



UNIVERSIDAD  
DE LOS ANDES  
MERIDA-VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS  
ALIMENTOS  
MÉRIDA - VENEZUELA



**ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LA HARINA DE LAS HOJAS DE  
*Amaranthus dubius* Y ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ECOTÓXICO DE LOS  
EXTRACTOS DE LAS HOJAS**

Trabajo Especial de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de  
Licenciado en Bioanálisis

**www.bdigital.ula.ve**

**Tesista:**

Dennise Floriane Pereira Devia

C.I: V-24.807.603

**Tutor:**

Prof. Rosa Alba Vielma Rondón

**Mérida, julio 2024.**

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso, por guiarme y darme la fuerza para continuar en este proceso de obtener mis objetivos.

A mis padres, por su amor, trabajo, sacrificio y apoyo incondicional, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, son los mejores padres.

A mi hermana, por estar siempre presente, por acompañarme y apoyarme en todo lo que se me presenta.

A mi sobrina, por su alegría y amor hacen que esos días difíciles se hicieran más llevaderos mostrarle que con esfuerzo se logran los sueños más deseados.

A mi novio, por su amor incondicional, por estar presente a lo largo de mi camino universitario, por su apoyo, comprensión y paciencia han sido contribución para haber logrado grandes cosas.

A todas las personas que con grandes o pequeños actos han estado presentes en este recorrido y han hecho que este trabajo se realice con éxito.

*Dennise Pereira*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a Dios todopoderoso, por haberme guiado y otorgarme sabiduría y entendimiento a lo largo de este proceso.

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, que me ha fomentado los mejores conocimientos por medio de los profesores pertenecientes de la misma.

Quiero expresar mi agradecimiento a mi tutora, profesora Rosa Alba Vielma, por su apoyo constante y conocimientos aportados. Su guía fue fundamental para el desarrollo de esta investigación.

A mis padres, Degnis Pereira y Elba Devia, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mí, por su dedicación, apoyo, valores, consejos y principios que han sido fundamental para mí.

A mi hermana, por su apoyo incondicional, por sus consejos que me ayudaron en muchas ocasiones, por su amor y por siempre estar presente en los momentos que la necesitaba, fue fundamental en este recorrido.

A mi novio, por tu apoyo, ánimo y motivación durante este proceso, gracias por celebrar cada pequeño detalle de superación que he realizado y por hacer de nuestro amor una expresión constante de cariño sincero.

A mis amigas Yarly, Thaina, Josselis, Rosangel, Marialejandra y Angeli por estar siempre presentes con una palabra de apoyo y animo en los momentos de cansancio, y las risas que nunca faltaron en los momentos indicados.

A mis cuñados, Rafael Diaz, José Diaz, Jean Cárdenas por su apoyo incondicional.

A todas aquellas personas que colaboraron desinteresadamente en la realización del presente trabajo muchas gracias, profesora Marielba Morillo, profesor Tomas Visbal.

*Dennise Pereira*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b>	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iv
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b>	v
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	viii
<b>ÍNDICE DE ESQUEMAS</b>	ix
<b>RESUMEN</b>	x
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
Antecedentes del problema	1
El Problema	5
Marco Teórico	5
Trabajos Previos	5
Antecedentes históricos	8
Bases teóricas	10
Generalidades de la familia <i>Amaranthaceae</i>	10
Descripción Botánica de la familia <i>Amaranthaceae</i>	10
Biología floral y/o Fenología del Género <i>Amaranthus</i>	14
Composición química del Género <i>Amaranthus</i>	16
Generalidades de la especie <i>Amaranthus dubius</i>	18
Efectos Medicinales de <i>Amaranthus dubius</i>	18
Usos Medicinales de <i>Amaranthus dubius</i>	18
Cultivo de <i>Amaranthus dubius</i>	19
Plantas Medicinales	19
Biosíntesis de los productos naturales	19
Productos naturales	20
Valor nutricional de <i>Amaranthus dubius</i>	26
Análisis proximal	26
Análisis fitoquímico	28

Toxicidad de la planta frente a <i>Artemia salina</i>	30
Definición operacional de términos	31
Definición operacional de variable	32
Hipótesis	33
Objetivos de la Investigación	34
Objetivo General	34
Objetivos Específicos	34
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	34
Tipo de Investigación	34
Diseño de Investigación	35
Población y Muestra	35
Unidad de Investigación	35
Selección del Tamaño de la Muestra	36
Sistema de variables	36
Instrumento de recolección de datos	36
Procedimiento de la Investigación	37
Diseño de análisis	50
Sistematización de los resultados	50
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	51
Resultados	51
Discusión	55
<b>CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES</b>	58
Conclusión	58
Recomendaciones	59
<b>REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICA</b>	60

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
<b>Figura 1.</b> Altura del tallo del <i>Amaranthus dubius</i>	11
<b>Figura 2.</b> Hojas de <i>Amaranthus dubius</i>	11
<b>Figura 3.</b> Inflorescencia de <i>Amaranthus dubius</i>	12
<b>Figura 4.</b> Semilla de <i>Amaranthus dubius</i>	12
<b>Figura 5.</b> Ácido fítico antinutrientes	16
<b>Figura 6.</b> Flavonoide	16
<b>Figura 7.</b> Saponina	17
<b>Figura 8.</b> Tanino	17
<b>Figura 9.</b> Oxalatos	17
<b>Figura 10.</b> Estructura química del indol	21
<b>Figura 11.</b> Estructura química del colesterol (terpeno)	22
<b>Figura 12.</b> Estructura de quinona, naftoquinona y antraquinona	22
<b>Figura 13.</b> Estructura química de la Saponina	23
<b>Figura 14.</b> Estructura química de un Fenol	24
<b>Figura 15.</b> Estructura química de cumarina	24
<b>Figura 16.</b> Estructura química de un Flavonoide	25
<b>Figura 17.</b> Váucher de la muestra de <i>A. dubius</i>	37
<b>Figura 18.</b> Procedimiento de determinación de humedad	38
<b>Figura 19.</b> Procedimiento de determinación de cenizas totales	39
<b>Figura 20.</b> Procedimiento de determinación de grasa cruda	41
<b>Figura 21.</b> Equipos para la determinación de proteína	43
<b>Figura 22.</b> Preparación de los extractos de las hojas de <i>A. dubius</i>	44
<b>Figura 23.</b> Evaluación de toxicidad sobre nauplios de <i>Artemia salina</i>	48
<b>Figura 24.</b> Resultados del estudio fitoquímico de los extractos de hexanólico, diclorometanoico, etanólico de las hojas de <i>A. dubius</i>	53

## INDICE DE TABLAS

	Pag.
<b>Tabla 1.</b> Taxonomía de la Familia <i>Amaranthacea</i>	12
<b>Tabla 2.</b> Taxonomía del Género <i>Amaranthus</i>	14
<b>Tabla 3.</b> Operacionalización de la variable del estudio fitoquímico	32
<b>Table 4.</b> Operacionalización de la variable del porcentaje del análisis proximal	32
<b>Tabla 5.</b> Operacionalización de la variable de toxicidad sobre <i>Artemia salina</i>	33
<b>Tabla 6.</b> Preparación del agua artificial, usada en el cultivo y eclosión <i>Artemia salina</i>	47
<b>Tabla 7.</b> Composición química de la harina de <i>Amaranthus dubius</i>	52
<b>Tabla 8.</b> Resultados obtenidos del porcentaje de rendimiento	52
<b>Tabla 9.</b> Estudio fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>Amaranthus dubius</i>	52
<b>Tabla 10.</b> Cuantificación de la $DL_{50}$ de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Amaranthus dubius</i> y los controles sobre <i>Artemia salina</i>	54

## INDICE DE ESQUEMAS

	Pag.
<b>Esquema 1.</b> Protocolo para la determinación de ecotóxicidad sobre <i>Artemia salina</i>	49

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)



UNIVERSIDAD  
DE LOS ANDES  
MERIDA-VENEZUELA

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LOS  
ALIMENTOS  
MÉRIDA - VENEZUELA



**ANÁLISIS NUTRICIONAL DE LA HARINA DE LAS HOJAS DE *Amaranthus dubius* Y ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ECOTÓXICO DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS**

**Tesista:** Br. Dennise Pereira

**Tutora:** Prof. Rosa Alba Vielma

**RESUMEN**

*Amaranthus dubius*, pertenece a la familia Amaranthaceae, llamada también bledo o amaranto. Es considerado como un cultivo funcional para personas y animales por poseer un potencial uso alimenticio. Estos beneficios que puede aportar vienen dados por su valor nutritivo, razón por la cual se estudió por medio del método proximal para alcanzar los valores de proteínas, grasa, ceniza, carbohidratos y humedad. También, se llevó a cabo la investigación sobre la bioactividad resaltando su estudio fitoquímico en los extractos de hexanóico, diclorometanoico y etanólico en sus hojas para obtener la determinación cualitativa de los componentes presentes en la planta. Además, se evaluó la toxicidad del extracto etanólico de las hojas de *A. dubius* que ejerce sobre la *Artemia salina* determinando su DL<sub>50</sub>. El objetivo de esta investigación fue confirmar la composición nutricional de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* y el estudio fitoquímico y ecotóxico de los extractos de las hojas. Los resultados revelaron que la harina de *Amaranthus dubius* tiene un alto contenido de proteína (28,55 %), cenizas (15,72 %) y carbohidratos (55 %), pero presenta menor cantidad de humedad (0,16 %) y lípidos (0,54 %). En cuanto al análisis fitoquímico de las hojas de la planta, se encontró en el extracto hexanóico presencia de esteroles, en el diclorometanoico presencia de esteroles, polifenoles, saponinas y en el etanólico presencia de alcaloides, esteroles, terpenos, polifenoles, saponinas, y taninos. Con respecto a la toxicidad, se obtuvo que la DL<sub>50</sub> del extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius* fue relativamente inocua frente a la *Artemia salina*.

Palabras claves: Amaranto, *Amaranthus dubius*, composición nutricional, estudio fitoquímico, ecotóxico, *Artemia salina*, valor nutricional.

## INTRODUCCIÓN

### Antecedentes del problema

Desde tiempos remotos, el hombre empezó a darse cuenta de que las plantas no solo les servían de alimento, sino que, gracias a su composición química, poseen un conjunto de nutrientes y propiedades (bioactivas, antioxidantes o funcionales beneficiosas o tóxicas para la salud), que les otorgan distintas finalidades (1). De allí, surge la ciencia que estudia los diferentes procesos que el organismo utiliza para el desarrollo y mantenimiento de las estructuras corporales y la regulación de procesos metabólicos, la cual es denominada nutrición (2).

En tal sentido, el análisis nutricional de un alimento determina el valor energético y la carga de nutrientes del mismo: grasas, carbohidratos, azúcares, proteínas, vitaminas y minerales. De acuerdo con los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y otras instituciones, se considera un alimento de excelente calidad cuando presenta un alto valor nutricional (3).

Por otra parte, la ciencia que se ocupa del estudio para la alimentación animal es llamada zootecnia, encargada de todos los aspectos que proporcionan la cantidad de sustancias nutritivas adecuadas para procurar un estado óptimo. Para ello, es importante valorar el contenido de nutrientes del alimento y el racionamiento o forma de aportar la cantidad necesaria para cubrir de manera ideal su demanda (2). Por ende, es indispensable estudiar su valor nutricional, referente a la composición química que determina la cantidad de componentes nutritivos que contiene y la disponibilidad de ser ingeridos y a su vez, asimilados por el animal (2).

En los últimos años, se han estudiado las propiedades de las plantas en busca de alternativas de componentes nutricionales que puedan ser consumidos tanto por el animal y el humano; una especie altamente estudiada ha sido el *Amaranthus dubius*. Las cualidades y características agronómicas de esta especie la convierten en una planta de potencial

interés para ser empleada en la industria agroalimentaria; una de las razones es su excelente perfil de nutrientes; comparable con los cereales (4,5).

El *Amaranthus dubius* es una especie altamente diseminada en Venezuela, considerándose un arvense de cultivos de subsistencia, como el maíz, sorgo y leguminosas. El género *Amaranthus* se caracteriza por su alto contenido de nutrientes en hojas y semillas (5). La diversa literatura indica que tiene un excelente índice en macronutrientes (12-22 % de proteínas y 6-13 % de lípidos), (9-14 % de fibra dietética), vitaminas, minerales y otros compuestos fitoquímicos (polifenoles y fitoesteroles) (6,7,8), en comparación con otras fuentes vegetales. Además, tiene un alto contenido de lisina y metionina, aminoácidos que son considerados como limitantes en muchas proteínas vegetales (9).

Es una planta perteneciente a la familia *Amarantaceae*, con más de 60 especies distribuidas en regiones tropicales y subtropicales. Debido a su adaptación a diferentes temperaturas y suelos secos, se ha vuelto relevante en el consumo humano y animal (10). La importancia del *Amaranthus dubius* se apoya en los beneficios que puede ofrecer esta planta demostrando que puede superar valores nutricionales de alimentos convencionales con respecto a su grano, mientras que las hojas de la planta superan el porcentaje en proteínas, calcio, fósforo, hierro y ácido ascórbico en comparación con otras plantas. Por lo tanto, el uso del *Amaranthus dubius* radica en el consumo de sus dos formas típicas: como alimento en su forma de harina y la planta entera como alimento para el ganado (11).

Asimismo, en la alimentación humana se consumen sus semillas como cereal y sus hojas y tallos como verdura; se emplea también como planta forrajera en la alimentación de cerdos, ovinos, caprinos, vacunos, entre otros (5). Existen especies del género *Amaranthus*, de las cuales 40 son nativas de América y 12 están presentes en Venezuela; una de ellas es el *Amaranthus dubius*, que se encuentra en ambientes secundarios (5).

Debido a los beneficios presentes en *Amaranthus dubius*, es importante realizar el estudio de los componentes de alto valor biológico, los cuales a través de la extracción de compuestos bioactivos a partir del material vegetal dependen en gran medida del tipo de disolvente utilizado en el procedimiento de extracción. Las propiedades de un buen solvente para las extracciones incluyen baja toxicidad, facilidad de evaporación a baja temperatura, promoción de una rápida absorción fisiológica en el tejido vegetal, acción

conservante e incapacidad para hacer que el extracto resultante se acompleje o se disocie (6). En tal sentido, para realizar la extracción de las hojas de *Amaranthus dubius*, los solventes utilizados fueron etanol (polar), diclorometano (medianamente polar) y hexano (apolar), obteniendo metabolitos secundarios que son los compuestos responsables de las propiedades medicinales y farmacológicas de las plantas, y pueden ser aprovechados en diferentes industrias.

Se cree que existen alrededor de 170.000 metabolitos de origen vegetal, lo que sugiere la investigación de nuevas especies vegetales para la contribución en la búsqueda de nuevos compuestos, pero algunas veces estos compuestos pueden causar efectos secundarios graves, convirtiéndose en ocasiones más nocivos que la enfermedad, por ello es necesario evaluar si los compuestos presentes en una especie vegetal son perjudiciales para la salud (7).

Los ensayos de toxicidad son ensayos biológicos de diagnóstico, empleados para la detección del efecto de agentes físicos y químicos, donde se utilizan organismos vivos de prueba a determinadas condiciones y bajo parámetros establecidos. Se determina mediante este tipo de ensayos: muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos evaluados por la reacción de los organismos (7). Por esta razón, la *Artemia salina* es una prueba estándar de toxicidad aguda a corto plazo, reproducible y repetible, por lo que este bioensayo es una herramienta valiosa como prueba de evaluación para categorizar la toxicidad de sustancias químicas o naturales (7).

La investigación se justifica, dado que el género *Amaranthus* recientemente ha creado un fuerte interés como cultivos agrícolas en muchas regiones del mundo por el alto valor nutricional de sus semillas y hojas. Siendo considerado uno de los pseudocereales más nutritivos, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) lo denomina como el cultivo con mayor potencial técnico de desarrollo para las regiones andinas y costeras de América debido a las características nutritivas de la planta entera así como la cualidad de su excelente capacidad de resistencia a suelos y climas secos, de allí que su importancia radica en verificar las múltiples propiedades, además del consumo, en que puede usarse el *Amaranthus* (12).

El *Amaranthus dubius*, ha sido redescubierto como una planta multipropósito rica en nutrientes. La semilla se ha explorado como potenciadora de nutrientes en alimentos

básicos; sin embargo, las hojas están subutilizadas (13). Es por ello, que es indispensable el estudio de la harina obtenida de las hojas del *Amaranthus dubius*, para identificar aspectos fundamentales como lo es el valor nutricional y a partir del extracto de las hojas de la planta, el estudio fitoquímico y la identificación ecotóxica, con el fin de dar provecho total a la planta de *Amaranthus dubius*, siendo el caso de esta investigación.

Debido a que tiene un alto contenido energético proporcionado por almidón, facilita la digestión por su reducido tamaño, ya que el diámetro de los gránulos de almidón oscila entre uno y tres micrones. Además, le confiere buenas propiedades aglutinantes y espesantes, por lo que podría utilizarse como espesante; es fuente de fibra y tiene una alta cantidad de proteínas y aminoácidos (14,15).

El *Amaranthus dubius* tiene una mayor proporción de lisina, un aminoácido esencial que es limitante en los cereales, de allí la importancia que tiene cuando, por ejemplo, se combina harina de amaranto con harina de maíz o de trigo, esta combinación aporta una mayor proporción de aminoácidos esenciales, acercándose a la composición de la proteína patrón propuesta por la FAO (12). Además, tiene mayor cantidad de grasas que los cereales y que la quinoa y el trigo sarraceno. Al igual que todos los alimentos de origen vegetal, no contiene colesterol; tiene un alto contenido de calcio, hierro y fósforo (14).

Finalmente, por todo lo antes descrito, las especies de *Amaranthus* están generando creciente interés para la nutrición humana y animal, aunque su uso es limitado debido al contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales (oxalatos, fitatos, fenoles totales, taninos condensados, taninos hidrolizables y cianuro). Sin embargo, la presencia de estos compuestos en las hojas, tallos y panículas de *Amaranthus dubius* ha sido poco investigados, por lo que resulta interesante ampliar el estudio de esta planta enriquecedora surgiendo la necesidad de investigar sobre aspectos fitoquímicos, ecotóxicos y de gran importancia el valor nutricional. (15)

Con respecto a los alcances de la investigación, está representada por la amplitud y la profundidad del conocimiento que se quiere conocer. Es por ello que la profundidad del conocimiento que se pretendió fue confirmatoria, ya que se estudió una relación causa-efecto entre el análisis nutricional de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* y el estudio fitoquímico. También, la relación entre el estudio fitoquímico de los extractos

etanólicos de las hojas de *Amaranthus dubius* y la toxicidad frente a nauplios de *Artemia salina* (16); las limitaciones de la investigación estarán dadas en los aspectos teóricos, en cuanto a la disponibilidad de pocos trabajos previos, artículos actualizados e información de la especie en estudio en el aspecto citotóxico, los cuales afectan la plena ejecución del mismo.

### **El Problema**

En vista que en la actualidad se puede evidenciar las propiedades de las plantas en busca de alternativas de componentes nutricionales que puedan ser consumidos por el hombre, y a su vez por medio de estudios biológicos se puede identificar los compuestos beneficiosos o tóxicos presentes en una planta, que pueden ser utilizados en enfermedades y en la alimentación, permitiendo ser aprovechados en diferentes industrias

Se consideró en el problema de investigación la siguiente interrogante:

¿Cuál es la relación que existe entre el análisis nutricional de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* y el estudio fitoquímico y ecotóxico de los extractos de las hojas, procesados en el laboratorio del departamento de análisis de alimentos de la facultad de farmacia y bioanálisis de la universidad de Los Andes, Mérida? julio 2023 a julio de 2024?

### **Marco Teórico**

### **Trabajo Previos**

Olusanya et al., en el 2023 (14), realizaron una investigación basada en mejorar el contenido mineral de *Ujeqe* integrando *Amaranthus dubius*, para la composición mineral del polvo de la hoja y de los prototipos *Ujeqe* de harina de trigo suplementada con amaranto al 0 %, 2 %, 4 % y 6 %. Los hallazgos muestran que los carbohidratos de las materias primas oscilaron entre 41,6 y 74,3 %, las grasas entre 1,58 y 4,47 %, las cenizas entre 2,37 y 17,97 % y las proteínas entre 11,96 y 31,56 %. Además, el contenido de humedad del *Ujeqe* mejorado fue igualmente bajo, lo que indica que se mantiene la calidad

de la muestra. El aumento de la concentración de la planta condujo a un Ujege enriquecido, especialmente en el contenido de cenizas y proteínas. Obtuvieron un *Ujeqe* suplementado con *Amaranthus dubius* al 2 % fue el prototipo más aceptable como muestra de control el 6 % fue el prototipo menos preferido. En conclusión, los autores publicaron que el *Amaranthus dubius* puede enriquecer alimentos básicos como (*Ujeqe*).

Por otra parte, Escobar en el 2023 (17), estudiaron las características farmacognósticas y el valor nutricional de la hoja de *Amaranthus dubius*, obteniendo como resultados los siguientes parámetros farmacognósticos cenizas totales 20 %, cenizas solubles en agua 5,25 %, cenizas insolubles en ácido clorhídrico 14,3 %, humedad 8 %, sustancias solubles 5.2 % (Ext. acuoso), 2,2 % (Ext. etéreo), 2,80 % (Ext. alcohólico). Mediante el tamizaje fitoquímico se determinó cualitativamente la presencia de alcaloides, quinonas, flavonoides, ácidos grasos, azúcares reductores, fenólicos y/o taninos y triterpenos y/o esteroides, siguiendo la metodología de Miranda y Cuéllar y para la determinación del valor nutricional se realizaron parámetros como macronutrientes (fósforo (0,13 %), Magnesio (0,20 %), Nitrógeno (4,71 %), Potasio (1,67 %), Calcio (0,16 %) y Azufre (0,09 %), micronutrientes (Hierro (149,07 mg/kg), Zinc (88,71 mg/kg), Cobre (18,69 mg/kg), Manganese (147,28 mg/kg), Boro (17,80 mg/kg) y Sodio (84,15 mg/kg) y fibra (16,94) mediante técnica interna del laboratorio. Concluyeron que el *Amaranthus dubius* es rico en macronutrientes, y presenta potencial fitoquímico.

También, Pacheco et al., en el 2021 (18), publicaron un artículo titulado: Efecto de la inclusión de hojas de Amaranto (*Amaranthus dubius*) en las propiedades de un yogurt. Para la formulación de los yogures con inclusión de la harina de la planta, se realizaron cuatro preparaciones: la primera sin dilución, la segunda le añadieron una relación de bledo: agua (10:90), la tercera relación de bledo: agua (15:85), y la cuarta relación de bledo: agua (20:80). Luego, realizaron métodos fisicoquímicos y sensoriales. Los resultados para el análisis fisicoquímico de las muestras de yogurt evaluados, indicaron que *Amaranthus dubius* constituye una fuente de proteína vegetal alternativa de alto valor alimentario; debido a que generó un aporte significativo de 3,8 %; 5,34 %; 7,93 % en cada uno de las formulaciones de yogurt, resaltando un perfil proteico de 6.21 % de la muestra T3, siendo superior en los demás, lo cual resulta que a mayor proporción de harina de *Amaranthus dubius* añadida, mejores porcentajes de proteína se obtienen. En cuanto, a la

acidez, humedad, pH y grasa se obtuvieron resultados esperados para el yogurt y en la prueba sensorial se mostró una baja aceptación por el color dado por la harina de la planta.

Asimismo, Birez et al., en el 2020 (19), divulgaron un artículo llamado: incorporación de harina de amaranto para la obtención de bocaditos de carne con bajo contenido de grasa y realizaron tres formulaciones: f1 la harina de amaranto fue agregada directamente a la pasta cárnea, la f2 fue incluida en la carne picada a través de una emulsión con agua, aceite y el emulsionante tripolifosfato de sodio y la f3 fue añadida en forma de emulsión gelificada (mezcla enriquecida con harina de amaranto empleando proteína de gelatina como agente gelificante). Posteriormente, realizaron una evaluación sensorial y análisis de la composición proximal del producto elaborado, los resultados obtenidos en estos ensayos indicaron que la harina de amaranto, incorporada al producto de diferentes maneras, podría emplearse en la formulación de bocaditos de carne de bajo tenor de grasa y reducido contenido de sodio, ya que presentaron buena aceptación, debido a la textura y jugosidad de los mismos especialmente de la tercera formulación. Además, estos resultados podrían ser útiles para la elaboración de otros productos cárnicos con harina de la planta o su desarrollo industrial en productos alimenticios de consumo masivo, y que puedan ser accesibles a una población de requerimientos nutricionales específicos, como lo son los enfermos celiacos.

Del mismo modo, Quintero et al., en el 2011 (5), realizaron análisis sobre la composición química en las hojas, tallos y panículas de la planta de *Amaranthus dubius*. La composición proximal se determinó por los métodos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1997). En primer lugar, fueron secadas en estufa con rotación y aireación constante, molida y tamizada para ser almacenada en envases de plástico con tapa hermética. Por otro lado, realizaron estudios biológicos de toxicidad para determinar si la planta presentaba sustancias antinutritivas. Se empleó por un paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 2002-2003 versión 9.1). Obtuvieron en las hojas de la planta de *A. dubius* presencia de fenoles; oxalatos; nitratos, en bajas concentraciones y una alta composición nutricional (proteína 26,34 %), concluyendo, que el *Amaranthus dubius* confiera un alto valor nutricional y puede ser empleado como nueva fuente de nutrientes de bajo costo en materias primas de la industria agroalimentaria.

Molina et al., en el 2016 (20), realizaron un estudio de sustancias tóxicas y antinutricionales sobre *Amaranthus dubius*, en la época de cosecha. Las plantas fueron cultivadas en la hacienda El Néctar, localizada en Merecure, municipio Acevedo, estado Miranda, Venezuela, la concentración de oxalatos, fitatos, fenoles totales, taninos condensados y taninos hidrolizables se determinaron mediante técnicas colorimétricas clásicas y el cianuro se determinó por titulación con nitrato de plata. Obtuvieron que el contenido de tóxicos y antinutrientes en *Amaranthus dubius* osciló entre 169,6-368,5 mg de oxalato; 0,771-7,482 mg; 0,47-1,77 mg de fenoles totales y 0,22-1,20 mg de taninos condensados. No se detectó cianuro ni taninos hidrolizables; los valores de la mayoría de estas sustancias presentaron diferencias de acuerdo a la época de recolecta, así como interacción entre ambos factores. En conclusión, el contenido de tóxicos y antinutrientes fue generalmente mayor en la época seca que en la época lluviosa para todas las partes de la planta. La época de recolecta y la parte de la planta afectaron el contenido de sustancias tóxicas y antinutricionales de *A. dubius*; sin embargo, los valores estuvieron por debajo de los niveles máximos permitidos regulados para el consumo humano. Por lo tanto, la materia prima no necesita ser procesada para garantizar su inocuidad.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

### **Antecedentes Históricos**

La planta silvestre del género *Amaranthus*, se remonta a las culturas mayas de Guatemala, y aztecas en México, luego fue extendida por los continentes de América. *Amaranthus spp.* fue uno de los principales cultivos presentes antes de la llegada de los españoles, junto al frijol, el maíz, y el chile, del cual se consumía tanto su grano como hojas y tallos. Dentro de las culturas precolombinas el *Amaranthus* tenía una importancia religiosa debido a que se formaban figurillas a base de esta planta y miel (21).

Durante la llegada de los españoles, encontraron entre los cultivos al *Amaranthus spp* Evidencias arqueológicas realizadas por Setien y Velasco en 1999, han confirmado que las especies cultivadas para grano, son originadas en América, siendo uno de los alimentos más importantes. La cuna de la agricultura y de la irrigación en Mesoamérica es el Valle de Tehuacán Teotitlán durante la fase Coxcatlán, Puebla en México (5200 a 3400 años AC),

donde se localizaron los primeros vestigios de semilla, indicando que la domesticación tuvo lugar en la misma época que el maíz (21).

En los años antiguos de los Aztecas los cultivos más importantes fueron el *Amaranthus hypochondriacus* debido a su alto valor nutricional; produciendo de 15.000 a 20.000 toneladas por año. Pero este cultivo fue desplazado y muchas veces prohibido por los españoles hasta casi desaparecerlo ya que lo relacionaban con ritos paganos religiosos. Para la década de los años 60 se cultivaba en pequeñas áreas agrícolas, en los años 80 este cultivo ha sido revalorado por la sociedad, por ser uno de los cereales más ricos en proteínas y minerales esenciales para el hombre (22).

La familia *Amaranthaceae* cuenta con 70 géneros y alrededor de 800 especies, de origen tropical, pero se adaptan muy bien a climas templados. El grano de *Amaranthus spp.* es usado en la elaboración de dulces, granolas y hojuelas. Además, la harina obtenida de las semillas y hojas se utiliza para la elaboración de galletas, cremas, pastas, entre otros (21).

Una de las principales características del grano de *Amaranthus spp.* es su alto contenido de proteínas en peso seco de 17%, teniendo un alto contenido de lisina; las proteínas mayoritarias son las fracciones de albuminas, globulinas y glutelinas; lo que hace un candidato ideal para la elaboración de preparados proteicos. Además, no son alergénicas y son libres de gluten (21).

Por lo tanto, uno de los estudios realizados para las proteínas a gran escala es la proteómica; es decir, el estudio de su estructura y función. A lo largo de los 20 años de su reaparición se han mejorado las técnicas de extracción y purificación de proteínas; evolucionando en la instrumentación para mayor sensibilidad, precisión de masas y fragmentación de péptidos mucho más eficiente (21).

Esta planta se ha sembrado en Estados Unidos, Perú, México y otros países de Centro América, Europa, Medio Oriente, África. En Venezuela son pocos los intentos de cultivo que se han realizado en el pasado para su utilización en la alimentación, aunque a partir del año 2005 esta planta fue incluida dentro del programa de rescate de alimentos ancestrales. En tal sentido, se ha realizado a lo largo del tiempo varios estudios para

conocer su mecanismo de acción. observándose un manejo positivo en varias enfermedades, una de ellas fue en lípidos plasmáticos y hepáticos. En un estudio realizado en ratones con dislipidemia que fueron alimentados por 40 días con harina de *Amaranthus*, se observó una importante reducción en los niveles plasmáticos de colesterol total y de baja densidad (21).

También han realizado estudios en líneas celulares cancerígenas con el extracto, eliminando residuos que podrían incluir flavonas, saponinas, sales o péptidos pequeños. Los extractos fueron añadidos a cuatro líneas observándose una disminución en el ritmo de proliferación mediado por inducción de apoptosis, porque observaron una liberación de lactato deshidrogenasa, usada como marcador de apoptosis (21).

## **Bases Teóricas**

# **Generalidades de la familia *Amaranthaceae***

**www.bdigital.ula.ve**

Es una planta tropical de cultivo anual perteneciente a la familia *Amarantaceae*, la cual abarca 70 géneros y más de 850 especies de plantas herbáceas o árboles pequeños, se catalogan en dos tipos de subfamilias *Amaranthoideae* y *Gomphrenoideae* (1).

## **Descripción botánica de la familia *Amaranthaceae***

### **Altura del tallo**

Entre 0,3 y 0,4 m de longitud. Es cilíndrico, anguloso y hueco al centro, su color es igual al de las hojas y en ocasiones puede variar de tonalidades (23).



**Figura 1.** Altura del tallo de *Amaranthus* (24).

### **Hojas**

Son ovoides, su color varía de verde a purpura y cuando son tiernas pueden consumirse como hortaliza, de cinco a diez centímetros de largo (24).

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)



**Figura 2.** Hojas de *Amaranthus dubius* (24)

### **La inflorescencia de la planta**

Son verdosos, en espigas terminales y axilares, de dos a veinte centímetros de largo (24).



**Figura 3.** Inflorescencia de *Amaranthus dubius* (24)

### Semilla

Tiene 1,0 a 1,5 mm de diámetro, es lisa, brillante y generalmente de color blanco. Conformada por episperma, endosperma, embrión. (23).



**Figura 4.** Semilla del *Amaranthus dubius* (24)

**Tabla 1.** Taxonomía de la familia *Amarantaceae*

Reino	vegetal
Phylum	<i>Amaranthaceae</i>
Clase	<i>Diocetiledóneas</i>
Orden	<i>Centrospermales</i>
Familia	<i>Amaranthaceae</i>
Género	<i>Amaranthus</i>
Especie	<i>Dubius, caudatus e hypochondriacus</i>

Jiménez, 2017 (23).

## **Distribución y hábitat**

Se distribuye en zonas tropicales y subtropicales, con extensiones a las zonas templadas. Además, tienen la capacidad de crecer anual, en forma arbustivas, con flores de diversos colores. En Venezuela se conoce popularmente con los nombres de pira, bledo (23).

## **Generalidades del Género *Amaranthus***

Este género se caracteriza por incluir plantas arbustivas con flores de diversos colores, de verde a morado o purpura; unisexuales, con flores masculinas y femeninas en la misma planta o en plantas diferentes (17). Se encuentran *A. cruentus*., *A. hypochondriacus*. y *A. hybridus*. Son considerados como la maleza más común en México. Además, son utilizados en la cocina rural y tradicional para realizar platillos diversos, se pueden encontrar otras especies pertenecientes a este género distribuidas en varios países (23).

## **Descripción Botánica del Género *Amaranthus***

Es una planta herbácea o arbusto que es anual o perenne en todo el género. Las flores varían por la presencia de 3 o 5 tépalos, (25). Las especies de todo el género contienen anillos concéntricos de haces vasculares, y fijan el carbono de manera eficiente con una vía fotosintética de tipo C<sub>4</sub>. Las hojas son de aproximadamente 6,5-15 centímetros y de forma ovalada o elíptica (25).

Las inflorescencias tienen forma de una gran panícula que varía de terminal a axial. La borla de la fluorescencia es erecta o doblada y varía en anchura y longitud entre especies. Las flores tienen simetría radial y son bisexuales o unisexuales. (26). Las semillas son de forma circular de 1 a 1,5 mm de diámetro y varían en color. La panícula se cosecha 200 días después del cultivo con aproximadamente 1.000 a 3.000 semillas cosechadas por gramo (29).

**Tabla 2.** Taxonomía del Género *Amaranthus*

---

**Reino:** Plantae  
**Subreino:** Tracheobionta  
**División:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Subclase:** Caryophyllidae  
**Orden:** Caryophyllales  
**Familia:** Amaranthaceae  
**Subfamilia:** Amaranthoideae  
**Tribu:** Amarantheae  
**Género:** *Amaranthus*

---

Jiménez, 2017 (23).

### **Biología floral y/o Fenología del Género *Amaranthus***

La polinización puede producirse por aire, agua o por medio de algunos animales. La polinización entomófila (por abejas) es normal en *Amaranthus* y probablemente en algunos otros géneros. Además, se disemina en muchas especies con flores estériles, tienen modificados en espinas algunos órganos para poder ser transportados por el hombre o por animales. Algunos frutos (como los de *Alternanthera*) poseen células con características de “corcho” que los capacitan para flotar. En otros géneros, adaptados a condiciones xerofíticas, las semillas al hincharse como consecuencia de la humedad de la lluvia, hacen que la cápsula se abra violentamente y así caen a una distancia considerable en el suelo. La diseminación por animales puede ser endozoócora o epizoócora (29).

### **Aprovechamiento de la hoja del género *Amaranthus***

La hoja se puede aprovechar para su consumo en fresco para elaborar una gran variedad de guisos, ya que por su sabor tan suave no modifica el sabor ni su apariencia. Así, se pueden elaborar aguas frescas, ensaladas, sopas, jugos, guisos, tortillas, tamales,

etc. Además, por su alto contenido de hierro, es ideal para evitar la anemia especialmente en mujeres embarazadas y niños (30).

### **Aprovechamiento del grano del género *Amaranthus***

Algunos estudios revelan que se puede digerir y absorber mejor después de transformarlo con calor. Remover la cubierta del grano con calor ha sido reportado como la mejor forma de mejorar la calidad de la proteína disponible. Hay varios métodos para transformarlo entre los que están reventar, tostar, hervir, etc. Utilizar temperaturas muy altas reduce la calidad del grano (30).

### **Atributos medicinales y cosméticos del género *Amaranthus***

Por su alto valor nutritivo, es ideal en anemias y desnutrición, es un alimento rico en hierro, proteínas, vitaminas y minerales; es utilizado en casos de osteoporosis, ya que contiene calcio y magnesio. Las hojas de amaranto tienen más hierro que las espinacas. Contienen mucha fibra, vitamina A y vitamina C. Algunos especialistas advierten que, si usa como verdura, se tiene que hervir ya que, sobre todo en terrenos con poca agua, las hojas pueden contener niveles de oxalatos y nitratos (28,30).

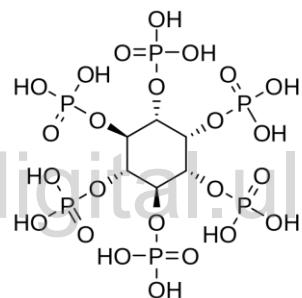
### **Propiedades nutracéuticas del Género *Amaranthus***

Tiene un alto nivel de proteínas, que van del 15 al 18 %. Mientras que el contenido de proteínas de maíz, trigo y arroz mejorados genéticamente oscila del 10 a 13 %. La calidad del contenido proteínico mayoritario puede compararse en varios parámetros a la de la proteína de la leche, la caseína, que se considera nutricionalmente la proteína por excelencia; la principal proteína presente en este género es descubierta y bautizada como

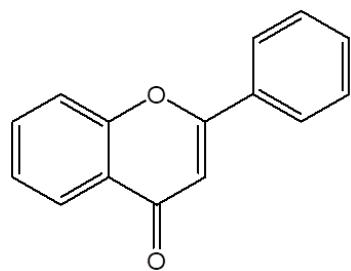
amarantina. Es un alimento superior nutricional y funcionalmente a cualquier otra proteína vegetal conocida hasta ahora (30).

### Composición química del Género *Amaranthus*

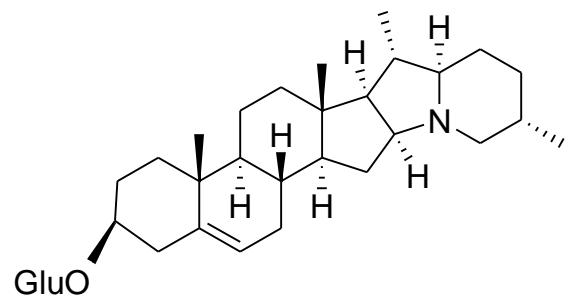
El grano, hoja y panícula contienen componentes que pueden ser factores antinutrientes, como saponinas, taninos y oxalatos. Presentando bajas concentraciones tóxicas. Por lo cual, la cocción de la planta reduce el contenido y el efecto antinutriente de estos compuestos (31, 5).



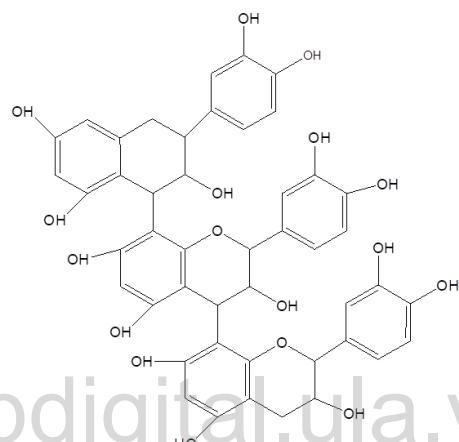
**Figura 5.** Ácido fítico antinutrientes (32).



**Figura 6.** Flavona (32).

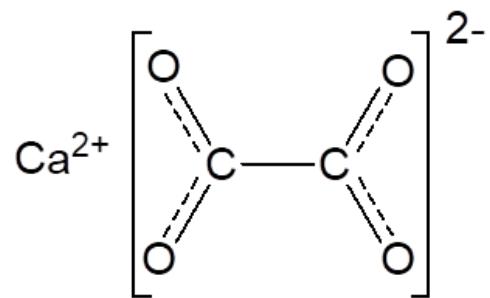


**Figura 7.** Saponina (32)



www.bdigital.ula.ve

**Figura 8.** Tanino (32).



**Figura 9.** Oxalatos (32).

## **Generalidades de la especie *Amaranthus Dubius***

Las especies más apreciadas debido a la calidad nutricional y la presencia de sustancias bioactivas en sus semillas son *Amaranthus cruentus*, *Amaranthus caudatus* y *Amaranthus hypochondriacus*. Por otro lado, en los últimos años ha aumentado el interés en el estudio de especies productoras de hojas, como *Amaranthus dubius* por sus cualidades nutricionales. Es una especie anual, herbácea, generalmente erecta con diferentes coloraciones. Planta de origen vegetal con fuentes importantes para la salud por su contenido de vitaminas, minerales y proteína. (1).

### **Efectos medicinales de *Amaranthus dubius***

Posee efectos curativos que ayudan a mejorar o controlar la diarrea, prevención del cáncer de colon, previene y ayuda en el control de la osteoporosis, diabetes mellitus, obesidad, hipertensión arterial, estreñimiento, insuficiencia renal crónica, insuficiencia hepática, enfermedad celíaca y se recomienda en la dieta para personas autistas, también es recomendable para enfermos con problemas de desnutrición y oncológicos y su contenido energético es beneficioso para pacientes con requerimientos calóricos elevados (24).

### **Usos medicinales de *Amaranthus dubius***

Durante tiempo atrás los indígenas del Ecuador lo utilizaron para reducir el dolor de garganta y fortalecer el útero de las mujeres, las hojas son astringentes y calmantes. En medicina popular, la usan como cataplasma para sanar llagas inflamadas y en baños para calmar la fiebre, las semillas son utilizadas por sus propiedades antiparasitarias y cicatrizantes (24).

### **Cultivo de *Amaranthus dubius***

Es altamente eficiente ya que puede prosperar en condiciones agroclimáticas como: sequias, altas temperaturas o suelos salinos. Su ciclo vegetativo tiene un promedio de 180 días, desde que germina hasta que la semilla alcanza su madurez. Es ecológico, ya que no necesita un espacio específico para su crecimiento, se lo puede encontrar en jardines, masetas o en objetos reciclados. Su desarrollo es rápido y requiere de escasos cuidados. A diferencia de otros cultivos el *Amaranthus dubius* tiene la capacidad de nutrir el suelo, reforzándolo de minerales, constituyéndose como un fertilizante natural (24).

### **Plantas medicinales**

Aportan a los organismos múltiples principios activos que al tratarse de moléculas orgánicas se absorben en general más fácilmente y su efecto depende de la acción conjunta de varias sustancias que se potencian y equilibran mutuamente pudiendo beneficiar a diferentes órganos o funciones del cuerpo (25).

### **Biosíntesis de los productos naturales**

Para la obtención de metabolitos primarios, se lleva a cabo a través de la fotosíntesis, proceso físico-químico por el cual plantas, algas, bacterias fotosintéticas y algunos protistas como diatomeas utilizan la energía de la luz solar para sintetizar compuestos orgánicos (33). La biosíntesis es un proceso de múltiples etapas catalizado por enzimas donde los sustratos se convierten en productos más complejos en organismos vivos. En la biosíntesis, los compuestos simples se modifican, se convierten en otros compuestos, o se unen para formar macromoléculas (33).

## Productos Naturales

Son producidos por metabolitos secundarios de los organismos vivos como mecanismo de defensa frente a patógenos. Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos, pero se define como “productos naturales” o “metabolitos secundarios”, ambos sinónimos, es aquel que es propio de una especie, se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene la utilidad aparente para el ser que los sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes en todos los seres vivos, algunos de estos son: carbohidratos, lípidos y proteínas (34) . Los compuestos derivados del metabolismo secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos de ellos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros (34).

Los productos naturales pueden clasificarse de distintas maneras:

1. Según su biosíntesis, la mayoría de ellos provienen de reacciones enzimáticas, utilizando la glucosa como fuente de carbono; la cual es fotosintetizada en las plantas verdes y obtenida a partir del entorno de los organismos heterótrofos. Existen tres rutas principales para la formación de metabolitos secundarios (34):
  - Ruta del ácido mevalónico a partir de este se forman enlaces de prenilo que tras uniones sucesivas conducen a isoprenoides (terpenoides, carotenoides, esteroides) (34).
  - Ruta del acetato-malonato a partir del malonato y acetato se forman los policétidos y ácidos grasos (34).
  - Ruta del ácido shikímico a partir de este se forman los aminoácidos y desde ellos los otros compuestos aromáticos más complejos (flavonoides y alcaloides) (34).
2. Según su actividad fisiológica, esta clasificación es independiente de su estructura y biosíntesis ocasionalmente se encuentra correlacionados entre su aspecto y actividad (34).

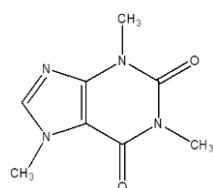
3. Según su estructura química, se trata de una clasificación formal basada en el tipo de esqueleto molecular (34):

- Compuestos grasos o alifáticos de cadenas abiertas como los ácidos grasos, azúcares y gran cantidad de aminoácidos.
- Compuestos de ciclos alifáticos como terpenoides, esteroides y algunos alcaloides
- Compuestos aromáticos o benzoicos como fenoles y quinonas.
- Compuestos heterocíclicos como alcaloides, flavonoides, bases de ácidos nucleicos.

Entre los metabolitos secundarios, se encuentran:

### **Alcaloides**

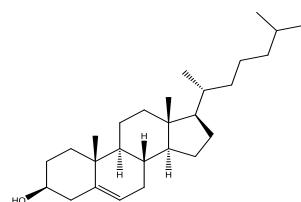
Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases de vegetales nitrogenadas, con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales. Hay unos cuantos alcaloides de nitrógeno amínico que son neutros, como la colchicina, recinina, rutacarpina. (Figura 10) Sin considerar la cafeína, y la teobromina, las bases puricas y pirimidínicas están excluidas del grupo de los alcaloides por carecer de acción farmacológica notable. La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos como la nicotina son líquidos, otros amarillos como la berberina, o rojos como la queliretrina. La mayoría de los alcaloides se encuentran en los vegetales como sales de ácidos orgánicos. En ciertas plantas puede haber un ácido especial asociado a los alcaloides; así, el ácido químico está unido a los alcaloides de la quinina (35).



**Figura 10.** Estructura química Alcaloide (35).

## Terpenos

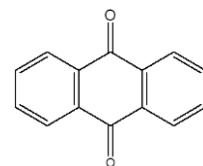
Los terpenos forman la familia más grande de los productos naturales, existe una subclase en donde se encuentran los carotenoides, fitoesteroides, capsaicina y saponinas (Figura 11), los cuales son de importancia en el sistema inmunológico, reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y favorecen la producción de endorfinas. Su estructura base está formada por unidades isoprénicas triterpenoides y esteroles. Además, las plantas utilizan los terpenoides para funciones básicas como el crecimiento y el desarrollo, pero usan la mayoría de los terpenoides para interacciones químicas más especializadas y la protección en el medio biótico y abiótico (37).



*Figura 11.* Estructura química del colesterol (terpeno) (36).

## Quinonas

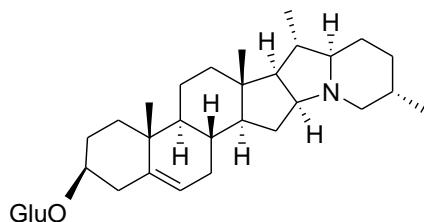
Son dicetonas cíclicas insaturadas que por su reducción se convierten en polifenoles, siendo reversibles esta reacción, son comunes en plantas, en vegetales, hongos y bacterias. Derivan su nombre de la *p*-benzoquinona como producto de oxidación del ácido químico. Se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y fenantraquinonas (Figura 12), dependiendo de los anillos aromáticos que posean (36).



*Figura 12.* Estructura química de antraquinona (Quinona) (34).

## Saponinas

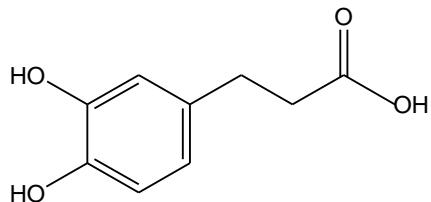
Se le da el nombre de saponinas (del latín: Sapon = jabón) a un grupo de glicósidos que se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta, por lo tanto, al sacudir sus soluciones, se forman una espuma abundante, y relativamente estable. El aislamiento en las saponinas (Figura 13), son sustancias muy polares y es posible extraerlas en caliente o en frío, con agua o alcoholes de bajo peso molécula (37).



*Figura 13.* Estructura química de la Saponina (38).

## Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas (Figura 14) y actividad, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (38).

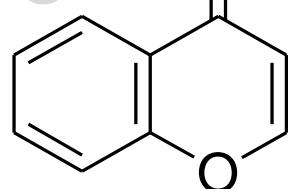


**Figura 14.** Estructura química de un compuesto fenólico (38).

### Cumarinas

Son una familia de fitoquímicos y se biosintetizan en las plantas por la ruta fenilpropanoide, estos compuestos son derivados de la benzo- $\alpha$ -pirona, como la cumarina, la esculetina y la escopoletina. Las cumarinas son sólidos cristalizables, se puede ver en su estructura química (Figura 15) un anillo bencénico unido a una piran-2-ona (34).

www.bdigital.ula.ve

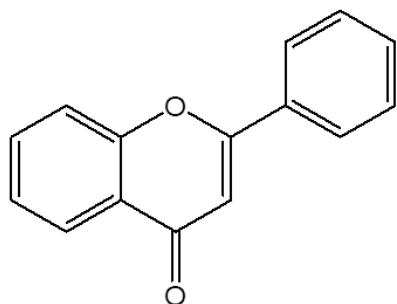


**Figura 15.** Estructura química de cumarina (34).

### Flavonoides

Su esqueleto carbonado contiene 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos (Figura 16), estos se clasifican en función del grado de oxidación del puente de tres carbonos, siendo las principales las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Los flavonoides sin ser metabolitos primarios se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos

conocidos de plantas vasculares, mientras que, en los vegetales inferiores, algas, hongos y bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas y xantonas y a estos deben su color. La función de los flavonoides en las plantas son varias puesto que se consideran antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobianos y antinutricionales, fotoreceptores, protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales y atractores visuales para los insectos, entre otros (34).



**Figura 16.** Estructura química de un Flavona (34).

#### Valor nutricional de la especie (*Amaranthus dubius*)

El valor nutricional de un alimento engloba sus cualidades nutritivas, que pueden ser: lípidos, minerales, vitaminas, oligoelementos o glúcidos. Así pues, podemos determinar que el valor nutritivo es sinónimo a la calidad nutricional de un alimento. Por esta razón, el *A. dubius* es el producto de origen vegetal más completo, es una de las fuentes más importantes de proteínas, minerales y vitaminas, así como ácido fólico, calcio, hierro y fosforo. Además, puede ser un buen recurso para incrementar la saciedad de la dieta, ya que puede ser el reemplazo de arroz o pastas, la planta puede usarse como buena fuente de fibra y proteínas que calma el hambre y el apetito con mayor facilidad sin ofrecer un extra de calorías, por lo que, también puede ser de utilidad cuando buscamos perder peso (24).

Montero et al., realizaron estudios sobre la composición proximal en tres partes de la planta. Evidenciaron valores de contenidos de proteínas que arrojaron diferencias

estadísticas entre las diferentes partes de la planta analizada, resultando ser mayor en las hojas (26,34 %), seguido por las panículas (20,53 %) y los tallos (6,41 %) (5).

### **Análisis proximal**

El análisis proximal, es de tipo preliminar que proporcionan la determinación, de contenido de humedad, grasa, proteína y cenizas en un alimento. Estos procedimientos químicos muestran el valor nutritivo de un producto. Además, es una excelente alternativa para realizar el control de calidad y determinar si los productos superan los estándares establecidos por los productores y consumidores (39).

#### **Determinación de humedad**

Consiste en la evaporación del agua de una muestra de peso conocido, para luego pesar el residuo. Esta se puede realizar por desecación en estufa a presión normal a una temperatura de aproximadamente 100 °C, variable según la naturaleza de la muestra, hasta la obtención del peso constante (40).

#### **Determinación de cenizas totales**

las cenizas son los residuos inorgánicos de los alimentos que permanecen en la muestra posterior a la oxidación completa de la materia orgánica. La determinación se realiza mediante el uso de una mufla capaz de mantener temperaturas de 500 a 600°C el agua y los vapores son volatilizados y la materia orgánica es quemada en presencia de oxígeno en aire a CO<sub>2</sub> y óxidos de N<sub>2</sub> (40).

## **Determinación de grasa cruda**

La determinación de lípidos totales es por extracción con solventes orgánicos. Para ello, la muestra debe estar previamente desecada, ya que si el alimento presenta cierta humedad el disolvente no penetra fácilmente en los tejidos húmedos del alimento, debido al carácter hidrófobo del disolvente. La muestra desecada es tratada con el solvente seguido de su evaporación y pesada del residuo seco. Esta determinación se denomina grasa ruda (40).

## **Determinación de proteína total**

Consiste en la oxidación de la materia orgánica, por la acción del ácido sulfúrico concentrado, que digiere esa materia convirtiéndola en dióxido de carbono y agua; además, reduce el nitrógeno a amonio, el cual a su vez es fijado por el ácido como sulfato de amonio, sal de gran estabilidad al calor. La reducción del material nitrogenado hasta amonio se debe a que parte del ácido sulfúrico es simultáneamente reducido a dióxido de azufre que se comporta como fuerte reductor de ese material (40).

La digestión de la muestra es la parte más difícil de la determinación y se acelera por adición de catalizadores sulfato cúprico pentahidratado, selenio, permanganato de potasio o una mezcla de ellos. El más efectivo de los agentes catalíticos parece ser el selenio, que corta considerablemente el tiempo de digestión. Sales como el sulfato de potasio o de sodio anhídrico se adicionan a la mezcla a digerir, con el fin de aumentar el punto de ebullición y disminuir así el tiempo de digestión (40).

Una vez que toda la materia orgánica de la muestra ha sido digerida, se libera el amoniaco por descomposición del sulfato de amonio con un álcali fuerte (hidróxido de sodio) y se separa por destilación y recolección de un volumen conocido de solución valorada de ácido clorhídrico o sulfúrico. El amoniaco desprendido se determina por titulación del exceso de ácido con una solución valorada de hidróxido de sodio 0,5 N (titulación por retroceso), en presencia de un indicador adecuado (rojo de metilo  $pK= 5.1$ )

cuya zona de viraje se encuentra a un pH relativamente bajo, para evitar el efecto del cloruro de amonio (40).

### **Determinación del contenido de extractos no nitrogenados**

También llamados carbohidratos totales, se logra al calcular por diferencia de peso. Se obtienen primero la determinación de los porcentajes de humedad, cenizas, grasas, proteínas y la sumatoria de estos compuestos, se realiza la diferencia de peso con el 100 %. El resultado de este cálculo me indica el porcentaje de carbohidratos (40).

### **Análisis fitoquímico**

Las plantas presentan diversos componentes, para realizar su estudio nos valemos del análisis fitoquímico, ya que, el mismo nos permite agrupar los diferentes metabolitos secundarios presentes en cada especie como: alcaloides, glucósidos, saponinas, flavonoides, esteroles, fenoles, taninos, cumarinas, diterpenos y quinonas, entre otros (41).

Algunas de las pruebas que permiten llevar a cabo el tamizaje fitoquímico son:

**Ensayo de Lierbermann–Burchard.** Este ensayo permite identificar triterpenoides y esteroles, al darse una reacción donde el esterol se oxida por la presencia de ácido sulfúrico que forma una molécula que contiene un doble enlace adicional, constituyendo un ensayo positivo cuando se da el cambio de coloración, que va de azul a un azul verdoso para las estructuras esteroidales, y de rojo a púrpura para las triterpénicas (42).

**Ensayo de Wagner.** El reactivo de Wagner se utiliza para determinar la presencia de alcaloides en medio ácido favoreciendo la formación de precipitados cristalinos de color marrón que indican presencia de alcaloides en la muestra (42).

**Ensayo de cloruro Férrico.** Esta prueba revela la presencia de compuestos fenólicos, al utilizar el extracto etanólico de la planta se pueden determinar compuestos fenólicos, siendo positivo el ensayo al formarse el color azul o verde indica la presencia de fenoles (42).

**Ensayo de shinoda.** Este ensayo permite la identificación de flavonoides mediante la reacción del magnesio en medio ácido, que reduce el flavonoide dando lugar al producto coloreado que va del rojo al violeta (42).

**Ensayo de la espuma.** El ensayo consiste en agitar una solución acuosa de la muestra y, observar la formación de una espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y que persista por más de 2 min, lo que indica la presencia de saponinas (42).

**Ensayo de la gelatina.** Esta prueba permite detectar taninos, ya que estos poseen la propiedad de reaccionar con las proteínas presentes en el reactivo gelatina-sal y formar la ruptura de la gelatina (42).

**Ensayo del hidróxido de amonio.** Mediante este ensayo se determina la presencia de quinonas al adicionar a una pequeña porción de cada extracto disuelto en etanol, unas gotas de hidróxido de amonio concentrado, siendo positiva la prueba al observar una coloración roja (42).

### **La toxicidad de la planta frente a *Artemia salina***

Así como las plantas tienen el potencial curativo de ciertas enfermedades, también poseen el potencial de producir daño, toxicidad y muerte. Por lo tanto, es de vital importancia desarrollar estudios biológicos que permitan determinar los efectos tóxicos y

dosis correspondientes. El grado de toxicidad guarda relación con la naturaleza de la droga administrada, y ésta puede presentarse en forma aguda, subaguda y crónica. Una sustancia potencialmente supra-tóxica necesitará concentraciones muy pequeñas para producir daño, incluso, la muerte. Los ensayos preliminares pueden realizarse en crustáceos (*Artemia salina*), pero también se utilizan animales de mayor complejidad como ratones o ratas (43).

Uno de los efectos que se observan al monitorear actividad biológica es la letalidad, ya que la evaluación de la respuesta es simple: sobreviven o mueren. Un organismo experimental simple que se ha utilizado ampliamente para este propósito es el camarón *salino* del orden *crustáceo*, de la clase *Ana costraca*, *Artemia salina*, la cual tiene varias ventajas al ser utilizada para bioensayo, como, por ejemplo: los quistes son viables por varios años, posee una alta sensibilidad a tóxicos, se utiliza un volumen pequeño de muestra, requiere de instrumentación poco compleja, es miniaturización y es un bioensayo rápido, simple y económico (43).

El método estándar que se le realiza a *Artemia salina* se basa en la determinación de la concentración o dosis que causa la muerte al 50 % de la población de larvas de este crustáceo en 24 horas, siendo conocida esta dosis como dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>), determinando si la planta es tóxica (43).

El ensayo de *Artemia spp.* tiene las ventajas de ser más rápido (24 horas), económico y sencillo. Por consiguiente, Se pueden utilizar fácilmente un gran número de organismos para la validación estadística, no necesita equipamiento especial y se emplean pequeñas cantidades de muestras (2-20 mg o menos). Además, Los extractos crudos, fracciones o compuestos puros de origen natural son evaluados a concentraciones iniciales de 10, 100 y 1000 mg/mL en viales que contienen 5 mL de solución salina y 10 larvas, cada uno es considerado una réplica (tres por concentración). Después de 24 horas, se cuenta el número de larvas muertas. La muerte de las larvas se establece por la falta total de movimientos durante 10 segundos de observación bajo el microscopio. Los valores de DL<sub>50</sub> e intervalos de confianza 95%, se calculan usando el método de análisis estadístico Probit, programa Polo (LeOra Software, Berkeley, California) (43).

## **Definición Operacional de Términos**

### **Ecotóxico**

Determina los efectos tóxicos de compuestos químicos o biológicos presentes en plantas o ecosistema sobre los seres vivos (43)

### **Fitoquímico**

Se encarga de la obtención de los compuestos producidos por especies vegetales con potencial medicinal a través de la extracción, el aislamiento, la purificación y elucidación de la estructura química. Además, se involucra en la caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias elaboradas por los vegetales que pueden ya sea, afectar o beneficiar la salud humana, a las plantas, animales y microorganismos (44).

**www.bdigital.ula.ve**

### **Definición operacional de las variables de investigación**

Es el procedimiento mediante el cual se determina los indicadores que caracterizan las variables de una investigación. Esta definición operacional asigna significado de una variable, describiéndolas en términos observables y comparable para poder identificarlos. Para establecer el sistema de variables es necesaria la definición conceptual y la paralización de la misma; es decir, de las dimensiones y los indicadores de cada uno. Por lo tanto, las variables se operacionalizan para convertir los aspectos abstractos en empíricos, con el fin de medirlos a través de un instrumento (45).

**Tabla 3.** Operacionalización de la variable del estudio fitoquímico.

<b>1 Variable</b>	<b>3. Tipo de Variable</b>	<b>4. Definición Conceptual</b>
Ánalisis nutricional	Independiente	Se encarga del desarrollo de procedimientos analíticos para evaluar la composición y características de un alimento en la formulación nutritiva y seguros para el consumidor (21).
<b>5. Definición Operacional</b>	<b>5 Dimensiones</b>	<b>6 Indicadores</b>
Se mide a través del análisis proximal, el cual da un valor general de los componentes nutricionales de la planta (22)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Humedad</li> <li>• Ceniza</li> <li>• Grasa</li> <li>• Proteínas</li> <li>• carbohidratos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• % humedad</li> <li>• % Ceniza</li> <li>• % Grasa</li> <li>• % Proteínas</li> <li>• % carbohidratos</li> </ul>

Fuente: Hernández y Pereira, 2023

**Tabla 4.** Operacionalización de la variable del porcentaje de análisis proximal

<b>1 Variable</b>	<b>2 Tipo de Variable</b>	<b>3 Definición Conceptual</b>
Estudio fitoquímico	Independiente	Son pruebas químicas que se realizan para determinar los componentes químicos presentes en las plantas, con el fin de detectar lo relacionado con alguna actividad biológica (44).
<b>4 Definición Operacional</b>	<b>5 Dimensiones</b>	<b>6 Indicadores</b>
Pruebas químicas cualitativas de coloración y precipitación (44).	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alcaloides</li> <li>• Flavonoides</li> <li>• Tanino</li> <li>• Triterpenos</li> <li>• Quinonas</li> </ul>	Aparición de precipitado, turbidez, espuma o coloración.

Fuente: Hernández y Pereira, 2023

**Tabla 5.** Operacionalización de la variable de Toxicidad sobre *Artemia salina*

1. Variable	2. Tipo de Variable	3. Definición Conceptual
Toxicidad sobre <i>Artemia salina</i>	Dependiente	Es un ensayo que permite evaluar la toxicidad de extractos y productos aislados de plantas sobre larvas de <i>Artemia salina</i> , (43).
4. Definición Operacional	5. Dimensiones	6. Indicadores
Mediante la exposición de los nauplios de <i>Artemia salina</i> a los extractos naturales, para determinar valores de dosis letal (LD <sup>50</sup> ) (43).	Extremadamente toxicógeno Altamente toxicógeno Moderadamente toxicógeno Ligeramente toxicógeno Prácticamente no toxicógeno Relativamente inocuo.	formula: % Letalidad=NM/NV x 100

Fuente: Hernández y Pereira, 2023

**Hipótesis**

Estudios previos han demostrado que la especie *Amaranthus dubius* presenta un valor nutricional y una composición química que está relacionada con los potenciales beneficios que se le atribuyen en distintas partes del mundo, por lo que es posible que las hojas de *A. dubius*, que se recolectó en el estado Barinas Venezuela, presenten un buen perfil nutricional y metabolitos secundarios que puedan influir sobre la toxicidad sobre *Artemia salina*.

### **Hipótesis Nula**

Estudios previos han demostrado que la especie *Amaranthus dubius* presenta un valor nutricional y una composición química que está relacionada con los potenciales beneficios que se le atribuyen en distintas partes del mundo, por lo que es posible que las

hojas de *A. dubius*, que se recolectó en el estado Barinas Venezuela, no presenten un buen perfil nutricional ni metabolitos secundarios que puedan influir sobre la toxicidad sobre *Artemia salina*.

### **Objetivos de la investigación**

#### **Objetivo General**

Confirmar la composición nutricional de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* y los principales componentes químicos presentes en los extractos y la posible actividad ecotóxica de su extracto etanólico.

#### **Objetivos específicos**

- Determinar el valor nutricional de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius*, a través del análisis proximal
- Identificar la composición química de los extractos hexanóico, diclorometanoico y etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*.
- Comprobar la toxicidad que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius* frente a los nauplios de *Artemia salina*.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Tipos de investigación**

Según Hurtado (46), los tipos de investigación están relacionados con la clase de estudio que se realiza durante el proceso de investigación. Los cuales son: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva,

confirmatoria y evaluativa. Por lo tanto, se analizó cada uno de ellos, se determinó que esta investigación es de tipo confirmatoria, ya que se confirmó la relación entre el análisis nutricional, estudios fitoquímicos y la toxicidad de las hojas d sobre los nauplios de *A. salina*.

### **Diseño de investigación**

Para la recolección de los datos se requirió un diseño de investigación representado por las estrategias pertinentes. Al respecto, Hurtado refirió que tales estrategias están representadas por el dónde, cuándo y la amplitud de la información que se quiere recolectar (46). Específicamente, el dónde en esta investigación está representado por un diseño de campo, porque la planta fue recolectada en una población de Barinas; de laboratorio porque la muestra fue procesada en el laboratorio de Análisis Fisicoquímico de Alimentos del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes; por lo tanto, el diseño será de laboratorio. Con respecto al cuándo, el diseño será contemporáneo y transeccional, ya que la información se recolectó en el presente y una sola vez en cada unidad de investigación. En cuanto a la amplitud de la información, el diseño será multivariable, ya que el evento de estudio está constituido por un objeto (análisis nutricional) y dos sujetos de estudio (estudio fitoquímico y ecotóxico).

### **Población y Muestra**

### **Unidad de investigación**

Según Hurtado (48), la población es el conjunto de seres que poseen características o eventos de interés, requiriéndose la selección de una muestra. En correspondencia con lo

anterior dicho, la población de la presente investigación es la especie *Amaranthus dubius*, que fue recolectado en la localidad del Socopó en el estado de Barinas.

### **Selección del tamaño de la muestra**

La muestra de esta investigación estuvo representada por las hojas frescas de la especie *Amaranthus dubius* en estudio, se recolectaron dos kilos tomando en cuenta que el porcentaje de humedad formó parte del peso total, el cual se disminuyó después del secado.

### **Sistema de variables**

Las variables de esta investigación están representadas por las hojas de *Amaranthus dubius*. Las dimensiones son: el valor nutricional (humedad, cenizas, grasa, proteínas, carbohidratos), el estudio fitoquímico (los metabolitos secundarios), y la toxicidad (dosis letal<sub>50</sub>). Esta investigación es confirmatoria, se centra en dos variables, dependiente e independiente. las variables dependientes (1) toxicidad frente a *Artemia salina*. Las variables independientes (1) análisis nutricional, (2) estudio fitoquímico.

### **Instrumento de recolección de datos**

Según Palella y Martins (45), un instrumento permite recolectar los datos relacionados con los objetivos y los indicadores obtenidos de la operacionalización de las variables. Por lo tanto, los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos de esta investigación estarán representados mediante el uso de tablas, planillas para resultados, fotos, estudio estadístico (PROBIT). En las cuales se registraron los resultados de la valoración nutricional, estudio fitoquímico y la toxicidad de la planta a estudiar.

También de imágenes referentes a las diversas reacciones observadas durante el estudio fitoquímico.

## Procedimientos de la investigación

### Recolección del material vegetal.

Las hojas de *Amaranthus dubius* se recolectaron en la Parroquia Ticoporo del municipio Antonio José de sucre, Sector las alcantarillas, a una altitud de 450 msnm. Se tomó aproximadamente (2 kg) de las hojas para su identificación y elaboración de un váucher. La planta fue identificada botánicamente por el Prof. Pablo Meléndez, adscrito al Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, de la Facultada de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Se depositó una muestra para el váucher en el herbario MERF “Dr. Luis Enrique Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Municipio Libertador estado Mérida. El resto del material recolectado, fue llevado al departamento de Ciencias de Los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, para su posterior análisis (Figura 17).



**Figura 17.** Váucher de la muestra de *Amaranthus dubius*, depositada en el Herbario MERF.

## Análisis Proximal de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius*

Se realizó en el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión de las profesoras: Rosa Alba Vielma y Marielba Morillo.

### **Determinación de humedad.**

Métodos gravimétricos directos: Se pesaron 3 g de la muestra asignada, sobre un vidrio de reloj previamente pesado. luego se llevó a la estufa a una temperatura de  $100 \pm 5$  °C durante 12 horas. Posteriormente se retiró de la estufa, se enfrió en el desecador y se pesó. Este procedimiento se realizó varias veces hasta alcanzar peso contante (figura 17) (40). Se calculó el porcentaje de sólidos totales de la muestra. Para ello, se aplicó el siguiente cálculo:

$$\%H = \frac{(\text{Peso (Capsula + muestra)} - \text{peso (capsula + muestra después de secar)}) / \text{peso de muestra}}{\text{peso de muestra}} \times 100$$



**Figura 18.** Procedimiento de determinación de humedad

### **Determinación de cenizas totales**

Se pesaron 3 gr de la muestra asignada, sobre un crisol de porcelana previamente tarado e identificado por la parte inferior con un lápiz de grafito. Seguidamente se quemó

la materia orgánica en el crisol sobre una rejilla de asbesto, por calentamiento directo con la llama de un mechero (en campana). Posteriormente, utilizando una pinza metálica se colocó el crisol con el residuo en una bandeja de charol y se llevó a la mufla calentada a no más de 550 °C. Se incinero hasta obtener cenizas libres de carbón (12 horas aproximadamente). Se retiro de la mufla, y se dejó enfriar en el desecador. Finalmente, se pesó (figura 18). Se calculó el porcentaje de cenizas totales por diferencia de peso, para ello se aplicó la formula como en el caso de determinación de humedad por gravimetría (40).



**Figura 19.** Procedimiento de determinación de cenizas totales

### **Determinación de Grasa Cruda**

Método de extracción de grasa con equipo VELP 148: Se pesaron 3gr de muestras frescas (P0) fueron colocadas directamente en el cartucho de algodón (celulosa). Posteriormente, se pesaron las copas de extracción con perlas de vidrio (previamente limpias, rotuladas y taradas) (P1). Inmediatamente, se abrió un poco el paso de agua al

equipo, y se conectó al enchufe eléctrico, se subió el breaker y se encendió el mismo, se abrió un poco más el paso del agua y se colocó el programa establecido y estandarizado el cual tenía programado lo siguiente: las bandas de Vitón con el punto de ebullición entre 30-80 °C y la temperatura del plato para éter de petróleo en 110 °C. Se colocó un tiempo de inmersión de 40 min. se procedió a montar las muestras en el equipo, conectando los adaptadores metálicos a los cartuchos de algodón y se colocaron en la parte imantada, luego se agregan 50 mL de éter de petróleo a las copas de extracción y se colocaron centradas en el plato correspondiente una vez rotuladas. Se cierra el sistema con la palanca de sellado, se procede a iniciar el programa, y comienza el tiempo de inmersión (40 min.) de la muestra (figura19). Cuando terminó el tiempo de inmersión, el equipo produjo una alarma y se procedió a bajar las palancas frontales y se colocó el equipo en lavado (60 min.) presionando botón enter. Al terminar el tiempo de lavado el equipo nuevamente avisó y se procede a colocar las palancas frontales en recuperación ( $\pm$  45 min.) y dando un giro hacia la derecha de las llaves para recuperar el solvente presionando botón enter (40).

Finalizada la recolección del solvente que depende del tiempo de acuerdo a la muestra, se abre el sistema de sellado hermético llevando las copas de extracción a la estufa a 100 °C durante 10-15 min., luego estas se colocaron en el desecador por un tiempo de 30 min., antes de proceder a pesar (P2) y obtener el extracto graso. Finalmente se apaga el equipo, se recupera el solvente colocando los beaker centrados y extrayendo lentamente el éter, se cierra la llave de paso de agua (40).

La fórmula para la determinación del % de grasa cruda:

$$\% G = ((Pbg - PbV) / (PM)) \times 100$$

Dónde:

%G= Contenido de lípidos crudos

PBV= Peso del balón vacío limpio y seco (g)

PBG= Peso de balón con grasa (g)

PM= Peso de la muestra (g)



**Figura 20.** Procedimiento de determinación de grasa cruda

**Determinación de proteína.**

Método MicroKjeldahl para determinar proteínas totales.

**Digestión:** Una cantidad de muestra homogénea equivalente a 0,1 g de materia orgánica seca, se pesó y transfirió a un balón Kjeldahl de 30 mL de capacidad. Se agregó 0,01 g de sulfato cúprico pentahidratado; 0,1 g de sulfato de sodio, 2,0 mL de ácido sulfúrico concentrado y se adiciona además algunas perlas de vidrio. Posteriormente se coloca el balón con la muestra en el digestor, calentando a temperatura baja hasta que cese la formación de espuma y luego se aumentará progresivamente la temperatura (esto no permite que se escape el ácido del balón por exceso de calor, lo que pudiera producir pérdidas de nitrógeno por volatilización de las sales de amonio). Al finalizar la fase de digestión el digerido pasará de un color negro a un color verde claro, límpido. Enfriar a temperatura ambiente (40).

**Destilación y Recolección:** La muestra obtenida en el proceso de digestión, se disolvió en el balón con una pequeña cantidad de agua destilada utilizando una piseta, teniendo cuidado de no arrastrar las perlas de vidrio al destilador. Seguidamente se colocó a la salida del destilador una fiola de 100 mL de capacidad, conteniendo 5 mL de solución de ácido bórico al 4% y 3 gotas de la solución indicadora Tashiro (2 partes de rojo de metilo al 0,2 % y 1 parte de azul de metileno al 0,2 %), de modo que la punta del refrigerante quede sumergida en la solución que contiene el ácido bórico conjuntamente con el indicador. Posteriormente, se transfirió el digerido ya diluido con agua destilada, a la cámara interna de destilación, haciendo 5-6 lavados sucesivos con proporciones de 1 a 2 mL de agua

destilada. A continuación, se adicionó 8 mL de la solución de NaOH–Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, se lavó ligeramente el embudo con agua destilada y se cerró las llaves de vidrio del aparato (figura 20). Finalmente se encendió el generador de vapor y destiló hasta recoger unos 50 mL de muestra. Es importante resaltar, que durante la recolección de la muestra se observó un cambio de color fucsia a verde esmeralda (40).

**Titulación:** En una bureta de vidrio de 50 mL, se transfirió con ácido clorhídrico 0,02 N, hasta el enrascado y se tituló directamente hasta lograr la neutralización de la muestra y se observó el cambio de color de verde esmeralda a fucsia, momento en el cual finaliza la titulación (40).

El porcentaje de nitrógeno y de proteínas totales en la muestra fue calculada aplicando la fórmula correspondientes y empleando el factor apropiado (40).

Cálculos.

Fórmula para determinar el porcentaje de nitrógeno total:

$$\% \text{ N} = ((V_{AC} \times N_{AC} \times 14) / (10 \times 100))$$

Donde:

$N_{AC}$ = Normalidad del ácido (0,02 N)

$V_{AC}$ = Volumen del ácido clorhídrico

$PM$ = Peso de la muestra (g)

Fórmula para la determinación de proteínas totales

$$\% P = \% \text{ N} \times 6,25 = \text{Proteína} \times 6,25 = \underline{\text{Proteína (g)}}$$

100 mL



**Figura 21.** Equipos para la determinación de proteína.

### **Determinación de Carbohidratos Totales**

La determinación de los carbohidratos totales, se obtienen al calcular por diferencia de peso. Se realiza primero la determinación de los porcentajes de humedad, cenizas, grasas, proteínas y con la sumatoria de estos compuestos se realiza la diferencia de peso con el 100 %. El resultado de este cálculo me indica el porcentaje de carbohidratos (40).

$$\text{Extracto libre de nitrógeno (\%)} = (H + P + G + C) - 100$$

Donde:

H = Contenido de humedad (%)

P = Contenido de proteína cruda (%)

G = Contenido de grasa cruda (%)

C = Contenido de ceniza (%)

### **Estudio Fitoquímico de los extractos de las hojas de *Amaranthus dubius***

#### **Preparación de los extractos vegetales.**

Extractos de hexano, diclorometano y etanol de las hojas de *Amaranthus dubius*:

Dos kilogramos de las hojas de *Amaranthus dubius* fueron secados en una estufa a 45° C por 48 horas, luego se pesó el material vegetal seco en la balanza Denver instrumental XL3100, el cual fue molido y pesado nuevamente. Posteriormente, se tomó 38,85 g del material y se colocó en un balón de 250 mL con 150 mL de hexano. Se filtró y se evaporo el solvente, usando el rotaevaporador IKA RV 10 digital a 45 °C, este procedimiento se realizó de la misma forma con diclorometano y etanol (Figura 21) (40).



**Figura 22.** Preparación de los extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*.

### Estudio fitoquímico

La determinación de la composición química a través del estudio fitoquímico, se llevó a cabo en el laboratorio de Análisis Fisicoquímico de Alimentos del Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis ULA, bajo la supervisión de los profesores: Rosa Alba Vielma, Marielba Morillo y Tomas Visbal. Para la determinación de ciertos compuestos químicos presentes en los extractos de hexano, diclorometano y etanol de las hojas de *Amaranthus dubius*, se realizó una serie de pruebas químicas:

#### **Alcaloides. Ensayo de Wagner:**

En un tubo de ensayo se colocó 100 mg del extracto etanólico y se le adiciono cinco mililitros de ácido sulfúrico 10 %. Se colocó el tubo en baño de maría hasta ebullición por 30 minutos, luego se filtró y se distribuyó en tres tubos de ensayo, además se

le adicionó a cada tubo gotas del reactivo correspondiente (Wagner). La aparición de turbidez o precipitado, indicó la positividad de la prueba (42).

**Terpenos y/o esteroles. *Ensayo de Lieberman – Burchard* Técnica:**

En un tubo de ensayo se colocó 0,5 mL de diclorometano y se le adicionó 0,5 mL de ácido acético, luego se procedió a agregar cuidadosamente por las paredes del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se consideró positiva la prueba cuando apareció una coloración roja (*terpenos*) o verde (*esteroles*), Se realizó el mismo procedimiento con el extracto hexanoico y etanólico (42).

**Saponinas. *Ensayo de la espuma*:**

En un tubo de ensayo se colocó una pequeña cantidad del extracto etanólico y se adicionó un mililitro de agua, luego se agitó vigorosamente durante un minuto. La formación de una espuma en la superficie del líquido de más de dos milímetros de espesor o altura y que persista por más de cinco minutos, indica la presencia de saponinas. Asimismo, se realizó con el extracto de diclorometano (42).

**Taninos. *Prueba de gelatina*:**

En un tubo se prepara una solución al 10 % de gelatina, se le adiciona el extracto etanólico disuelto en agua y en contacto con el extracto acuoso. La producción de desnaturización de la proteína que se evidencio con la presencia de la ruptura de la gelatina, indica la positividad de la prueba (42).

### **Flavonoides. *Ensayo de Shinoda***

En un tubo de ensayo se colocó un mililitro de solución del extracto de diclorometano, se añadió algunas virutas de magnesio (Mg), luego se adicionó cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. La aparición de color naranja se considera una prueba positiva. Se realizó el mismo procedimiento con el extracto etanólico (42).

### **Quinonas. *Prueba de NH<sub>4</sub>OH***

En un tubo de ensayo se colocó extracto etanólico disuelto en etanol, se adicionó dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. La prueba se considera positiva al presenciarse una coloración roja que aparece en los dos primeros minutos (42).

**www.bdigital.ula.ve**

### **Polifenoles. *Prueba con FeCl<sub>3</sub>***

En un tubo de ensayo se colocó un mililitro de solución alcohólica del extracto diclorometanico, luego se le agregó una gota de solución acuosa de cloruro férrico al 10 %. La formación de color azul o verde indica la presencia de fenoles. Se realizó el mismo procedimiento con el extracto etanólico (42)

### **Evaluación de toxicidad frente a Nauplios de *Artemia salina*.**

El ensayo de toxicidad frente a los nauplios de *Artemia salina* del extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*, se realizó en el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión de los profesores: Rosa Alba Vielma y el Dr. Tomás Visbal (Figura 22). Este método estándar se basó en la

determinación de la concentración o dosis que causa la muerte al 50 % de la población de larvas de este crustáceo en 24 horas, siendo conocida esta dosis como dosis letal 50 (DL50) (43).

El bioensayo que se realizó, se basó en la determinación de la concentración o dosis de los extractos etanólicos de las hojas de *Amaranthus dubius*, esta dosis es conocida como dosis letal<sub>50</sub>. En el procedimiento primero se preparó una solución marina (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones para el desarrollo de los nauplios de *Artemia salina*, la misma se mantuvo en aireación con un burbujeador durante setenta y dos horas con la finalidad de oxigenarla. En la Tabla 6, se muestra la composición de la solución marina.

Después de la aireación de la solución marina, esta se dividió en dos fiolas de 500 mL aproximadamente cada uno, en una de las fiolas se añadió 200 mg de quistes manteniendo una temperatura constante de  $28 \pm 2$  °C por 24 horas (tiempo necesario para su eclosión); la solución contenida en el otra fiola se utilizó como diluyente para preparar las diluciones del extracto etanólico y llenado de las placas (ambos recipientes se mantienen en aireación constante) (43).

**Tabla 6.** Preparación del agua artificial, usada en el cultivo y eclosión de los quistes del crustáceo *Artemia salina*.

Sales	g/L
Cloruro de sodio (NaCl)	27,65
Sulfato de magnesio hexahidratado (MgSO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O)	14,29
Cloruro de magnesio hexahidratado (MgCl.6H <sub>2</sub> O)	5,18
Cloruro de potasio (KCl)	0,697
Bicarbonato de sodio (NaHCO <sub>3</sub> )	0,143
Carbonato de sodio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	0,035
Cloruro de calcio (CaCl <sub>2</sub> )	1,54
Agua destilada estéril	1000mL

Fuente: Elaboración propia con base en la referencia (42)

El bioensayo se realizó en placas de microtitulación (96 pozos), a cada pozo se le adicionó 130  $\mu$ L de solución salina (aireada), para luego colocar aproximadamente quince larvas con una micropipeta, y ya que estas larvas presentaran fototropismo, se iluminó una zona del envase que las contenía para concentrarlas y facilitar su recolección, tomando un volumen de 10  $\mu$ L de la solución con larvas. Posteriormente se adicionó a cada pozo 10  $\mu$ L de levadura comercial. Las placas se incubaron en un área con iluminación permanente por 24 horas, para excitar su actividad metabólica (43).

Transcurrido este tiempo de incubación se colocaron 50  $\mu$ L del extracto etanólico a evaluar, a distintas concentraciones (5, 25, 250, 750, 1250 y 2500 ppm). El extracto se diluyó con DMSO y solución marina, además se incluyó, un grupo control negativo (con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra a ensayar) y un grupo control positivo (Dodecil sulfato de sodio [ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$ ] (DSS)), con seis replicas para cada grupo (43).

Durante el bioensayo se registró el número de nauplios puestos inicialmente en cada pozo (NV), y al cabo de 24 horas de contacto con los extractos ensayados se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM) para determinar la dosis letal<sub>50</sub> con un intervalo de confianza del 95 % (figura 22), utilizando el método de análisis Probit, con el software SPSS 15.0 para Windows (43).

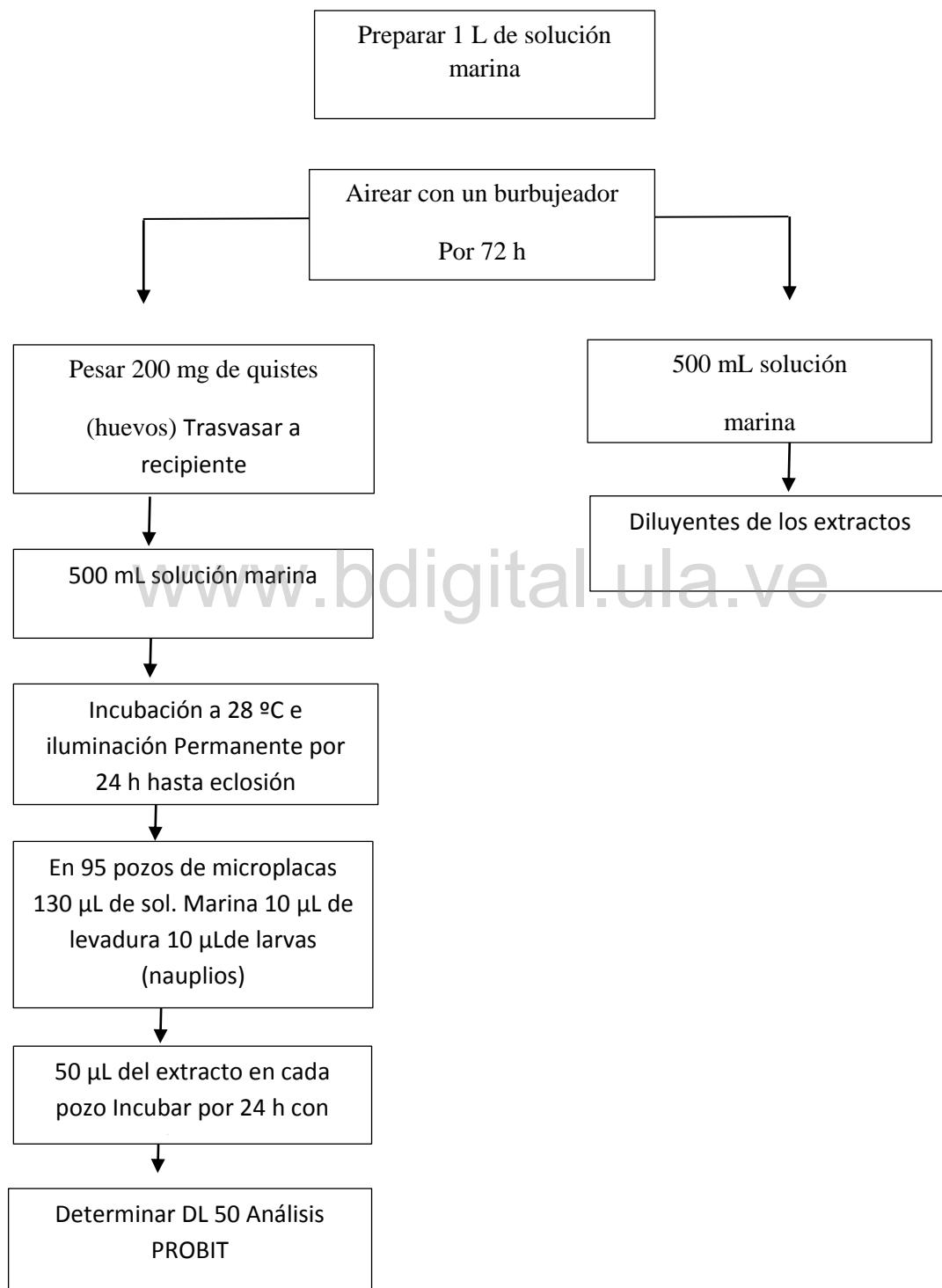
Finalmente, la DL<sub>50</sub> de los extractos y de los blancos evaluados se clasificó según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) (43).



**Figura 23.** Evaluación de toxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*

En el Esquema 1, se presenta el protocolo de cómo se realizó la identificación de toxicidad sobre la *A. salina*.

**Esquema 1.** Protocolo para la determinación de ecotoxicidad sobre *Artemia salina*



## **Diseño de análisis**

Los datos recolectados durante la fase interactiva de la investigación fueron analizados a través de un enfoque cuantitativo de operaciones matemáticas, tal como lo refirieron Palella y Martin (45). Es importante resaltar, que el universo estadístico de esta investigación estuvo representado por las hojas de *Amaranthus dubius*, en quienes está la característica en estudio: los valores nutricionales, la toxicidad y los fitoquímicos. La población estadística estuvo representada por el conjunto de valores de la característica en estudio. A su vez, la muestra fue representada por el subconjunto de valores de la población estadística, presentes en las muestras de 2 kilos de hojas de *Amaranthus dubius* recolectada (45).

Las variables, características en estudio, que se midieron tuvieron como punto de partida su naturaleza cualitativa y cuantitativa. En consecuencia, tuvieron una escala de medida nominal, ordinal y razón, respectivamente. Los valores o datos fueron analizados a través del diseño, bicategórico y multicategórico, a través del sistema SPSS (Statistical Package for the Social Science versión 21.0). El análisis estadístico se realizó en una fase: descriptiva: frecuencias simples, porcentuales, válidas, acumuladas, análisis de contingencia y correspondencia (45).

## **Sistematización de los resultados**

Los resultados fueron sistematizados a través de tablas, gráficos, programa estadístico PROBIT y diagramas. El fin de esta sistematización fue contribuir con la interpretación de los resultados. De esta manera, se contribuyó con la respuesta al enunciado holopráxico. A su vez, se obtuvo el conocimiento nuevo formulado en el objetivo general y sistematizado a través de los sublogros presentes en los objetivos específicos (45).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Resultados

#### Análisis proximal de la harina de *Amaranthus dubius*

Una serie de pruebas fueron ejecutadas para la composición química proximal de la harina de *Amaranthus dubius*. El análisis bromatológico reveló que la harina de *A. dubius*, en base seca, tiene un promedio de 28,561 % de proteína; 15,784 % de ceniza y 55 % de carbohidratos, asimismo se determinó que la harina de *Amaranthus dubius* presento un bajo contenido de lípidos (0,54 %) y humedad (0,16 %) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Composición química de la harina de *Amaranthus dubius*

Composición	%
Humedad	0,16 ± 0,14
Ceniza	15,72 ± 0,07
Proteína	28,55 ± 0,30
Lípidos	0,54 ± 0,06
Carbohidratos	55,00

Los datos son expresados como el promedio de las observaciones ± su desviación estándar con n=3

#### Determinación del % del rendimiento de los extractos hexanólico, diclorometano y etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*

Para la determinación del porcentaje de rendimiento se utilizó la siguiente formula:

$$\% R = \frac{\text{Peso final del extracto obtenido}}{\text{Peso incial de la muestra}} \times 100$$

En la Tabla 8, se muestran los resultados del porcentaje de rendimiento de las hojas de *Amaranthus dubius*.

**Tabla 8.** Porcentaje de rendimiento en los extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*

	EE	EDCM	EH
<b>Peso inicial en seco (g)</b>	98,1675	21,9293	21,3716
<b>Peso final (g)</b>	0,4115	0,3197	0,0581
<b>% R</b>	0,41918	1,4578	0,2718

EE: extracto etanólico, EDCM: extracto diclorometano, EH: extracto hexanoico, %R: porcentaje de rendimiento.

### Estudio fitoquímico de extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*

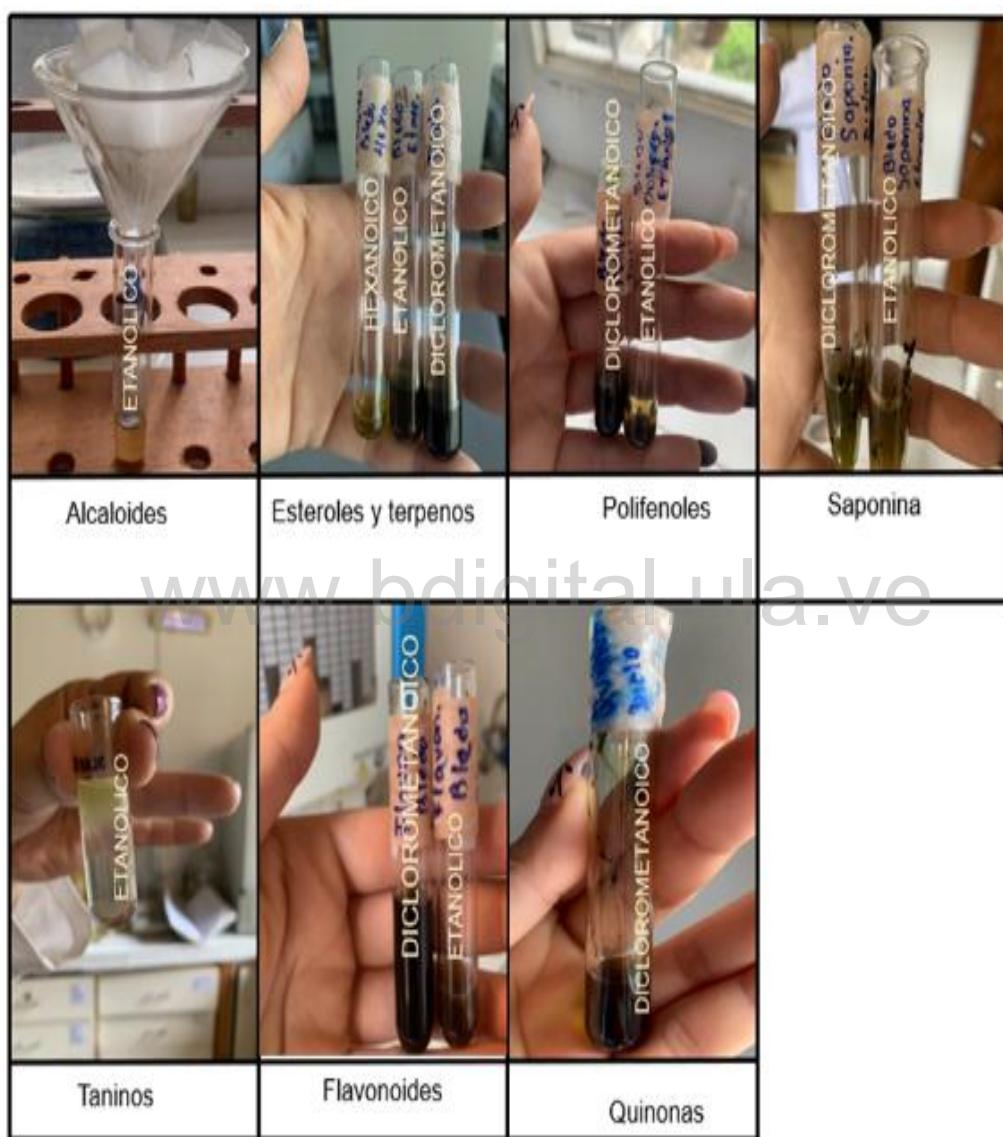
Los resultados del estudio fitoquímico son de naturaleza cualitativa, los cuales dan evidencia de la presencia de los compuestos químicos en los diferentes extractos en estudio por la aparición de determinados colores o precipitados. En la Tabla 9, se muestran los resultados del estudio fitoquímico.

**Tabla 9.** Estudio fitoquímico de los extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*

Metabolitos Secundarios	Pruebas	Extractos		
		Hexanoico	Diclorometanoico	Etanolico
Alcaloides	Wargner	nd	nd	+
Esteroles	Liebermann- Burchard	+	++	+
Terpenos	Liebermann- Burchard	-	-	+
Polifenoles	FeCl <sub>3</sub>	nd	+	+
Flavonoides	Shinoda	nd	-	-
Saponina	Prueba de la Espuma	nd	+	+
Taninos	Prueba de la Gelatina	nd	nd	+
Quinonas	Prueba de NH <sub>4</sub> OH	nd	-	nd

+++ Muy abundante, ++ abundante, + presente en poca concentración, nd= no determinado

Las diferentes pruebas realizadas en el laboratorio, permitieron revelar la presencia de los metabolitos secundarios presentes en los diferentes extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*, encontrando en el extracto hexanóico presencia de esteroles, en el diclorometanoico presencia de esteroles, polifenoles, saponinas y en el etanólico presencia de alcaloides, esteroles, terpenos, polifenoles, saponinas, y taninos (Figura 23).



**Figura 24.** Resultados del estudio fitoquímico de los extractos hexanoico, diclorometanoico y etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*

## Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *Amaranthus dubius* frente a *Artemia salina*

La actividad ecotóxica fue evaluada mediante el porcentaje de letalidad que presentaron los nauplios de *Artemia salina*, frente a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*, a través de este método se logró determinar la DL<sub>50</sub> del extracto.

En la Tabla 10, Se evidenciaron los resultados del bioensayo de letalidad de *Artemia salina*, aplicado al extracto etanólico de las hojas de *Amaranthus dubius*, y los controles sobre *Artemia salina*.

**Tabla 10.** Cuantificación de la DL<sub>50</sub> de los extractos etanólicos de las hojas de *Amaranthus dubius* y los controles sobre *Artemia salina*.

Extracto	DL <sub>50</sub> (PPM)	Límite de confianza (95%) ppm			Categoría según el CYTED
		Límite inferior	Límite superior		
Partes Aéreas	2741,82	1872,67	8636,11		Relativamente inocuo
DMSO	-	-	-		Inocuo
DDSS	23,372	13,507	28,026		Altamente tóxico

DL<sub>50</sub>: dosis letal50; (-): valores muy altos; DMSO: dimetilsulfoxido; DDSS: dodecilsulfato de sodio.

Se evidencio que el extracto etanólico de las hojas de *A. dubius* son relativamente inocuo sobre los nauplios de *Artemia salina*; es decir, posee bajas concentraciones de sustancias tóxicas.

## Discusión

En el tiempo actual la escasez y los altos costos de los productos, ocasionan una mala alimentación y a su vez enfermedades que pueden ocasionar daño a la salud. La búsqueda de componentes nutricionales y biológicos permiten ser una alternativa para el consumo animal y humano. En consecuencia, el análisis proximal de la harina de las hojas de *Amaranthus dubius*, proporcionaron datos importantes acerca de los contenidos de humedad, cenizas, proteína, carbohidratos y grasa cruda de dicha muestra.

Es importante resaltar que en este estudio se utilizó la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* para el análisis nutricional, con el objetivo de confirmar su potencial para el consumo humano y animal.

En el contenido de humedad, se realizó el análisis correspondiente en la harina estudiada de las hojas de la planta, siendo diferente en el resultado obtenido en otra investigación. En el estudio realizado por Ousanya, Kolanisi y Ngobese (14), el porcentaje de humedad en la harina de las hojas de *A. dubius* fue de 4,41 %, el cual es un porcentaje mayor al obtenido en esta investigación, que fue de 0,16%.

Un aspecto importante que influye en el potencial nutricional de un alimento es el contenido de proteínas. En un trabajo por Montero, Moreno, Molina Sánchez (5) reportaron un contenido de proteínas 26,68 %; mientras que los resultados de proteína de los investigadores Ousanya, Kolanisi y Ngobese (14) fue de 31,56 %. Arellano, Albaracín, Arce y Mucciarelli (48) obtuvieron 22,12 %. Acevedo, García, Perdomo (59) de 24,82-28,51 %. Siendo resultados cercanos a los de esta investigación, que se obtuvo 28,55 % de proteína de la harina de las hojas de *A. dubius*.

En el porcentaje de cenizas correspondiente en la investigación de Ousanya, Kolanisi y Ngobese (14) fue de 17,97 %. Montero, Moreno, Molina, Sánchez (5), reportaron un contenido de 20,18 % en las hojas de *A. dubius*; Arellano, Abarracín, Arce y Mcciarelli (48), obtuvieron 19,32%; Acevedo, García, Perdomo (49), Documentaron un 25,85 27,90 y 60,43 % de las hojas en tres parroquias diferentes. Estos resultados antes mencionados fueron comparados con los obtenidos en esta investigación, los cuales fueron un poco más bajos, 15,72 % de ceniza de la harina de las hojas de la planta.

En lo que se refiere al estudio de los lípidos, se determinó un contenido de 0,54 % de grasa en las hojas de *A. dubius* en la presente investigación. Por su parte Ousanya, Kolanisi y Ngobese (14), obtuvieron 4,47% de lípidos; Montero, Moreno, Molina Sánchez (5), fue de 1,04%; Arellano, Abarracín, Arce y Mcciarelli (48), de 1,28%. Acevedo, García, Perdomo (49), 1,32-2,28 %. En relación a los valores obtenidos de los autores descritos, se observó un menor porcentaje de grasas en la presente investigación.

Otro de los componentes presentes en la harina de las hojas de *Amaranthus dubius* son los carbohidratos, se calculó con la sumatoria de los resultados obtenidos de humedad, proteína, ceniza y grasa, luego se realizó la diferencia de peso con el 100 %, dando como resultados un 55 % de carbohidratos. Años atrás los investigadores Ousanya, Kolanisi y Ngobese (14), obtuvieron resultados de 41,6 % de carbohidratos; Arellano, Albaracín, Arce y Mucciarelli (48), de 53,18 %. Siendo resultados aledaños a los obtenidos en la presente investigación.

Otro aspecto a mencionar es el estudio fitoquímico, el cual se realizó con el fin de detectar compuestos como alcaloides, Triterpenos, esteroles, saponinas, taninos flavonoides, quinonas que son metabolitos secundarios presentes en especies vegetales. Es de mencionar, que los análisis fueron realizados con los extractos obtenidos de las hojas de *Amaranthus dubius*. Paredes, Lucrecia, Monar (17), realizaron estudios fitoquímicos a través de extractos en las hojas de *A. dubius*, determinaron cualitativamente la presencia de alcaloides, quinonas, flavonoides, ácidos grasos, azúcares reductores, fenólicos, taninos y terpenos. Los compuestos fitoquímicos resultantes en esta investigación mostraron la presencia de alcaloides, esteroles, terpenos, polifenoles, saponinas y taninos. Coinciendo la presencia de alcaloides, taninos y terpenos del autor antes mencionado con el reporte de esta investigación, es importante mencionar que los terpenos favorecen al sistema inmunológico reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares (37). Además, Montero, Moreno, Molina y Sánchez (5), obtuvieron presencia de fenoles totales al igual que esta investigación; Molina, Moreno, Montero, Chirinos y Sánchez (15), documentaron presencia de fenoles totales y taninos, igual a los componentes obtenidos en esta investigación hubo presencia de fenoles y taninos; Hyoung, Kyung, Won, Seahee, Ick, Seong, Hyunwoo, Tae, Jeehye, junsoo, Yoon y Wook et al (50), obtuvieron presencia

flavonoide y polifenoles. A diferencia del presente estudio no fue detectado el compuesto fitoquímico flavonoides, pero sí presencia de polifenoles ya antes dicho.

Son muy pocos los trabajos que se han publicado sobre la toxicidad del *Amaranthus dubius* con respectos a los compuestos tóxicos presentes en las hojas de la planta, pero no se encontró investigaciones con respecto a la categorización de toxicidad de la planta. Por lo tanto, este estudio representa un avance en la investigación de la toxicidad del *Amaranthus dubius*, ya que los ensayos con *A. salina* son utilizados como vía inicial de tamizaje ecotóxico in vivo de extractos, fracciones y compuestos depurados, con el fin de discriminar aquellas muestras de elevada toxicidad, debido a que presenta buena correlación con la ecotoxicidad in vitro.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

1. En la investigación realizada se determinó que las hojas de *Amaranthus dubius* presentaron un alto contenido de proteína (28,55 %), cenizas (15,72 %) y carbohidratos (55 %), pero presenta menor cantidad de humedad (0,16 %) y lípidos (0,54 %), por lo que se puede inferir que estas podrían cubrir los requerimientos de algunos nutrientes exigidos en la nutrición para humanos.
2. Se identificaron los metabolitos secundarios en los diferentes extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*, encontrando en el extracto hexanóico presencia de esteroles, en el diclorometanoico presencia de esteroles, polifenoles, saponinas y en el etanólico presencia de alcaloides, esteroles, terpenos, polifenoles, saponinas, y taninos.
3. Se realizó el ensayo de toxicidad para comprobar si presentaba concentraciones tóxicas. Se evidencio que el extracto etanólico de las hojas de *A. dubius* entra en la categoría relativamente inocuo sobre los nauplios de *Artemia salina*; es decir, posee bajas concentraciones de sustancias tóxicas.

## **Recomendaciones**

- Establecer los componentes tóxicos presentes en el extracto etanólico de *Amaranthus dubius*.
- Realizar estudios sobre la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de *Amaranthus dubius*.
- Determinar los minerales presentes en las en las hojas de *Amaranthus dubius*.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRAFICAS

1. Montero K. Efectos del consumo de panes integrales con harinas de Amaranthus dubius mart. Ex thell y harinas de trigo en ratas con síndrome metabólico. [Tesis doctoral]. Argentina: Universidad de Córdoba; 2014.
2. Caravaca F. Introducción a la alimentación y racionamiento animal: EUITA.Sevilla:[https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&nrm=iso](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&nrm=iso) (último acceso 14 ju julio 2024)
3. Oliva M, Rojas D, Morales A, Oliva C, Oliva M. Contenido nutricional, digestibilidad y rendimiento de biomasa de pastos nativos que predominan en las cuencas ganaderas de Molinopampa, Pomacochas y Leymebamba, Amazonas, Perú: Scientia Agropecuaria. [Internet]. 2015 [consultado el 14 de junio; del 2024]; 6 (3): [211–215] p.[]. Disponible en <https://doaj.org/article/e2cf1e2bb1240e9a3fa401f541fa8fa#:~:text=1%20objetivo%20del%20presente%20trabajo%20de%20investigaci%C3%B3n%20consisti%C3%B3n%20del%20departamento%20de%20Amazonas%3A%20Molinopampa%2C%20Pomacochas%20y%20Leymebamba> E
4. Olivares E, y Peña E. Bioconcentración de elementos minerales en Amaranthus dubius (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación: Interciencia. [Internet]. 2009 [consultado el 13 de junio del 2024]; 24 (9): [604-611] p.[]. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009000900004](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000900004)
5. Montero-Quintero R, Moreno-Rojas E, Molina y, Sánchez-Urdaneta. Composición química del Amaranthus dubius: una alternativa para la alimentación humana y animal. Rev. Fac. Agron [Internet]. 2011 [consultado el 15 de junio del 2024]; 28 (1): [619-627]. Disponible en: [https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento\\_diciembre\\_2011/v28supl1a2011ta\\_619.pdf](https://www.revfacagronluz.org.ve/PDF/suplemento_diciembre_2011/v28supl1a2011ta_619.pdf)
6. Vargas A, Angel F, Chavez J, Kruri A. Procedimiento para la obtención de compuestos fenolicos de quelites mexicanos. Cienciaergo-sum [Internet]. 2024

- [consultado el 16 de junio del 2024]; 32 (238): 5-6 Disponible: file:///D:/Use rs /PcXpress/Download s/18907-73-83595-6-10-20240301.pdf
7. Ochoa L, Sarmiento A. Estudio fitoquímico de la especie vegetal Bucquetia glutinosa (l.f.) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad Biológica. [Trabajo de grado]. Bogotá: Universidad U.D.C.A; 2018 Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/996/TESIS%202018-05-22.pdf;sequence=1>
  8. Venskutonis P, Kraujalis P. Nutritional Components of Amaranth Seeds and Vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses: Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2013, 381–412. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12021>
  9. Jackson A, Capper B, Matty A. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. Aquaculture [Internet]. 1982 [consultado el 12 de junio 2024]; 27 (2): [97-109 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0044848682901296>
  10. Molina E, González P, Moreno R, Montero K, Sánchez A. Efecto de la inclusión de *Amaranthus dubius* en dietas sobre las características de la canal y la calidad de la carne de cerdo de engorde. Revista de investigación aplicada con animales [Internet]. 2018 [consultada 12 de junio 2024]; 46 (1): [218-223 p]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3092/309232878033.pdf>
  11. Castro R, Veliz G. Valor nutritivo de una galleta formulada a base de harina de amaranto, y su aceptabilidad en niños y niñas de 7 a 10 años de edad, que asisten a la Escuela Fiscal Mixta José Mendoza Cucalón de la Ciudad de Guayaquil. [Tesis licenciatura]. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; 2017. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/9067/1/T-UCSG-PRE-MED-NUTRI-330.pdf>
  12. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. Promoviendo la transformación de los sistemas agroalimentarios en México: el rol del amaranto. 2020. <https://www.fao.org/mexico/noticias/etail-events/fr/c/1681339/>
  13. Aderibigbe OR, Ezekiel OO, Owolade SO, Korese JK, Sturm B, Hensel O. Exploring the potentials of underutilized grain amaranth (*Amaranthus* spp.) along the value chain for food and nutrition security: A review. Crit Rev Food Sci Nutr

- [Internet]. 2022 [consultado 15 de junio 2024]; 62 (3): [656-669 p.]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2020.1825323>
14. Olusanya RN, Kolanisi U, Ngobese NZ. Composición mineral y aceptabilidad por parte del consumidor del polvo de Amaranthus suplementado con ujete para mejorar la seguridad nutricional: Foods. [Internet]. 2023 [consultado el 16 de junio 2024]; 12 (11): [21-82 p.]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/11/2182>
15. Molina E, González-Redondo P, Moreno-Rojas R, Montero-Quintero K, Ferrer R, Sánchez-Urdaneta A. Toxic and antinutritional substances content of Amaranthus dubius Mart. ex Thell. Effect of plant part and harvesting season: Rev. Fac. Agron [Internet]. 2016 [consulta 20 de junio 2024]; 33 [19-38]. Disponible: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/44893/Toxic.pdf>
16. Hurtado J. El “para qué”, o los objetivos de la investigación. En: el proyecto de investigación. Comprensión holística de la metodología y la investigación. Edición Quirón. Caracas; 2010.
17. Paredes R, Solís L, Monar S. Estudio farmacognóstico y valor nutricional de las hojas de Amaranthus dubius Mart. (Bledo). [tesis de licenciatura]. Ecuador: Universidad de Guayaquil; 2023. Disponible en: [https://rraae.cedia.edu.ec/Record/U\\_G\\_7a93f225dbdba91381dc92b82a0b7a9e](https://rraae.cedia.edu.ec/Record/U_G_7a93f225dbdba91381dc92b82a0b7a9e)
18. Pacheco Y, Meriño N, Cassiani M, Alcalá L. Efecto de la inclusión de hojas de amaranto (Amaranthus dubius) en las propiedades de yogurt frutado: INGE CUC [Internet]. 2021 [consultado 5 de junio 2024]; 17 (1) [430-350 p.]. Disponible: <https://repositorio.cuc.edu.co/entities/publicacion/3817593-18f7-46c1-9826-f0c167a96fa>
19. Brirez M, Rolhaiser F, Romero A, Romero M. Incorporación de harina de amaranto para la obtención de bocaditos de carne con bajo contenido de grasa: Dialnet [Internet]. 2020 [consultado 20 de junio 2024]; 11 (3): [35-45 p.]. Disponible en: [http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci\\_Abstract&pid=S139065422020003000035&lng=pt&nrm=iso#:~:text=El%20objetivo%20de%20este%20trabajo%20fue%20evaluar%20el,la%20forma%20de%20incorporar%20la%20harina%20de%20amaranto.](http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_Abstract&pid=S139065422020003000035&lng=pt&nrm=iso#:~:text=El%20objetivo%20de%20este%20trabajo%20fue%20evaluar%20el,la%20forma%20de%20incorporar%20la%20harina%20de%20amaranto.)

20. Molina E, González-Redondo P, Moreno-Rojas R, Montero-Quintero K, Chirinos-Quintero N, Sánchez-Urdaneta A. Evaluation of haematological, serum biochemical and histopathological parameters of growing rabbits fed Amaranthus dubius: *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2018 Apr; 102; 525a533. doi: 10.1111/jpn.12791. Epub 2017 Oct 8. PMID: 28990224
21. Maldonado E. Análisis proteínico del grano de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* y *A. cruentus*) y obtención del mapa proteómico de *Amaranthus cruentus*. [Tesis Doctoral]. Potosí: Instituto Potosino de investigación científico y tecnología, A.C; 2014. Disponible en: <https://ipicyt.repositoryinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/647/3/TDIPICYTM3A62014.pdf>
22. Pérez B, Estudio Entomofaunístico del cultivo de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*): *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* [Internet]. 2011 [consulta 20 de junio 2024]; 2 (3): [359-371]. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-0934201100300005#:~:text=El%20objetivo%20del%20presente%20estudio%20fue](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-0934201100300005#:~:text=El%20objetivo%20del%20presente%20estudio%20fue)
23. Jiménez J. Diseño del proceso de extrusión para la elaboración de un suplemento nutricional con base en la mezcla Amaranto, quinua, chocho y avena. [Trabajo de titulación de contador público autorizado]. Quito: Escuela politécnica nacional; 2017. Disponible en: <https://bibdigital .epn.edu.ec/handle/15000/6444>
24. Allieri C y Pérez P. Estudio del bledo (*Amaranthus dubius*) y sus aplicaciones culinarias en la gastronomía. [Trabajo de titulación de licenciatura]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil; 2017. Disponible en: [https://rraa.cedia.edu.ec/Record/UG\\_4d4922f515e1016dc125ae5de2ab1e44](https://rraa.cedia.edu.ec/Record/UG_4d4922f515e1016dc125ae5de2ab1e44)
25. Aguilera E, Soliz K, Ibarra A, Cifuentes R. Amaranto: distribución y diversidad genético en partes de la región Maya (sureste de México, Guatemala y Honduras): Botánica mexicana [Internet]. 2021 [Internet]; (128): [1738-2021 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/574/57466145005/html/>
26. Schmid, Rudolf; et al. «Plant Systematics: A Phylogenetic Approach». *Taxon* (Wiley) 2007, 56:1316. doi:10.2307/25065934.
27. Arreguez, Guillermo A.; Martínez, Jorge G.; Ponessa, Graciela. «*Amaranthus hybridus* L. ssp. *hybridus* in an archaeological site from the initial mid-Holocene in

- the Southern Argentinian Puna». *Quaternary International* 2013; 307: 81-85. doi.org/10.1016/j.quaint.2013.02.035
28. Tucker, Jonathan B. «Amaranth: The Once and Future Crop»: BioScience [Internet]. 1986 [consultado 22 de junio 2024]; 36 (1): [913]. Disponible en: <https://academic.oup.com/bioscience/article-abstract/36/1/9/336265>
29. Kühn, U, Chenopodiaceae E, Kubitzki K., Rohwer J, Bittrich V. The Families and Genera of Vascular Plants. II. Flowering Plants: Dicotyledons, Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Berlin: Springer, 1993.
30. Bautista M, Pico L. Determinar la factibilidad de producir y comercializar una bebida de amaranto con sabor a chocolate en Bucaramanga y su área Metropolitana. [Trabajo de Grado]. Bucaramanga: Universidad Pontificia Bolivariana Facultad De Administración Y Ciencias Básicas Ingeniería Industrial; 2009. Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.50.0.11912/576>
31. Hotz C, Gibson RS. «Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets»: *J Nutr* [Internet]. 2007 [consulta el 20 de junio 2024]; 137 (4): [1097-100 p.]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316622091891?via%3Dihub>
32. Marcano D, Hasegawa, H. Fitoquímica Orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas – Venezuela; 2002.
33. Roberts C. Producción científica cubana sobre plantas medicinales y productos naturales a partir de la base de datos Plantmedcuba: Revista cubana de plantas medicinales [Internet]. 2013[consultado el 23 de junio 2024]; 18 (3): [348-360 p.]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/po rtal/resource/pt/lil-683108>
34. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. España: Acribia Segunda edición. Zaragoza; 2001.
35. Vélez M, Campos R et al. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal: Tropical and Subtropical Agroecosystems [Internet]. 2014 [consultado el 26 de junio 2024]; 17 (3): [489-499 p.] Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/9393572800>
36. 4.pdf#:~:text=Los%20metabolitos%20secundarios%20muestran%20diferentes%20mecanismos%20de%20acci%C3%B3n,la%20eliminaci%C3%B3n%20de%20H2%

29%20o%20reduciendo%20la%20fermentaci%C3%B3n (ultimo acceso 28 julio 2022).

37. Sepulveda G, Porta E et al. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas: Revista Mexicana de fitopatología [Internet]. 2003 [consultado 22 de junio 2024]; 21(3): [355-362 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>
38. Vélez M, Campos R et al. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal: Tropical and Subtropical Agroecosystems [Internet]. 2014 enero [consultado el 22 de junio 2024]; 17 (3): [489-499 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/939/93935728004.pdf#:tex=Los%20metabolitos%20secundarios%20muestra%20diferentes%20mecanismos%20de%20accción%C3%B3n, la%20eliminación%C3%B3n%20de%20H2%29%20o%20reduciendo%20la%20fermentación%C3%B3n> (ultimo acceso 28 julio 2022).
39. Martínez I, Periago M, Gaspar R. Significado nutritivo de los compuestos fenoles de la dieta: Archivo latinoamericano de nutrición Agroecosystems [Internet]. 2000 marzo [consultado 23 de junio 2024]; 50 (1): [5-18]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262551532\\_Significado\\_nutricional\\_de\\_los\\_comuestos\\_fenolicos\\_de\\_la\\_dieta](https://www.researchgate.net/publication/262551532_Significado_nutricional_de_los_comuestos_fenolicos_de_la_dieta)
40. Acevedo M y López D. Verificación de los métodos para el análisis proximal en leche entera en el laboratorio de análisis de aguas y alimentos de la universidad tecnológica de Pereira. [Trabajo de grado para optar por título de Tecnología química]. Colombia: Universidad tecnológica de Pereira; 2011. Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/handle/11059/2834>
41. Vielma R. Prácticas de Ciencias de los Alimentos. Guía de Laboratorio del Departamento de Ciencia de los Alimentos. Venezuela: Universidad de Los Andes, (2018).
42. Ferrero C. Plantas de la familia Piperaceae. Cundinamarca: editorial Universidad de Cundinamarca 2018. Disponible en: [file:///D:/User/s/PcXpress/Documents/BIOANALISIS/5to%20semestre/elaboracion/libro%20análisis%20fitoquímico%20\(prueba%20artemia%20salina\).pdf](file:///D:/User/s/PcXpress/Documents/BIOANALISIS/5to%20semestre/elaboracion/libro%20análisis%20fitoquímico%20(prueba%20artemia%20salina).pdf)

43. Castellano G. Estudio fitoquímico y actividad biológica de los extractos de las partes aéreas de *cnidoscolus aconitifolius* (Mill.). [Tesis de grado de la carrera de Bioanálisis] Venezuela: Universidad de Los Andes; 2021.
44. Pérez O, Lazo F. Ensayo de Artemia: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales: Rev protección vegetal [Internet]. 2010 [consultado el 26 de junio 2024]. (1): [34-43 p.]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v25n1/rpv08110.pdf>
45. Paella S y Martins P. Metodología de la investigación cuantitativa. Caracas: FEDUPEL; 2012
46. Hurtado J. El proyecto de investigación. Comprensión holística de la metodología y la investigación. Caracas: Quirón; 2012.
47. Maurya N y Arya P. Amaranthus grain nutritional benefits: Journal of Pharmacognosy and phytochemistry [Internet] 2018 [consultado el 28 de junio 2024]; (2) [2258-2262p.]. Disponible: file:///D:/Users/PcXpress/ Downloads/ 7-2-268-836.pdf
48. García L et al. Utilización de *Amaranthus dubius* (Amaranthaceae) como alternativa alimentaria en cerdo criollo mestizado: Rev colombiana científica [Internet]. (2010) [consultado en 23 de junio 2024]; 2(2): [331-337 p.]. Disponible en: file:///D:/sers/PcXpres/Downloads/DialneUtilizacionDeAmaranthusDubiusAmaranthaceaeComoAlte-3356712%20 (3).pdf
49. Arellano M, Albarracín G, Arce S, Mucciarelli S. Estudio comparativo agronómico y nutricional de las especies de amaranto. Pyton (buenos aires). 2004; [199-203]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/phyton/v73/v73a24.pdf>
50. Acevedo I, Gacía O, Acevedo I, Perdomo C. Valor nutricional del bledo *Amaranthus* spp Identificado en el municipio morán, estado Lara: Revista agrollanoa [Internet]. 2007 [Consultado el 29 de junio 2024]; 4 [77-93]. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Agrollania/2007/vol4/6.pdf>
51. Hyoung J, Kyung J, Won T, Seahee H, Hyun J, Seong H et al. Antioxidant Activity and Phytochemical content of nine Amaranthus Species: Agronomy [Internet]. [consultado 20 de julio 2024]; 11 (6): [1032 p.]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/6/1032>