonio es titulado con ácido clorhídrico. Con los datos de la reacción se puede calcular el porcentaje de nitrógeno contenido en la muestra, que multiplicado por un factor conocido nos permite conocer el porcentaje de proteína correspondiente.

Equipo y material. Digestor Kjeldahl 80 (Modelo Din 08), destilador Gerhardt (Modelo Vapodest 20), tubos para digestión, parrilla de agitación, matraces Erlenmeyer, bureta de 50 mL, soporte para bureta, matraces volumétricos (0.5 y 1 L), pipetas graduadas, espátula.

Reactivos. Sulfato de potasio, peróxido de hidrógeno al 30%, hidróxido de sodio al 50%, ácido clorhídrico valorado (0.01 N), mezcla digestiva (a), solución indicadora (b).

(a) Mezcla digestiva. Se pesaron 3 g de sulfato de cobre pentahidratado (el cobre actúa como catalizador) y se disolvieron en 20 mL de agua destilada; a continuación se adicionaron 50 mL de ácido ortofosfórico y se llevaron a disolución completa. Se adicionó cuidadosamente por las paredes 430 mL de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se agitó la mezcla aproximadamente 30 min.

(b) Solución indicadora. Se pesaron 5 g de ácido bórico y se disolvieron en agua destilada. Se adicionó 35 mL del indicador A (100 mg de fenolftaleína aforados a 100 mL con alcohol etílico) y 10 mL del indicador B (33 mg de verde de bromocresol + 66 mg de rojo de metilo aforados a 100 mL con alcohol etílico). Esta mezcla se ajustó a un color café rojizo con ácido o álcali según se requirió y se aforó a 1 L con agua destilada.

Procedimiento. *Digestión:* en un tubo de digestión se colocaron 70 mg de la muestra, 0.5 g de sulfato de potasio (aumenta la ebullición) y 3 mL de mezcla de digestión. Los tubos se introdujeron en el digestor y se llevaron a 370°C por 15 min. Al cabo de este tiempo, cada tubo se retiró y se dejó enfriar para adicionarle 1.5 mL de H₂O₂ al 30%, después de lo cual se volvió a introducir en el digestor para alcanzar nuevamente 370°C y mantenerse así hasta el final de la digestión. Los tubos se retiraron hasta que su contenido se observó completamente translúcido, sin partículas negras en suspensión (que indican materia orgánica no digerida). De forma simultánea, se corrieron blancos preparados de la misma forma pero sustituyendo la muestra por sacarosa o glucosa.

Destilación. La muestra digerida se transfirió al tubo de destilación y se colocó un matraz Erlenmeyer con 50 mL de la solución indicadora, como recipiente de la destilación. En este caso, el destilador automático se programó para adicionar al contenido del tubo 60 mL de NaOH al 50%, con un tiempo de destilación de 6 minutos al 60% de potencia de vapor.

Titulación. El contenido del matraz de recolección se tituló con HCl 0.01 N hasta el vire de verde esmeralda a café rojizo.

Cálculos. El porcentaje de proteína se calculó mediante las fórmulas siguientes:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(P - B) \times N \times \text{meq} \times 100}{m}$$
$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ N} \times F$$

Donde:

P = Volumen gastado en la titulación de la muestra (mL)

B = Volumen gastado en la titulación del blanco (mL)

N = Normalidad del HCl (de su valoración)

meq = Miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m = Peso de la muestra (g)

F = Factor de conversión (5.85)

4.2.1.5 Fibra cruda

Fundamento. La fibra cruda equivale a la pérdida por ignición, del residuo seco remanente después de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico al 1.25% e hidróxido de sodio al 1.25%, bajo condiciones específicas.

Equipo y material. Digestor para fibra (Labconco), estufa, mufla, parrilla de calentamiento, vasos de Berzelius (600 mL), cápsulas de porcelana, dispositivo de filtración al vacío, tela de lino (cortada al tamaño del diámetro del filtro) y embudos buchner.

Reactivos. Ácido sulfúrico (1.25%, P/V), hidróxido de sodio (1.25%, P/V), antiespumante, alcohol etílico, agua destilada.

Procedimiento. Se pesaron de 2 a 3 g de muestra desengrasada (si presenta un porcentaje mayor al 5%) y se colocaron en el vaso de Berzelius junto con 0.5 g de asbesto preparado, unas perlas de vidrio y unas gotas de antiespumante; se adicionaron cuidadosamente 200 mL de H₂SO₄ 1.25% en ebullición y el vaso se colocó en el digestor (previamente caliente). Al cabo de 30 min de ebullición, el vaso se retiró para filtrar su contenido al vacío, a través de la tela de lino y

lavando con agua destilada caliente hasta eliminar el ácido por completo (hasta que el lavado presentó pH neutro, aproximadamente después de la adición de 600 mL de agua). El residuo, junto con las perlas, se transfirió al vaso de Berzelius y se le adicionaron 200 mL de NaOH al 1.25% en ebullición, además de unas gotas de antiespumante; se colocó en el digestor y se dejó en ebullición por 30 min. Posteriormente, el contenido del vaso se filtró al vacío como en el paso anterior, se lavó con agua caliente y se le adicionaron al residuo 25 mL de alcohol etílico para eliminar una mayor cantidad de humedad. Este residuo se trasladó a una cápsula de porcelana a peso constante y se introdujo en la estufa para su secado (100°C). Una vez a peso constante, la cápsula con el residuo se colocó en la mufla para su calcinación a 550°C, hasta que ésta se completó.

Cálculos. La cantidad de fibra cruda en la muestra, se calculó como sigue:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{P_s - P_c}{m} \times 100$$

Donde:

P_s = Peso constante del crisol con el residuo seco (g)

P_c = Peso constante del crisol después de la calcinación, (g)

m = Peso de la muestra (referido a la muestra original) (g)

4.2.2 CARACTERIZACIÓN TOXICOLÓGICA

Para el análisis toxicológico de la harina de amaranto sin reventar, primero se disolvió ésta en agua y posteriormente se realizó un calentamiento durante 5 minutos a temperatura de ebullición y después fue secada a 105°C para su posterior análisis.

4.2.2.1 Contenido de taninos

Fundamento. Esta determinación se basa en la extracción de taninos con dimetilformamida, seguida de una centrifugación y adición de citrato férrico amónico a una alícuota a partir del sobrenadante obtenido de la centrifugación, de éste modo se forma un complejo colorido del cual puede obtenerse espectrofotométricamente la absorbancia a una longitud de onda de 525 nm.

Mediante una curva de calibración con ácido tánico es posible conocer el contenido de equivalentes de ácido tánico existentes en la alícuota del extracto (Sarghum, 1988).

Equipo y material. Parrilla con agitación magnética de 4 platos (Thermolyne mod. SP -13025), centrífuga (DINAC), tubos de centrífuga, magnetos, vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer), espectrofotómetro (Sequioa-Turner mod. 340), pipetas, pipetas graduadas, tubos de ensaye, matraces aforados.

Reactivos. a) Solución patrón de ácido tánico de 2 g/L (Merck 773) (se pesaron 0.05 g de ácido tánico para ser llevados a un volumen final de 25 mL), b) solución de amonía 8 g/L, como NH_3 (se tomaron 1.54 mL de hidróxido de amonio con densidad de 0.896 a 20°C y 29% de pureza llevándose a un volumen final de 50 mL), c) solución de dimetilformamida 75% (v/v) (se tomaron 375 mL de dimetilformamida y se llevaron a un volumen final de 500 mL con agua), d) solución de citrato férrico de amonio 3.5 g/L (se tomaron 0.35 g de citrato férrico amoniacal y se llevaron a un volumen final de 100 mL con agua) ésta solución se preparó 24 horas antes de la determinación.

Procedimiento. Extracción: Se colocó aproximadamente 1 g de cada una de las muestras de harina de amaranto (reventado y sin reventar) dentro de un tubo de centrífuga y se añadieron 25 mL de solución de dimetilformamida al 75%. Posteriormente, se sometió el tubo a agitación durante 60 minutos en una parrilla, transcurrido éste tiempo se centrifugó por 10 minutos con una aceleración de 3 000 g.

Preparación del blanco. Se tomó una alícuota de 1 mL del sobrenadante obtenido después de la centrifugación, se introdujo en un tubo de ensaye al cual se le agregaron 6 mL de agua desionizada y 1 mL de solución de amonía (8 g/L) y se agitó durante 10 segundos.

Preparación de la muestra para el desarrollo de color. Se tomó una alícuota de 1 mL del sobrenadante obtenido después de la centrifugación y se introdujo en un

tubo de ensaye al cual se le agregaron 5 mL de agua desionizada y 1 mL de solución de citrato férrico amoniacal (3.5 g/L). Finalmente, se agregó 1 mL de solución de amonia y se agitó durante unos segundos en un vórtex.

Después de 10 minutos (de reposo), el blanco y la muestra se transfirieron a una celda de vidrio y se midió la absorbancia a 525 nm en el espectrofotómetro. Se obtuvieron 3 extractos de cada muestra, y de cada uno se hicieron 3 determinaciones espectrofotométricas.

Preparación de la curva patrón de ácido tánico. En 6 matraces aforados de 25 mL se colocaron respectivamente: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL de la solución estándar de ácido tánico (2 g/L) y se aforó cada uno de los matraces con solución de dimetilformamida al 75%. De cada matraz aforado se tomó 1 mL de la solución y se adicionaron 5 mL de agua desionizada, 1 mL de citrato férrico amoniacal, se agitaron durante unos segundos, después se agregó 1 mL de la solución de amonia y se volvió a agitar por unos segundos más.

El contenido de cada tubo se transfirió a una celda de vidrio 10 minutos después de su preparación, y se midió la absorbancia a 525 nm en el espectrofotómetro. Finalmente, se construyó una curva patrón de la absorbancia en función de la concentración (mg ácido tánico/mL) con los datos registrados.

De cada matraz se tomaron 3 alícuotas con el fin de tener un triplicado de cada punto de la curva patrón.

Cálculos. El valor de absorbancia se convirtió a concentración con la curva patrón realizada mediante la siguiente ecuación:

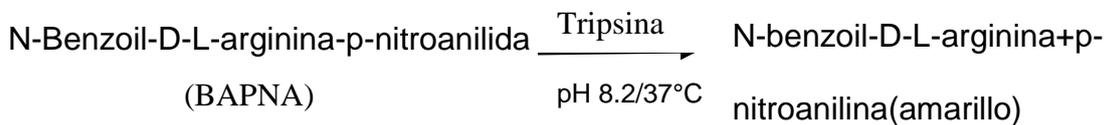
$$\% \text{ ac. tánico} = \left[\left(\frac{\text{mg ac. tánico}}{\text{volumen alícuota}} \right) \times \text{volumen aforo} \right] / \text{g muestra} \times 100$$



4.2.2.2 Determinación de inhibidores de tripsina

Fundamento. Se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso de la muestra sobre una solución estándar de tripsina.

El extracto se pone en contacto con una solución estandarizada de tripsina y después de cierto tiempo se determina la actividad proteolítica remanente, por medio de un sustrato sintético (BAPNA), el cual producirá coloración al ser hidrolizado por la enzima, la cual se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm, donde la coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de la muestra.



La actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibida (U.T.I), donde una unidad de tripsina se define arbitrariamente como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm (Kakade, y col., 1974).

Equipo y material. Potenciómetro (Corning Mod. 10), parrilla con agitación magnética (Thermoline mod. SP-13025), baño de agua a 37°C (Grant mod. 67530), espectrofotómetro (Sequoia-Turner mod. 340), vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer), tubos de ensayo.

Reactivos. a) Solución de NaOH 0.01 N, b) Solución de ácido acético al 30%, c) Solución amortiguadora TRIS (pH 8.2 y 0.05 M) (3.025 g de hidroximetil-amino-metano y 1.47 g de CaCl₂·2H₂O se disolvieron en 450 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 8.2 y se aforó a un volumen de 500 mL), solución BAPNA (100 mg de N-benzoil-D-L-arginina-p-nitroanilida-HCl se disolvieron en 2.5 mL de dimetil-sulfóxido y se diluyen a 250 mL con amortiguador TRIS, el cual se calentó previamente a 37°C) esta solución se preparó el mismo día de la determinación,

solución estándar de tripsina 20 mg/mL (se pesaron 4 mg exactos de tripsina bovina –SIGMA T-8253) y se disolvieron en 200 mL de HCl 0.001 N).

Procedimiento. Preparación del extracto: Se pesó aproximadamente 1 g de cada una de las muestras de harina de amaranto (reventado y sin reventar) en vasos de precipitados y se adicionaron 45 mL de NaOH 0.01 N. Posteriormente se ajustó el pH a 9.6 ± 0.2 y se aforó con NaOH 0.01 N a 50 mL. La solución es agitada por un periodo de 2 horas y media a 300 r.p.m. Transcurrido este tiempo, se dejó reposar el extracto por 30 minutos y posteriormente se obtuvo el extracto por decantación eliminándose el residuo insoluble.

Determinación de la actividad del extracto. Se introdujeron 0, 0.6, 1, 1.4 y 1.8 mL del extracto obtenido en tubos de ensaye, cada uno de los cuales se ajustó a un volumen final de 2 mL con agua destilada. Los tubos se colocaron en un baño de agua a 37°C, se adicionaron 2 mL de solución estándar de tripsina a la misma temperatura y se mantuvieron así por 10 minutos exactos. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de BAPNA a 37°C a cada tubo y se mantuvieron a esa misma temperatura por 10 minutos exactos. Finalmente, la reacción se detuvo con la adición de 1 mL de ácido acético al 30% y se homogeneizó. En el caso del blanco, después de agregar la solución estándar de tripsina, inmediatamente se adicionaron 2 mL de ácido acético para detener la reacción. La solución contenida en los tubos de reacción se dejó reposar 15 minutos al cabo de los cuales se filtró a través de papel filtro Whatman No. 1, ya que presentaban ligero enturbiamiento.

Se realizó la lectura de transmitancia de cada tubo en el espectrofotómetro (ajustado a 100% de transmitancia con el tubo que contenía 0 mL del extracto) a una longitud de onda 410 nm.

La técnica fue ensayada previamente con tres extractos de soya como control positivo.

Cálculos. El valor de transmitancia fue convertido a un valor de absorbancia el cual se multiplicó por 100, para su conversión a unidades de tripsina inhibidas (UTI); a cada valor obtenido se restó el valor de la referencia, que fue el tubo al cual no se le agregó extracto. Después cada valor se dividió entre la cantidad de extracto empleada de tal modo que se obtuvieron UTI/mL.

4.2.2.3 Determinación de hemaglutininas (prueba semicuantitativa)

Fundamento. La detección de hemaglutininas o lectinas se basa en la observación de la aglutinación de glóbulos rojos provocada por un extracto de lectinas proveniente de una muestra. La técnica incluye diluciones seriadas del extracto, en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la aglutinación de los glóbulos rojos los cuales son lavados y activados con una solución de proteasa (pronasa), lo que aumenta la sensibilidad de la aglutinación (Jaffé and Brucher, 1972).

Material. Parrilla con agitación magnética (Thermoline mod. SP-13025), espectrofotómetro (Sequoia-Turner mod. 340), centrífuga para tubos (DYNAC), tubos graduados para centrífuga, incubadora a 37°C (Blue-M), adaptador para celdas, kit de microtitulación (Microtiter Kit cook Eng-Alexander, Virginia, USA), placas tipo "V" para microtitulación, dispositivo con espejo para la lectura de las placas de microtitulación, papel Whatman de filtración rápida, matraces aforados.

Reactivos. Solución de pronasa al 0.2% en solución salina al 0.9%, solución salina al 1% (m/v), solución salina al 0.9% (m/v), solución anticoagulante (heparina), sangre de hámster (aproximadamente 50 gotas).

Procedimiento. Preparación del extracto: Se pesó 1 g de cada una de las muestras de harina de amaranto (reventado y sin reventar), para posteriormente suspender cada uno en 10 mL de solución salina al 1%. La suspensión se sometió a agitación mecánica durante 2 horas a 300 r.p.m. a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo de agitación, el extracto se centrifugó durante 15 min a 1500 r.p.m. con el fin de eliminar el residuo insoluble. El sobrenadante fue filtrado a través de un papel filtro sobre un matraz aforado, llevando el extracto a

un volumen final de 10 mL con solución salina al 1%. Se analizaron 3 extractos de cada residuo y 1 extracto de frijol negro jamapa que se utilizó como control positivo.

Preparación del paquete de eritrocitos. Lavado de eritrocitos: Se obtuvieron aproximadamente 50 gotas de sangre de hámster, las cuales fueron colocadas en un matraz de 25 mL que contenía heparina, posteriormente se diluyó la sangre con solución salina al 0.9% en una relación 1:5 v/v (sangre: solución salina), la sangre fue distribuida en 4 tubos graduados para centrifuga y se sometieron a centrifugación a 1500 r.p.m. durante 10 minutos. Al término de éste tiempo se separó el sobrenadante y se volvieron a diluir los eritrocitos con la misma relación antes mencionada para volver a ser centrifugados bajo las mismas condiciones. Esta operación se repitió 3 veces. Finalmente, el paquete de eritrocitos se diluyó a una concentración del 4% para lo cual se agregaron 24 mL de solución salina al 0.9% por cada mililitro de eritrocitos.

Sensibilización de eritrocitos. Por cada 10 mL de solución de eritrocitos al 4%, se agregó 1 mL de solución de pronasa al 0.2% en solución salina, esta mezcla se colocó en una incubadora durante 1 hora a 37°C, al término de éste tiempo, la solución de eritrocitos se distribuyó nuevamente en tubos los cuales se centrifugaron a 1 500 r.p.m. durante 10 minutos con el fin de eliminar la pronasa. Finalmente, los eritrocitos se sometieron a 3 lavados con solución salina al 0.9% utilizando el procedimiento previamente descrito.

Ajuste de la suspensión de eritrocitos. Se tomó 0.1 mL de la suspensión de eritrocitos y se le agregaron 4.9 mL de solución salina en una celda de vidrio, midiéndose inmediatamente el valor de transmitancia en el espectrofotómetro a 620 nm utilizando un adaptador de celdas que permite el paso de 1cm² de luz (el espectrofotómetro fue ajustado a 100% de transmitancia utilizando como blanco solución salina al 0.9%). La lectura apreciada fue de 24.3% de transmitancia, considerándose adecuada para la determinación. (Se considera adecuando un valor de porcentaje de transmitancia de 24-29% T).

Microtitulación. En las placas tipo “V” se colocaron, en cada pozo de cada hilera 50 mL de solución salina al 0.9% con un pipetero de gota (es necesario evitar tocar las paredes de los pozos). Posteriormente se llenó el microdilutor con 50 mL del extracto y se procedió a realizar 24 diluciones sucesivas en forma de culebra (ocupando 2 hileras), después se llenó el microdilutor con 50 mL del extracto de referencia y se realizaron 12 diluciones sucesivas (ocupando 1 hilera).

Finalmente, en cada pozo se colocaron 50 mL de la suspensión de eritrocitos sensibilizada y ajustada. Las placas se rotaron en forma circular y se introdujeron a la incubadora a 37°C por 1 hora.

Lectura de las placas. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se colocó la placa en el dispositivo de lectura y se reportó la máxima dilución que presentó aglutinación.

4.2.2.4 Determinación de ácido fítico

Fundamento. Este método emplea una columna de intercambio iónico, con el fin de purificar los extractos del ácido fítico, eliminando las fracciones menores de fosfatos de inositol, permitiendo una cuantificación real del ácido fítico. A su vez, la determinación colorimétrica se basa en la medida de la disminución de la absorbancia del complejo FeCl_3 -ácido sulfosalicílico (Reactivo de Wade) debido al enlace del Fe(III) con el ácido fítico (Frühbeck y col., 1995).

Material. Parrilla con agitación magnética (Thermoline mod. SP-13025), espectrofotómetro (Sequoia-Turner mod. 340), centrífuga para tubos (DYNAC), vórtex (Lab-Line mod. 1290 super mixer), tubos para centrífuga, jeringas (Plastipak), gradilla metálica para las jeringas, probetas, vasos de precipitados, tubos de ensaye.

Reactivos. Solución de NaOH 1 N, solución de NaCl 0.1 N, solución de NaCl 0.7 N, solución de HCl 0.65 N, agua desionizada, resina de intercambio iónico Dowex AG X 8 (200-400 mesh, Bio Rad), solución estándar de ácido fítico (1000

mg ácido fítico/mL) (se pesaron exactamente 0.080 g de fitato de sodio con pureza del 94% y humedad de 8.3% y se aforaron con agua desionizada hasta un volumen de 50 mL), reactivo de Wade (se pesaron 0.03 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (sigma) y 0.3 g de ácido sulfosalicílico (Sigma) y se disolvieron en agua desionizada hasta un volumen de 100 mL (el reactivo fue preparado en el momento en que se realizó la determinación espectrofotométrica).

Procedimiento: *Preparación de la muestra:* 1 g de cada muestra de harina de amaranto (reventado y sin reventar), se colocó dentro de un vaso de precipitado, posteriormente se le adicionaron 20 mL de HCl 0.65 N, esto con el fin de disociar al fitato de complejos con minerales y proteínas. Esta solución se sometió a agitación vigorosa durante 2 horas a temperatura ambiente y el extracto obtenido se transfirió cuantitativamente a un tubo para centrífuga, éste fue centrifugado a aproximadamente 2 000 r.p.m a temperatura ambiente por 10 minutos. Finalmente, se colectó el sobrenadante.

Preparación de la columna de intercambio iónico: Se pesó aproximadamente 1 g de resina de intercambio iónico y se hidrató con 1.2 mL de agua desionizada. A una jeringa Plastipak se le colocó un tapón de fibra de vidrio en el fondo, posteriormente se vertió la resina hidratada sobre la jeringa (columna), es importante mencionar que la resina debió quedar asentada uniformemente sobre la columna. Una vez empacada la resina, se hicieron pasar 15 mL de NaCl 0.7 N y posteriormente se lavó con 60 mL de agua desionizada.

Purificación por columna de intercambio iónico: Se tomó una alícuota de 3 mL del sobrenadante colectado y se diluyeron a 25 mL con agua desionizada. Ésta alícuota fue ajustada a pH 6 con NaOH 1 N. Posteriormente, se tomaron 10 mL de la alícuota diluida y se transfirieron cuantitativamente a la columna previamente preparada. La columna fue lavada con 15 mL de NaCl 0.1 N con el fin de eliminar el fosfato inorgánico y fracciones menores de inositol y se desechó el agua de lavado. Finalmente, se eluyó al fitato con 15 mL de NaCl 0.7 N, colectándose el extracto purificado.

Preparación de la curva patrón. A partir de la solución estándar de ácido fítico, se prepararon soluciones que fueron desde 5 hasta 50 mg/mL, esto se logró colocando 0.125, 0.250, 0.500, 0.750, 1.000 y 1.250 mL del estándar concentrado, en matraces aforados de 25 mL, cada uno se aforó con agua destilada. De cada matraz se tomaron 3 mL y se realizó la determinación espectrofotométrica como se indica posteriormente, a partir de la cual fue posible la construcción de una curva de calibración que relacionaba la concentración de ácido fítico y la absorbancia obtenida para la posterior cuantificación del ácido fítico en el residuo de la muestra.

Determinación espectrofotométrica. Se tomaron 3 mL de agua desionizada la cual fue usada como blanco, 3 mL de los estándares (soluciones de fitato de sodio con contenido de 5 a 50 mg/mL) y 3 mL del extracto purificado.

Estas cantidades de agua, estándares y extracto fueron colocadas en tubos de ensaye y se le agregó a cada tubo 1 mL del reactivo de Wade y se sometió a agitación en un vórtex por 5 segundos leyendo inmediatamente la absorbancia a 500 nm en el espectrofotómetro.

Cálculos. El valor de absorbancia real fue calculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Abs_{muestra} - Abs_{blanco} = Abs_{real}$$

Una vez obtenida la absorbancia real, ésta se convirtió a concentración con la curva patrón, para obtener la cantidad de ácido fítico en g/mL, utilizando la siguiente fórmula:

$$g_{muestra}/mL = (g_{muestra}/vol^a_{extracto})(dilución\ empleada^b)(Factor^c)$$

Donde:

a: Volumen de HCl para la extracción 20 mL

b: Dilución empleada 3 mL/ 25 mL

c: Factor 10 mL/ 15 mL, se refiere a la alícuota que se coloca en la columna de intercambio iónico y el volumen al que se lleva con la solución de NaCl 0.7 N que lo eluye. Este último valor obtenido se considera el 100%, así que se relaciona el valor de concentración de ácido fítico obtenido a partir de la absorbancia y se obtiene el porcentaje de ácido fítico en la muestra.

4.2.3 PRUEBA BIOLÓGICA: Determinación de la relación de eficiencia proteínica (REP)

Fundamento. Se basa en el crecimiento de los animales de ensayo, proteínas de baja o mala calidad nutritiva, manifiestan una respuesta muy variable. Si se reduce la ingesta de alimento por el animal, el valor de la REP de una proteína será mucho menor, ya que como el animal de experimentación tiene una necesidad de mantenimiento fija en lo que respecta a proteína, si se reduce la ingestión de ésta, quedará una proporción más pequeña disponible para el crecimiento cuando en ocasiones los valores de REP son negativos.

Elaboración de las dietas. Para elaborar la dieta es indispensable contar con el análisis proximal del alimento en estudio y poder así ajustar los nutrimentos a la composición de la dieta de referencia y hacer las comparaciones pertinentes.

Material. Balanza granataria, vasos de precipitado de 250 mL, espátulas.

Reactivos. Caseína, sacarosa, glucosa, dextrina (maizena), aceite de maíz, manteca vegetal, mezcla de vitaminas, mezcla de minerales, celulosa.

Procedimiento. Se preparó una dieta de referencia (caseína) como se muestra en la tabla 7.

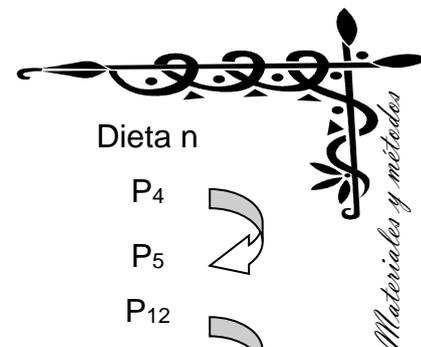
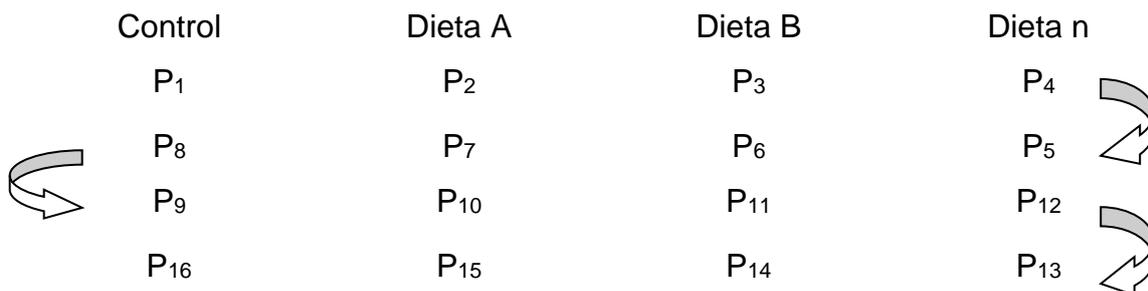
Tabla 7. Dieta de referencia (caseína)

Ingredientes	g/100g de dieta
Caseína (94.3% de proteína)	10.5
Sacarosa	22.0
Glucosa	19.0
Dextrina	25.0
Manteca vegetal	8.0
Aceite de maíz o cártamo	6.0
Mezcla de sales	4.0
Mezcla de vitaminas	2.0
Celulosa comercial	3.5
Total	100.0

Selección y preparación de los animales. Se emplearon 18 ratas macho Spague Dowley. Las ratas eran de 21 a 23 días de edad (recién destetadas), su peso no rebasaba de 10 g. El periodo de ensayo duró 21 días y se mantuvieron con alimento y agua *ad libitum*, en condiciones de 12 horas de iluminación por 12 horas de oscuridad con una temperatura de 23 a 24°C y una humedad relativa entre 30 a 35%.

Reactivos y material especial. Dieta de referencia (caseína), dieta de la fuente de proteína a evaluar, jaulas individuales de acero inoxidable, comederos y bebederos, balanza granataria para pesar animales pequeños de laboratorio, balanza granataria para pesar la dieta a proporcionar, papel manila, cernidor, franela o un trapo limpio.

El número de ratas para cada lote de la dieta de estudio (incluyendo el control, caseína) fue de 6. Se colocaron los animales en las jaulas individuales del rack siguiendo la distribución de “culebra japonesa” como se indica a continuación:



Una vez distribuidos los animales en las jaulas individuales, se les colocó el comedero con la dieta correspondiente, en cantidad que siempre contuviera un exceso del alimento para que su consumo fuera *ad libitum*, lo mismo se hizo con el bebedero. Los animales se pesaron cada tercer día y se registró el peso de cada rata así como el alimento ingerido.

La relación de eficiencia proteínica se calculó como sigue:

$$REP = \frac{\Delta P}{\Sigma AI \times F}$$

Donde:

ΔP = Incremento de peso (expresado en gramos)

ΣAI = Alimento ingerido acumulado o total (expresado en gramos)

F= Factor de conversión unitario de alimento a proteína (% de proteína en la dieta/100)

4.2.3.1 Medición de la digestibilidad de una proteína mediante un método *in vivo*

Fundamento. La digestibilidad se define como la fracción de nitrógeno absorbida que es retenida en el cuerpo, para el crecimiento y mantenimiento. Se realiza por tanto, la determinación de nitrógeno eliminado en heces fecales y orina, corrigiéndose los valores mediante la determinación de estos en animales que ingieren una dieta de nitrógeno.

Equipo y material. Frascos de vidrio de boca ancha, con tapa, de aproximadamente 200 mL, cernidor con malla de 8 ó equivalente, mortero con pistilo, estufa de circulación forzada, balanza analítica (Ohaus).

Procedimiento. Se recolectaron las heces de los animales de la prueba de REP, en forma individual (durante los últimos 7 días que duró el estudio de REP), colocándolas en un recipiente de vidrio. Una vez secadas al aire libre, se pesaron y se molieron para obtener un material lo más homogéneo posible. Posteriormente, se tomó una muestra representativa del total de heces para determinarles la concentración de nitrógeno por microKjeldahl, para lo cual se pesaron de 50 a 90 mg de heces. Para calcular la digestibilidad, se requirió conocer el contenido de nitrógeno de las heces (NF), pero además, fue necesario contar con el nitrógeno ingerido (NI) durante el mismo periodo (una semana).

Cálculos.

$$NI = (\%N_{DIETA} \times \text{Dieta ingerida}) / 100$$

$$NF = (\%N_{HECES} \times \text{Total de heces}) / 100$$

Para calcular la digestibilidad *in vivo* se utilizó la siguiente fórmula:

$$D_a = \frac{\text{N absorbido}}{\text{N ingerido}} \times 100$$

$$D_a = \frac{NI - NF}{NI} \times 100$$

4.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FÓRMULA MEJORADA



4.3.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA FÓRMULA MEJORADA

El análisis proximal de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en sus tres sabores (chocolate, fresa y nuez). Se realizó siguiendo la técnica oficial de AOAC (1990) (ver apartado 4.2.1).

4.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.3.2.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA)

Fundamento. Consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y una temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores (NOM-092-SSA1-1994).

Equipo y material. Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$, provista con termómetro calibrado, contador de colonias de campo obscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador. Frascos de vidrio con tapón de rosca, tubos de vidrio con tapón de rosca. Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc. Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio, deben esterilizarse mediante: Horno, durante 2 horas de 170 a 175°C o por 1 hora a 180°C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$.

Reactivos. Cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada, con pH cercano a la neutralidad, medio de cultivo, agar triptona-extracto de levadura (agar para cuenta estándar).

Procedimiento. Se pesaron 10 g de la muestra por analizar en una bolsa plástica estéril de tamaño adecuado, adicionando 90 mL del diluyente de peptona.

Se transfirió 1 mL de la dilución primaria, a otro recipiente que contenía 9 mL de diluyente estéril, este procedimiento se realizó hasta la sexta dilución (NOM 110-SSA1-1994). En las cajas Petri, se agregaron de 12 a 15 mL del medio preparado (cuenta estándar), mezclando mediante seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en sentido contrario y seis de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta que se logró una completa incorporación del inóculo en el medio. Se incluyó una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad. Se incubaron las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requieran, según el tipo de alimento y microorganismo de que se trate (véase tabla 8).

Tabla 8. Temperatura requerida según el microorganismo

Grupo Bacteriano	Temperatura	Tiempo de Incubación
Termofílicos aerobios	55 ± 2°C	48 ± 2 horas
Mesofílicos aerobios	35 ± 2°C	48 ± 2 horas
Psicrotróficos	20 ± 2°C	3 - 5 días
Psicrofílicos	5 ± 2°C	7 - 10 días

Fuente: NOM-092-SSA1-1994

Se contaron todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de mohos y levaduras), incluyendo las colonias puntiformes.

4.3.2.2 Coliformes totales

Fundamento. El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo agar rojo violeta bilis (RVBA) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 horas, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares (NOM-113-SSA1-1994).

Equipo y material. Pipetas bacteriológicas para distribuir, con tapón de algodón, pipetas graduadas, frascos de vidrio con tapón de rosca, tubos con tapón de rosca, utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc., cajas Petri. El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

Reactivos. Soluciones diluyentes, solución reguladora de fosfatos (solución concentrada).

Procedimiento. Se pesaron 10 g de la muestra por analizar en una bolsa plástica estéril de tamaño adecuado, adicionando 90 mL del diluyente.

Se transfirió 1 mL de la dilución primaria, a otro recipiente que contenía 9 mL de diluyente estéril, este procedimiento se realizó hasta la sexta dilución. En las cajas Petri, se agregaron de 12 a 15 mL del medio preparado (RVBA), mezclando mediante seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en sentido contrario y seis de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta que se logró una completa incorporación del inóculo en el medio. Después de que estuvo el medio completamente solidificado en la caja, se vertió aproximadamente 4 mL del medio RVBA a $45 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ en la superficie del medio inoculado, dejando que solidificara. Se incluyó una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad. Se incubaron las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) durante 24 ± 2 horas en la incubadora a 35°C .

Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias con el contador de colonias. Se seleccionaron las placas que contenían entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas eran de color rojo oscuro, generalmente se encontraban rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0.5 a 2.0 mm.

4.3.2.3 Mohos y levaduras

Fundamento. Se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3,5 e incubado a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos (NOM-111-SSA1-1994).

Material. Pipetas bacteriológicas para distribuir con tapón de algodón, pipetas graduadas, cajas Petri estériles, frascos de vidrio con tapón de rosca, tubos con tapón de rosca, utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc. Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador.

Reactivos. Agar papa-dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada, agua destilada, diluyente de peptona.

Procedimiento. Se pesaron 10 g de la muestra por analizar en una bolsa plástica estéril de tamaño adecuado, adicionando 90 mL del diluyente. Se transfirió 1 mL de la dilución primaria, a otro recipiente que contenía 9 mL de diluyente estéril, este procedimiento se realizó hasta la sexta dilución. Se vertió de 15 a 20 mL de agar papa - dextrosa fundido a cada una de las cajas petri. Se preparó una caja control con 15 mL de medio, para verificar la esterilidad, invirtiendo las cajas y colocándolas en la incubadora a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Se contaron las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación.

4.4 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DE LA FÓRMULA MEJORADA

Se utilizó un reómetro de esfuerzo controlado calibrado (figura 4), (TA INSTRUMENTS, AR 2000) con una geometría de cilindro concéntrico de doble pared (espacio anular interno: 0.19 mm, espacio anular externo: 0.415 mm y longitud del cilindro 59.50 mm) del Centro de Investigaciones en Ciencias y Tecnología de los Alimentos, ICAP – UAEH.

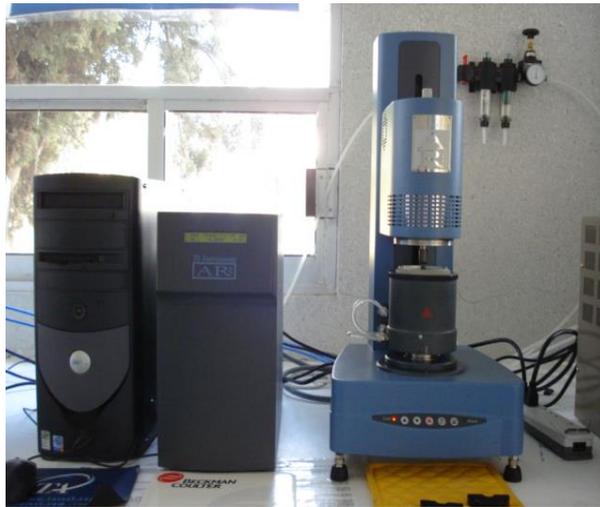


Figura 4. Reómetro de esfuerzo controlado

Se tomaron 7 mL de muestra (3 g de muestra disueltos en 15 mL de agua), previamente homogeneizada, y se colocaron en la geometría del equipo. Se realizó un pre-cizallamiento para mantener los sólidos en suspensión previo a las determinaciones de viscosidad. El equipo se programó para realizar determinaciones de viscosidad en función de la temperatura, en el intervalo de 25 a 80°C, a una velocidad de corte constante de 100 s⁻¹.

4.5 ANÁLISIS SENSORIAL

4.5.1 Pruebas afectivas

Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o rechaza, o si lo prefiere a otro. Estas pruebas son las que presentan mayor

variabilidad en los resultados y éstos son más difíciles de interpretar, ya que se trata de apreciaciones completamente personales. El objetivo de las pruebas fue conocer si el consumidor prefería la fórmula mejorada.

4.5.1.1 Prueba de preferencia

Se evaluó la muestra original comparada con la muestra mejorada, reconstituidas con agua o con leche según correspondiese.

Se les proporcionaron las muestras a 240 jueces y se les indicó que contestaran el cuestionario correspondientes a la prueba qué preferían y sus comentarios (anexo II).

Interpretación de resultados: Se determinó el porcentaje de muestras de mayor preferencia. En la tabla de significancia para prueba de dos muestras (anexo III), se localizó el número de jueces que intervinieron en la prueba y se localizó el número mínimo de respuestas coincidentes para establecer preferencia significativa (con un nivel de significancia del 1%).

4.6 VIDA ÚTIL

Se utilizó la metodología de las pruebas aceleradas de vida útil (PAVU), para estimar la vida útil de la fórmula mejorada hecha a base de amaranto como se describe a continuación:

1. Se determinaron los factores que pueden llevar a un deterioro de la fórmula mejorada:

- Enranciamiento
- Calidad microbiológica

2. Se seleccionaron las condiciones de almacenamiento. Para acelerar el proceso de degradación en el alimento se sometió a 40, 50°C y temperatura ambiente.

Durante 31 días se realizaron ensayos con frecuencia de 3 días entre cada uno, determinando el índice de acidez e índice de yodo, y al final de la prueba se realizó un análisis microbiológico determinando coliformes totales, bacterias mesófilas aerobias y mohos y levaduras.

4.6.1 Determinación del Índice de acidez

Fundamento. Se disuelve la muestra en un disolvente orgánico y los ácidos presentes se titulan con una disolución de hidróxido potásico frente a fenolftaleína.

Materiales. Matraz Erlenmeyer de 200 mL, bureta de 25 mL, probeta de 50 mL.

Reactivos. Etanol 96%, toluol o éter dietílico, mezcla de disolventes: se preparan etanol y éter dietílico en proporción 1:1 en volumen y se neutralizan con la disolución patrón de hidróxido de potasio (0.1 mol/L) y disolución de fenolftaleína 1% en etanol.

Procedimiento. Se pesaron 3 g de muestra en un matraz Erlenmeyer, se diluyeron en 50 mL de la mezcla de disolventes neutralizados, (calentando cuando era necesario), se mezclaron con unas gotas de disolución de fenolftaleína y se valoró con la disolución de hidróxido potásico hasta que presentó una coloración roja permanente.

Cálculos. El índice de acidez se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{a * C * 56.1}{M}$$

Donde:

a= mL de disolución de hidróxido potásico gastados

C= Concentración de la disolución de hidróxido potásico en mol/L

M= Peso de la grasa en g

56.1= Masa molar del KOH

4.6.2 Determinación del Índice de yodo: Método de Kaufmann

Fundamento. La grasa disuelta se mezcló con un exceso de bromo. La cantidad de bromo que no se adiciona a los dobles enlaces, oxida una disolución de yoduro a yodo, que se determina por valoración con una disolución de sulfato sódico. La reacción de adición se lleva a cabo en oscuridad para evitar que se produzcan reacciones laterales de radicales inducidos por la luz (y con ello un gasto aparente de halógeno mayor).

Equipo y materiales. Matraz Erlenmeyer y tapón de vidrio de 250 mL, pipetas volumétricas de 10, 15 y 25 mL y bureta de 25 mL.

Reactivos. Cloroformo, disolución metanólica de bromo (disolver 5.2 mL de bromo en 1 mL de metanol anhidro saturado de bromuro sódico), disolución de almidón 1% aproximadamente, disolución de yoduro potásico 10% y disolución valorante de tiosulfato sódico 0.1 ml/L.

Procedimiento. *Preparación de la muestra.* Se pesó 1 g de muestra y se disolvió en el matraz Erlenmeyer con 10 mL de cloroformo y se diluyó con 25 mL de la disolución de bromo metanólico. Se cerró el matraz y después de agitarlo se dejó reposar 30 minutos en oscuridad. Se añadieron 15 mL de disolución de yoduro potásico, el yodo liberado se valoró con la disolución patrón de tiosulfato sódico, hasta que adquirió una coloración amarilla (cerca del punto de equivalencia) y posteriormente se añadió la disolución de almidón como indicador (el yodo libre y el almidón producen una intensa coloración violeta) hasta que se volvió incolora (punto de equivalencia). *Blanco.* Se procedió de la misma manera, excepto que no se utilizó muestra.

Cálculos: El índice de yodo se calcula con la fórmula siguiente:

$$I = \frac{(b - a) * C * 126.91}{M * 10}$$

Donde:

b= mL de disolución patrón de tiosulfato sódico (0.1 mol/L) gastados en el blanco

a= mL de disolución patrón de tiosulfato sódico (0.1 mol/L) gastados en el ensayo principal

C= Concentración de la disolución patrón de tiosulfato sódico en mol/L

M= Peso de grasa en g

126.91= Masa atómica del yodo

4.6.3 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó al principio y al final de la vida de anaquel como se describe en el apartado 4.3.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se efectuó un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía acoplado a la prueba de rango múltiple de "Duncan" empleando el software STATGRAPHICS plus versión 4.0.

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 MEJORAMIENTO DE LA FÓRMULA ORIGINAL ELABORADA A BASE DE AMARANTO

5.1.1 Detección de los puntos débiles a corregir en la fórmula original (Prueba de grado de satisfacción)

Con el objetivo de detectar los atributos deficientes en la bebida preparada a base de amaranto, se llevó a cabo una prueba de grado de satisfacción. Con esta prueba se pueden conocer las respuestas de los consumidores midiendo las sensaciones provocadas por los distintos atributos de los atoles de amaranto analizados como el color, sabor y consistencia (Ramírez, 2003).

En cuanto al color de las fórmulas originales del atole de amaranto (anexo IV) reconstituidas con agua, se observó que al 66.7% de las personas encuestadas les pareció “adecuada” la intensidad de color en el sabor chocolate, mientras que para el sabor nuez fue de 58% y para fresa del 45.7%. Con respecto al nivel de agrado, el 48% de las personas encuestadas expresó que no les desagradaba ni les agradaba el color del atole sabor nuez, y el 40% y 50% para los sabores fresa y chocolate, respectivamente.

Con respecto al nivel de sabor (anexo IV), el 54, 48.6 y 43.3% de los consumidores encuestados opinaron que el sabor era débil en los atoles de fresa, chocolate y nuez, respectivamente. Estos resultados se vieron reflejados en el agrado de las fórmulas originales donde el 42%, de jueces indicó que no les agradaba ni les desagradaba el sabor nuez, y 48.6 y 43.3% para los sabores fresa y chocolate respectivamente.

En relación a la consistencia (anexo IV), el 60% y el 33.3% de la población encuestada expresó que las fórmulas de nuez y chocolate presentaban una consistencia débil, el 37.1% manifestó que la fórmula sabor fresa tenía una consistencia “adecuada”. Estos resultados se vieron reflejados en el nivel de

agrado de este parámetro, donde el 44% de los jueces señalaron que les agradaba “ni mucho ni poco” en la fórmula sabor nuez, lo mismo sucedió con la fórmula sabor fresa con el 34.3% de los jueces y solo al 43.3% les gusto “poco” la consistencia de la fórmula.

Respecto a la intención de compra de los atoles de amaranto sabor nuez y chocolate (anexo IV), el 50 y 26.7% de los jueces señalaron que “tal vez si o tal vez no lo comprarían”; en el caso de la fórmula de sabor fresa el 31.4% de la población encuestada expresó que “tal vez no lo compraría”.

Estas fórmulas también se reconstituyeron con leche en donde se pudieron observar mejores resultados (anexo IV). Los comentarios de las personas encuestadas proponían mejorar el sabor, color y consistencia de las fórmulas. Con estos resultados se procedió al mejoramiento de las fórmulas comerciales y la modificación de los parámetros de: sabor, color y consistencia.

5.1.2 Sustitución de materias primas en la fórmula original

La realización de este proyecto de investigación se realizó en conjunto con la empresa MANFLOW S.A., debido a esto, no se indicaron las concentraciones de cada ingrediente.

A fin de mejorar las deficiencias detectadas con la prueba de grado de satisfacción, se decidió sustituir algunas de las materias primas utilizadas en la formulación original (tabla 9).

Tabla 9. Materias primas que pueden ser sustituidas

Materia prima en fórmula inicial	Materia prima sustituible
Harina de amaranto reventado	Harina de amaranto sin reventar
Azúcar	No sustituible
Suscrem	Leche en polvo
Fécula	No sustituible
Cacao	Saborizante artificial
Saborizante y colorante	Saborizante y colorante de mejor calidad

a) Amaranto reventado comparado con amaranto sin reventar

Al variar las concentraciones de amaranto reventado (10-25%), se observó que dicha harina provocaba la formación de grumos debido a que el índice de solubilidad disminuye al aumentar la concentración de harina de amaranto (Arcila y Mendoza, 2005) lo cual dificultó la disolución de la mezcla al momento de preparar el atole. Es por esto que se realizó un segundo ensayo empleando amaranto sin reventar, los atoles preparados con este ingrediente presentaron una mejor solubilidad, lo que representaría un beneficio para el consumidor ya que no necesitará mucho tiempo para su disolución.

b) Suscream comparado con leche en polvo

La fórmula inicial presentaba entre sus ingredientes un sustituto de crema (suscrem), sin embargo, este le confería poca viscosidad al atole y al incrementar su concentración se detectó un sabor amargo. Por el contrario, la leche en polvo potenció el sabor del atole y le confirió una mayor viscosidad así como un aspecto más agradable. Por esto, se decidió emplear leche en polvo en la formulación mejorada.

c) Colorante comparado con saborizantes

Los colorantes y saborizantes empleados en la fórmula original fueron sustituidos por los elaborados por la empresa DEIMAN y SYMRISE. En el caso del atole sabor chocolate, se omitió el uso del cacao, debido a que hay estudios que indican que puede ser fuente de contaminación microbiana es por esto que se decidió emplear el saborizante y colorante artificial (Porras 2008).

5.2 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA, TOXICOLÓGICA Y PRUEBA BIOLÓGICA DE LA HARINA DE AMARANTO REVENTADO Y SIN REVENTAR

5.2.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA

Dado que el amaranto reventado presente en la fórmula original fue sustituido por amaranto sin reventar en la fórmula mejorada, fue necesario determinar su composición química (tabla 10). El amaranto sin reventar presentó un mayor contenido de proteína que el amaranto reventado debido a que este último es expuesto a altas temperaturas lo que provoca un daño severo a la estructura de las proteínas (Cruz y col., 2006).

Tabla 10. Composición química del amaranto sin reventar y reventado

Determinación	Amaranto sin reventar	Amaranto reventado*
	%	%
Humedad	5.54 ± 0.06	4.62 ± 0.30
Cenizas	3.55 ± 0.02	2.64 ± 0.02
Proteína	23.26 ± 0.30	15.39 ± 0.06
Grasa	4.49 ± 0.09	4.34 ± 0.09
Fibra	8.50 ± 0.04	5.17 ± 0.07
Carbohidratos	54.78	72.81

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones.

* Datos tomados de Porrás (2008)

El porcentaje de humedad de ambas harinas de amaranto, se encontró dentro del límite máximo establecido en la NOM-147-SSA1-1996, la cual indica que una harina no debe rebasar el 15% debido a que un alto porcentaje de humedad puede propiciar el desarrollo de bacterias y hongos que pueden alterar la calidad del producto final.

En cuanto al contenido de fibra, la harina de amaranto sin reventar mostró un mayor porcentaje que la harina de amaranto reventado, esto puede ser explicado por el proceso de tostado al que es sometido el amaranto en donde se revienta el grano provocando así la pérdida de fibra proveniente del episperma (la cubierta de la semilla) (FAO, 2000).

La diferencia observada en el contenido de carbohidratos es explicada por que la harina de amaranto sin reventar presentó un mayor contenido de proteína y fibra en comparación con la harina de amaranto reventada, lo cual resultó en un menor contenido de carbohidratos.

En cuanto al porcentaje de grasa se observó que la harina de amaranto reventada (4.34%) presentó un contenido similar al de la harina de amaranto sin reventar (4.49%); y estos dos valores son inferiores a los que reportó Nieto (1990) de 6-8% de grasa en semilla de amaranto.

5.2.2 CARACTERIZACIÓN TOXICOLÓGICA

En los alimentos de origen vegetal hay una serie de sustancias capaces de disminuir la disponibilidad de los nutrientes indispensables; este grupo de sustancias pueden ser taninos, inhibidores de tripsina, hemaglutininas y ácido fítico. Dado que en la fórmula mejorada se empleó harina de amaranto no reventado, se consideró pertinente evaluar el posible contenido de tóxicos en ésta harina.

5.2.2.1 Contenido de taninos

No se detectó la presencia de taninos en ninguna de las dos muestras de harina de amaranto (reventado y sin reventar) analizadas. Estos resultados difieren en el estudio realizado por Cruz y col. (2006) quienes reportaron concentraciones de taninos de 6.45 y 170.5 mg eq CAT/100g en amaranto reventado y sin reventar. Es importante mencionar que los taninos en alto contenido pueden disminuir el valor nutricional de un alimento, ya que pueden formar un complejo con el hierro difícilmente soluble, provocando una deficiencia de este mineral (Lindner, 1995).

El hecho de que en las muestras analizadas no se haya encontrado la presencia de estos compuestos se debió a que las dos harinas fueron sometidas a un tratamiento térmico; en el caso de la harina de amaranto reventada se alcanzan durante el tostado del grano temperaturas de 190-210°C (González y col., 2002) y para la harina de amaranto sin reventar se efectuó un calentamiento a 92°C durante 5 min (tratamiento que simuló la preparación de un atole), ambos tratamientos provocaron la destrucción de estos compuestos tóxicos (Valle, 2000).

5.2.2.2 Determinación de inhibidores de tripsina

El contenido de inhibidores de tripsina determinado en las harinas de amaranto reventado y sin reventar se muestra en la tabla 11. El análisis estadístico, mostró que existe diferencia significativa en el contenido de inhibidores de tripsina en el amaranto reventado y sin reventar. Se puede observar que aún cuando la semilla de amaranto reventado fue sometida a un proceso de tostado, exhibió mayor contenido de inhibidores de tripsina, que la harina de amaranto sin reventar.

Los resultados obtenidos en éste trabajo coinciden con lo reportado por Pérez-Gil y col. (1982) quienes encontraron 8.017 UTI/mg para el amaranto sin reventar. Sin embargo, para el caso del amaranto reventado dichos autores determinaron un contenido de 1.636 UTI/mg; valor que resulta inferior al encontrado en el presente estudio. Los valores de inhibidores de tripsina encontrados en nuestro

estudio para el caso del amaranto reventado son inferiores a los reportados para soya cruda (70 y 100,000 UTI/mg) (Pérez-Gil y col., 1982).

Tabla 11. Contenido de inhibidores de tripsina en harina de amaranto (UTI/mg) reventado y sin reventar

Muestra	UTI /mg de muestra
Amaranto sin reventar	9.295 ^a ± 0.03
Amaranto reventado	14.472 ^b ± 0.06

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Letra diferente dentro de la columna indica diferencias significativa estadística

5.2.2.3 Determinación de hemaglutininas (prueba semicuantitativa)

Las hemaglutininas han sido encontradas en una amplia variedad de plantas y en diferentes partes de ellas. La primera que se reconoció fue la de la semilla de ricino (*Ricinus cummunis*) la cual adicionalmente es de las proteínas más tóxicas, con un DL₅₀ de 0.05 mg/Kg en ratón por vía intraperitoneal (Valle, 2000).

Las harinas de amaranto reventado y sin reventar, no mostraron ningún título hemaglutinante. Perez-Gil y col (1982) reportaron un título hemaglutinante de 5 en la semilla de amaranto sin reventar y de 0 en el caso del la semilla reventada lo cual coincide con el resultado obtenido en este estudio. Sotelo (1985) y Liener, (1986) reportaron el efecto de lectinas de dos variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) en el crecimiento de ratas, donde observaron que las ratas perdían peso al administrarles un 4.6% de lectinas en su dieta diaria y provocándoles la muerte a los 6 días. En este caso no se tiene el riesgo de tener algún efecto tóxico por la presencia de hemaglutininas, ya que el tratamiento térmico al que se sometieron las harinas provocó la destrucción de estos compuestos.

5.2.2.4 Determinación de ácido fítico

El ácido fítico se encuentra naturalmente en diferentes alimentos, principalmente en soya, zanahoria y cereales, en estos últimos se ha detectado su presencia en concentraciones de 2 a 5 g/kg (Oberleas, 1973).

El contenido de ácido fítico en las harinas de amaranto sin reventar y reventado se presenta en la tabla 12. El análisis estadístico realizado reveló que existe diferencia significativa en el contenido de ácido fítico en las dos muestras estudiadas. La muestra de harina de amaranto sin reventar presentó menor contenido de ácido fítico que la harina de amaranto reventado. En el estudio realizado por Bourges (1984) se encontró un contenido de 2.2 a 3.4 mg/100g de fitatos en la semilla de amaranto sin reventar.

Tabla 12. Contenido de ácido fítico en harina de amaranto sin reventar y reventado

Muestra	% ácido fítico
Amaranto sin reventar	0.86 ^a ± 0.043
Amaranto reventado	1.36 ^b ± 0.095

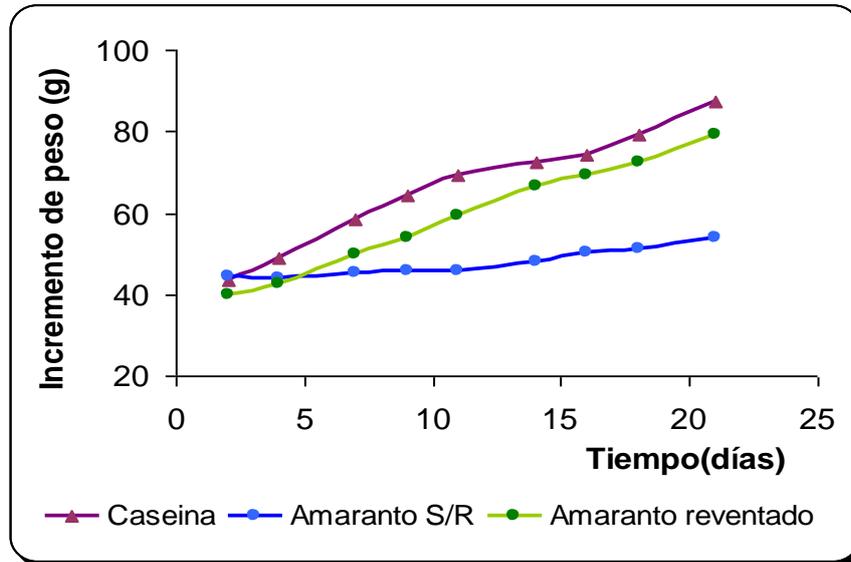
Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Letra diferente dentro de la columna indica diferencias significativa estadística

5.2.3 PRUEBAS BIOLÓGICAS: Determinación de la relación de eficacia proteínica (REP)

Las curvas de crecimiento de las ratas alimentadas durante 21 días con las dietas preparadas con harina de amaranto reventada y sin reventar, así como el control (caseína) empleado se muestran en la gráfica 1. Los lotes de ratas alimentadas con harina de amaranto sin reventar no alcanzaron el incremento en peso que proporcionó la dieta de caseína. Esto como consecuencia de que la harina de amaranto sin reventar no es sometida a un proceso de tostado en donde se destruyen los tóxicos presentes sino que estos permanecen. Los lotes de ratas alimentadas con la dieta de harina de amaranto reventado, incrementaron su peso, en forma similar a los lotes de ratas alimentadas con caseína.

Gráfica 1. Curvas de crecimiento de las ratas alimentadas con harina de amaranto reventada y sin reventar



Los resultados del REP y REP ajustado, para amaranto sin reventar y reventado, así como para el control (caseína) se muestran en la tabla 13. El análisis de varianza (ANOVA) del REP reveló una diferencia significativa ($P < 0.05$) en cuanto a la calidad nutricional de las harinas de amaranto estudiadas. El control empleado (caseína) y la harina de amaranto reventado fueron estadísticamente iguales. Sin embargo, la harina de amaranto sin reventar presentó diferencia significativa ($P < 0.05$) con el control y con la harina de amaranto reventada. Estos resultados indicaron que la calidad de la proteína de la harina de amaranto reventado es mayor que la harina de amaranto sin reventar. Lo que podría ser consecuencia de tóxicos no realizados en esta prueba, en la harina de amaranto sin reventar, compuestos que pueden afectar la absorción de las proteínas, absorción de minerales como el calcio, hierro y cobre en las ratas y reflejarse en una mala calidad proteica.

Tabla 13. Resultados del REP para amaranto sin reventar y reventado, y el control

Dieta	REP	REP ajustado
Amaranto reventado	$2.95^b \pm 0.18$	2.30 ± 0.07
Amaranto sin reventar	$0.95^a \pm 0.47$	0.75 ± 0.47
Control (Caseína)	$3.20^b \pm 0.03$	2.50

Nota: Letra diferente dentro de la columna indica diferencia significativa estadísticamente

5.3 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FÓRMULA MEJORADA

5.3.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA

5.3.1.1 Humedad

La determinación del contenido de humedad es importante para conocer la cantidad de sólidos totales en el alimento, también es utilizada como un factor de calidad en los alimentos (Badui, 2006).

El contenido de humedad en las fórmulas mejoradas (tabla 14), no fue significativamente diferente. Estos resultados fueron similares a los encontrados por Porras (2008) quien indicó un contenido de humedad de 3.36-3.64% para los atoles a base de amaranto reventado sabores chocolate, fresa y nuez. Estos resultados se encuentran por debajo de la NOM-147-SSA1-1996, donde el límite máximo de humedad permitida para harina de cereal es de un 15%, al exceder este límite se corre el riesgo de una contaminación por bacterias y hongos. En el caso de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar, no se corre el riesgo de contaminación microbiana dado el bajo contenido de humedad determinado.

Tabla 14. Contenido de humedad de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% Humedad
Chocolate	3.19 ^a ±0.05
Nuez	3.12 ^a ±0.04
Fresa	3.09 ^a ±0.05

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Superíndices iguales indican medias estadísticamente semejantes (P<0.05)

5.3.1.2 Proteína

Las proteínas poseen propiedades nutricionales, y de sus componentes se obtienen moléculas nitrogenadas que permiten conservar la estructura y el crecimiento de quien la consume (Badui, 2006).

El contenido proteico de la fórmula mejorada en los tres diferentes sabores varió de 8.3-8.7% (tabla 15), los cuales no fueron significativamente diferentes al realizar el análisis estadístico. Estos resultados fueron superiores a los de Porras (2008) quien encontró para las fórmulas originales de amaranto reventado un contenido inferior de proteína (4.64%, 4.73% y 5.48% para chocolate, fresa y nuez, respectivamente); así como para los atoles preparados con fécula de maíz (0.1%) y con harina de arroz (0.85%). Esto puede ser explicado por el uso de harina de amaranto sin reventar y leche en polvo en la fórmula mejorada, ingredientes que en conjunto incrementan el contenido de proteína en el producto final.

Resulta interesante la inclusión de proteínas provenientes de la leche en polvo dado que estas proporcionan propiedades funcionales como la absorción y retención del agua, solubilidad y viscosidad, siendo éstas últimas las más importantes para la elaboración de la fórmula mejorada (Varnam y Sutherland, 1995).

Tabla 15. Contenido de proteína de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% Proteína
Fresa	8.70 ^a ±0.70
Chocolate	8.29 ^a ±0.22
Nuez	8.47 ^a ±0.67

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Superíndices iguales indican medias estadísticamente semejantes (P<0.05)

5.3.1.3 Grasa

Las grasas constituyen la parte más energética de los alimentos de nuestra dieta diaria aportando entre un 35 y 45% de las calorías ingeridas por un adulto y son los componentes que se transforman en energía con mayor eficacia (Wong, 1995).

El contenido de grasa (tabla 16) de las fórmulas mejoradas no fue significativamente diferente en los tres sabores (chocolate, nuez y fresa). Sin embargo, estos resultados fueron superiores a los encontrados por Porras (2008) quien reportó 1.37% para chocolate, 1.16% para fresa y 1.17% para nuez. Así mismo, los atoles de marcas comerciales presentaron bajos contenido de grasa con respecto a la fórmula mejorada; 0.1% para los elaborados con fécula de maíz y 0.36% para los de harina de arroz. La adición de leche en polvo (3.9% de grasa) a la fórmula mejorada a base de amaranto sin reventar contribuyó de manera importante en el contenido de grasa, lo que eleva el contenido energético de la fórmula final (Amiot, 1991).

Tabla 16. Contenido de grasa de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% Grasa
Chocolate	4.42 ^a ± 0.36
Nuez	4.42 ^a ± 0.64
Fresa	4.92 ^a ± 0.46

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Superíndices iguales indican medias estadísticamente semejantes (P<0.05)

5.3.1.4 Cenizas

El contenido de cenizas refleja el nivel de minerales que pueden existir en el producto (Adrian y col., 2000).

Los resultados de cenizas en las fórmulas mejoradas (tabla 17), no mostraron diferencia significativa en los tres sabores (chocolate, nuez y fresa); estos resultados fueron cercanos a los que encontró Porras (2008), quien señala que

las fórmulas a base de amaranto reventado sabor chocolate, fresa y nuez presenta un 1.11, 1.28 y 1.18% de cenizas respectivamente.

Las cenizas procedentes de las fórmulas mejoradas pueden ser derivadas de la harina de amaranto sin reventar (3.55% de cenizas) ya que ésta contiene minerales como el fósforo, potasio y el calcio (Nieto, 1990 y Porras, 2008) y por la adición de la leche en polvo (0.7% de cenizas) la cual también contiene minerales como el calcio (Varnam y Sutherland, 1995).

Tabla 17. Contenido de cenizas de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% Cenizas
Chocolate	1.96 ^a ± 0.04
Nuez	1.85 ^a ± 0.17
Fresa	1.94 ^a ± 0.07

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Superíndices iguales indican medias estadísticamente semejantes (P<0.05)

5.3.1.5 Fibra

La fibra está constituida por los componentes estructurales de las paredes celulares entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas. Estos polímeros son exclusivos de los vegetales (Badui, 2006).

El contenido de fibra que presentan las fórmulas mejoradas (tabla 18) (chocolate, nuez y fresa) fue superior al encontrado por Porras (2008) quien indicó para la fórmula a base de amaranto reventado de sabor chocolate un 2.31%, para fresa 0.69% y nuez 0.88% de fibra. Esto últimos valores podrían ser atribuidos a la harina de amaranto reventado empleada, la cual lleva un proceso de remojo, seguido de un tostado, es en ese momento donde una parte de la fibra soluble (pectinas) se disuelve perdiéndose así una parte considerable de fibra dietética (Günter y col., 1999). Esto no ocurre en la fórmula mejorada en donde se sustituyó la harina de amaranto reventado por la harina de amaranto sin reventar, la cual no es sometida a temperaturas tan elevadas.

Tabla 18. Contenido de fibra de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% Fibra \pm SD
Chocolate	3.35 ^a \pm 0.37
Nuez	3.36 ^a \pm 0.31
Fresa	3.40 ^a \pm 0.31

Los valores son las medias \pm la desviación estándar de 3 determinaciones

Nota: Superíndices iguales indican medias estadísticamente semejantes ($P < 0.05$)

5.3.1.6 Carbohidratos

Los carbohidratos son compuestos orgánicos formados por carbono, hidrógeno y oxígeno. Son los más abundantes en la naturaleza, y también los más consumidos por los seres humanos. Se originan como producto de la fotosíntesis y son los principales compuestos químicos que almacenan la energía (Badui, 2006).

En la tabla 19 se observa el porcentaje de carbohidratos calculados por diferencia para las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar. Los valores fueron inferiores a los que encontró Porras (2008), donde la muestra de chocolate presentó 90.61%, fresa 92.44% y nuez 91.59%. Estas diferencias son explicadas por los porcentajes elevados de fibra y proteína determinados en la fórmula mejorada en comparación con la fórmula original que disminuyen el contenido de carbohidratos lo que resulta en menor contenido de carbohidratos.

De estos el más abundante es el almidón presente en el endospermo del amaranto (FAO, 2000); aunque otros carbohidratos que deben ser considerados es la sacarosa proveniente de la azúcar así como la lactosa presente en la leche en polvo (4.8% de lactosa) ingrediente que fue adicionado a la fórmula mejorada.

Tabla 19. Contenido de carbohidratos de las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar en los tres diferentes sabores

Muestra	% carbohidratos
Chocolate	78.8
Nuez	78.85
Fresa	77.99

5.3.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los microorganismos utilizan nuestros alimentos como fuente de nutrientes para su propio crecimiento, hecho que, naturalmente puede ocasionar su alteración (Frazier y Westhoff, 2003).

5.3.2.1 Bacterias mesófilas aerobias (BMA)

Los resultados de esta prueba, tanto de la materia prima como de las fórmulas de los atoles de amaranto mejoradas se muestran en la tabla 20. A excepción de la harina de amaranto sin reventar que presenta 3700 UFC/g, la materia prima con la que se elabora el polvo para la preparación del atole a base de amaranto no presentó BMA. Sin embargo en las fórmulas de atole sabor chocolate, fresa y nuez se detectó la presencia de microorganismos, principalmente en este último. La presencia de éstas podría ser debida a la contaminación presente en la harina de amaranto sin reventar, que fue una cantidad elevada de BMA (tabla 20). La NOM-147-SSA1-1996 establece como limite máximo para harinas de 5×10^4 a 1×10^5 UFC/g; por lo que los valores encontrados en la materia prima así como en las fórmulas de los atoles resultan bajos, lo que indica un adecuado manejo y calidad sanitaria. Otro factor es el bajo contenido de agua en las fórmulas mejoradas 3% aproximadamente, impide el crecimiento de bacterias en este tipo de producto. Sería importante dar un seguimiento a la calidad sanitaria de la harina de amaranto sin reventar a fin de evitar una mayor contaminación en el producto final.

Tabla 20. Recuento de bacterias mesófilas aerobias en las materias primas y en las fórmulas mejoradas (chocolate, fresa y nuez)

Muestra	UFC/g
Leche	<10*
Fécula	<10*
Harina de amaranto sin reventar	3.7 x 10 ³
Azúcar	<10*
Atole de chocolate	8.0x10 ¹ *
Atole de fresa	8.0x10 ¹ *
Atole de nuez	1.1x10 ² *

NP= No Presentó

UFC/g= unidades formadoras de colonias por gramo

* Valor estimado

5.3.2.2 Coliformes totales

El recuento en las materias primas y en las fórmulas mejoradas indicó la ausencia de coliformes, revelando así que hubo un buen manejo sanitario al preparar las fórmulas y durante el proceso de envasado.

La presencia de coliformes en alimentos es resultado de la exposición al medio ambiente (desperdicios orgánicos, desechos, tierra, fauna, nociva, residuos en utensilios y equipo) y en las posibilidades de desarrollo en tales sustratos (Fernández, 2000).

5.3.2.3 Mohos y levaduras

La presencia de mohos y levaduras en los alimentos se considera un indicador de las condiciones higiénicas de la materia prima y de las condiciones de manipulación al momento de la elaboración del producto alimenticio (Jiménez y Pérez, 2007). Los recuentos de hongos y levaduras para las materias primas y para las fórmulas mejoradas, fueron inferiores a los establecidos por la NOM-147-SSA1-1996 donde el rango permitido para hongos y levaduras es de 2x10²-1x10³

UFC/g (tabla 21). Esto es debido a que tanto las materias primas como las fórmulas presentan bajos contenidos de humedad lo que dificulta el crecimiento de estos microorganismos.

Tabla 21. Recuento de mohos y levaduras en las materias primas y en las fórmulas mejoradas (chocolate, fresa y nuez)

Muestra	UFC/g
Leche	NP
Fécula	NP
Harina de amaranto sin reventar	2.0x10 ¹
Azúcar	NP
Atole de chocolate	NP
Atole de fresa	NP
Atole de nuez	NP

NP= No Presentó

UFC/g= unidades formadoras de colonias por gramo

5.4 DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD DE LA FÓRMULA MEJORADA

Algunos materiales sobre todo los alimenticios, sufren cambios con la temperatura, y algunos de estos son: la transición vítrea, gelatinización de los almidones, la fusión de cristales y geles, entre otros (Rodríguez y col., 2006).

En la gráfica 2 se muestra la evolución de la viscosidad en función de la temperatura para la fórmula mejorada de amaranto sin reventar, en los 3 diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez). En ésta no se observaron cambios en el intervalo de temperatura de 50-69°C lo que indicó que a estas temperaturas el almidón aún no gelatinizaba. Sin embargo, al aumentar la temperatura se observó un incremento considerable en la viscosidad (entre 69-73°C), esto debido al almidón del amaranto y al almidón de maíz presentes en la fórmula mejorada. Después de este punto es posible que al mantener la fuerza de cizalla en el sistema los gránulos de almidón se rompan y fragmenten provocando una disminución en la viscosidad. Es importante resaltar que la fórmula mejorada en

sus tres sabores siguió el mismo comportamiento a las diferentes temperaturas estudiadas a excepción de la viscosidad máxima alcanzada (tabla 22); la fórmula mejorada sabor fresa alcanzó la máxima viscosidad y la de sabor chocolate fue la de menor viscosidad.

Gráfica 2. Comportamiento de la viscosidad de la fórmula mejorada en función de la temperatura en los tres diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez)

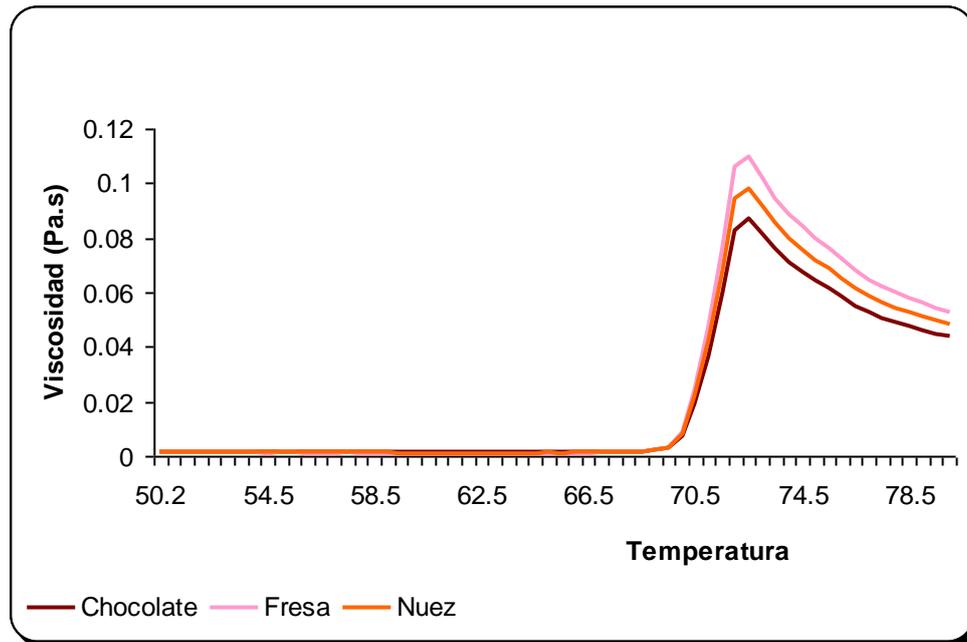


Tabla 22. Viscosidad máxima y temperatura de gelatinización en las fórmulas mejoradas de la bebida a base de amaranto

Muestra	Viscosidad máxima (Pa.s)	Temperatura inicial de gelatinización (°C)
Chocolate	0.0867 ± 0.05	69.5
Fresa	0.1094 ± 0.02	69.5
Nuez	0.0981 ± 0.06	69.5

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

En la gráfica 3 se muestra la viscosidad de la fórmula original de amaranto en los tres sabores (chocolate, fresa y nuez), donde no se vieron cambios en el intervalo de temperatura de 50-67°C. Sin embargo, se observó en este caso que el aumento de viscosidad sucedió un poco antes que en la fórmula mejorada (entre 67-75°C) (tabla 23), esto se debe a que en la fórmula original se utiliza la harina de amaranto reventada, donde los gránulos de almidón se encuentran

dañados a causa de las altas temperaturas a las que se somete el grano (220-240°C) (López y col., 1996); a la presencia de componentes como el suscream (grasa vegetal), proteínas presentes en la harina de amaranto y a la fécula de maíz contenidas en la fórmula original.

Es importante resaltar que la viscosidad de la fórmula original es mayor en los tres sabores en comparación con las fórmulas mejoradas, esto se debe a que los gránulos de almidón presentes en la fórmula original ya se encuentran gelatinizados por el proceso de tostado, esto provoca que la viscosidad de la fórmula original aumente (Fenema, 2000).

Gráfica 3. Comportamiento de la viscosidad de la fórmula original en función de la temperatura en los tres diferentes sabores (Chocolate, fresa y nuez)

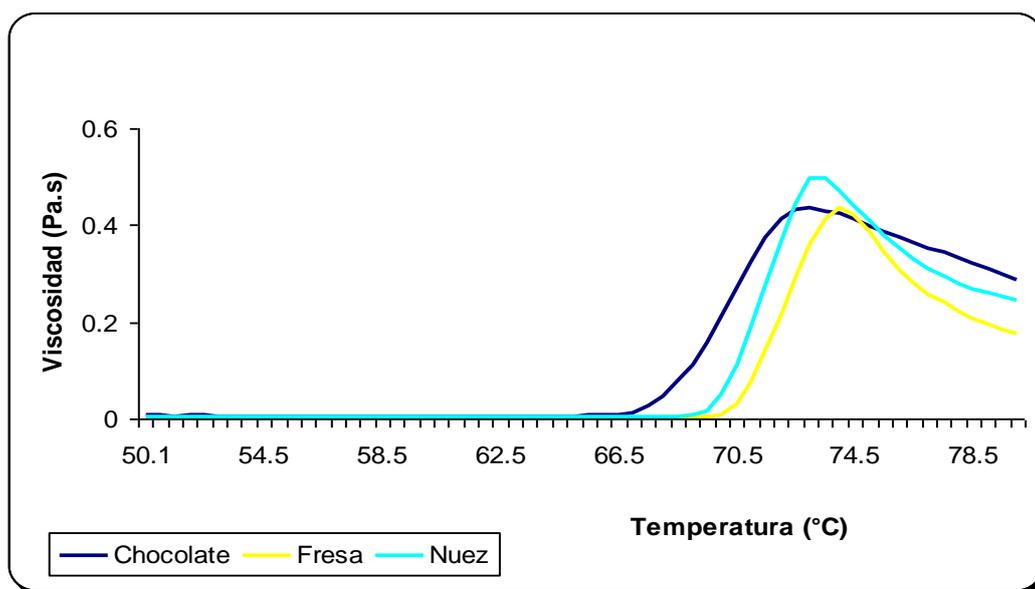


Tabla 23. Viscosidad máxima y temperatura de gelatinización en fórmulas originales de la bebida a base de amaranto

Muestra	Viscosidad máxima (Pa.s)	Temperatura inicial de gelatinización (°C)
Chocolate	0.4308 ± 0.02	67
Fresa	0.4354 ± 0.04	70
Nuez	0.4986 ± 0.01	70.5

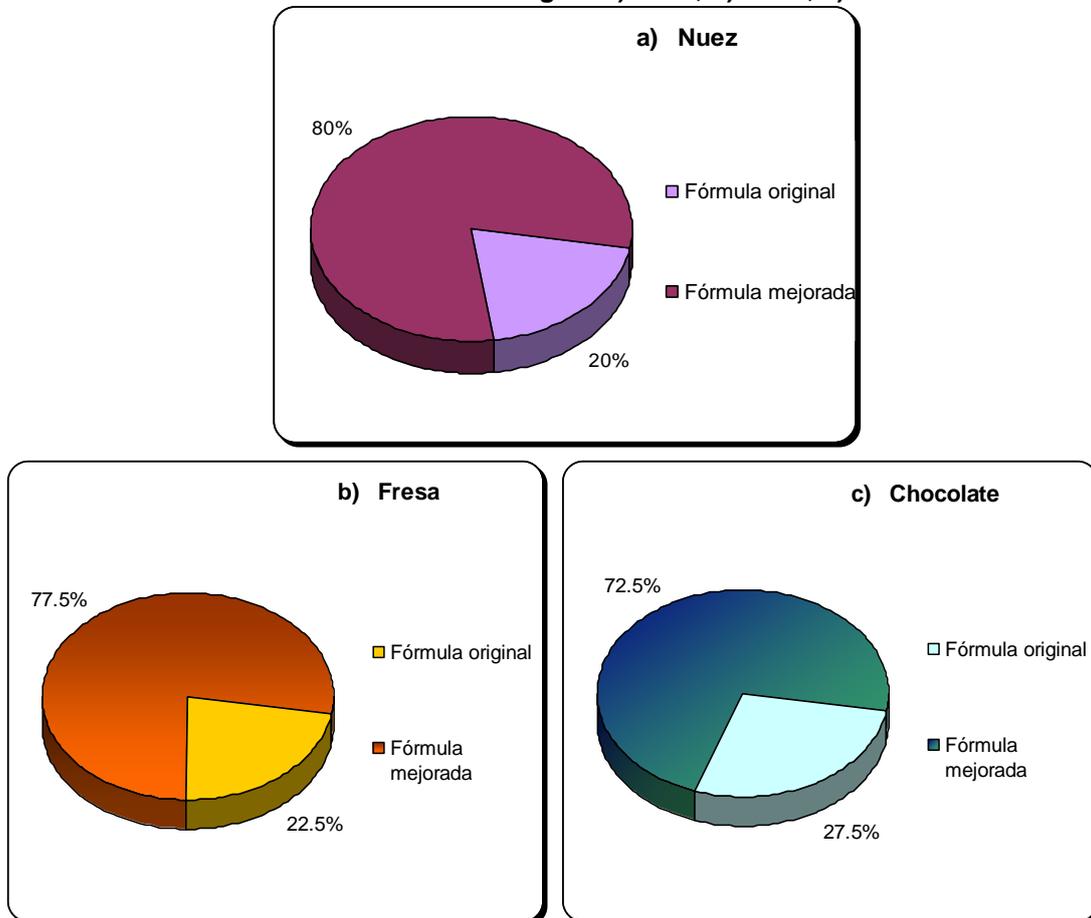
Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 determinaciones

5.5 ANÁLISIS SENSORIAL DE LA FÓRMULA MEJORADA

5.5.1 Prueba de preferencia

Los resultados de la prueba de preferencia para las fórmulas mejoradas reconstituidas con agua y leche se muestran en las gráficas 4 y 5, donde se observó que los consumidores prefirieron la fórmula mejorada en los tres diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez).

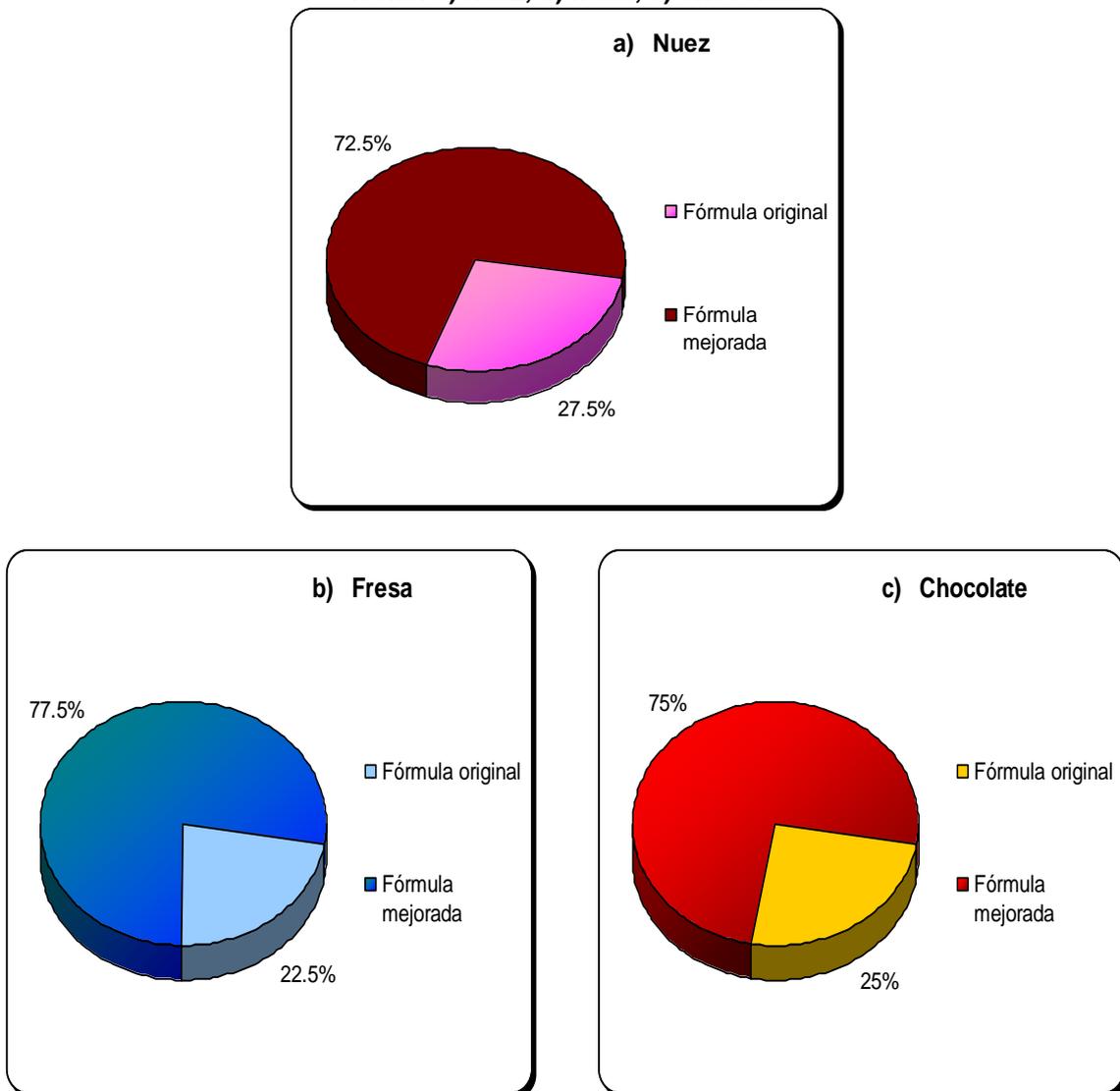
Gráfica 4. Resultados de la prueba de preferencia de las fórmulas mejoradas a base de amaranto reconstituidas con agua: a) nuez, b) fresa, c) chocolate



Estos resultados indican que la sustitución de harina de amaranto reventada por la harina de amaranto sin reventar, la del suscream por leche en polvo y la sustitución de los saborizantes influyeron positivamente en las propiedades finales

de la fórmula mejorada, lo cual también se vio reflejado en la preferencia mostrada por los consumidores.

Gráfica 5. Resultados de la prueba de preferencia para las fórmulas reconstituidas con leche: a) nuez, b) fresa, c) chocolate



5.6 VIDA ÚTIL

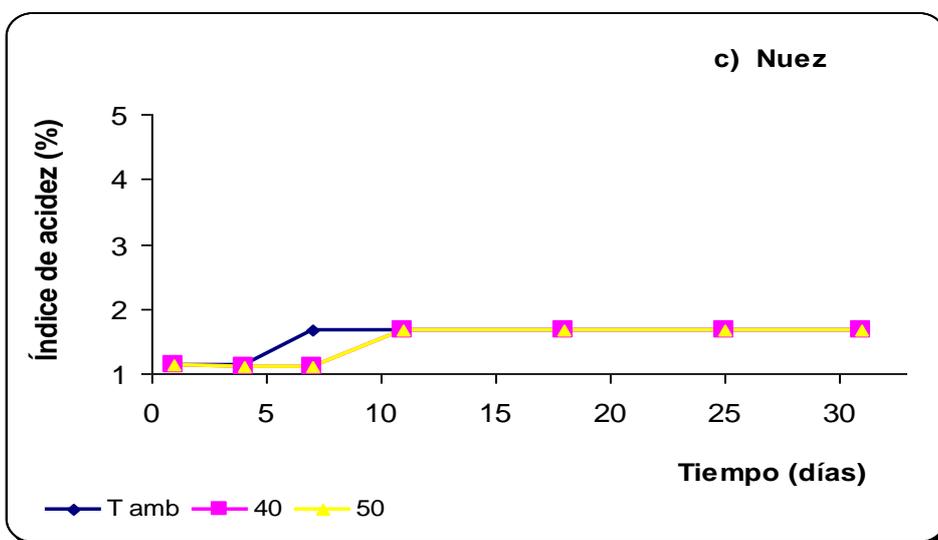
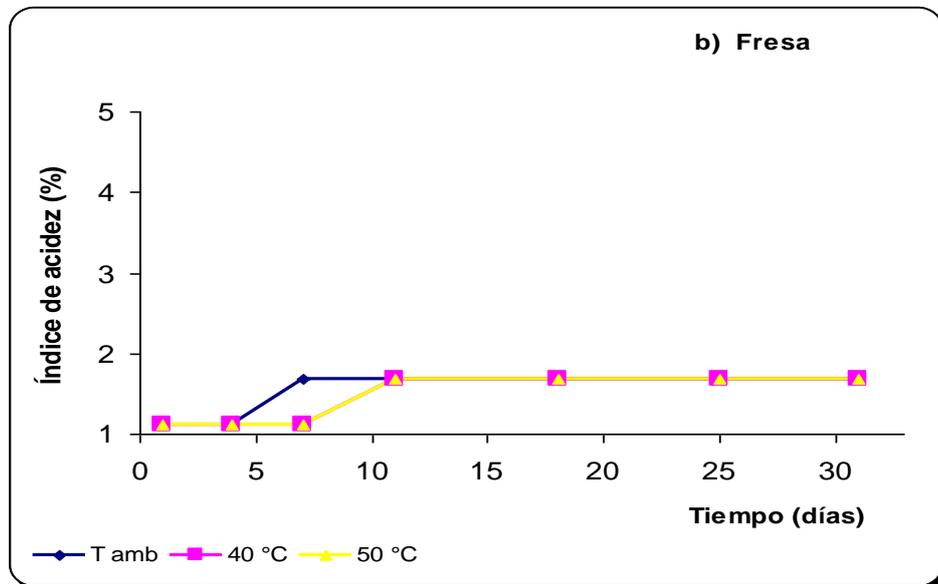
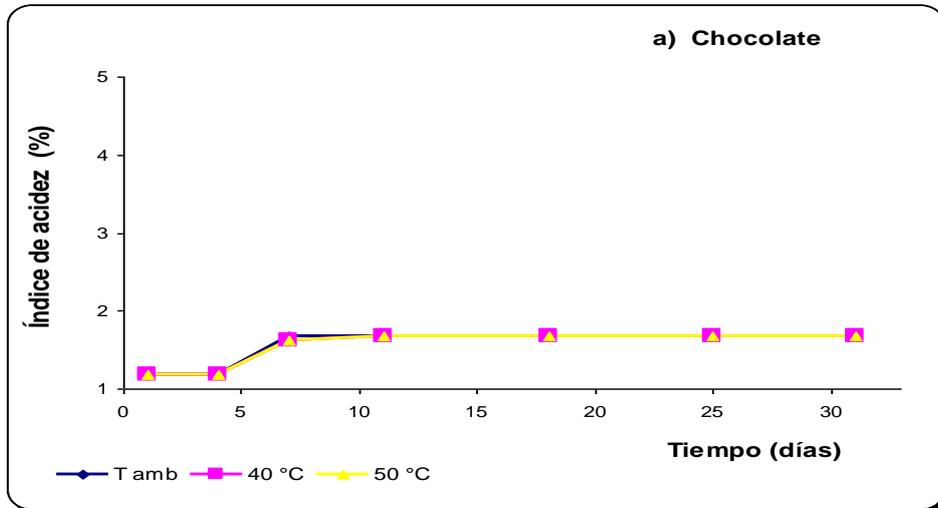
5.6.1 Determinación del índice de acidez

El índice de acidez indica la proporción de ácidos grasos libres que contiene una muestra determinada (Adrian y col., 2000).

En la gráfica 6 se muestra el índice de acidez de las fórmulas mejoradas en los tres diferentes sabores (chocolate, fresa y nuez) a las temperaturas estudiadas (T amb, 40 y 50 °C). En todas las muestras se observó un cambio en el índice de acidez entre los días 4 y 7, este pudo ser atribuido a un error en la manipulación de la muestra o bien a la deficiente preparación de algún reactivo ya que en los 24 días posteriores no se detectó ninguna variación.

Aunque no han sido reportados índices de acidez en harinas para preparar atoles, Casillas-Gómez (1979) indicó un índice de acidez para la semilla de amaranto de 1.28 mg de KOH. Dicho valor es inferior a los obtenidos en las fórmulas mejoradas a base de amaranto sin reventar estudiadas a las diferentes temperaturas de almacenamiento; esto pudo deberse a que en la formulación además del amaranto ésta presenta leche en polvo, la cual contiene ácidos grasos monoinsaturados (oléico, palmítico y laurólico), que pueden oxidarse por algunos factores como el oxígeno, calor, enzimas, etc. (Amiot y Ph., 1991).

Gráfica 6. Índice de acidez en las fórmulas mejoradas en los tres diferentes sabores a) chocolate b) fresa c) nuez

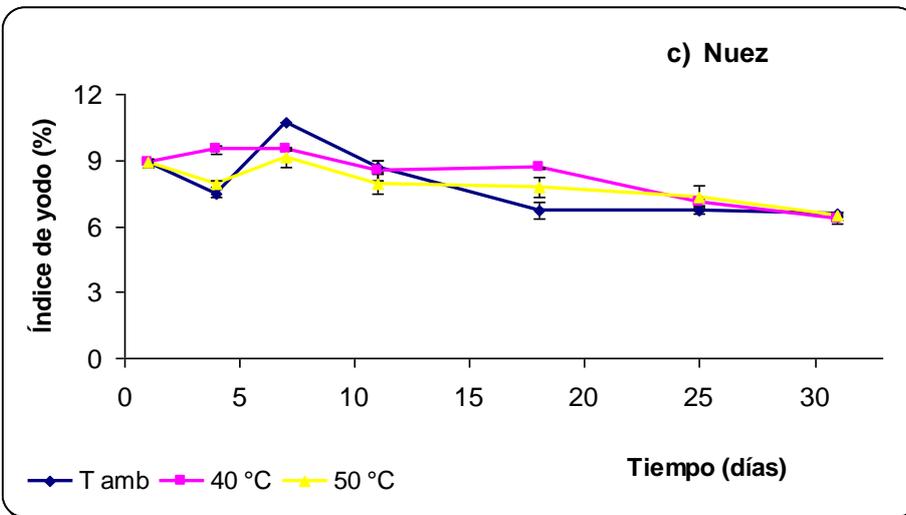
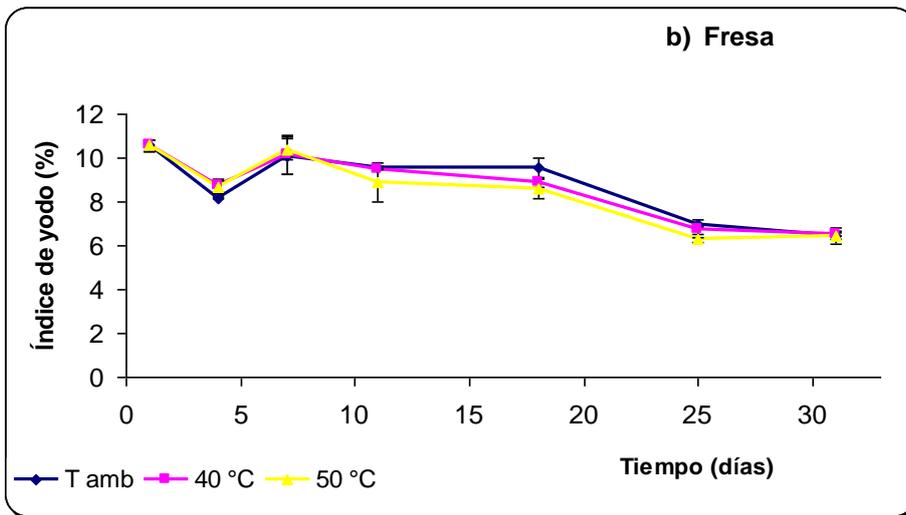
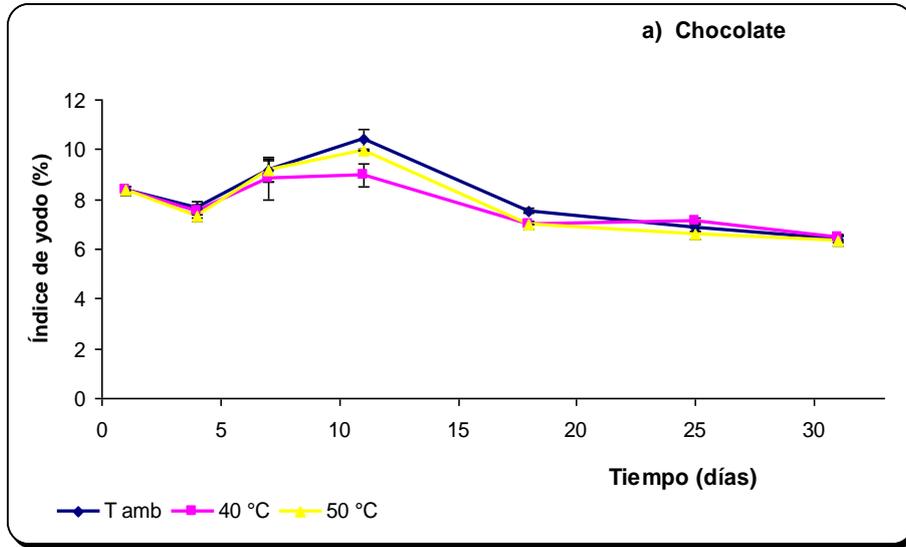


5.6.2 Determinación del índice de yodo: Método de Kaufmann

El índice de yodo es una medida del grado de insaturación de los componentes de una grasa. A mayor número de dobles enlaces por unidad de grasa mayor será el índice de yodo (Adrian y col., 2000).

Los resultados del índice de yodo para la fórmula mejorada (sabores chocolate, fresa y nuez) sometida a diferentes temperaturas de almacenamiento (T amb, 40°C y 50°C), se presentan en la gráfica 7. En el día 7 se observó un incremento en el índice de yodo a las tres temperaturas estudiadas, sin embargo en los días posteriores se mantuvieron constantes. Por lo que es probable que el incremento observado pudo deberse a un error en la manipulación de las muestras o a que el bromo empleado en la determinación debe prepararse el mismo día de su uso. Dado el bajo contenido de agua de las muestras es poco probable una alteración por oxidación, a pesar de esto, se han reportado índices de acidez para la leche en polvo de 26-45% (Amiot, 1991), valores que son superiores a los de las fórmulas mejoradas.

Gráfica 7. Índice de yodo en las fórmulas optimizadas en los diferentes sabores a diferentes temperaturas a) chocolate b) fresa c) nuez



5.6.3 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en los días 0 y 31 del estudio; donde el recuento de las fórmulas mejoradas indicó la ausencia de bacterias mesófilas, coliformes, mohos y levaduras lo que se debió a un buen manejo sanitario durante la preparación las fórmulas, envasado y almacenamiento.

Por último, podemos decir que la ausencia de microorganismos así como la baja variación en los índices de acidez y yodo durante los 31 días del estudio de vida de anaquel a las tres temperaturas de almacenamiento (Tamb, 40°C y 50°C), indican que las fórmulas mejoradas para preparar atoles a base de amaranto sin reventar son estables y pueden tener un tiempo aproximado de vida útil de 8-12 meses. En el estudio realizado por Marsili (2000) se determinó una vida de anaquel para leche baja en grasa y leche adicionada de chocolate puede tener una vida de anaquel de hasta 7 meses.

6. CONCLUSIONES



La prueba del grado de satisfacción permitió detectar los atributos deficientes de la fórmula original a base de amaranto reventado: el sabor, el color y la consistencia.

La harina de amaranto sin reventar exhibió mejores propiedades de solubilidad y por lo tanto una mejor consistencia, que la harina de amaranto reventado por lo que la primera fue incluida en la fórmula mejorada.

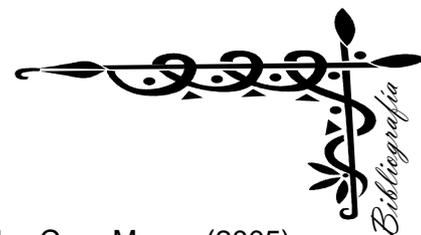
El suscream empleado en la fórmula original a base de amaranto reventado fue sustituido por leche en polvo el cual proporcionó una consistencia agradable a los consumidores a la fórmula mejorada a base de amaranto sin reventar e incrementó su valor nutrimental.

Se logró mejorar la formula original a base de amaranto reventado mediante la sustitución de algunas materias primas que proporcionaron un mejor sabor, color y consistencia. Esto se reflejó en los resultados de la prueba de preferencia que indicaron una mayor aceptación de los consumidores hacia la fórmula mejorada con respeto a la original.

La fórmula mejorada a base de amaranto sin reventar mostró una buena calidad microbiológica.

Los resultados de la vida de anaquel indican que este tipo de productos de bajo contenido de agua, pueden mantener sus propiedades fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas durante un período de aproximadamente 12 meses.

7. BIBLIOGRAFÍA



- ✓ Aguilar Cruz Myrna, Valadez Vega María del Carmen y Cuellar Cruz Mayra (2005). Identificación de compuestos antinutricionales en amaranto (íntegro y reventado) cultivado en algunas regiones del centro del país. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca, Hidalgo. Congreso nacional de los alimentos y III foro de ciencia y tecnología de alimentos. 306 – 311 pp.
- ✓ Adrian Jean, Potus Jacques, Poiffait Annie, Dauvillier Pierre (2000). Análisis nutricional de los alimento. Editorial Acribia. Zaragoza España 93-96: 247-255 pp.
- ✓ Amiot Jean, Ph. D (1991). Ciencia y tecnología de la leche, principios y aplicaciones. Ed Acribia. Zaragoza España. 1p.
- ✓ Anzaldúa-Morales Antonio (1994). Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed Acribia. Zaragoza, España.
- ✓ AOAC, (1990). Oficial methods of analisis of the Associtation of Oficial Alaytical Chemists. Published by AOAC. Inc Helrich K (editor), 15th Edition, Arlington, Vol I y II, 17-18, 40-63, 69-83, 1012.
- ✓ Arcila N. y Mendoza Y. (2005). Elaboración de una bebida instantánea a base de semillas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) y su uso potencial en la alimentación humana. Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez. Ingeniería de Alimentos. Carabobo Venezuela.
- ✓ Badui Dergal Salvador (2006). Química de los alimentos. 4ª edición. Ed Pearson. México. 542 – 543 pp.
- ✓ Becerra Rosalba (2000). El amaranto: nuevas tecnologías para un antiguo cultivo – en Biodivesitas. Boletín bimestral de la Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. No. 30, año 5, Mayo, México, 2-6 pp.
- ✓ Bressani R. (1989). The proteins of grain amaranth. Cereal Food Rev. 5: 13-18 pp.
- ✓ Bouerges H (1984) La dieta como unidad de la alimentación. En: Ramos Galvan R. La alimentación normal en el niño y el adolescente. Manual moderno. pp 331-343.
- ✓ Boisen S, Eggum B, (1991) Critical evaluation of *in Vitro* methods for estimating digestibility in simple stomach animal. Nutr. Rev. Rev. 4: 141-162.
- ✓ Carlsson (1980). Quantity and quality of Amaranthus grain from plants in temperate, cold and hot, and subtropical climates--A review. In "Proceedings of the Second Amaranth Conference," p. 48. Rodale Press, Emmaus, PA.
- ✓ Casillas, G.F. (1984). Obtención de nuevos productos a partir de la semilla de la alegría. Primer seminario nacional del Amaranto. Chapingo, México. 300 – 306 pp.
- ✓ Casillas Gomez Francisco Javier (1979) Divulgación de la semilla de la alegría. IV Congreso Latinoamericano de la Ciencia Agrícola, Memorias, Acapulco Guerrero. 289-299 pp.

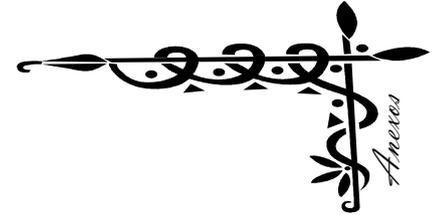
- ✓ Cruz Aguilar Myrna, Valadez Vega María del Carmen, Cuellar Cruz Mayra 2006). Identificación de Compuestos Antinutricionales en Amaranto (Integro y Reventado) Cultivado en Algunas Regiones del Centro del País. VII congreso nacional de ciencias de los alimentos y III foro de ciencia y tecnología de los alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 306 – 311 pp.
- ✓ FAO. (2000). Manual sobre utilización de cultivos andinos subexplotados en la alimentación. FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile.
- ✓ Fennema R. O (2000). Química de los Alimentos. Ed Acribia. Zaragoza España, 2ª Edición.
- ✓ Fernández, E.E. (2000). Microbiología e inocuidad de los alimentos. Editorial UAQ Ediciones. Querétaro, México.
- ✓ Frazier W.C. y Westhoff D.C., (2003). Microbiología de los alimentos. 4ª edición, Ed. Acribia, Zaragoza, España.
- ✓ Frühbeck, G.; Alonso, R.; Marzo, F.; Santillán, S. (1995) A modified method for the indirect quantitative analysis of phytate in foodstuffs. *Anal. Biochem*, 225, 206-212.
- ✓ González R.J, Torres R.L, De Greef D.M, Tosi E. y Re E. (2002). Effects of popping and extrusion processes on some hydration properties of *Amaranth*. Instituto de tecnología de alimentos. Fac. De Ing. Qca. UNL. 19 (4). 391 – 395 pp.
- ✓ Günter Vollmer, Gunter Josst, Dieter Schenker, Wolfgang Sturm y Norbert Vreden (1999). Elementos de bromatología descriptiva. Ed Acribia. Zaragoza, España. 37-42 pp.
- ✓ Institute of Food Technologists, IFT (1975). Sensory Evaluation Division *Minutes of division business meeting at 35th Ann, Meet.* June 10.
- ✓ Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, INEGI (2005). Anuario Estadístico Hidalgo. Edición 2005. Cuadro 10.1
- ✓ Instituto Nacional de Tecnología Industrial, INTI (2004). Desarrollo e Innovación Tecnológica. Alimentos. 5ª Jornada de desarrollo e innovación. 1 – 4 pp.
- ✓ Jaffé, G. and Brucher, O. (1972). Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles. *Arch. Latinoamer.Nutr.* 22:267-281
- ✓ Jiménez Osorio Angélica Saraí y Pérez Velázquez Kristel (2007). Desarrollo de una pasta laminada para recubrir productos de pastelería y repostería. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas. Pachuca, Hidalgo.
- ✓ Kakade, M.L. ML., Rackis, J.J., Mcghee, J.E., and Puski, J. (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy products *cereal chem.* 51, 376-382.
- ✓ Lehmann J. (1991). Lipids of grain and cereal amaranths. *Amaranth Inst.* Bricelyn, MN. 2-6 pp.

- ✓ Liener, I. E. (1986). Nutritional significance of lectins in the diet. In: The lectins,; properties, functions, and aplicaciones in biology and medicine. Liener, I., Sharon, N and Goldstein, I. (Eds.). Academic Press, Inc. pp 527-552, N.Y.
- ✓ Lindner, E. (1995). Toxicología de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. 2ª. edición pág. 12-14 y 106-112, Zaragoza.
- ✓ López B.A, Díaz O.A, Rodríguez J.L, Fernández C. y Borroto M. (1996). Reventado de granos de amaranto (*A. hypochondriacus*). Instituto de investigaciones para la industria alimentaria. Guato, Cuba.
- ✓ Maga, J.A (1982) Phytate its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. J.Agric.Food Chemistry. pp. 1-9.
- ✓ Marsili R.T. (2000). Shelf-Life prediction of processed milk by solid-phase microextraction, mass spectrometry, and multivariate analysis. Journal of agricultural and food chemistry. 48 (8). Rockford, Illinois. pp3470-3475.
- ✓ Masoni A. y Ercali L. (1994). Influencia de la época de cosecha sobre el rendimiento de concentrado de proteína foliar de amaranto. El amaranto y su potencial 1-2: 17-23.
- ✓ Meilgaard, C. M.; Civille, V. G. y Carr, B. T. (1999) Sensory evaluation techniques. CRS press, New York.
- ✓ Nieto, C. 1990. El cultivo de amaranto (*Amaranthus* spp) una alternativa agronómica para Ecuador. INIAP, EE. Santa Catalina. Publicación Miscelánea N°52. Quito, Ecuador.
- ✓ NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- ✓ NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- ✓ NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- ✓ NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- ✓ NOM-147-SSA1-1996, Bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas o sus mezclas y productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.
- ✓ Oberleas, D. (1973). Phytates. In: Toxicants occurring naturally in food. Committe on Food Protection (Ed.) National Academy of Sciences, pp. 363-371, Washington, D.C.
- ✓ Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, (2000). Manual sobre la utilización de los cultivos andinos subexplotados en la alimentación. Santiago, Chile.
- ✓ Organización Internacional de Estandarización, ISO (1981). *Analyse sensorielle. Guide pour l'implantation d'un destiné aux analices sensorielles*. Geneve: ISO-dp 6658 y ISO-DIS 5568.

- ✓ Paredes Lopez O., De la rosa A.P. Barbara, Carbez A. (1994). *Amaranth Biology Chemistry and Tecnology*. Editorial CRC Press. USA.
- ✓ Perez – Gil R.F, R.A Torreblanca, R.H. Bourges, V.A. Chávez, G.V. Flores y V.M Lespinasse (1982). Algunas características químicas, biológicas y toxicológicas de harinas crudas y procesadas térmicamente, de amaranto. *Arch. Latinoamer.*
- ✓ Porras Martínez Griselda (2008). Caracterización de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de una fórmula comercial a base de amaranto. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Centro de Investigaciones Químicas. Pachuca, Hidalgo (Tesis en proceso).
- ✓ Ramírez Ortiz Miguel Ángel (2003). Seminario INTI- Lácteos. El análisis sensorial como herramienta fundamental para el control de calidad del proceso, la mejora y la caracterización de los quesos. Asociación Nacional de Catadores de Queso, ANCAQUE.
- ✓ Rodríguez Hernández A. I., Núñez Santiago M. C. y Chavarría Hernández N. (2006). Principios básicos de reología y su aplicación en el procesamiento de alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. ICAP. 4 – 28 pp.
- ✓ Rodríguez M. V., Riquelme B., Valverde J. y Gattuso S. (1994). Caracterización del efecto aglutinante de lectinas de la familia de las fabaceas sobre los eritrocitos humanos mediante el análisis de imágenes. Universidad Nacional de Rosario. Área de física. 247 – Anales Afa. Vol 16. Bahía Blanca.
- ✓ Sarghum (1988). Determination of tannin content, International Standard, ISO 9848.
- ✓ Sauer J.D. (1950). The grain amaranthus: a survey of their history and classification. *Ann Missouri – Bot. Gard* 37:561 – 632 pp.
- ✓ Savelkoul, F., Van der Pool, A. and Tamminga, S. (1992). The presence and inactivation of trypsin-inhibitors, tannins, lectins, and amylase-inhibitors in legume seeds during germination. A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* 42, 71-85.
- ✓ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación, SAGARPA (2006). México, DF.
- ✓ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, SAGPyA (2001) Buenos Aires, Argentina.
- ✓ Serna Saldívar Sergio R. Othón (2001). Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. Editorial AGT S.A. D.F. México. 131-134 pp.
- ✓ Sotelo, A., Uvalle, A., Lucas, B. y De la Vega, A. (1985). Composición química y aspectos toxicológicos de siete variedades de frijoles cultivados en el estado de Chiapas. *Tecnol. Aliment.* 20 (6), 18-25.
- ✓ Swaisgood H.E. Catignani G.L. (1991) Protein digestibility: *in vitro* methods of assessment. *Adv. Food Nutr. Res.* 35: 185-236.
- ✓ Trinidad Santos Antonio, Gómez Lorence Federico (1986). Seminario Nacional de Amaranto Memorias. Colegio de Postgraduados. 240 – 260 pp.

- ✓ Torre, H. P. (1999) Base científica del análisis sensorial. XV Jornadas Lactológicas sobre Innovación Tecnológicas y Análisis Sensorial. Santander España.
- ✓ Ureña P.M O y D'Arrigo, H.M. (1999). Evaluación sensorial de los alimentos. 1ª Ed. Lima, Perú. Editorial Agraria, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- ✓ Valle Vega Pedro y Lucas Florentino Bernardo (2000).Toxicología de los alimentos. Instituto nacional de salud publica. Centro nacional de salud ambiental, México, D.F.
- ✓ Varnam Alan H. Sutherland Jane P. (2005) Leche y productos lácteos. Tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia Zaragoza España. 142 pp.
- ✓ Villanueva, s. (2003) Curso elemental para líderes de Evaluación Sensorial. Centro de Investigaciones en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. A. C. (CIATEJ).
- ✓ Walsh GA. Power RF, Headon DR. (1994). Enzimes in the animal-feed industry. Trends Food Sci Technol; 5:81-87.
- ✓ Wong W.S Dominic (1995). Química de los alimentos: mecanismos y teoría. Ed Acribia. Zaragoza, España.

8. ANEXOS



ANEXO I: Prueba del grado de satisfacción

Nombre _____ Edad: _____

Producto: **Atole de amaranto** Muestra: _____

Instrucciones:

1.-PRUEBE ESTE ATOLE DE AMARANTO DE FRESA Y CONTESTA, ELECCIONA UNA SOLA RESPUESTA POR CADA PREGUNTA.

1.- En cuanto al COLOR de este ATOLE DE FRESA ¿Dirías que.....?

<u>MUY FUERTE</u>	<u>FUERTE</u>	<u>ADECUADO</u>	<u>DEBIL</u>	<u>MUY DEBIL</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>				

2. Y ¿Qué tanto te gusta el COLOR de este ATOLE DE FRESA?

<u>MUCHISIMO</u>	<u>MUCHO</u>	<u>NI MUCHO NI POCO</u>	<u>POCO</u>	<u>NADA</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

3. En cuanto al DULZOR de este ATOLE DE FRESA ¿Dirías que.....?

<u>MUY FUERTE</u>	<u>FUERTE</u>	<u>ADECUADO</u>	<u>DEBIL</u>	<u>MUY DEBIL</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>				

4. Y ¿Qué tanto te gusta el DULZOR de este ATOLE DE FRESA?

<u>MUCHISIMO</u>	<u>MUCHO</u>	<u>NI MUCHO NI POCO</u>	<u>POCO</u>	<u>NADA</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5. En cuanto al SABOR DE FRESA ¿Dirías que.....?

<u>MUY FUERTE</u>	<u>FUERTE</u>	<u>ADECUADO</u>	<u>DEBIL</u>	<u>MUY DEBIL</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>				

6. ¿Qué tanto te gusto el ATOLE DE FRESA que acabas de probar?

<u>MUCHISIMO</u>	<u>MUCHO</u>	<u>NI MUCHO NI POCO</u>	<u>POCO</u>	<u>NADA</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

7. En cuanto a la CONSISTENCIA de este ATLE DE FRESA ¿Dirías que.....?

<u>MUY FUERTE</u>	<u>FUERTE</u>	<u>JUSTO COMO ME JUSTA</u>	<u>DEBIL</u>	<u>MUY DEBIL</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

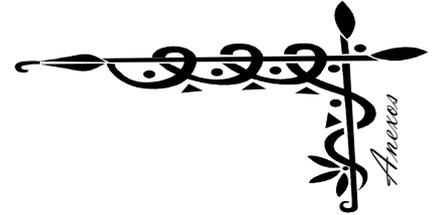
8. ¿Qué tanto te gusta la CONSISTENCIA de este ATOLE DE FRESA?

<u>MUCHISIMO</u>	<u>MUCHO</u>	<u>NI MUCHO NI POCO</u>	<u>POCO</u>	<u>NADA</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

9. ¿Cual sería tu intención de comprar este ATOLE DE FRESA?

<u>DEFINITIVAMENTE SI LO COMPRARIA</u>	<u>PROBABLEMENTE SI LO COMPRARIA</u>	<u>TAL VEZ SI TAL VEZ NO LO COMPRARIA</u>	<u>PROBABLEMENTE NO LO COMPRARIA</u>	<u>DEFINITIVAMENTE NO LO COMPRARIA</u>
5	4	3	2	1
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

ANEXO II: Prueba de preferencia



PRUEBA DE PREFERENCIA

Nombre: _____ fecha _____

A continuación se te presentan tres muestras de atole, prueba cada una de izquierda a derecha y marca con "X" la muestra que prefieras e indica, tres de las características en la que basaste tu decisión (p. ejemplo, nivel de dulzor, granulosidad, viscosidad, color, sabor, etc.)

275

165

012

Comentarios:



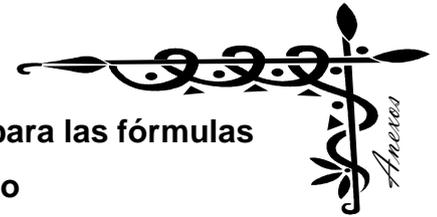
Anexo III: Tabla de significancia para prueba de dos muestras

NUMERO DE JUICIO	PRUEBA DE DOS COLAS*			PRUEBA DE UNA COLA**		
	Nivel de probabilidad			Nivel de probabilidad		
	5%	1%	0.1%	5%	1%	0.1%
5	-	-	-	5	-	-
6	-	-	-	6	-	-
7	7	-	-	7	7	-
8	8	8	-	7	8	-
9	8	9	-	8	9	-
10	9	10	-	9	10	10
11	10	11	11	9	10	11
12	10	11	12	10	11	12
13	11	12	13	10	12	13
14	12	13	14	11	12	13
15	12	13	14	12	13	14
16	13	14	15	12	14	15
17	13	15	16	13	14	16
18	14	15	17	13	15	16
19	15	16	17	14	15	17
20	15	17	18	15	16	18
21	16	17	19	15	17	18
22	17	18	19	16	17	19
23	17	19	20	16	18	20
24	18	19	21	17	19	20
25	18	20	21	18	19	21
26	19	20	22	18	20	22
27	20	21	23	19	20	22
28	20	22	23	19	21	23
29	21	22	24	20	22	24
30	21	23	25	20	22	24
31	22	24	25	21	23	25
32	23	24	26	22	24	26
33	23	25	27	22	24	26
34	24	25	27	23	25	27
35	24	26	28	23	25	27
36	25	27	29	24	26	28
37	25	27	29	24	27	29
38	26	28	30	25	27	29
39	27	28	31	26	28	30
40	27	29	31	26	28	31
41	28	30	32	27	29	31
42	28	30	32	27	29	32
43	29	31	33	28	30	32
44	29	31	34	28	31	33
45	30	32	34	29	31	34
46	31	33	35	30	32	34
47	31	33	36	30	32	35
48	32	34	36	31	33	36
49	32	34	37	31	34	36
50	33	35	37	32	34	37
60	29	41	44	37	40	43
70	44	47	50	43	46	49
80	50	52	56	48	51	55

* Número mínimo de juicios coincidentes necesarios para establecer diferencia significativa.

** Número mínimo de respuestas correctas necesario para establecer diferencia significativa.

Fuente: Roessier y col. (1956), obtenida de Anzaldúa-Morales, 1994.



ANEXO IV: Prueba del nivel de grado de satisfacción para las fórmulas comerciales hechas a base de amaranto

1. Nuez leche/agua (Intensidad de color)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	2	2 +	4	0	0	0
Adecuado	0	35	0	70	29	0	58
Débil	- 1	11	11 -	22	16	16 -	32
Muy débil	- 2	2	4 -	4	5	10 -	10
Puntuación total			- 13		Puntuación total		- 26

2. Nuez leche/agua (Nivel de agrado de color)

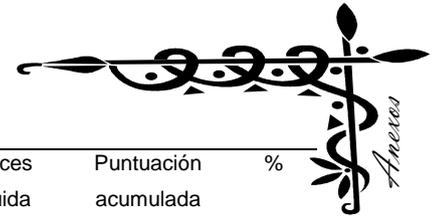
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	0	0	0	0	0	0
Mucho	+ 1	12	12 +	24	10	10 +	20
Ni mucho ni poco	0	28	0	56	24	0	48
Poco	- 1	9	9 -	18	12	12 -	24
Nada	- 2	1	2 -	2	4	8 -	8
Puntuación total			+ 1		Puntuación total		- 10

3. Nuez leche/agua (Pertinencia del dulzor)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	1	2 +	2
Fuerte	+ 1	12	12 +	24	12	12 +	24
Adecuado	0	36	0	72	33	0	66
Débil	- 1	2	2 -	4	4	4 -	8
Muy débil	- 2	0	0	0	0	0	0
Puntuación total			+ 10		Puntuación total		10 +

4. Nuez leche/agua (Nivel de Agrado del Dulzor)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	2	4 +	4	0	0	0
Mucho	+ 1	16	16 +	32	18	18 +	36
Ni mucho ni poco	0	22	0	44	16	0	32
Poco	- 1	10	10 -	20	15	15 -	30
Nada	- 2	0	0 -	0	1	1 -	2
Puntuación total			+ 10		Puntuación total		- 2



5. Nuez leche/agua (Pertinencia sabor nuez)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	6	6 +	12	1	1 +	2
Adecuado	0	35	0	70	15	0	30
Débil	- 1	8	8 -	16	27	27 -	54
Muy débil	- 2	1	2 -	2	7	14 -	14
		Puntuación total	- 4		Puntuación total	- 40	

6. Nuez leche/agua (Nivel de Agrado del atole)

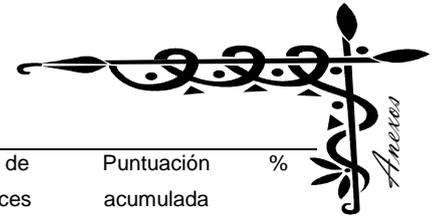
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	1	2 +	2	0	0	0
Mucho	+ 1	24	24 +	48	8	8 +	16
Ni mucho ni poco	0	16	0	32	21	0	42
Poco	- 1	9	9 -	18	12	12 -	24
Nada	- 2	0	0	0	9	18 -	18
		Puntuación total	+ 15		Puntuación total	- 22	

7. Nuez leche/agua (Reología del atole)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	8	16 +	16	1	2 +	2
Fuerte	+ 1	29	29 +	58	3	3 +	6
Adecuado	0	10	0	20	15	0	30
Débil	- 1	2	2 -	4	30	30 -	60
Muy débil	- 2	1	2 -	2	1	2 -	2
		Puntuación total	+ 41		Puntuación total	- 27	

8. Nuez leche/agua (Nivel de Agrado de la reología)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	0	0	0	0	0	0
Mucho	+ 1	7	7 +	14	12	8 +	24
Ni mucho ni poco	0	26	0	52	22	0	44
Poco	- 1	12	12 -	24	14	12 -	28
Nada	- 2	5	10 -	10	2	18 -	4
		Puntuación total	- 15		Puntuación total	- 22	



9. Nuez leche/agua (Nivel de intención de compra)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Definitivamente sí lo compraría	+ 2	6	12 +	12	3	6 +	6
Probablemente sí lo compraría	+ 1	21	21 +	42	8	8 +	16
Tal vez sí tal vez no lo compraría	0	15	0	30	25	0	50
Probablemente no lo compraría	- 1	7	7 -	14	13	13 -	26
Definitivamente no lo compraría	- 2	1	2 -	2	1	2 -	2
Puntuación total			+ 23		Puntuación total - 1		

1. Fresa leche/agua (Intensidad de color)

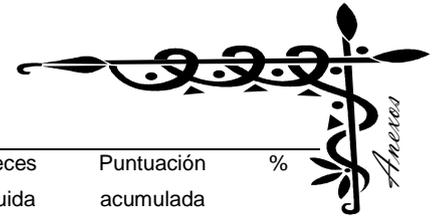
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	0	0	0	9	9 +	25.7
Adecuado	0	30	0	85.7	16	0	45.7
Débil	- 1	5	5 -	14.3	5	5 -	14.3
Muy débil	- 2	0	0	0	0	0	0
Puntuación total			- 5		Puntuación total 4 +		

2. Fresa leche/agua (Nivel de agrado de color)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	0	0	0	1	2 +	2.9
Mucho	+ 1	13	13 +	37.1	11	11 +	31.4
Ni mucho ni poco	0	18	0	51.4	14	0	40
Poco	- 1	4	4 -	11.4	9	9 -	25.7
Nada	- 2	0	0	0	0	0	0
Puntuación total			+ 9		Puntuación total 4 +		

3. Fresa leche/agua (Pertinencia del dulzor)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	2	4 +	5.7	0	0	0
Fuerte	+ 1	8	8 +	22.9	9	9 +	25.7
Adecuado	0	20	0	57.1	22	0	62.9
Débil	- 1	4	4 -	11.4	4	4 -	11.4
Muy débil	- 2	1	2 -	2.9	0	0	0
Puntuación total			+ 6		Puntuación total 2 +		



4. Fresa leche/agua (Nivel de Agrado del Dulzor)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	3	6 +	8.6	2	4 +	5.7
Mucho	+ 1	12	12 +	34.3	15	15 +	42.9
Ni mucho ni poco	0	12	0	34.3	14	0	40
Poco	- 1	7	7 -	20	4	4 -	11.4
Nada	- 2	1	2 -	2.9	0	0	0
		Puntuación total	+ 9		Puntuación total	15 +	

5. Fresa leche/agua (Pertinencia sabor nuez)

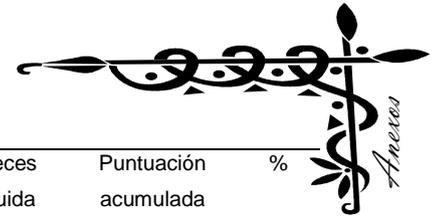
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	2	2 +	5.7	1	1 +	2.9
Adecuado	0	25	0	71.4	14	0	40
Débil	- 1	7	7 -	20	17	17 -	48.6
Muy débil	- 2	1	2 -	2.9	3	6 -	8.6
		Puntuación total	- 7		Puntuación total	- 22	

6. Fresa leche/agua (Nivel de Agrado del atole)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	0	0	0	0	0	0
Mucho	+ 1	18	18 +	51.4	9	9 +	25.7
Ni mucho ni poco	0	12	0	34.3	17	0	48.6
Poco	- 1	4	4 -	11.4	9	9 -	25.7
Nada	- 2	1	2 -	2.9	0	0	0
		Puntuación total	+ 12		Puntuación total	0	

7. Fresa leche/agua (Reología del atole)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	2	4 +	5.7
Fuerte	+ 1	3	3 +	8.6	12	12 +	34.3
Adecuado	0	13	0	37.1	13	0	37.1
Débil	- 1	14	14 -	40	8	8 -	22.9
Muy débil	- 2	5	10 -	14.3	0	0	0
		Puntuación total	- 21		Puntuación total	8 +	



8. Fresa leche/agua (Nivel de Agrado de la reología)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	0	0	0	2	4 +	5.7
Mucho	+ 1	11	11 -	31.4	7	7 +	20
Ni mucho ni poco	0	12	0	34.3	13	0	37.1
Poco	- 1	11	11 -	31.4	12	12 -	34.3
Nada	- 2	1	2 -	2.9	1	2 -	2.9
		Puntuación total	- 2		Puntuación total	- 3	

9. Fresa leche/agua (Nivel de intención de compra)

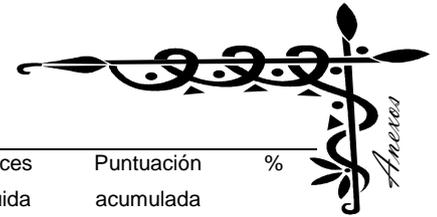
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Definitivamente sí lo compraría	+ 2	5	10 +	14.3	3	6 +	8.6
Probablemente sí lo compraría	+ 1	16	16 +	45.7	11	11 +	31.4
Tal vez sí tal vez no lo compraría	0	12	0	34.3	10	0	28.6
Probablemente no lo compraría	- 1	1	1 -	2.9	11	11 -	31.4
Definitivamente no lo compraría	- 2	1	2 -	2.9	0	0	0
		Puntuación total	+ 23		Puntuación total	6 +	

1. Chocolate leche/agua (Intensidad de color)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	1	1 +	3.3	0	0	0
Adecuado	0	13	0	43.3	20	0	66.7
Débil	- 1	12	12 -	40	9	9 -	30
Muy débil	- 2	4	8 -	13.3	1	2 -	3.3
		Puntuación total	- 19		Puntuación total	- 11	

2. Chocolate leche/agua (Nivel de agrado de color)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	1	2 +	3.3	1	2 +	3.3
Mucho	+ 1	8	8 +	26.7	7	7 +	23.3
Ni mucho ni poco	0	10	0	33.3	15	0	50
Poco	- 1	8	8 -	26.7	6	6 -	20
Nada	- 2	3	6 -	10	1	2 -	3.3
		Puntuación total	- 4		Puntuación total	1 +	



3. Chocolate leche/agua (Pertinencia del dulce)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	1	2 +	3.3	0	0	0
Fuerte	+ 1	7	7 +	23.3	4	4 +	13.3
Adecuado	0	19	0	63.3	20	0	66.7
Débil	- 1	3	3 -	10	6	6 -	20
Muy débil	- 2	0	0	0	0	0	0
Puntuación total			+ 6		Puntuación total		- 2

4. Chocolate leche/agua (Nivel de Agrado del Dulzor)

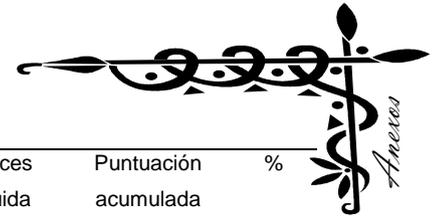
Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	4	8 +	13.3	1	2 +	3.3
Mucho	+ 1	13	13 +	43.3	12	12 +	40
Ni mucho ni poco	0	11	0	36.7	8	0	26.7
Poco	- 1	2	2 -	6.7	8	8 -	26.7
Nada	- 2	0	0	0	1	2 -	3.3
Puntuación total			+ 19		Puntuación total		4 +

5. Chocolate leche/agua (Pertinencia sabor nuez)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	2	2 +	6.7	5	5 +	16.7
+Adecuado	0	13	0	43.3	11	0	36.7
Débil	- 1	12	12 -	40	13	13 -	43.3
Muy débil	- 2	3	6 -	10	1	2 -	3.3
Puntuación total			- 16		Puntuación total		- 10

6. Chocolate leche/agua (Nivel de Agrado del atole)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	2	4 +	6.7	0	0	0
Mucho	+ 1	9	9 +	30	10	10 +	33.3
Ni mucho ni poco	0	10	0	33.3	13	0	43.3
Poco	- 1	9	9 -	30	7	7 -	23.3
Nada	- 2	0	0	0	0	0	0
Puntuación total			+ 4		Puntuación total		3 +



7. Chocolate leche/agua (Reología del atole)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muy fuerte	+ 2	0	0	0	0	0	0
Fuerte	+ 1	8	8 +	26.7	7	7 +	23.3
Adecuado	0	12	0	40	10	0	33.3
Débil	- 1	9	9 -	30	10	10 -	33.3
Muy débil	- 2	1	2 -	3.3	3	6 -	10
		Puntuación total	- 3		Puntuación total	- 9	

8. Chocolate leche/agua (Nivel de Agrado de la reología)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Muchísimo	+ 2	4	8 +	13.3	0	0	0
Mucho	+ 1	4	4 +	13.3	8	8 +	26.7
Ni mucho ni poco	0	12	0	40	8	0	26.7
Poco	- 1	10	10 -	33.3	13	13 -	43.3
Nada	- 2	0	0	0	1	2 -	3.3
		Puntuación total	+ 2		Puntuación total	- 7	

9. Chocolate leche/agua (Nivel de intención de compra)

Escala	Puntuación	No de jueces reconstituida con leche	Puntuación acumulada	%	No de jueces reconstituida con agua	Puntuación acumulada	%
Definitivamente sí lo compraría	+ 2	4	8 +	13.3	3	6 +	10
Probablemente sí lo compraría	+ 1	13	13 +	43.3	13	13 +	43.3
Tal vez sí tal vez no lo compraría	0	8	0	26.7	8	0	26.7
Probablemente no lo compraría	- 1	5	5 -	16.7	5	5 -	16.7
Definitivamente no lo compraría	- 2	0	0	0	1	2 -	3.3
		Puntuación total	+16		Puntuación total	12 +	



Anexo V: Análisis de varianza (ANOVA)

ANOVA carbohidratos

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1086.74	3	362.247	127.04	0.0000
Within groups	22.8108	8	2.85135		
Total (Corr.)	1109.55	11			

ANOVA cenizas

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	6.38348	3	2.12783	227.53	0.0000
Within groups	0.0748152	8	0.0093519		
Total (Corr.)	6.4583	11			

ANOVA humedad

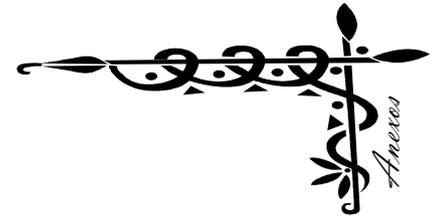
Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	11.1988	3	3.73294	175.63	0.0000
Within groups	0.148778	7	0.021254		
Total (Corr.)	11.3476	10			

ANOVA proteína

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	491.475	3	163.825	600.29	0.0000
Within groups	2.18328	8	0.27291		
Total (Corr.)	493.659	11			



ANOVA Inhibidores de tripsina

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	53.613	1	53.613	7.26	0.0358
Within groups	44.3146	6	7.38576		
Total (Corr.)	97.9276	7			

ANOVA Ácido fítico

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0.375	1	0.375	187.50	0.0002
Within groups	0.008	4	0.002		
Total (Corr.)	0.383	5			