

"CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS DEL GERMEN
Y PERISPERMO DEL GRANO DE AMARANTHUS CRUENTUS

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



"CARACTERIZACION DE LAS PROTEINAS DEL GERMEN
Y PERISPERMO DEL GRANO DE AMARANTHUS CRUENTUS"

MARIA ESTER BUCARO SEGURA

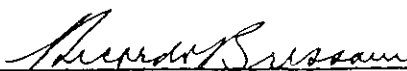
Trabajo de investigación presentado para optar
al grado académico de



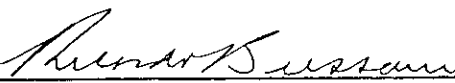
Licenciatura de Ingeniería en Ciencias y Alimentos

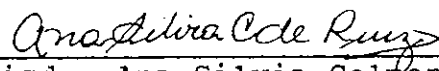
Guatemala
1994

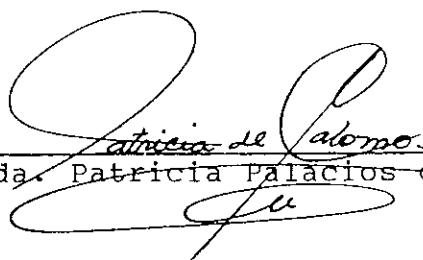
Vo. Bo. :

(f) 
Dr. Ricardo Bressani
Asesor

Tribunal:

(f) 
Dr. Ricardo Bressani

(f) 
Licda. Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) 
Licda. Patricia Palacios de Balomo

Fecha de aprobación: 26 de Octubre de 1994.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico:

A Dios y a la Virgen Santísima por ser quienes me guían y protegen.

A mis padres y hermanos por su enseñanza, ejemplo y comprensión.

A Juan Rodrigo por todo lo que es y será.

A mis abuelitos, tíos y primos por todo su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco la colaboración y el apoyo brindado para la realización de esta tesis:

Dr. Ricardo Bressani

Dr. Juan Rodrigo Solares Larrave

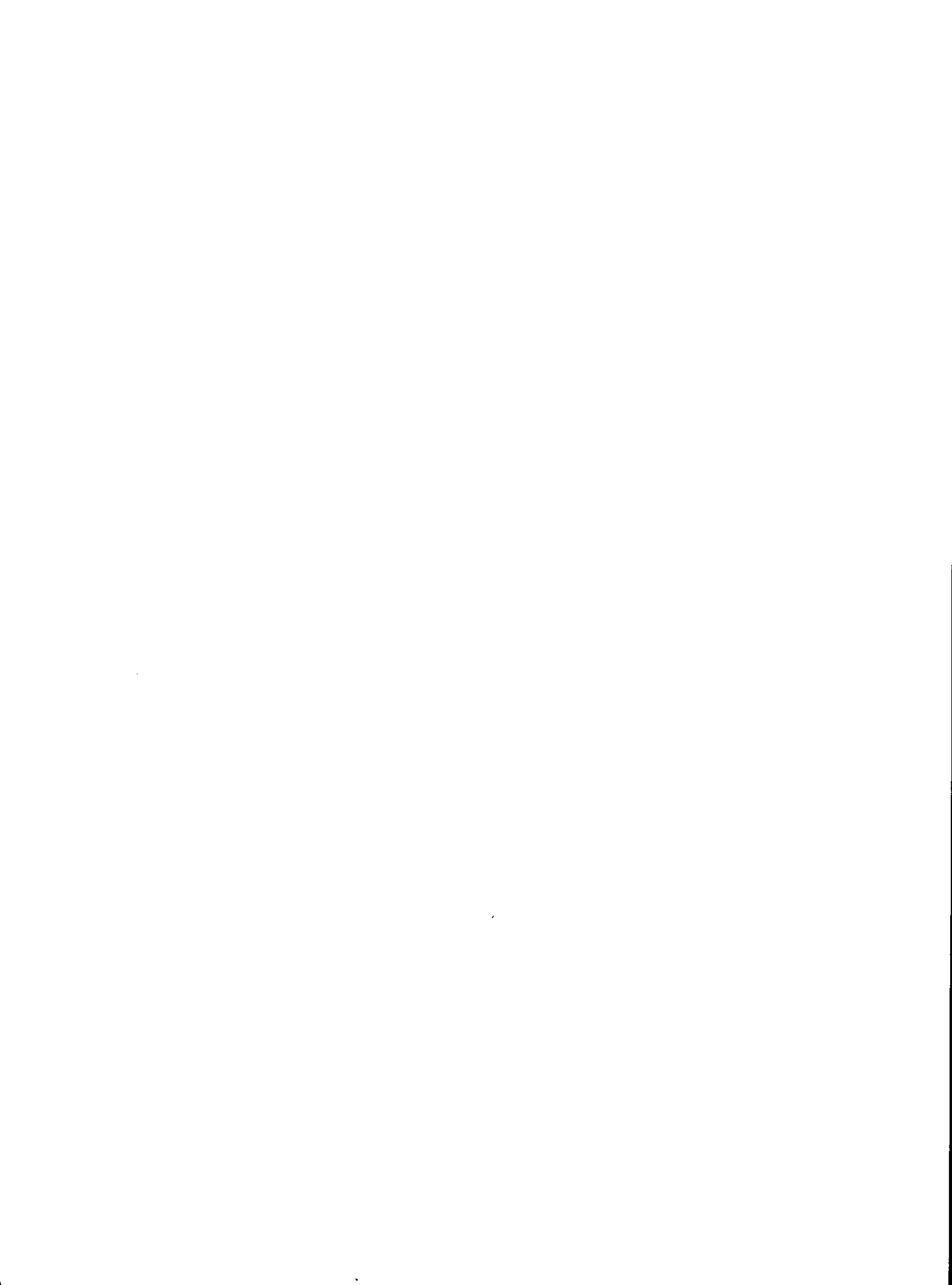
Lic. Rossi Bressani

Lic. Rony Pérez Quan

Lic. Gabriel Guzmán.

Lic. Odette Villanueva de Boccaletti.

y a todas aquellas personas que colaboraron de una u otra manera en este estudio.



RESUMEN

Se tomó una muestra de grano de Amaranthus cruentus variedad 84S-K277 la que se dividió en cuatro porciones. La primera se tomó como muestra control y a las restantes se les pasó por un molino de tres fases para dividir las mediante tamizado en tamaño de partícula. Se observó cada muestra por estereoscopio y se tomaron fotografías. A estas muestras se les realizó análisis químico de humedad, grasa y proteína y de extracción de solubilidad proteica para determinar porcentajes de albúmina, globulina, prolamina y glutelina en cada fracción, mediante los métodos de micro-Kjeldahl y Bradford. En base a las características físicas y químicas se determinó que el perispermo correspondía a la muestra del mesh No. 30 y el germen a la muestra del mesh +#40, con una diferencia estadísticamente significativa a una $p > 0.05$.

INDICE

| | Páginas |
|---|---------|
| RESUMEN | vii |
| I. INTRODUCCION | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 3 |
| A. Historia | 3 |
| B. Características | 4 |
| C. Distribución | 5 |
| D. Semilla | 6 |
| E. Distribución de fracciones físicas del grano de amaranto | 7 |
| F. Composición química del grano | 7 |
| 1. Proteínas | 8 |
| 2. Carbohidratos | 8 |
| 3. Lípidos | 9 |
| 4. Minerales | 9 |
| 5. Vitaminas | 10 |
| G. Composición química del germen y perispermo | 10 |
| H. Desventajas | 10 |
| I. Usos | 11 |
| J. Proteínas | 12 |
| K. Proteínas: fraccionamiento de las proteínas | 13 |
| L. Distribución de las proteínas en germen y perispermo del grano de amaranto | 15 |

| | Páginas |
|--|---------|
| III. JUSTIFICACION | 17 |
| IV. OBJETIVOS | 19 |
| V. HIPOTESIS | 21 |
| VI. MATERIALES Y METODOS | 23 |
| A. Equipo | 23 |
| B. Cristalería | 24 |
| C. Reactivos | 25 |
| D. Muestra de análisis | 26 |
| Metodología | 27 |
| 1. Fraccionamiento físico | 27 |
| 2. Análisis químico | 27 |
| 3. Fraccionamiento de solubilidad de la proteína | 27 |
| 4. Análisis estadístico | 28 |
| VII. RESULTADOS Y DISCUSION | 29 |
| VIII. CONCLUSIONES | 91 |
| IX. RECOMENDACIONES | 93 |
| X. BIBLIOGRAFIA | 95 |
| APENDICE | 99 |

I. INTRODUCCION

En la actualidad el problema demográfico encierra preocupación y los esfuerzos de la humanidad tienden a su control o solución para evitar el colapso ecológico.

Parte importante conlleva la solución de las expectativas alimenticias que la humanidad demanda con su actual crecimiento. El desarrollo y aplicación de nuevas opciones son el objetivo del Ingeniero en Alimentos.

El amaranto es una planta ancestral de uso popular entre los antiguos habitantes del continente latinoamericano y cuyo desuso se debió más a supersticiones que a un razonamiento científico. Se están efectuando numerosos estudios para la implementación y aprovechamiento de la planta y su grano como una solución al problema alimentario del futuro. En el grano se ha encontrado alto contenido de proteínas de muy buen valor nutritivo, asimismo en vitaminas y minerales que lo colocan por encima de muchas plantas afines como el recurso alimenticio del continente.

En este estudio se efectuará una comparación entre los dos constituyentes físicos principales del grano de amaranto, el germen y perispermo, en cuanto a la distribución de las proteínas en cada fracción. Con base en ello se logró la aplicación del grano y sus fracciones

físicas al desarrollo de productos de utilidad básica como fórmulas lácteas, suplementos proteicos y concentrados de proteína. Se puso a prueba los métodos más eficientes para la determinación de la distribución de las proteínas.

Al final del estudio se conoció de una mejor manera la naturaleza del grano de amaranto, así como abrir las puertas para nuevos estudios y futuras aplicaciones del producto en la industria alimenticia.

Se trabajó con Amaranthus cruentus debido a que es la especie nativa de Guatemala y su disponibilidad es mayor. De esa manera el estudio tiene mayor aplicación a la realidad nacional pues trabajamos con una especie guatemalteca.

II. ANTECEDENTES

A. HISTORIA:

El amaranto era considerado como una planta ceremonial por los Mayas y los Aztecas, tomando parte importante de sus ritos. Asimismo, su consumo era masivo tanto como hortaliza y como cereal. Luego de la conquista su siembra fue prohibida para evitar el retorno de los indígenas a sus antiguos ritos religiosos. Desde la conquista hasta nuestros días sus usos no han tomado la importancia que tenía en las antiguas civilizaciones americanas (25 y 30).

El amaranto tiene una amplia distribución encontrándose miembros de esta familia en América, Europa, Asia y Africa. Ha presentado características de resistencia a climas adversos, poca necesidad de agua y no necesita de suelos ricos para su crecimiento (25). Es una planta de crecimiento rápido que emplea la vía C-4 de fotosíntesis, esto le permite utilizar eficientemente el dióxido de carbono disponible del aire concentrándolo en los cloroplastos de las células especializadas, las que se localizan alrededor de las envolturas vasculares de las hojas (31).

Amaranthus proviene de palabras griegas que significan "el inmortal" o "el que no se marchita". Por ello es el gran interés que ha despertado el amaranto en la actualidad

como una solución a la hambruna mundial dada su resistencia al ambiente y la posibilidad de cultivo en el desierto (25).

B. CARACTERISTICAS:

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotyledoneae

Sub-Clase: Caryophyllidae

Orden: Cariophyllales

Familia: Amaranthaceae

Género: *Amaranthus* (14)

La familia Amaranthaceae forma parte de los llamados pseudocereales, ya que producen grano o semilla similar pero de menor tamaño. Contando con más de cincuenta especies, presenta una distribución mundial. El *Amaranthus cruentus* es la especie que se desarrolló y que se cultiva en Guatemala y en otras regiones de Centroamérica (6, 7 y 30).

El género *Amaranthus* representa hierbas anuales, erectas de hasta dos metros de altura. El tallo es central con pocas ramificaciones laterales y una raíz corta y robusta con numerosas raicillas secundarias (27).

Las plantas presentan un pigmento rojizo, la amarantina,

con diferencia en coloración desde blanco amarillento, verde, rosa roja hasta púrpura. Las flores son cosmopolitas, con flores monoicas o dioicas, en densos racimos (27).

El fruto es un pixidio con una cavidad y las semillas de 1.0 a 1.5 mm de diámetro son de variados colores: blanco, amarillo, rosado pardo, rojizo y negro. Aproximadamente 1,000 semillas pesan un gramo (25 y 27).

C. DISTRIBUCION:

El amaranto es una planta tropical de vasta distribución mundial. Se cultiva principalmente en el sur de los Estados Unidos de América y México (Amaranthus hypocondriacus), Guatemala (Amaranthus cruentus), Perú y Bolivia (Amaranthus caudatus) y Argentina (Amaranthus edulis) (27).

Además de tratarse de una planta de origen americano ha tenido una amplia difusión y se pueden encontrar cultivos para grano y para otros usos en China, Rusia, India y Nepal (27).

El amaranto crece en climas tropicales húmedos y soleados hasta templados de relativa latitud. Necesitando humedad para su crecimiento óptimo, luego de alcanzarlo el amaranto es bastante resistente a condiciones de sequía (25).

El amaranto presenta un rendimiento de cultivo muy atractivo, con producción de 3,900 Kg de semilla por

hectárea cultivada en un lapso de 12 a 15 semanas (25).

D. SEMILLA:

Morfología: La semilla del amaranto tiene una forma lenticular, de aproximadamente 1.0 a 1.5 mm de diámetro y con 1,000 semillas pesando 0.6 a 1.0 gramos (17).

En la figura A se presenta esquemáticamente la semilla de amaranto. El embrión es circular en su forma y circula al perispermo en uno de sus cantos (17 y 21). Es de forma circular y su envoltura se une al perispermo fuertemente pero susceptibles de separar por molienda abrasiva (21). Los haces vasculares de la futura planta se identifican como procambium y se encuentran como un paquete en el centro de la raíz y cotiledones (17).

El endospermo se deriva de células triploides y el perispermo de células diploides (17). El embrión en desarrollo toma la mayor cantidad de las reservas del endosperma al punto que casi se llega a su desaparición en la semilla madura (3 y 17). Asimismo el endosperma presenta una capa delgada de células asociadas a la cubierta de la semilla confiriéndole características protectoras (17).

Las células del embrión varían entre sí, presentado cuerpos esféricos en una matriz esponjosa (17). La matriz presenta un contenido mayoritariamente de lípidos y los

cuerpos celulares son de naturaleza proteica (17).

El centro de la semilla, el perispermo, es la porción de almacenamiento. Presenta gránulos polihédricos de almidón, probablemente en forma de amilopectina. La proteína se deposita como gránulos pequeños entre los de almidón (17).

E. DISTRIBUCION DE FRACCIONES FISICAS DEL GRANO DE AMARANTO:

No existe mucha información sobre la distribución de las fracciones físicas del grano de amaranto. Betschart y colaboradores (4) usando un método de molienda abrasiva informaron que para el Amaranthus cruentus, el 25% del peso del grano correspondía al germen más cáscara. Por disección manual los mismos autores midieron que el porcentaje del germen más cáscara era de 26.3, que coincide bastante con los resultados de la molienda abrasiva. Otros autores usando métodos de fraccionamiento físico a través de molienda abrasiva han informado una distribución similar. Es de interés indicar que para el maíz y trigo, la distribución del peso del grano es de 24.28% del germen más cáscara (4).

F. COMPOSICION QUIMICA DEL GRANO:

A continuación se indica el análisis proximal del grano

de amaranto:

| | | |
|----------------|------------|-----|
| Carbohidratos: | 61.0-65.0% | |
| Fibra Cruda: | 4.0- 7.0% | |
| Proteína: | 13.0-18.0% | |
| Cenizas: | 3.3- 3.6% | |
| Grasa: | 4.0- 7.0% | (3) |

1. PROTEINAS:

El contenido de proteínas es alto en grano de amaranto (13.0-18.0%) comparado con los cereales. La proteína contiene un buen balance de aminoácidos esenciales, y en particular en aminoácidos azufrados y lisina, que son relativamente altos comparados con las cantidades que se encuentran en los cereales. La leucina, por análisis químico, es el primer aminoácido limitante; aunque esta limitación puede solucionarse al combinarlo con los cereales. Sin embargo, resultados biológicos sugieren que el primer aminoácido limitante es treonina (6).

2. CARBOHIDRATOS:

El carbohidrato más importante abundante es el almidón, en niveles de $69 \pm 3\%$, que han sido descritos como gránulos de amilopectina y con diámetro de 1 a 3 μm . Además contiene una porción de amilosa de un 4.8% a 6.4%. La porción de almidón de la semilla de amaranto puede contener 0.49% proteína y 1.1% de grasa. La sucrosa es el azúcar más

importante en la semilla de amaranto, también están presentes rafinosa, estaquiosa y maltosa (4).

3. LIPIDOS:

Estudios realizados de la composición de lípidos y ácidos grasos en la semilla de amaranto han demostrado un contenido total de lípidos de 10-17% de peso seco. Los lípidos no polares, principalmente triglicéridos, contribuyen a un 90%. Se han encontrado un alto grado de insaturación con aproximadamente 70% de ácido oleico, 1% de ácido linoleico y 20% de ácido esteárico (27).

Se ha reportado un contenido promedio de grasa en la semilla de amaranto de 5.9% (rango entre 3.0-16.3%) (3, 4 y 6).

4. MINERALES:

El contenido de cenizas es alto comparado con los cereales. La mayor cantidad de los minerales se concentran en la cubierta y en germen. Elementos como hierro y cobre se encuentran en el germen, y calcio, sodio y manganeso se encuentran en la cubierta (4).

5. VITAMINAS:

La mayoría de las vitaminas están concentradas en el germen. Hay una mayor concentración vitamínica en las partes verdes de la planta que en las semillas (27).

Se ha encontrado niveles adecuados de riboflavina y niacina, ácido ascórbico en cantidades elevadas, sin embargo tiamina y β -caroteno están ausentes en Amaranthus cruentus (27).

G. COMPOSICION QUIMICA DEL GERMEN Y PERISPERMO:

Las dos fracciones físicas más importantes del grano son el germen más cáscara y el perispermo. Estas dos fracciones son químicamente diferentes, ya que el germen más cáscara ha sido informado por Betschart y colaboradores (4) que contiene niveles de grasa y proteína mayores que el perispermo, y este último mayor cantidad de carbohidratos como almidón. Es importante indicar que el germen de los cereales es diferente químicamente que el perispermo siguiendo un patrón similar a la del amaranto.

H. DESVENTAJAS:

Son muy pocas las desventajas o defectos que pudieran encontrarse en el grano de amaranto como fuente alimenticia

(25).

La existencia de factores antinutricionales como saponinas, inhibidores de tripsina y taninos han sido señalados; sin embargo, sus niveles son menores a los informados en leguminosas y no constituyen un riesgo humano (25).

La presencia de hemaglutininas encontradas en la especie Amaranthus cruentus no presentan un riesgo, ya que son degradadas durante el procesamiento de harinas sin alterar el valor nutritivo de éste (8).

Algunos autores como Singhal y Kulkarni (28) han informado sobre pequeñas cantidades de nitratos y oxalatos en la semilla de amaranto.

I. USOS:

En general su uso es aún muy reducido y su siembra no se ha desarrollado en gran escala (25).

En la actualidad su uso como grano está en la elaboración de dulces "Alegría", atoles y tortillas en México, y fabricación de bollos en Perú. En India la semilla se usa para la elaboración de dulces al igual que en Nepal; asimismo puede ser usada la harina para la elaboración de tortas parecidas a panqueques (6).

En países americanos se utiliza el grano de amaranto

para la elaboración de bebidas con agua o leche (25). Se puede utilizar la harina del grano de amaranto para incrementar el valor nutricional de otros cereales (25).

La semilla puede ser utilizada para la elaboración de pigmentos pero su uso no está muy desarrollado (25).

El uso del grano de amaranto en la industria puede tener futuro como fuente de escualeno para ser usado en la industria cosmética. Asimismo se han encontrado usos en la industria de fármacos como fuente de sustancias antivirales (28 y 29).

El consumo del amaranto como vegetal verde es popular entre la población guatemalteca. Asimismo es relativamente distribuido como vegetal para comer cocido en países como la India y Nepal (30).

La planta es utilizada en función ornamental dadas las características de la belleza de la flor (30).

En vista del alto valor nutritivo del grano, en años recientes varios grupos de científicos han desarrollado diversos alimentos con amaranto, que incluyen alimentos para el destete del niño, cereales para desayuno, productos de repostería, pan y alimentos similares (30).

J. PROTEINAS:

Una virtud del grano de amaranto es su alto contenido

de lisina y metionina en la proteína, que son los aminoácidos críticos en nutrición principalmente cuando ésta se basa en el consumo de cereales. Esto convierte al amaranto junto a sus otras propiedades, en un alimento de mucho potencial en alimentación y nutrición (6 y 7).

K. PROTEINAS: FRACCIONAMIENTO DE LAS PROTEINAS

El alto potencial del amaranto como fuente alimenticia se basa en su alto contenido de proteínas (13-18%), así como su contenido de aminoácidos que llenan los requisitos de la FAO (6, 7, 26 y 27).

Esto ha provocado que se investigue arduamente sobre el tema y así se disponga de información más detallada al respecto. Se han efectuado diversas investigaciones con resultados variables. Bressani y García Vela (7) informaron que la distribución de proteínas en el grano basada en su solubilidad, era de 20.7% de albúminas, 19.2% de globulinas, 2.2% de prolaminas y 4.4% de glutelinas. La relación entre globulina y albúmina se encontró en 0.95 (7).

Este hallazgo coincidió con investigaciones de Soriano-Santos y Segura-Nieto (25 y 28). Siempre usando harina del grano de amaranto y tratando de conocer la distribución proteica. Konishi (18) halló contenidos altos de albúminas

y globulinas pero con una relación globulina/albúmina de 1.7-2.3. Numerosas investigaciones han continuado con este trabajo (15), para lo cual se han utilizado diversidad de soluciones de extractos de proteína y siempre se ha encontrado una mayor porción de albúmina y globulina, seguido de glutelinas como grupo proteico individual más importante y las prolaminas en muy pequeñas cantidades y hasta consideradas como proteínas de reserva (15), como se ha indicado en el caso de los cereales.

Gorinstein y colaboradores (15), declaran en su trabajo que la fracción proteica y la composición de aminoácidos del amaranto es mas comparable a la soya que a los cereales. La composición de aminoácidos de las proteínas constituyentes del grano fue descrita por Barba de la Rosa y colaboradores (2) así: albúmina rica en lisina y valina, globulina rica en metionina y cisteína; prolamina rica en aminoácidos azufrados y fenilalanina y, por último, las glutelinas en leucina, treonina e histidina. En general las glutelinas exhiben la mayor proporción de aminoácidos esenciales (2 y 15).

Recientemente Barba de la Rosa y colaboradores (2) recomendaron una serie de solventes que encontraron óptimos para la extracción y caracterización de las proteínas, de la semilla entera del amaranto. Sin embargo, todos los estudios efectuados hasta el momento se han efectuado con el grano entero y no con las dos fracciones más importantes

del grano como son el germen y el perispermo, y se ha postulado en el presente estudio que las fracciones proteicas del germen y perispermo son diferentes, como los cereales.

L. DISTRIBUCION DE LAS PROTEINAS EN GERMEN Y PERISPERMO DEL GRANO DE AMARANTO:

Betschart y colaboradores (4) usaron sistemas de molienda perlado y lograron separar con bastante éxito el germen del perispermo, confirmándose luego su éxito mediante la separación manual del grano. Una de las fracciones del germen se caracteriza por un alto contenido de grasa y proteína (2.3-2.6 veces mas), más vitaminas y minerales; la otra fracción se caracteriza por alto contenido de almidón. Estos autores encontraron que el contenido de aminoácidos del perispermo era diferente al del germen. El puntaje químico dado fue de 88 para el perispermo y 72 para el germen; sin embargo, el PER del germen fue de 1.83, mientras que el del perispermo fue de 0.62. Estas diferencias no fueron explicadas pero sugieren que posiblemente existían mayores diferencias entre los aminoácidos esenciales, proteínas constitutivas, y su distribución entre las dos fracciones físicas de la semilla.

Konishi y colaboradores (18) encontraron que un 65%

de la proteína del grano se encontraba en el germen y sólo un 35% en el perispermo, (18).

Uno de los objetivos de esta investigación fue la de obtener más información que explicara los hallazgos de los autores mencionados y disponer de datos sobre la distribución de las proteínas en las diferentes partes del grano; así como su distribución basándose en la solubilidad, con lo que se pudo extrapolar hacia posibles usos comestibles de cada una de las porciones del grano.

III. JUSTIFICACION

El amaranto es una planta con un gran potencial de utilización, ya que ofrece la parte vegetativa como un producto hortícola, la planta entera o partes de ella como forraje y el grano como un cereal. Para lograr su implementación como alimento, tanto para fines de producción animal como para consumo humano, se debe conocer a fondo tanto su composición química cualitativa como cuantitativamente.

En años recientes se ha demostrado el alto valor nutritivo del grano, ya sea solo o en combinación con cereales y otros granos. El alto valor nutritivo se atribuye a un relativo contenido de calorías y de proteína, esta última rica en varios aminoácidos esenciales, en particular lisina. Sin embargo, para ampliar el potencial de utilización se hace necesario conocer más sobre éste.

Existen relativamente pocos estudios sobre el fraccionamiento físico del grano, es decir el efecto que la molienda selectiva puede tener sobre la caracterización química de las fracciones de molienda, en particular de las dos fracciones físicas más importantes que son el perispermo y germen. Para incrementar los conocimientos se debe establecer el contenido proteínico y su distribución

entre el germen y el perispermo a fin de determinar qué porción de la semilla es más útil para el desarrollo de alimentos. En estos términos este es el primer estudio que se realiza y aporte datos, tanto académicos como prácticos, para el futuro del amaranto como tema de investigación.

Todo estudio que se lleve a cabo basado en el amaranto tiene importancia pues nos acerca a la verdad del alimento americano del futuro.

De este estudio se obtuvieron resultados para proseguir la aplicación práctica del amaranto, ya sea como un producto alimenticio o como un suplemento.

IV. OBJETIVOS

A. OBJETIVOS GENERALES:

1. Contribuir en conocimientos sobre las proteínas del grano de amaranto.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

1. Establecer la comparación entre el contenido proteico y el de grasa del germen y perispermo.
2. Determinar las cantidades de albúmina, globulina, prolamina y glutelina presentes en la semilla de Amaranthus cruentus.
3. Establecer las cantidades de albúmina, globulina, prolamina y glutelina presentes en las dos principales fracciones físicas del grano, perispermo y el germen.
4. Basada en la determinación cuantitativa de proteína, establecer qué porción de la semilla tiene mayor valor alimenticio.
5. Establecer las bases para futuras investigaciones hacia la aplicación del amaranto como materia prima en alimentos.



V. HIPOTESIS

"La distribución de las proteínas del germen y perispermo en el grano de Amaranthus cruentus son diferentes cuantitativa y cualitativamente".



VI. MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

A) EQUIPO:

- Molino de Discos: Molino de 3 fases, voltaje de 230, amperios de 7.8, 60 ciclos, Número de serie: 1056, Lee Engineering Company Milkwaukee, Wis. USA.
- Tamizador: Portable shieve shaker, modelo RX-24 T-792 CE-Tyler, combustion Engineering, Inc. USA.
- Tamices: Todos los tamices ha utilizar son USA Standard Testing Sieve, A ST ME-11 Specification, mesh arriba de 18, arriba de 20, arriba de 30, arriba de 40 y pasado de 40, Fisher Scientific Company, USA.
- Molino Whiley: Modelo 5XBGOOG D, 6HP, Hz de 60, voltaje de 115, General Electric Co., USA.
- Horno: Fisher Scientific Isotemp Oven, Modelo 630G T=C, voltaje de 115, amperios de 6.5. USA.
- Desgrasador etereo: Labonco Company USA, kansas City, Missouri, 64132. Número de catalogo: 3500100, Número de Serie: 203462 CW, voltaje de 115, amperios de 5.2.
- Balanza analítica: Mettler Instrument, Corp. Highstown NJ, hecha en Suiza, tipo HG, Número de serie: 282776.
- Agitador: Orbit shaker, Lab-Line, hecho por LabLine Instruments, Inc. Melrose Park, Ill, 60160. Modelo: 3520, voltaje de 120, amperios de 0.9, Número de serie: 09870229.
- Agitador de tubos: Motor glover shaker Graner MFG, Couniversity, Ind. USA. Modelo: 240. Número de serie: 3718.
- Centrífuga: Damon/IEC Division, Needham HTS, Mass 0291 USA. Modelo HNS. Número de serie: 34722130.
- pH metro: Modelo 301. Onion Research Incorporates Boston, Ma. 02129, USA. Adjunto potenciometro Onion Combination pH 91-05.
- Balanza de dos platos: Harvard trip balance 2-5 lb de capacidad. Número de serie: Af 13831. Ohaus, Florham Park, NJ 07932, USA.

- Refrigeradora: Marca Westinghouse, USA.
- Cajuelas de humedad.
- Espátulas.
- Pissetas de plástico.
- Molino Cyclone Sample Mill. UDY Corporation. USA. Modelo 3010-030.
- Equipo de micro-Kjeldahl. Destilador y Digestor Labonco USA.
- Spectronic 20 Bausch & Lomb. USA. 115 V, 50-60 Hz 0.8 amp.
- Esteroscopio Wild Herbrug. Modelo M3Z. Cámara Wild Modelo MPS-52 65X, 10X, 16X, 25X, 40X.

B) Cristalería:

- Envases de vidrio de 14 oz, hechas en Estados Unidos.
- Beaker 300 ml, marca Pyrex USA, # 1040.
- Beaker 250 ml, marca Kimax, USA. # 1400.
- Beaker 100 ml, marca Pyrex USA. # 1000.
- Erlenmeyers 125 ± 5% ml, marca Pyrex, USA. # 4980.
- Bureta 50 ± 0.02 ml, marca Pyrex USA. # 3024.
- Probeta 25 ml, marca Pyrex, USA.
- Varilla de vidrio.
- Balón 500 ± 0.20 ml, marca Pyrex, USA. # 5642.
- Balón 50 ± 0.5 ml, marca Pyrex, USA. # 5642.
- Balón 100 ± 0.08 ml, marca Pyrex USA. # 5642.
- Balón 1000 ± 0.30 ml, marca Pyrex USA. # 5642.
- Balón 25 ± 0.3 ml, marca Pyrex USA. # 5642.
- Pipeta 5 ml, marca Pyrex USA. # 7065.

C) Reactivos:

- Hexano: marca Merck, Alemania. Grado analítico.
- Eter: marca Merck, Alemania. Grado analítico.
- Peróxido de hidrógeno: 33% (p/v). Montplet Esteban S.A. Barcelona, España.
- Acido Sulfúrico: Riedel-de-Haen, Estados Unidos. Grado analítico.
- Hidróxido de Sodio: Beaker analyzed, Estados Unidos. Grado analítico.
- Fosfato Dibásico de Sodio: Mallinckrout, Estados Unidos. Grado analítico.
- 2-propanol: Marca Merck, Alemania. Grado reactivo.
- Verde de Bromocresol: Marca Merck, Alemania. Grado reactivo.
- Rojo de metilo: Marca Merck, Alemania. Grado reactivo.
- Etanol: Marca Merck, Alemania. Grado reactivo.
- Dodecil Sulfato de Sodio: Aldrich Chemical Company, Inc., Estados Unidos. Grado analítico.
- 2-Mercaptoetanol: Marca Sigma, Estados Unidos. Grado analítico.
- Borato de Sodio: Marca Sigma, Estados Unidos. Grado analítico.
- Acido Bórico: Marca Merck, Alemania. Grado analítico.
- Acido Acético: Marca Merck, Alemania. Grado analítico.
- Acido Tricloroacético: Marca Merck, Alemania. Grado analítico.
- Coomasie Brilliant Blue G-250: Marca Merck, Alemania. Grado electroforético

D) Muestra de Análisis:

Se utilizó 2000 gr de Amaranthus cruentus variedad 84S-K277, producido en Ahuachapán, El Salvador.

METODOLOGIA

1. Fraccionamiento físico:

a) Se tomaron envases de 14 oz con tapadera. Se procedió a lavarlos y enjuagarlos con agua destilada. Posteriormente se eliminó la humedad colocándolos en horno a 70°C por una hora.

b) Se tomaron 2,000 gramos de Amaranthus cruentus, variedad 84S-K277 y dividiéndose en cuatro porciones de 500 gramos cada una. Se separó una muestra como control y a las restantes se pasaron por un molino de tres fases. Cada una de las muestras de molienda se pesaron, calculándose el porcentaje de rendimiento de las pruebas.

c) Cada una de las muestras (el control y las tres molidas) se guardaron envasadas y se refrigeraron a 4°C hasta su uso posterior.

d) Las muestras sometidas a molienda se pasaron por un tamizador eléctrico de cuatro mallas (mesh arriba de 18, arriba de 20, arriba de 30, arriba de 40 y pasada de 40), por quince minutos y cada porción tamizada se guardó envasado y en refrigeración a 4°C.

e) A cada una de las muestras anteriores se les tomó una fotografía en estereoscopio.

2. Análisis químico:

a) Cada muestra tamizada fue sometida a una nueva molienda para homogenizar el producto. Se molieron 15 gramos y se pasaron por un tamizador a través de un mesh 40. Se guardó cada una en envases y se refrigeraron a 4°C hasta su uso posterior.

b) Como características químicas se tomaron porcentajes de humedad, grasa y proteína utilizando para ello los métodos AOAC (19). Para humedad se utilizó el método de una hora, para grasa se utilizó sohxlet, y proteínas se utilizó el método de micro-Kjeldahl, (métodos AOAC) (19).

3. Fraccionamiento y solubilidad de la proteína:

a) De todas las muestras (las muestras tamizadas y el control) se les extrajo la grasa mediante una suspensión de hexano grado analítico agitándose continuamente por

24 horas y se dejó secar. Luego se guardó en envases esterilizados y se refrigeró a 4 °C hasta su nueva utilización.

b) Extracción de albúmina y NPN (Nitrogeno No Proteico):
Se tomó 1 gramo de muestra y se le agregó 10 ml de agua destilada. Se agitó por una hora y se centrifugó por veinte minutos. Luego se extrajo el sobrenadante y éste se colocó en un balón de 25 ml. Luego se agregó, a lo que queda en la extracción, 8 ml de agua destilada y se procedió de la misma manera como a la de la primera extracción. En total se realizaron extracciones de 10, 8 y 8 ml.

c) Extracción de globulinas:
A la muestra restante de la prueba anterior se le agregó 10 ml de 0.1 M de Na_2HPO_4 (pH 7), se agitó por una hora, se centrifugó por veinte minutos y se extrajo el sobrenadante. Luego a lo que quedó se le agregó 8 ml de la misma solución y se volvió a extraer el sobrenadante de la misma manera descrita anteriormente al de la primera extracción. En total se realizaron extracciones de 10, 8 y 8 ml de esta solución.

d) Extracción de prolaminas:
A la muestra restante de la prueba anterior se le agregó 10 ml de 2-propanol al 70%, se agitó por una hora, se centrifugó por veinte minutos y luego se extrajo el sobrenadante. Se realizó un total de tres extracciones de 10, 8 y 8 ml de esta solución.

e) Extracción de glutelinas:
A la muestra restante de la prueba anterior, se le agregó 10 ml de la solución 0.1M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 1% (w/v) SDS + 2-Mercaptoetanol (0.6%) a un pH de 10. Luego se agitó por una hora, se centrifugó por veinte minutos y se extrajo el sobrenadante. Se realizaron tres extracciones de 10, 8 y 8 ml de esta solución.

f) Cada uno de los sobrenadantes se les determinó la cantidad de nitrógeno por medio del método de micro-Kjeldahl, [método de AOAC (19)] y método de Bradford (5).

4. Análisis estadístico:

A todas las muestras en cada paso de este procedimiento se les analizó con el método estadístico de Análisis de Varianza.

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

El ancestral amaranto es y será un motivo de división y de estudio para los especialistas. Continúa siendo un enigma su composición y es una realidad su aplicación como gran alimento. En este estudio se trató de dividir la semilla en sus dos fracciones morfológicas más importantes, el germen y el perispermo, estudiar su composición química y fraccionamiento proteico; y así concluir sobre sus propiedades y aplicaciones en el campo alimenticio, entre otros.

Se seleccionó el Amaranthus cruentus variedad 84S-K277 proveniente de Ahuachapán, El Salvador. Esta variedad es nativa de México y Centroamérica, por lo que estudiarla sería más aplicable para una explotación en gran escala. Para efectuar la molienda se decidió por molienda abrasiva. Se buscaba únicamente la separación entre el germen, que forma una capa que envuelve el grano, y el perispermo, y no la formación de una harina del grano entero. No se contaba con el molino ideal, que era un perlador Strong Scott, y se tomó un molino de discos de tres fases, que con una distancia adecuada entre los discos permitiría una separación entre las dos porciones. La molienda se llevó a cabo sin complicaciones y la recuperación se

presenta en la tabla No. 1 y figura No. 1. El rendimiento fue constante y varió entre 95.47% a 95.60% (con un promedio de 95.51%).

Esta harina se separó en tres grupos R1, R2 y R3, y fue luego fraccionada por tamaño de partícula a través de tamices de 18, 20, 30 y 40 mesh. La distribución por peso se detalla en la tabla No. 2 y figura No. 2.

TABLA No. 1

**RENDIMIENTO DE MOLIENDA DEL GRANO DE AMARANTHUS
CRUENTUS VARIEDAD 84S-K277 POR MOLINO DE DISCOS DE
TRES FASES**

| MUESTRA | PESO INICIAL (gramos) | PESO FINAL (gramos) | RENDIMIENTO (%) |
|-----------------|----------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Control | 500.00 | 500.00 | 100.00 |
| A | 500.00 | 478.00 | 95.60 |
| B | 500.00 | 477.35 | 95.47 |
| C | 500.00 | 477.35 | 95.47 |
| PROMEDIO | 500.00 | 477.57 | 95.51 |

FIGURA No.1
RENDIMIENTO DE MOLIENDA A. CRUENTUS
MOLINO DE DISCOS DE 3 FASES

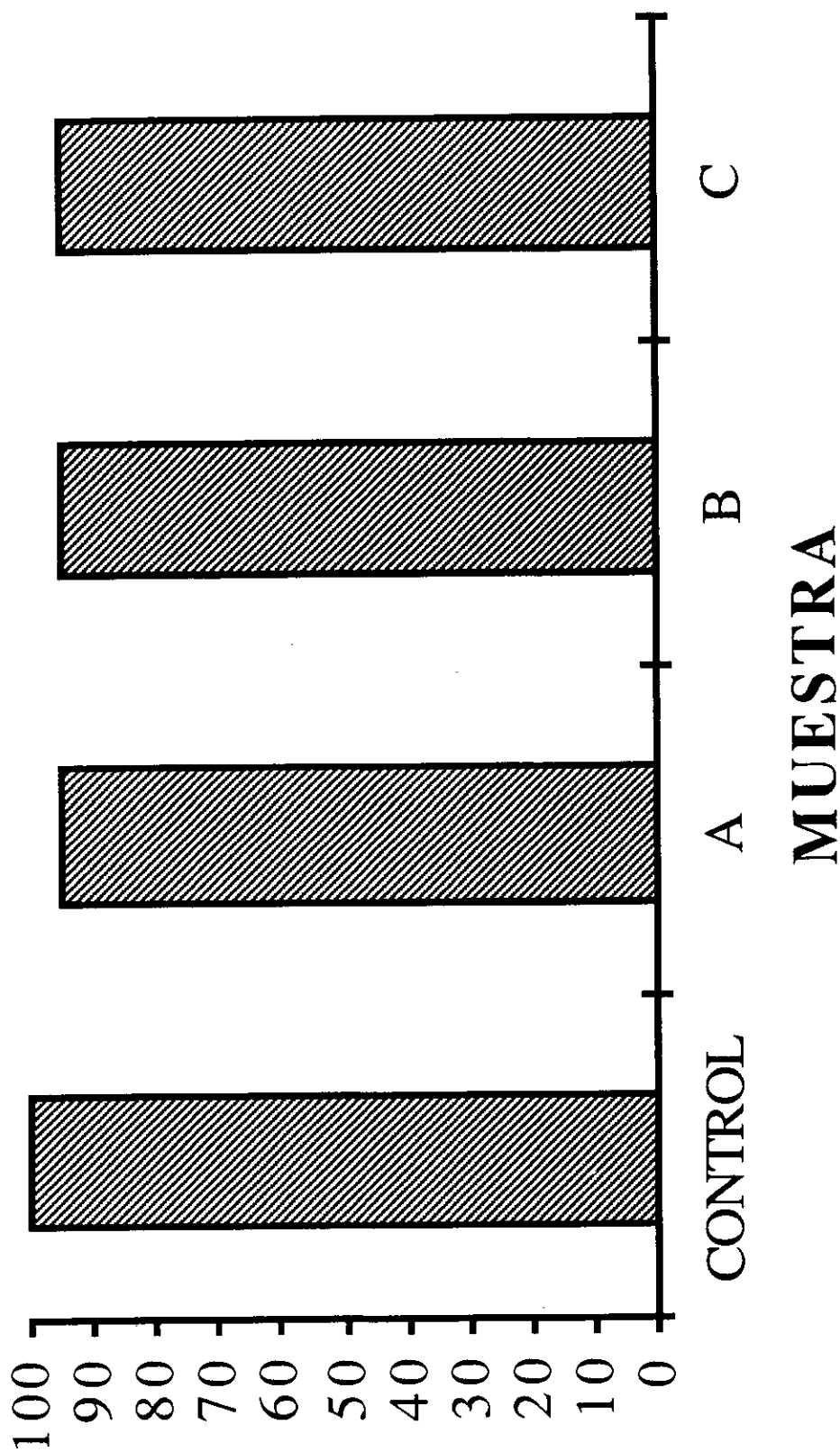
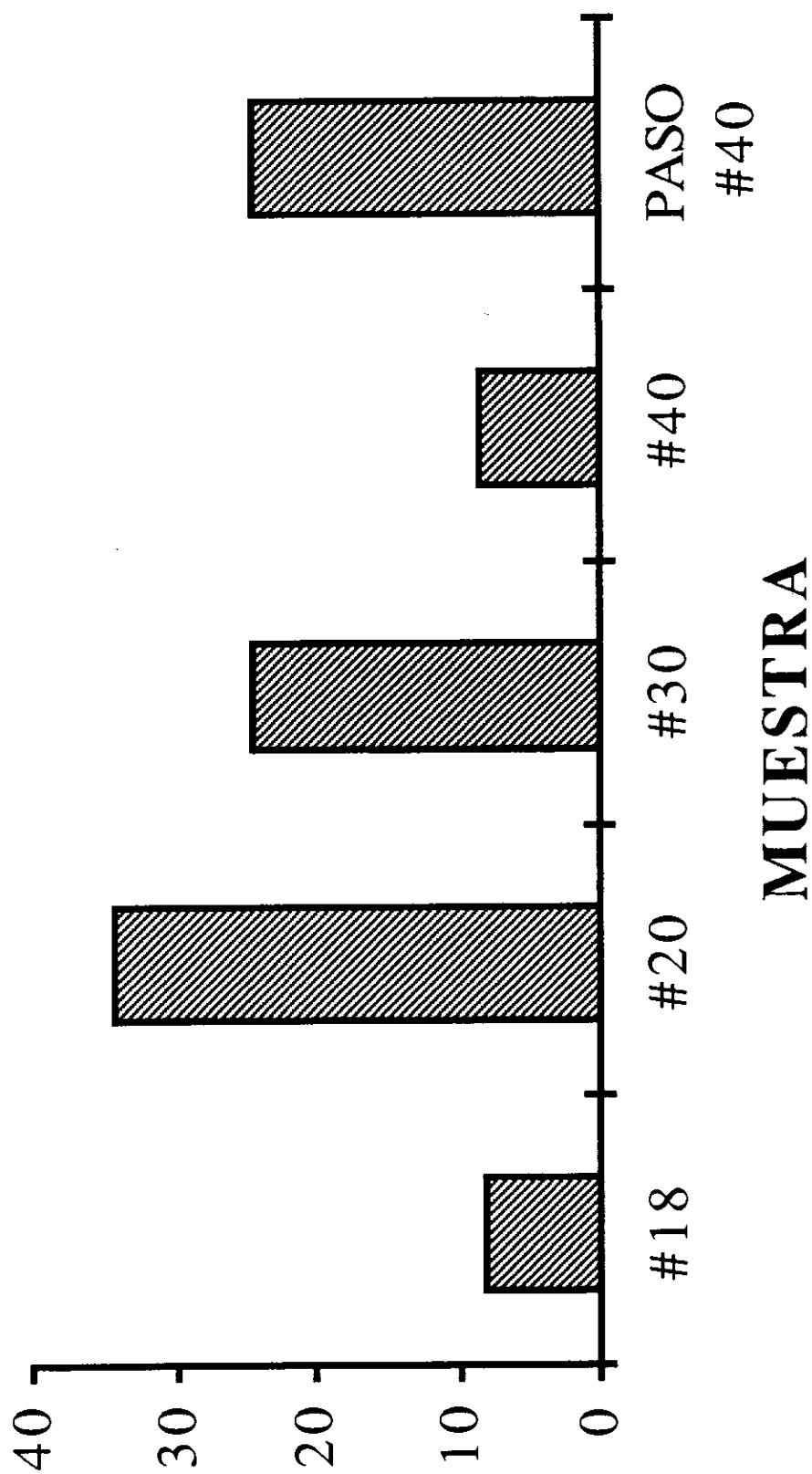


TABLA No. 2

RENDIMIENTO DE TAMIZADO DE MUESTRA MOLIDA

| MESH | RENDIMIENTO (%) |
|----------------|-----------------|
| Arriba de # 18 | 7.97 ± 0.97 |
| Arriba de # 20 | 34.32 ± 1.19 |
| Arriba de # 30 | 24.51 ± 0.88 |
| Arriba de # 40 | 8.69 ± 0.37 |
| Paso # 40 | 24.52 ± 1.00 |

FIGURA No.2
RENDIMIENTO DE TAMIZADO
MUESTRA MOLIDA DE A. CRUENTUS



Se puede observar que la mayor parte no pasó mesh 20, mientras que 24.51% no pasó el mesh No. 30, y 24.52% fue más fino que el mesh No. 40. De acuerdo a los datos de Betschart y colaboradores, (4) quienes usaron el perlador Strong Scott, sometieron a molienda y fue luego tamizado 5 veces el material que no pasó el tamiz No. 30. El rendimiento que ellos llamaron cáscara/germen fue del 25% del peso original del grano y 75% lo llamaron perispermo. Con base en esos datos, se puede sugerir que la fracción de este estudio que pasó mesh 40 (24.52%) es equivalente a fracción cáscara/germen de Betschart y colaboradores (4). Sin embargo, no es seguro sugerir los datos de fraccionamiento de este estudio y qué porcentaje corresponde al perispermo. Resultados similares a los de Betschart y colaboradores (4) fueron confirmados por Sánchez-Marroquín (6) utilizando un perlador Strong Scott y fraccionando la harina por tamices de 30 y 60 mesh. En este caso Sánchez-Marroquín obtuvo 75.80% de perispermo y 22.0% de cáscara/germen. Esto se puede observar en la tabla 2A.

Además es importante tomar en cuenta que los investigadores mencionados tuvieron un mejor rendimiento que el de esta investigación debido a que ellos pasaron la muestra 5 veces en el perlador Strong Scott. Sin embargo los resultados de este estudio están de acuerdo con los de Betschart y colaboradores (4). (Ver figura D en apéndice). En este estudio no se encontró por medio de análisis de

varianza una diferencia estadísticamente significativa entre repeticiones, pero sí entre fracciones del tamizado.

Con el fin de poder disponer de una mejor caracterización de las fracciones de este estudio se procedió a realizar el análisis químico (humedad, grasa y proteína) de las fracciones y a la toma de fotografías. Los datos para humedad, grasa y proteína de cada repetición por cada fracción se muestra en las tablas No. 3, 4 y 5, respectivamente, y el promedio en la tabla No. 6 y figuras No. 3, 4 y 5.

TABLA No. 2A

**COMPARACION DE PORCENTAJE DE RENDIMIENTOS Y PROTEINAS
DE MOLINO DE DISCO DE TRES FASES Y STRONG SCOTT PEARLER**

| MOLINO | MESH | RENDIMIENTO | PROTEINA |
|-------------------------|------|-------------|-----------|
| DISCOS DE TRES FASES | 30 | 24.51 | 9.52 |
| | +40 | 24.51 | 30.45 |
| STRONG SCOTT PEARLER | 30 | 75.80 | 12.40 |
| | 60 | 22.00 | 36.00 (6) |

TABLA No. 3

**DETERMINACION DE HUMEDAD EN EL GRANO Y FRACCIONES
DEL AMARANTHUS CRUENTUS (%)**

| MUESTRA | R1 | R2 | R3 |
|---------|-------|-------|-------|
| Grano | 11.37 | 11.81 | 11.58 |
| #18 | 11.34 | 11.78 | 11.64 |
| #20 | 11.76 | 11.69 | 11.94 |
| #30 | 11.94 | 11.78 | 11.65 |
| #40 | 10.84 | 10.98 | 11.00 |
| +#40 | 9.16 | 9.43 | 9.82 |

TABLA No. 4

**DETERMINACION DE GRASA DE FRACCIONES Y GRANO
DE AMARANTHUS CRUENTUS (%)**

| MUESTRA | R1 | R2 | R3 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| GRANO | 7.78 | 7.85 | 7.24 |
| #18 | 5.16 | 5.19 | 5.22 |
| #20 | 4.26 | 4.30 | 4.29 |
| #30 | 2.30 | 2.44 | 2.26 |
| #40 | 6.35 | 6.57 | 6.29 |
| +#40 | 15.45 | 16.89 | 16.49 |

TABLA No. 5

**DETERMINACION DE PROTEINAS DE FRACCIONES Y GRANO
DE AMARANTHUS CRUENTUS (%)**

| MUESTRA | R1 | R2 | R3 |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
| GRANO | 15.72 | 15.88 | 15.75 |
| #18 | 12.10 | 12.08 | 11.94 |
| #20 | 10.42 | 10.61 | 10.49 |
| #30 | 8.93 | 9.07 | 9.13 |
| #40 | 14.83 | 15.04 | 15.15 |
| +#40 | 26.53 | 26.47 | 26.37 |

TABLA No. 6

**DETERMINACION DE HUMEDAD, GRASA Y PROTEINA EN FRACCIONES
DEL GRANO DE AMARANTHUS CRUENTUS**

| MUESTRA | HUMEDAD (%) | GRASA (%) | PROTEINA (%) |
|-----------------------|------------------------|----------------------|-------------------------|
| Grano | 11.59 ± 0.18 | 7.53 ± 0.22 | 15.78 ± 0.06 |
| Arriba de # 18 | 11.59 ± 0.18 | 5.19 ± 0.02 | 12.04 ± 0.07 |
| Arriba de # 20 | 11.80 ± 0.11 | 4.29 ± 0.01 | 10.51 ± 0.08 |
| Arriba de # 30 | 11.70 ± 0.12 | 2.34 ± 0.08 | 9.05 ± 0.08 |
| Arriba de # 40 | 10.94 ± 0.07 | 6.40 ± 0.12 | 15.01 ± 0.14 |
| Paso # 40 | 9.48 ± 0.27 | 16.18 ± 0.52 | 26.46 ± 0.07 |

FIGURA No.3
DETERMINACION DE HUMEDAD
FRACCIONES Y GRANO A. CRUENTUS

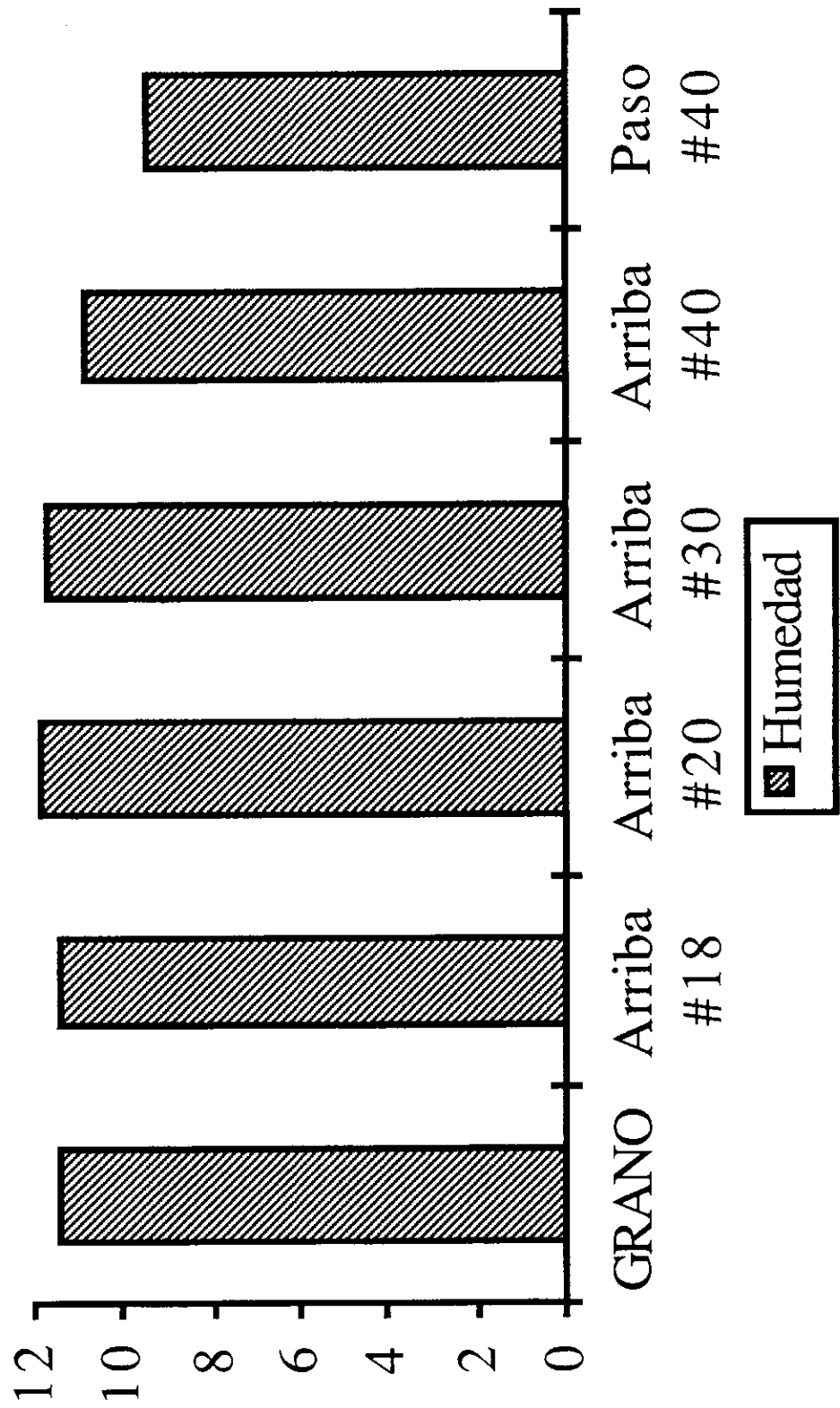


FIGURA No.4
DETERMINACION DE GRASA
FRACCIONES Y GRANO DE A. CRUENTUS

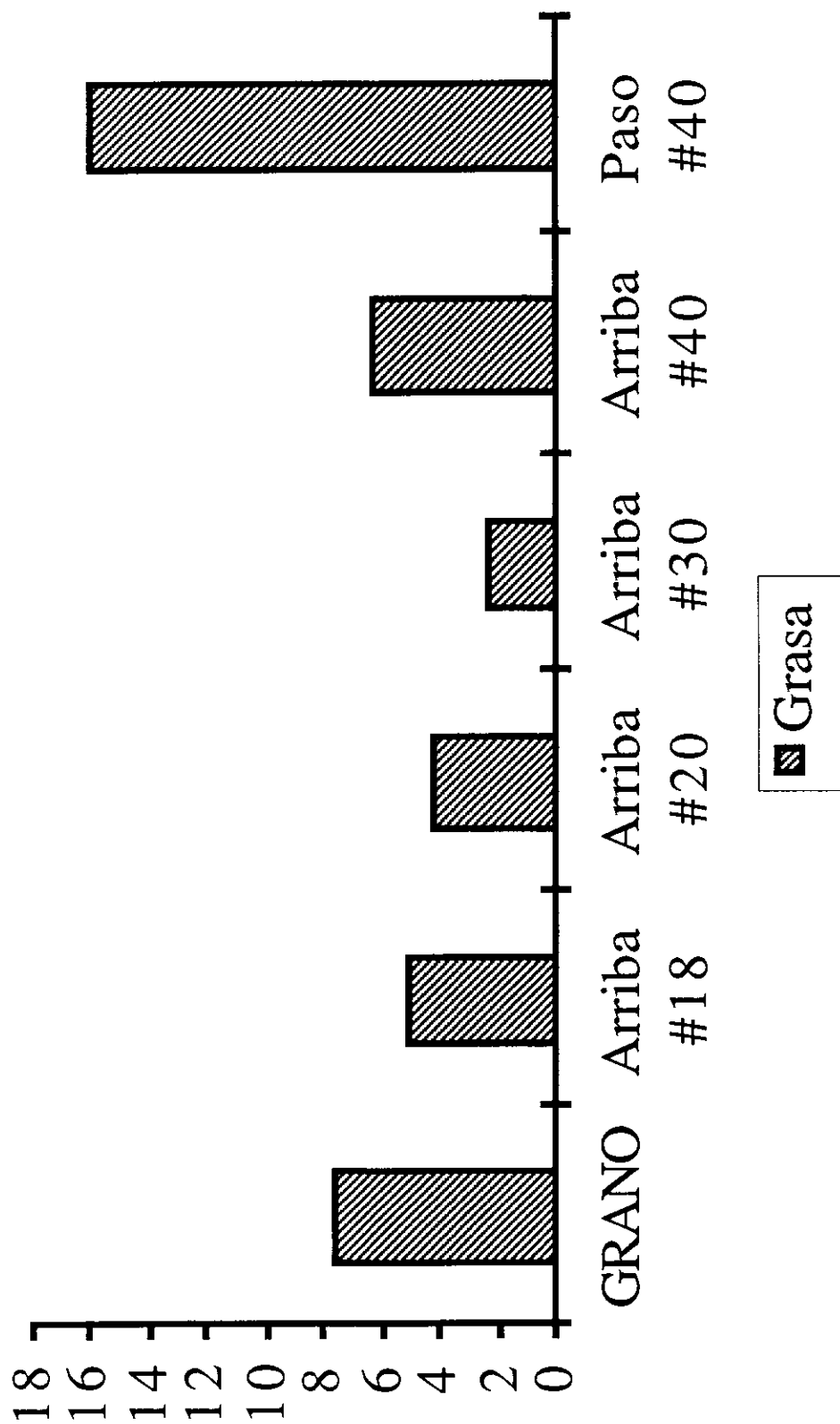
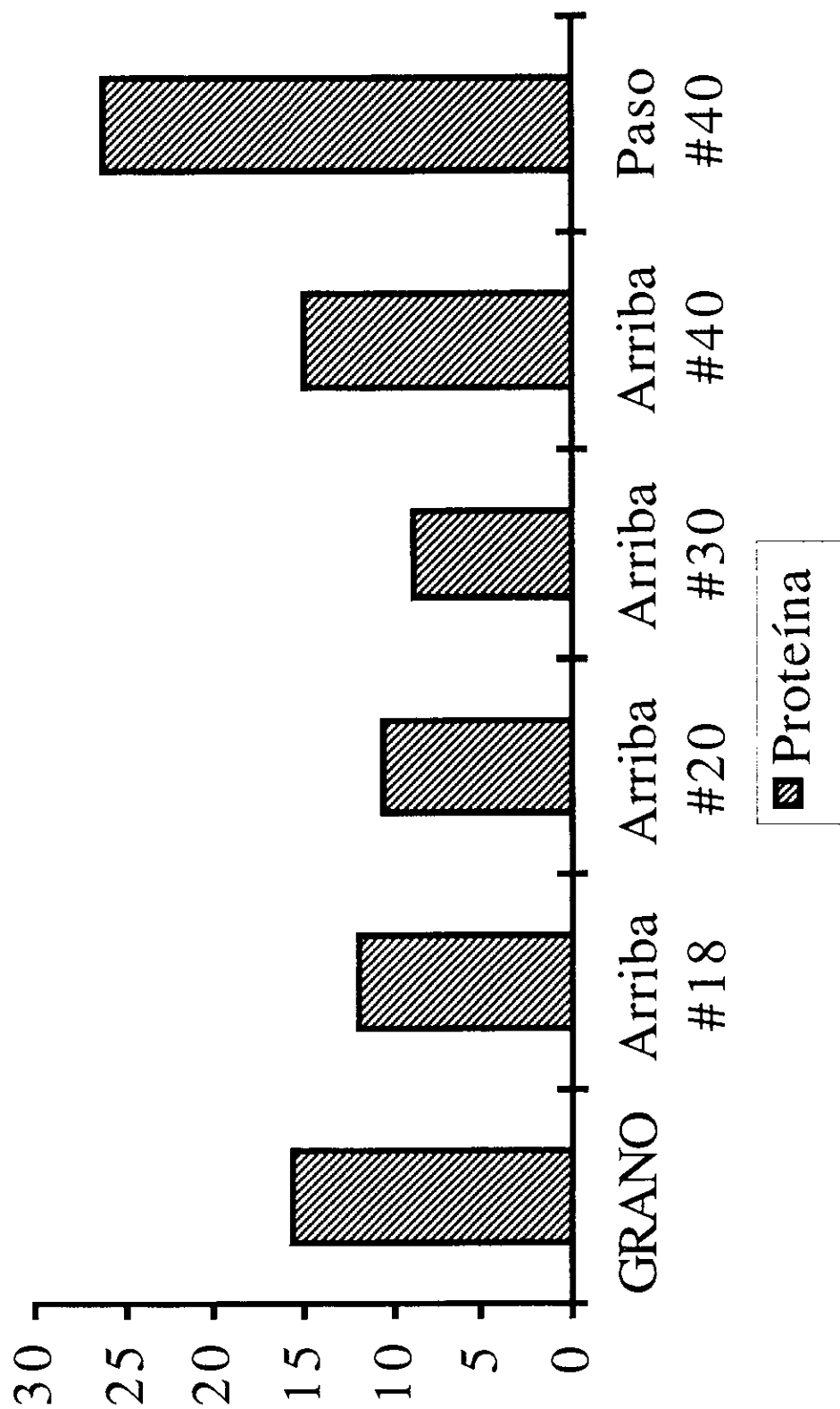


FIGURA No.5
DETERMINACION DE PROTEINA
FRACCIONES Y GRANO DE A. CRUENTUS



En la determinación de humedad se encontró una variabilidad de 9.48 ± 0.27 a 11.80 ± 0.11 entre fracciones. Mediante análisis de varianza no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre R1, R2 y R3 a una $p < 0.05$. La diferencia estadísticamente significativa se encontró entre el contenido de humedad de cada fracción a un p de 0.05.

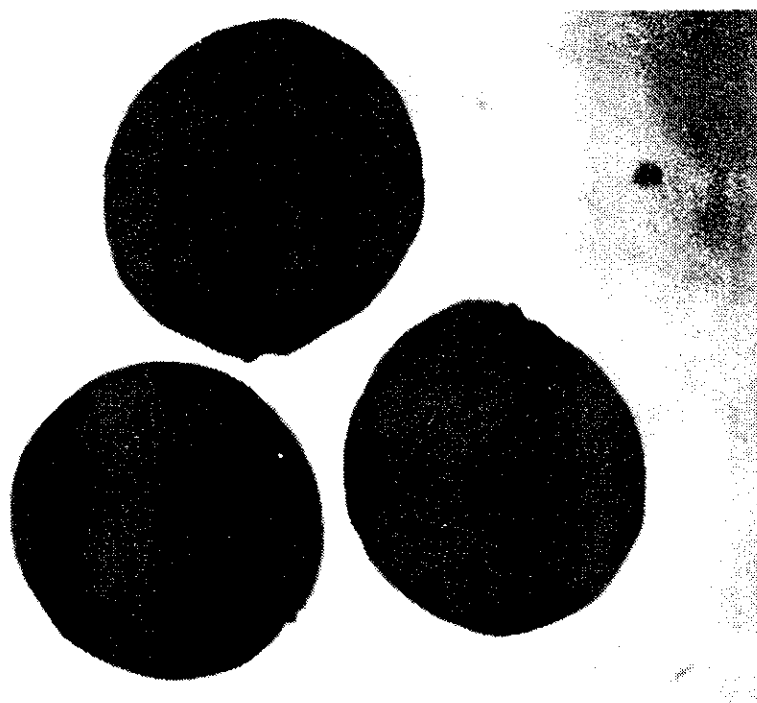
Analizando la gráfica y los resultados de la determinación de lípidos se observa un comportamiento especial. Se puede hablar de una curva cuyos valores van del mayor al menor y luego a otro mayor. Se encontró un valor bajo de 2.43% en la fracción que no pasó el tamiz No. 30 y un valor máximo de 16.2% en la fracción que pasó el tamiz No. 40. El análisis de varianza no encontró diferencia estadísticamente significativa entre R1, R2 y R3. Sin embargo, sí encontró diferencia estadísticamente significativa entre las fracciones. Betschart y colaboradores (4) han indicado que la fracción cáscara/germen contiene más grasa que la fracción perispermo. Por consiguiente se podría sugerir de los datos de este estudio que la fracción que pasó el tamiz No. 40 es la fracción cáscara/germen, y la fracción que no pasó el tamiz No. 30 de menor cantidad de lípidos es la porción perispermo.

En cuanto al análisis de proteína, se determinó la totalidad de grupos nitrogenados (proteicos o no) mediante

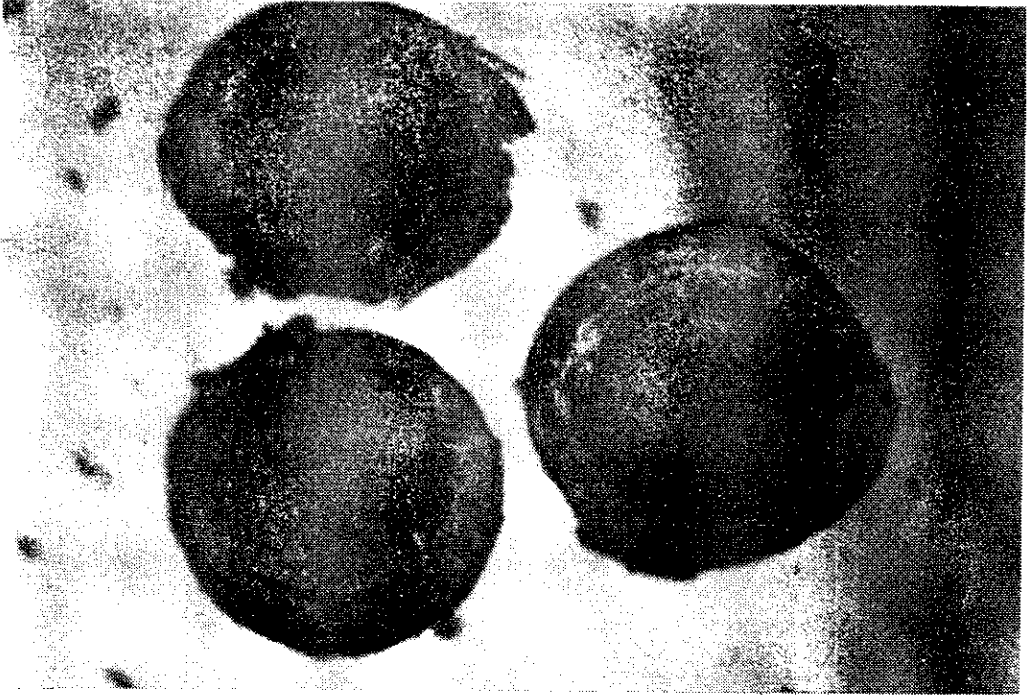
el método de micro-Kjeldahl. El comportamiento observado es similar al que se encontró con la grasa: una curva con dos extremos altos y un punto bajo correspondiente al mesh No. 30, lo cual se puede ver claramente en la figura No. 5. En la tabla No.6 se demuestra una variabilidad del contenido de proteína en las fracciones de 9.05% en la fracción que no pasó el mesh 30 y 26.5% en la fracción que pasó el tamiz No. 40. El análisis estadístico mostró diferencias estadísticamente significativas entre fracciones y no encontró diferencia estadísticamente significativa entre R1, R2 y R3. De acuerdo a los argumentos utilizados anteriormente basados en los datos de Betschart y colaboradores (4) y de Sánchez-Marroquín (6), en el sentido de que la porción cáscara/germen es alta en contenido proteínico y la fracción perispermo es baja en su contenido de proteína, se puede sugerir que fracción que pasó el tamiz No. 40, así como la que no pasó el tamiz 40 es la fracción cáscara/germen, mientras que la fracción que no pasó el tamiz No. 30 es la fracción perispermo. Esta evidencia de tipo analítico se reforzó un poco más observando todas las fotografías de las fracciones tomadas bajo esteroscopio. Tomando como referencia la fotografía del grano entero del Amaranthus cruentus se procedió a analizarlas morfológicamente. Se puede observar que las fracciones arriba del mesh 18 y del mesh 20 han ido perdiendo la estructura de la periferia correspondiente

al germen, menos destruido en la fracción arriba de 18 que la fracción arriba de 20. Por el contrario en la fracción arriba de 30 mesh se ha perdido la periferia por completo y se observa lo que podría considerarse el perispermo, comparándolo con la figura con que Betschart describe el mismo (4), ver figura B en apéndice. En la fracción arriba de 40 se observa la "cubierta", o sea el germen, destruido y escaso en cantidad, correlacionando esta escasez con el rendimiento encontrado en el tamizado. La apariencia de esta fracción corresponde a la microfotografía con que Irving describe al germen (17), ver figura C en apéndice. En la fracción que pasó el mesh No. 40 se observa lo que es una mayor cantidad de cubierta o germen destrozado por la molienda más restos de perispermo resultando de la acción abrasiva del proceso. Debido al rendimiento del tamizado (comparado con el mesh 40) el que pasó No. 40, es el representativo de lo que es el germen, pues tiene una mayor cantidad de muestra y porque se puede observar físicamente. Tanto el material del mesh No. 40 y el material que pasó el mesh No. 40 en la fotografía coincide con el análisis químico o sea más contenido de lípidos y proteínas. La comparación de las fracciones de este estudio con los de Betschart y colaboradores (4) tiene una alta similitud, ver figura B en apéndice. Así, las fotografías A, B, C, D, E, y F de Betschart y colaboradores (4) corresponden a las fotografías

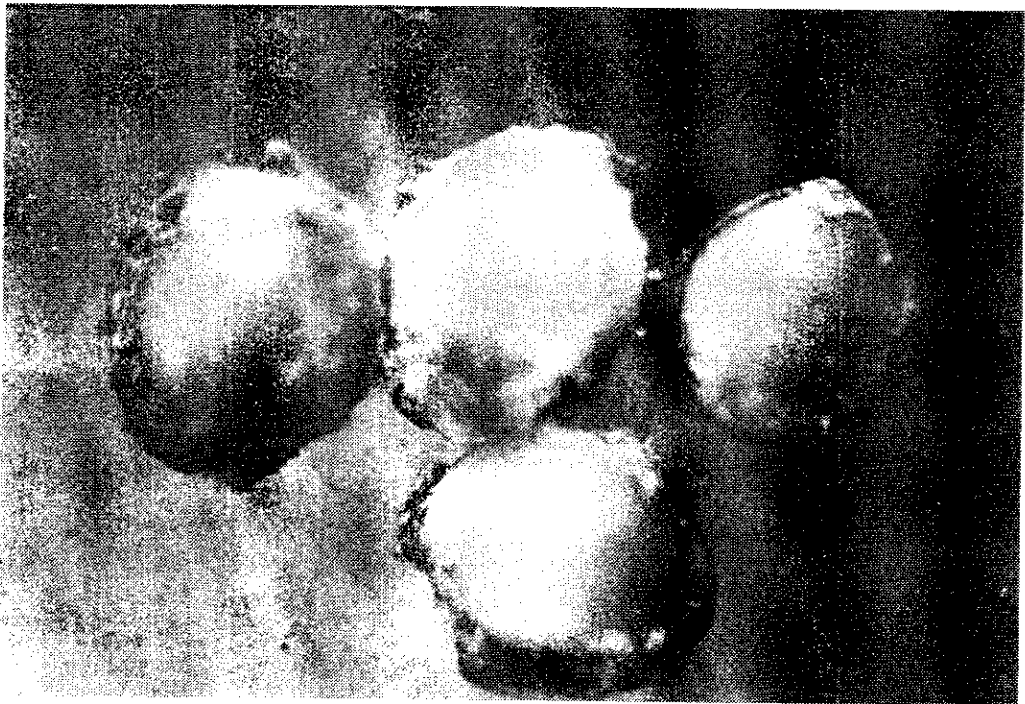
del presente estudio como sigue: Grano entero, mesh 18, mesh 20, y las últimas tres al mesh 30. La fracción arriba del mesh 40 de este estudio podría contener más cáscara que lo que pasó mesh 40, lo cual explicaría los contenidos bajos de lípidos y proteína que la fracción que pasó mesh 40.



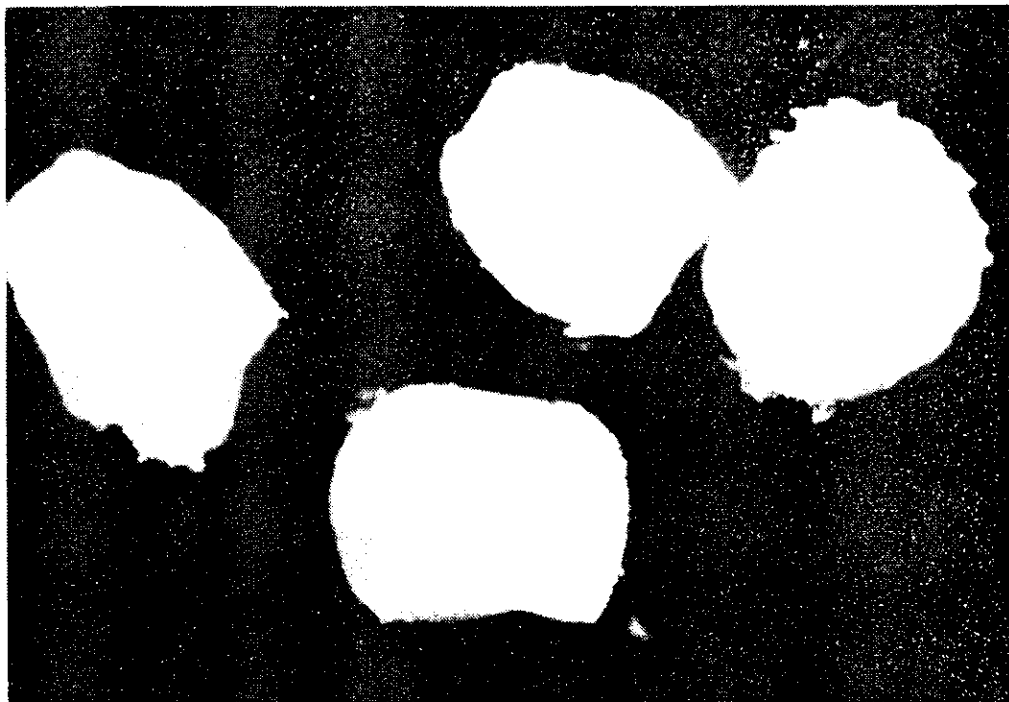
GRANO ENTERO DE AMARANTHUS CRUENTUS



ARRIBA DEL MESH 18



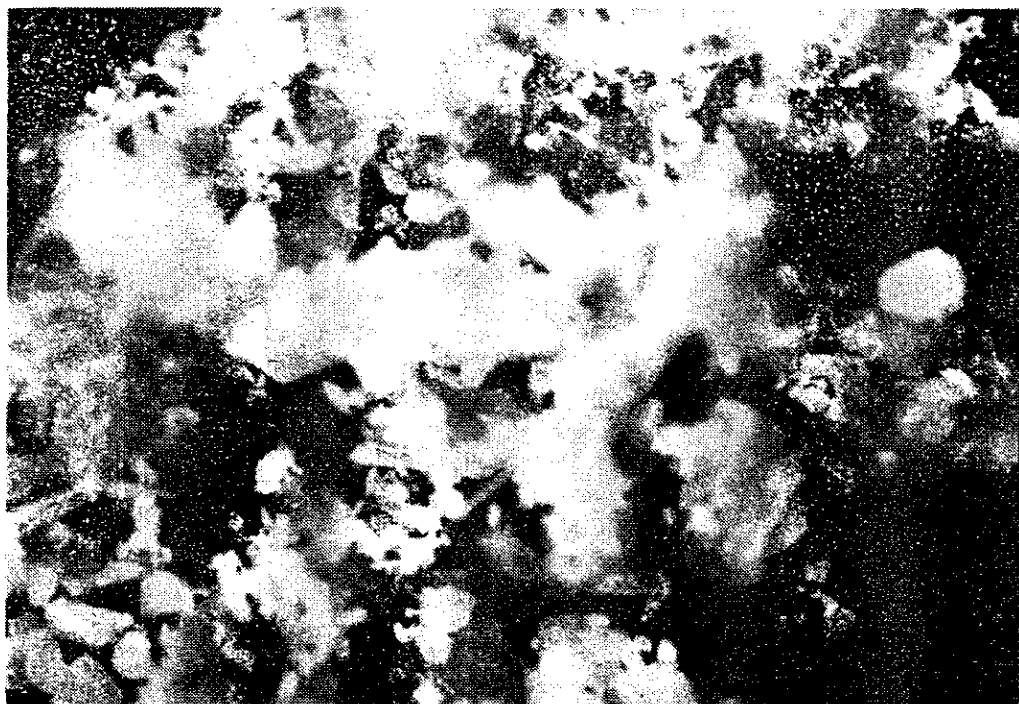
ARRIBA DEL MESH 20



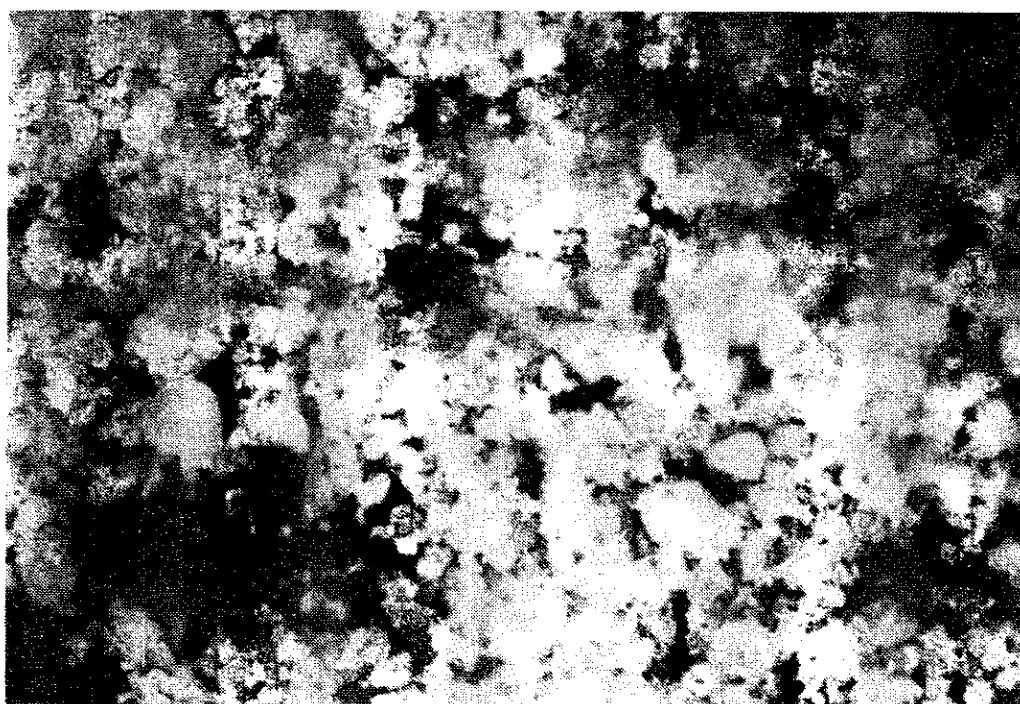
ARRIBA DEL MESH 30



ARRIBA DEL MESH 40



PASO MESH 40 (MUESTRA NO DESGRASADA)



PASO MESH 40 (MUESTRA DESGRASADA)

Debido a que no se logró la separación completa y total del germen mediante la molienda efectuada, se optó por otras medidas para lograrlo. Para mejorar la separación se intentó desde la separación manual, el congelamiento y el shock térmico, sin ningún éxito. Si se analiza la morfología del grano, sus dimensiones y su estructura responden a la necesidad de su habitat. El amaranto es una planta de lugares con temperatura extrema y sujetos a sequías, es por eso que la semilla debe guardar su integridad para poder subsistir ante climas y temperaturas muy severos. Esto lo logra porque su estructura y su morfología provocan que exista una distancia muy pequeña entre las moléculas que lo conforman, creando una tensión superficial muy grande que hace muy difícil su separación. De igual manera en este estudio, Irving trató diversos métodos para lograr la separación de las fracciones siempre sin éxito (17).

Si se analizan conjuntamente todos los resultados químicos, fotografías y datos de Betschart y colaboradores (4) y Sánchez-Marroquín (6), se encuentra en el grupo +#40 la menor cantidad de humedad y los mayores niveles de grasa y proteína, coincidiendo con lo esperado para el germen. El germen es la entidad formadora y generadora del nuevo ser, por lo tanto necesita de la mayor cantidad de proteína tanto estructural como de actividad biológica. Para esto hace necesitar mayor cantidad de grasa como reserva calórica

y al mismo tiempo baja el porcentaje de humedad por las características hidrofóbicas de la proteína conformante. En lo que concierne al perispermo, es un depósito energético que aporta lo necesario para el desarrollo del nuevo ser. Por ello necesita carbohidratos en forma de vesículas de almidón que guardan una mayor cantidad de agua entre ellas; provocando además que existan menores cantidades de proteína y grasa, pues la producción de energía es más lenta.

Las fotografías de las diferentes fracciones de tamizado junto con el análisis por el contenido de proteína y de grasa ayudaron a establecer con bastante confianza que la fracción #30 era perispermo y que la fracción +#40 era una mezcla de germen con cáscara. Sin embargo, una observación más detallada de las fotografías #40 y +#40 mesh, mostró que en ambas fracciones había partículas que por su densidad y apariencia se miraban muy parecidas a la fracción #30. Esta falta de separación más limpia en las fracciones físicas del grano de amaranto, indudablemente llevó a errores experimentales involuntarios que se trataron de resolver como por ejemplo usando densitometría. Por consiguiente en estudios futuros sería necesario refinar, hasta donde sea posible, la separación más perfecta de las dos fracciones físicas del grano de amaranto. Es difícil estimar la cantidad de fracción contaminante. Sin embargo, con base en las fotografías tomadas, las cantidades son mínimas.

Vale la pena indicar que el objetivo principal del presente estudio fue el establecer qué diferencias podrían existir en la distribución de proteínas entre las dos fracciones morfológicas más abundantes del grano de amaranto y no el de fraccionar cualitativamente el grano en sus dos componentes morfológicos, el germen y el perispermo.

Por estas razones se hizo necesario conocer qué porciones físicas de los obtenidos en el trabajo representaban el perispermo y el germen. Sin embargo, el fraccionamiento de las proteínas se llevó a cabo en todas las fracciones físicas.

Debido a la cantidad de muestra se procedió a unir el grupo mesh 18 al mesh 20 y continuar el estudio con 5 grupos para la solubilidad y fraccionamiento de la proteína.

Para el siguiente paso del estudio, o sea la determinación de la distribución de la proteína por solubilidad, se necesitó un desgrasado total de la muestra a analizar. Se optó por el hexano para el desgrasado de la muestra, pues tiene un punto de ebullición más alto y no es tan volátil como el éter. El valor total de la proteína en cada grupo aumentó respecto del análisis proteico anterior, que se llevó a cabo con un desgrasado más corto y con éter. Esto fue porque al eliminar una mayor cantidad de grasa se concentró la proteína en la muestra. El comportamiento de esta segunda determinación proteica post desgrasado tiene forma similar a la anterior con picos

mayores en el mesh. +#40 y la forma de curva ya comentada, ver figura No. 6. Los resultados de la determinación de proteína se puede observar en la tabla No. 7 y el promedio en la tabla No. 8 y figura No. 6.

TABLA No. 7

**DETERMINACION DE PROTEINA DE FRACCIONES Y GRANO
DE A. CRUENTUS DESGRASADO (%)**

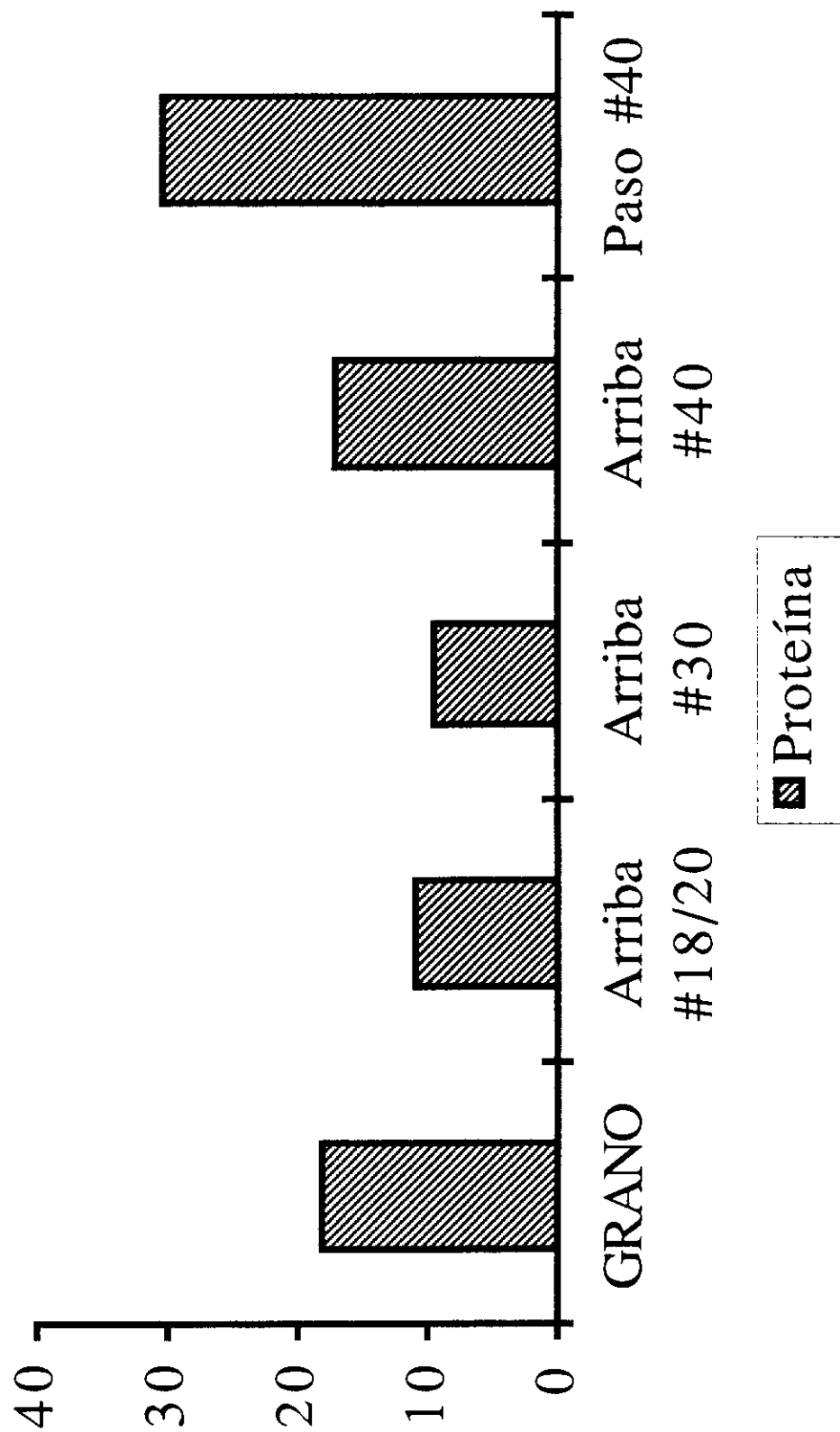
| MUESTRA | R1 | R2 | R3 |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| GRANO | 17.22 | 18.45 | 18.71 |
| #18/20 | 10.47 | 10.85 | 10.67 |
| #30 | 9.39 | 9.62 | 9.55 |
| #40 | 15.56 | 14.30 | 16.81 |
| +#40 | 30.78 | 30.69 | 29.88 |

TABLA No. 8

**DETERMINACION DE PROTEINA EN FRACCIONES DESGRASADAS DEL
GRANO DE AMARANTHUS CRUENTUS**

| MESH | PROTEINA (%) |
|--------------------|-------------------------|
| Grano | 18.13 ± 0.20 |
| # 18/20 | 10.66 ± 0.16 |
| Arriba # 30 | 9.52 ± 0.10 |
| Arriba # 40 | 15.56 ± 0.03 |
| Paso # 40 | 30.45 ± 0.11 |

FIGURA No.6
DETERMINACION DE PROTEINA A. CRUENTUS
FRACCIONES Y GRANO DESGRASADO



Podemos observar una variabilidad de $9.52 \pm 0.10\%$ a $30.45 \pm 0.11\%$. El análisis estadístico encontró diferencia estadísticamente significativa entre las fracciones pero no entre los grupos. Además en la microfotografía $\times 40$ podemos ver la diferencia de la muestra con grasa y sin grasa.

El desgrasado con hexano posiblemente influyó en forma negativa sobre la solubilidad proteica de acuerdo a varios investigadores pero no se ha llegado a consenso en su explicación. El grupo mexicano encabezado por Segura-Nieto, Barba de la Rosa y Paredes-Lopez explica la baja solubilidad proteica en que el hexano altera la configuración espacial de la molécula proteica ocultando los grupos polares hidrofílicos sin alterar los cuerpos nitrogenados. Esto provoca una disminución en la solubilidad proteica, aunque ésta no sea esperada (2 y 26).

La segunda parte de este estudio contempló la determinación de los tipos de proteína que conformaban ambos componentes del grano de amaranto. Esto se logró de acuerdo a su solubilidad en diferentes solventes como agua, solución salina, 2-propanol y un medio alcalino fuerte. Los tipos de proteína a investigar eran proteínas simples, las esferoproteínas de gran contenido de aminoácidos esenciales y fácilmente hidrolizables por lo que tienen gran valor nutritivo. Los 4 tipos a determinar fueron albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas con

determinación de residuo. Cada uno de estos grupos proteicos es soluble en un determinado solvente; la pregunta de cuál era el solvente más adecuado, se encontró en la investigación de Barba de la Rosa y colaboradores (2), quienes investigaron diversos solventes para lograr la más eficiente extracción proteica. La secuencia de los solventes a utilizar obedece a que cada uno prepara al siguiente grupo proteico para su extracción; el uso de alcohol o medio alcalino fuerte antes del agua podría provocar una desnaturalización o alteración de albúminas o globulinas modificando negativamente los resultados. La polaridad proteica fue parte importante a considerar para la elección del solvente; proteínas muy polares como las glutelinas requieren de solventes polares en medio alcalino fuerte para su extracción que debe verificarse en el último paso; esta reacción obedece también a la existencia de puentes de disulfuro que evitan la extracción de este tipo de proteínas del tejido y esto sólo puede lograrse con el solvente usado en este estudio. Además las albúminas y globulinas son de proteína con bajo peso molecular por lo que su solubilidad es mayor; las glutelinas son proteínas de alto peso molecular por lo que son más difíciles de extraer y solubilizar.

La extracción proteica se efectuó en cada uno de los 5 grupos de muestras ya establecidos anteriormente y denotados por su respectivo mesh; se optó por 3 repeticiones

para lograr un promedio de todas.

Para la solubilidad no se utilizó un agitador magnético pues éste, mediante formación de cargas eléctricas puede alterar la polaridad de la proteína y, por ende, su solubilidad. Asimismo, por efecto físico puede causar desnaturalización de la proteína a extraer. Se utilizó un agitador de tubos para evitar este efecto y siempre lograr un menor grado de solubilidad proteica mediante agitación.

La extracción proteica se efectuó mediante tres extracciones de 10, 8 y 8 ml de solvente para completar 25 ml requeridos (1 ml quedaría en el residuo). Se observó que la primera extracción de 10 ml no tenía tanta turbidez como en las siguientes; esto se debe a que en la primera extracción se abren los espacios moleculares para que en la siguiente extracción la proteína tenga completo contacto con el solvente y se logre la extracción. En ninguna repetición de algún solvente se encontró espuma o precipitación que indicaran desnaturalización proteica y tampoco mal olor que indicara descomposición bacteriana.

Una vez lograda la extracción proteica se procedió a la determinación cuantitativa mediante micro-Kjeldahl y método de Bradford. El método de micro-Kjeldahl determina el nitrógeno total, tanto proteico como no proteico; se basa en que el nitrógeno del compuesto forma amonio, luego de una digestión ácida. Este hidrolizado es luego

alcalinizado para liberar el amonio por destilación; el cual se cuantifica por titulación.

El método colorimétrico de Bradford necesita de un espectrofotómetro y determina únicamente el nitrógeno proteico. De esta manera se disponía de 2 métodos para comparación y análisis de resultados.

Los resultados por el método de micro-Kjeldahl se presentan en las tablas No. 9, 10 y 11 y los promedios en la tabla No. 12 y figuras No. 7, 8, 9, 10 y 11.

TABLA No. 9

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DEL A. CRUENTUS
 POR METODO DE KJELDAHL (R1) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|
| Grano | 34.13 | 21.43 | 4.06 | 25.69 | 4.43 | 87.74 |
| #18/20 | 26.67 | 26.17 | 3.68 | 28.75 | 0.75 | 86.02 |
| #30 | 22.78 | 19.61 | 5.91 | 22.52 | 0.44 | 71.26 |
| #40 | 23.80 | 15.43 | 4.42 | 24.81 | 13.80 | 82.26 |
| + #40 | 28.25 | 25.94 | 6.24 | 31.37 | 4.47 | 96.27 |

TABLA No. 10

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DE A. CRUENTUS
 POR METODO DE KJELDAHL (R2) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|
| Grano | 36.09 | 21.69 | 4.20 | 26.02 | 4.26 | 92.96 |
| #18/20 | 26.28 | 26.24 | 3.26 | 26.75 | 0.63 | 83.16 |
| #30 | 22.70 | 19.43 | 5.83 | 22.18 | 0.43 | 70.65 |
| #40 | 23.44 | 15.55 | 4.57 | 24.98 | 13.72 | 82.20 |
| +#40 | 29.95 | 26.49 | 6.33 | 30.92 | 4.60 | 98.24 |

TABLA No. 11

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DE A. CRUENTUS
 POR METODO DE KJELDAHL (R3) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUOS | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|-------|
| Grano | 32.08 | 21.82 | 4.15 | 25.84 | 4.34 | 88.23 |
| #18/20 | 26.91 | 26.31 | 3.44 | 28.18 | 0.71 | 85.54 |
| #30 | 22.79 | 19.73 | 5.73 | 22.77 | 0.47 | 71.49 |
| #40 | 23.26 | 15.95 | 4.36 | 25.11 | 13.91 | 82.59 |
| + #40 | 28.60 | 26.33 | 6.13 | 31.23 | 4.65 | 96.94 |

TABLA No. 12

DETERMINACION PROTEICA DE FRACCIONES Y GRANO DE AMARANTHUS CRUENTUS
 POR METODO DE KJELDAHL (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUOS | TOTAL |
|----------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Grano | 34.10 ± 0.64 | 21.64 ± 0.16 | 4.14 ± 0.06 | 25.85 ± 0.13 | 4.34 ± 0.09 | 89.41 ± 2.02 |
| Arriba # 18/20 | 26.62 ± 0.26 | 26.24 ± 0.05 | 3.46 ± 0.17 | 27.89 ± 0.84 | 0.70 ± 0.05 | 84.91 ± 1.25 |
| Arriba # 30 | 22.76 ± 0.04 | 19.59 ± 0.12 | 5.82 ± 0.07 | 22.49 ± 0.24 | 0.45 ± 0.02 | 71.13 ± 0.35 |
| Arriba # 40 | 23.50 ± 0.22 | 15.64 ± 0.22 | 4.45 ± 0.09 | 24.96 ± 0.12 | 13.81 ± 0.08 | 82.35 ± 0.17 |
| Paso # 40 | 28.93 ± 0.73 | 26.25 ± 0.03 | 6.23 ± 0.08 | 31.17 ± 0.19 | 4.57 ± 0.08 | 97.15 ± 0.82 |

FIGURA No. 7
DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO
POR METODO KJELDAHL (%)

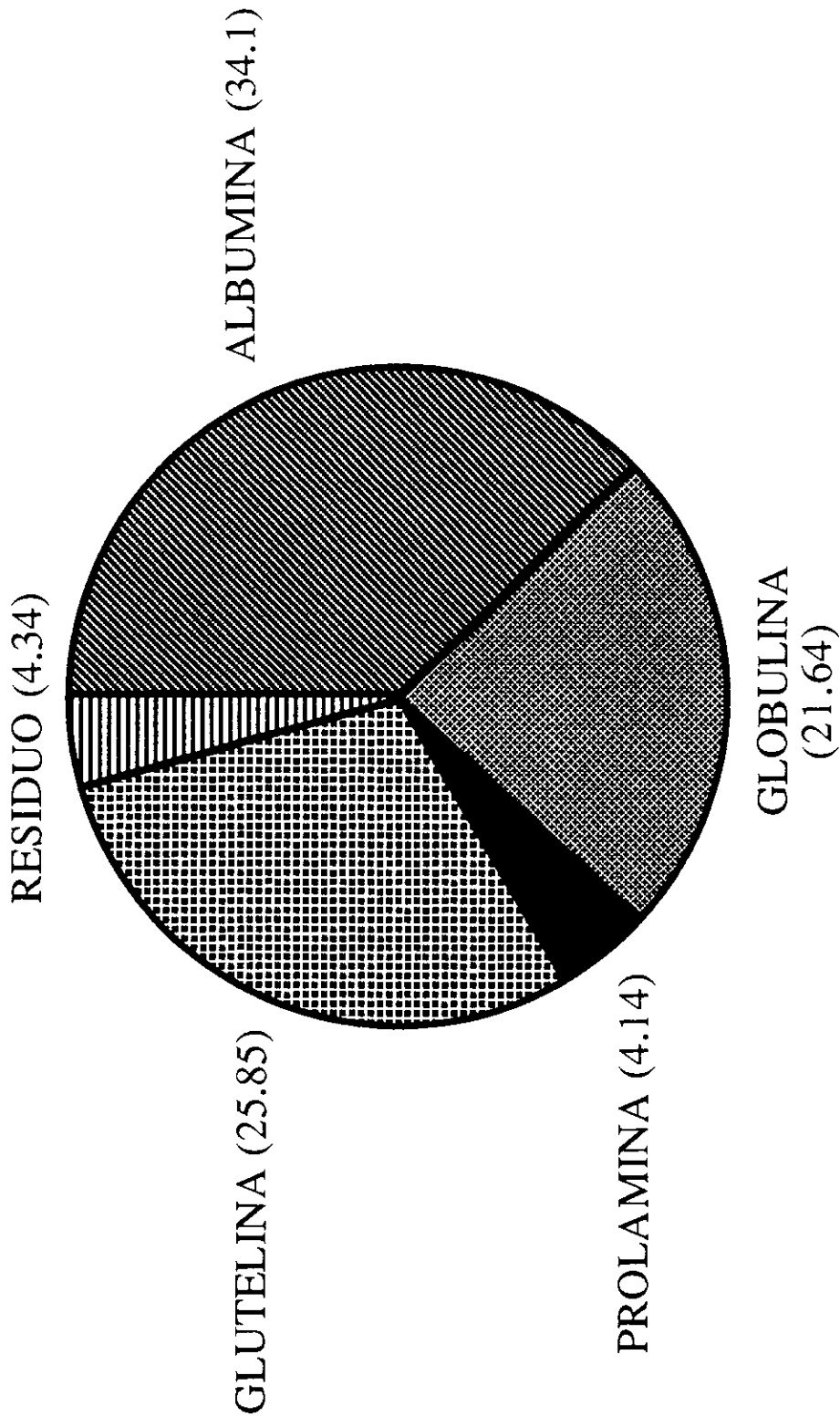


FIGURA No. 8
DETERMINACION PROTEICA FRACCION #18/20
POR METODO KJELDAHL (%)

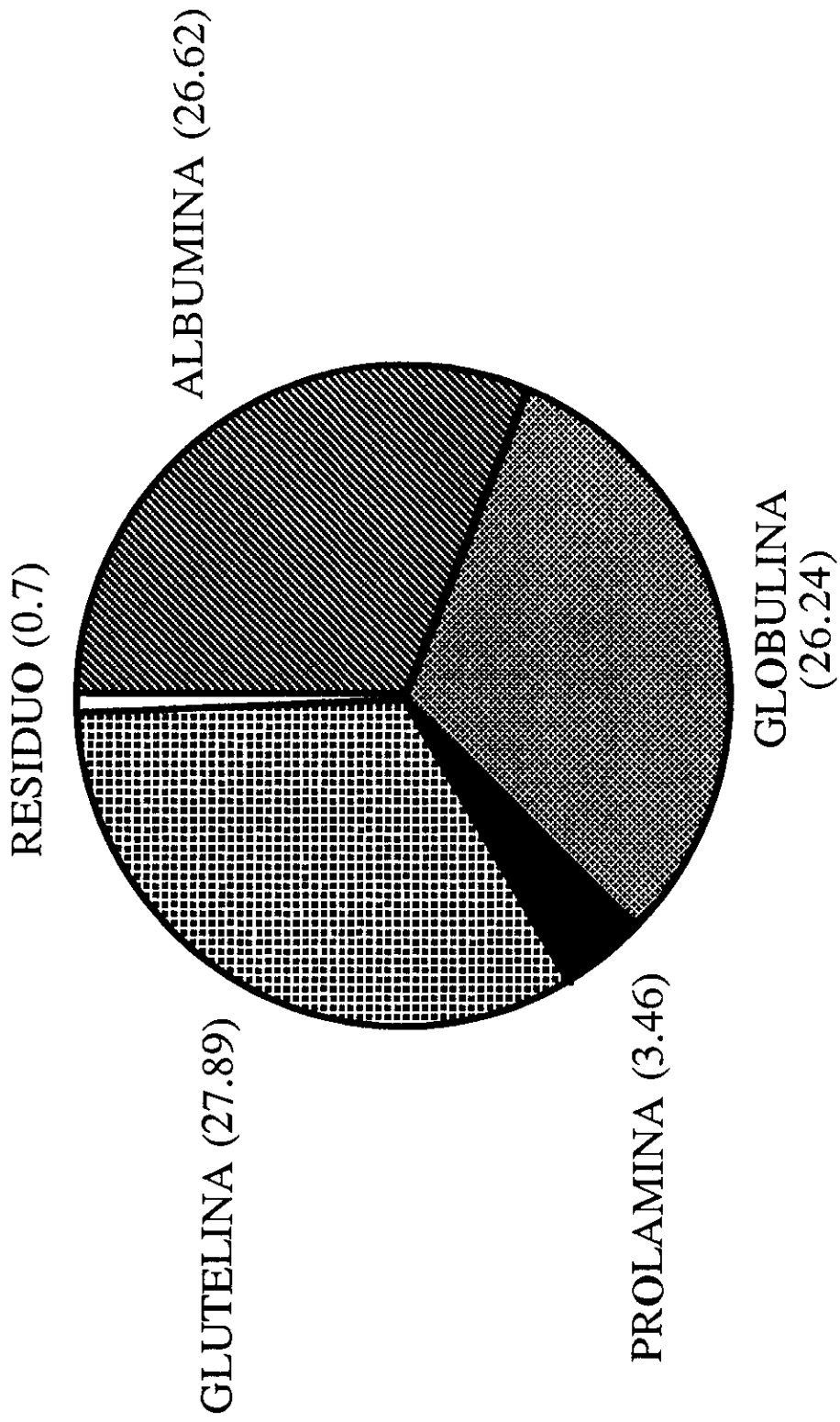


FIGURA No.9
DETERMINACION PROTEICA FRACCION #30
POR METODO KJELDAHL (%)

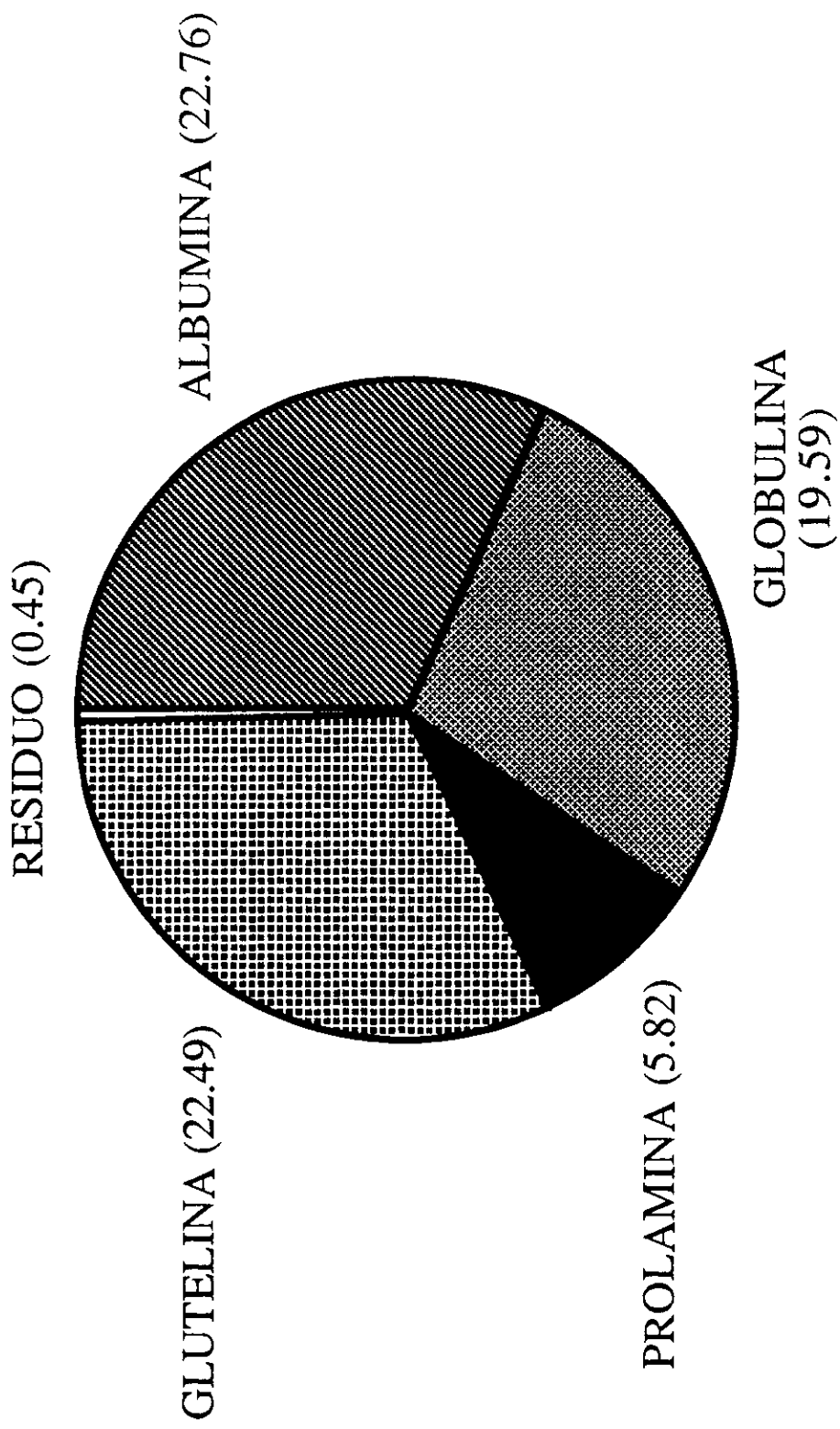


FIGURA No. 10
DETERMINACION PROTEICA FRACCION #40
POR METODO KJELDAHL (%)

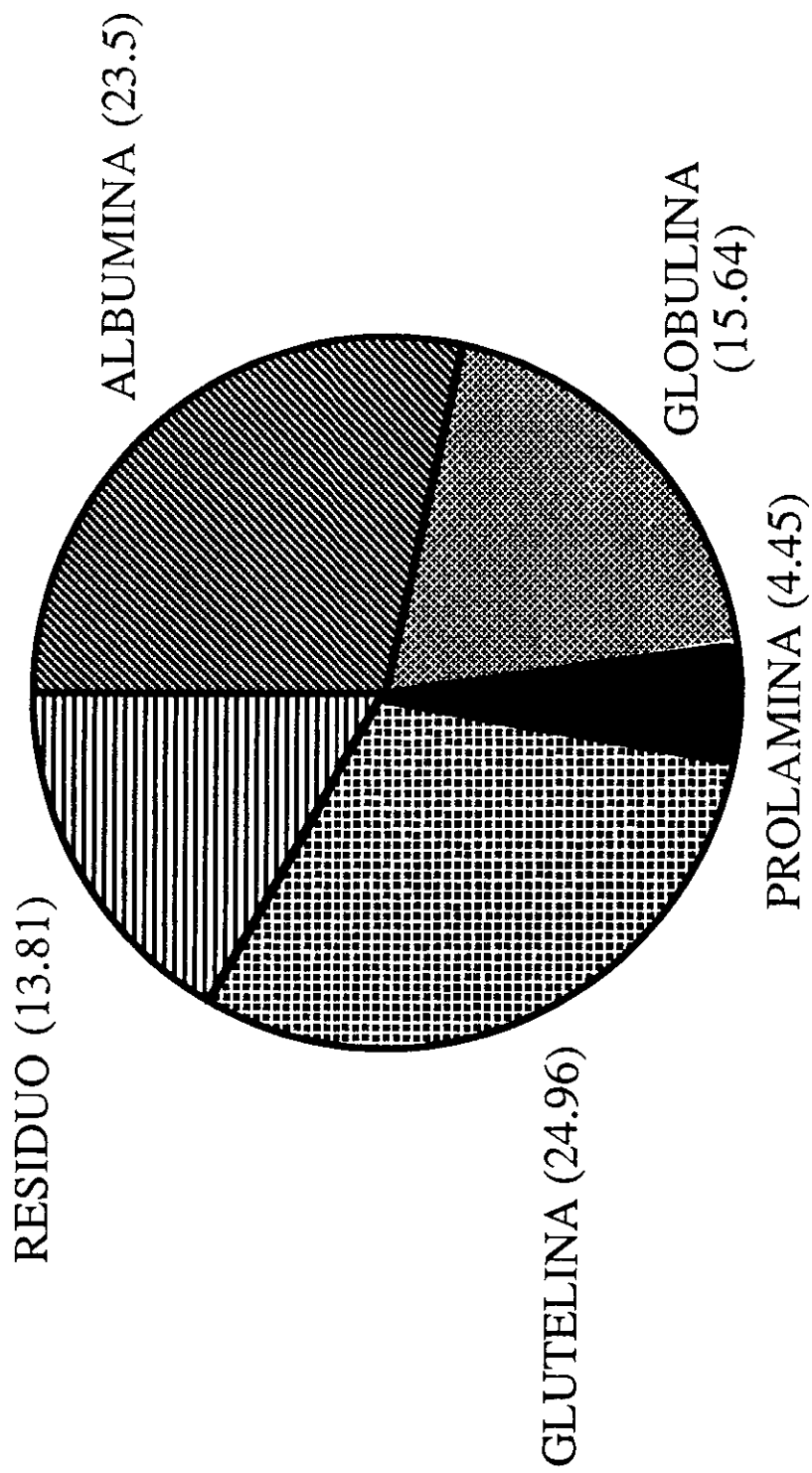
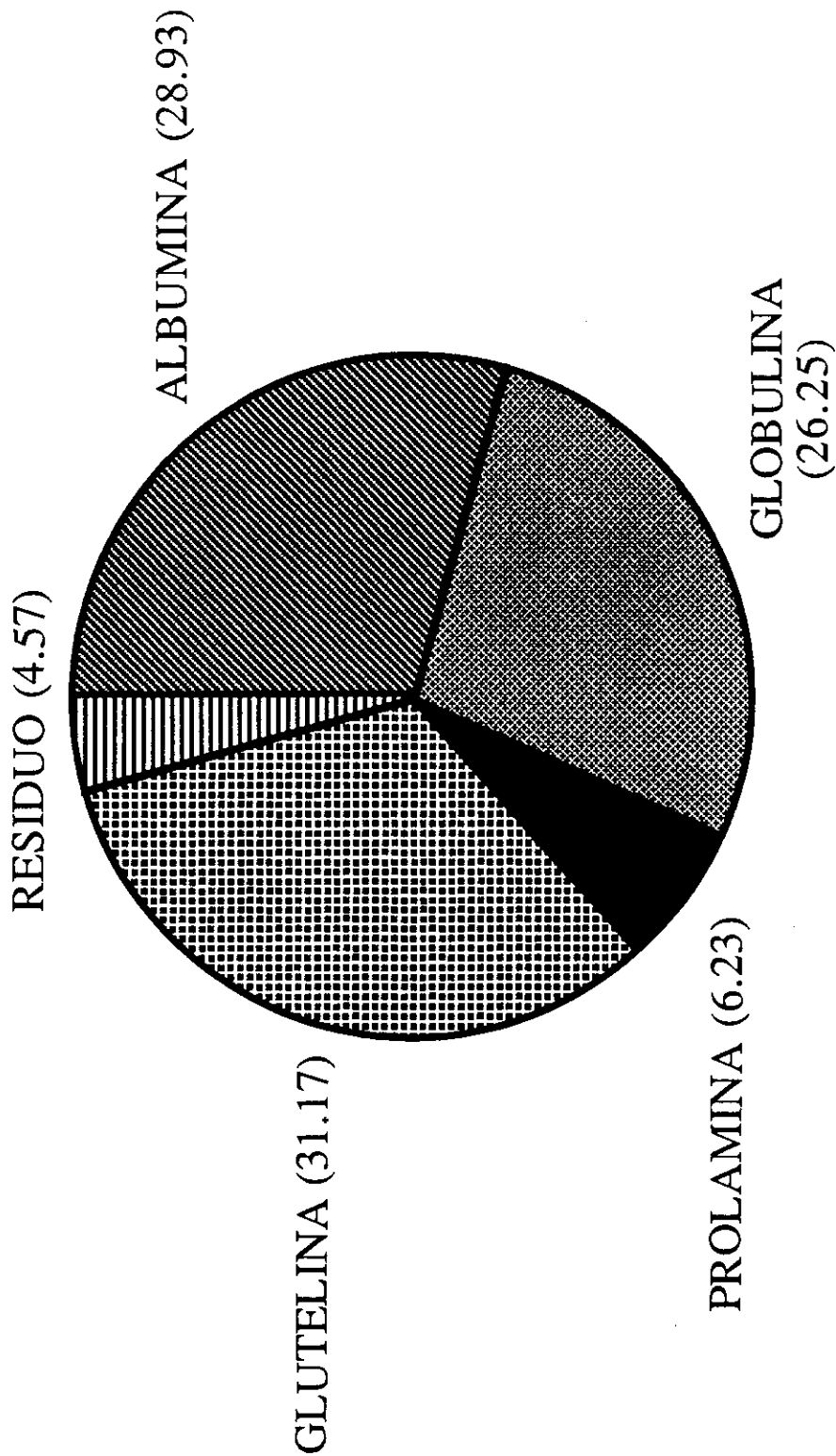


FIGURA No. 11
DETERMINACION PROTEICA FRACCION +#40
POR METODO KJELDAHL (%)



El análisis de varianza no encontró diferencias estadísticamente significativas en R1, R2 y R3 a un $p < 0.05$; sin embargo, sí encontró diferencias estadísticamente significativas entre cantidades de albúmina, globulinas, prolaminas, glutelinas y residuos entre fracciones físicas. Sin embargo, la comparación que nos interesa es la distribución de proteínas en la fracción arriba del mesh 30 (supuestamente perispermo) con la que pasó el mesh 40 (supuestamente el germen). Esta comparación muestra que la fracción germen contiene más albúmina, globulina prolamina y glutelina que la fracción física perispermo. Sin embargo, el total recuperado o extraído fue del 71.13% para la fracción perispermo y 97.15% para la fracción física germen. Si se asume una recuperación igual para las dos fracciones, la distribución proteica es bastante similar entre el perispermo y el germen. El análisis de varianza demostró diferencias estadísticamente significativas entre el grano, fracción mesh 30 y pasado mesh 40. Sin embargo, este análisis no demostró diferencia estadísticamente significativa entre R1, R2 y R3.

La distribución de las proteínas entre las diferentes fracciones físicas medido por el método de Bradford que determina nitrógeno proteico, da un patrón similar al utilizar el método de micro-Kjeldahl, aunque los valores son más bajos, ver tablas No. 12, 13 y 14 su promedio en la tabla No. 15 y figuras No. 12, 13, 14, 15 y 16.

TABLA No. 12

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DE A. CRUENTUS
 POR METODO DE BRADFORD (R1) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|
| Grano | 28.81 | 19.33 | 0.61 | 24.81 | 4.43 | 77.99 |
| #18/20 | 24.58 | 21.85 | 0.53 | 20.30 | 0.75 | 68.01 |
| #30 | 17.70 | 12.91 | 0.88 | 16.19 | 0.44 | 48.12 |
| #40 | 15.85 | 13.43 | 0.77 | 21.55 | 13.80 | 65.40 |
| +#40 | 20.40 | 24.49 | 0.93 | 28.81 | 4.47 | 79.10 |

TABLA No. 13

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DEL A. CRUENTUS
 POR METODO DE BRADFORD (R2) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|
| Grano | 28.30 | 19.55 | 0.58 | 24.59 | 4.26 | 77.28 |
| #18/20 | 24.67 | 21.48 | 0.52 | 19.79 | 0.63 | 67.09 |
| #30 | 17.28 | 12.38 | 0.85 | 16.28 | 0.43 | 47.22 |
| #40 | 15.56 | 13.55 | 0.73 | 21.63 | 13.72 | 65.19 |
| + #40 | 20.25 | 24.71 | 0.95 | 28.34 | 4.60 | 78.85 |

TABLA No. 14

DETERMINACION PROTEICA DEL GRANO Y FRACCIONES DEL A. CRUENTUS
 METODO DE BRADFORD (R3) (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|---------|----------|-----------|-----------|-----------|---------|-------|
| Grano | 28.53 | 19.44 | 0.59 | 24.73 | 4.34 | 77.63 |
| #18/20 | 24.22 | 21.22 | 0.51 | 19.95 | 0.71 | 66.61 |
| #30 | 17.01 | 12.20 | 0.81 | 16.35 | 0.47 | 46.84 |
| #40 | 15.73 | 13.95 | 0.70 | 21.37 | 13.91 | 65.66 |
| + #40 | 19.93 | 24.33 | 0.97 | 28.73 | 4.65 | 78.61 |

TABLA No. 15

DETERMINACION PROTEICA DE FRACCIONES Y GRANO DE A. CRUENTUS
 POR METODO DE BRADFORD (%)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | RESIDUO | TOTAL |
|-----------|-------------|--------------|------------|-------------|--------------|-------------|
| Grano | 28.55± 0.21 | 19.44± 0.09 | 0.59± 0.01 | 24.71± 0.09 | 4.34± 0.07 | 77.63± 0.25 |
| Arriba#18 | 24.49± 0.19 | 21.52± 0.26 | 0.52± 0.01 | 20.01± 0.21 | 0.70 + 0.05 | 67.24± 0.20 |
| Arriba#30 | 17.33± 0.28 | 12.50± 0.30 | 0.85± 0.03 | 16.27± 0.07 | 0.45 + 0.02 | 47.40± 0.11 |
| Arriba#40 | 15.71± 0.20 | 13.64± 0.16 | 0.73± 0.02 | 21.52± 0.21 | 13.81 ± 0.08 | 65.41± 0.33 |
| Paso #40 | 20.19± 0.12 | 24.51 ± 0.22 | 0.95± 0.03 | 28.63± 0.11 | 4.57 ± 0.08 | 78.85± 0.27 |

FIGURA No. 12
DETERMINACION PROTEICA EN GRANO
POR METODO DE BRADFORD (%)

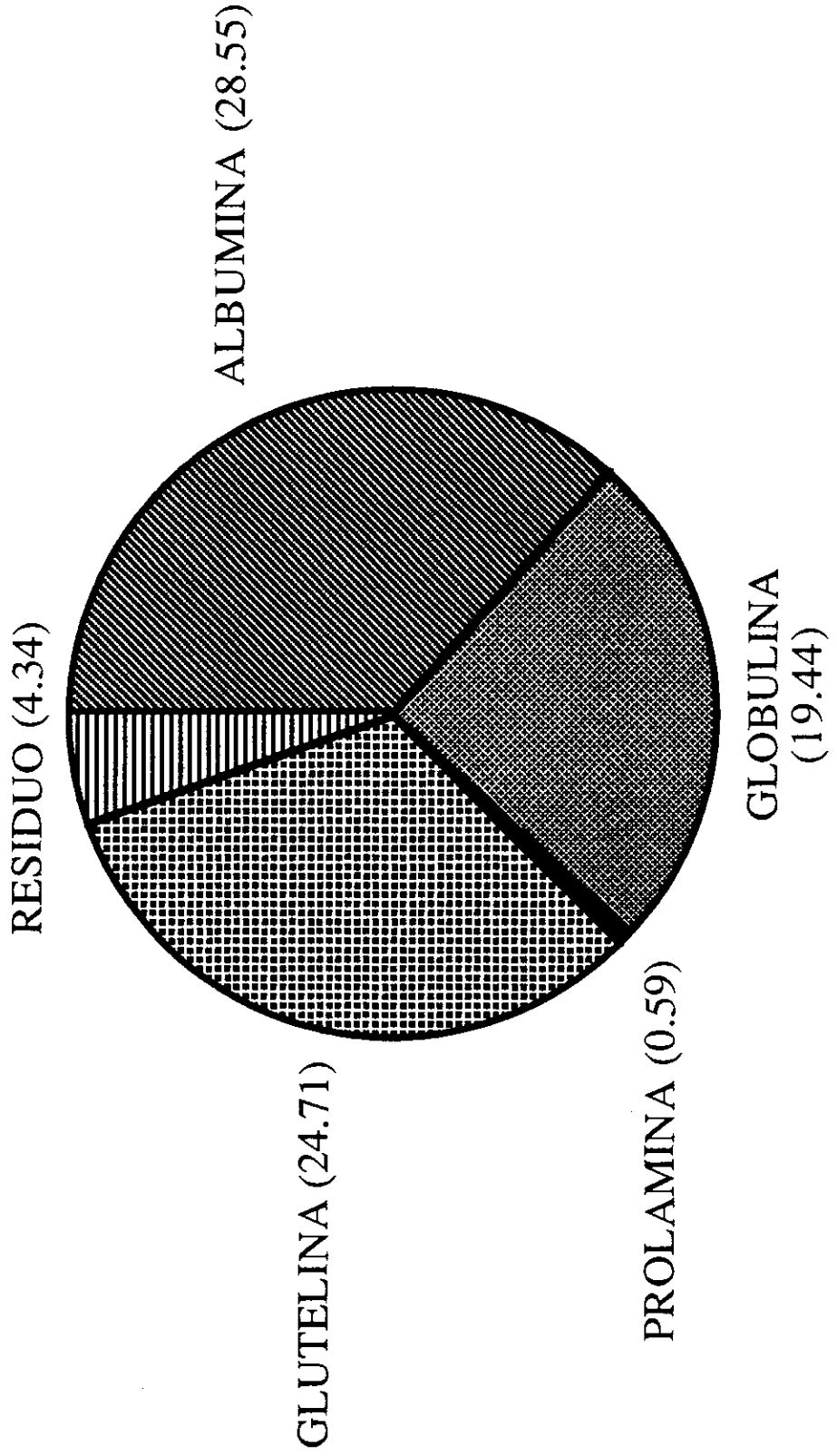


FIGURA No. 13
DETERMINACION PROTEICA DE FRACCION #18/20
POR METODO DE BRADFORD (%)

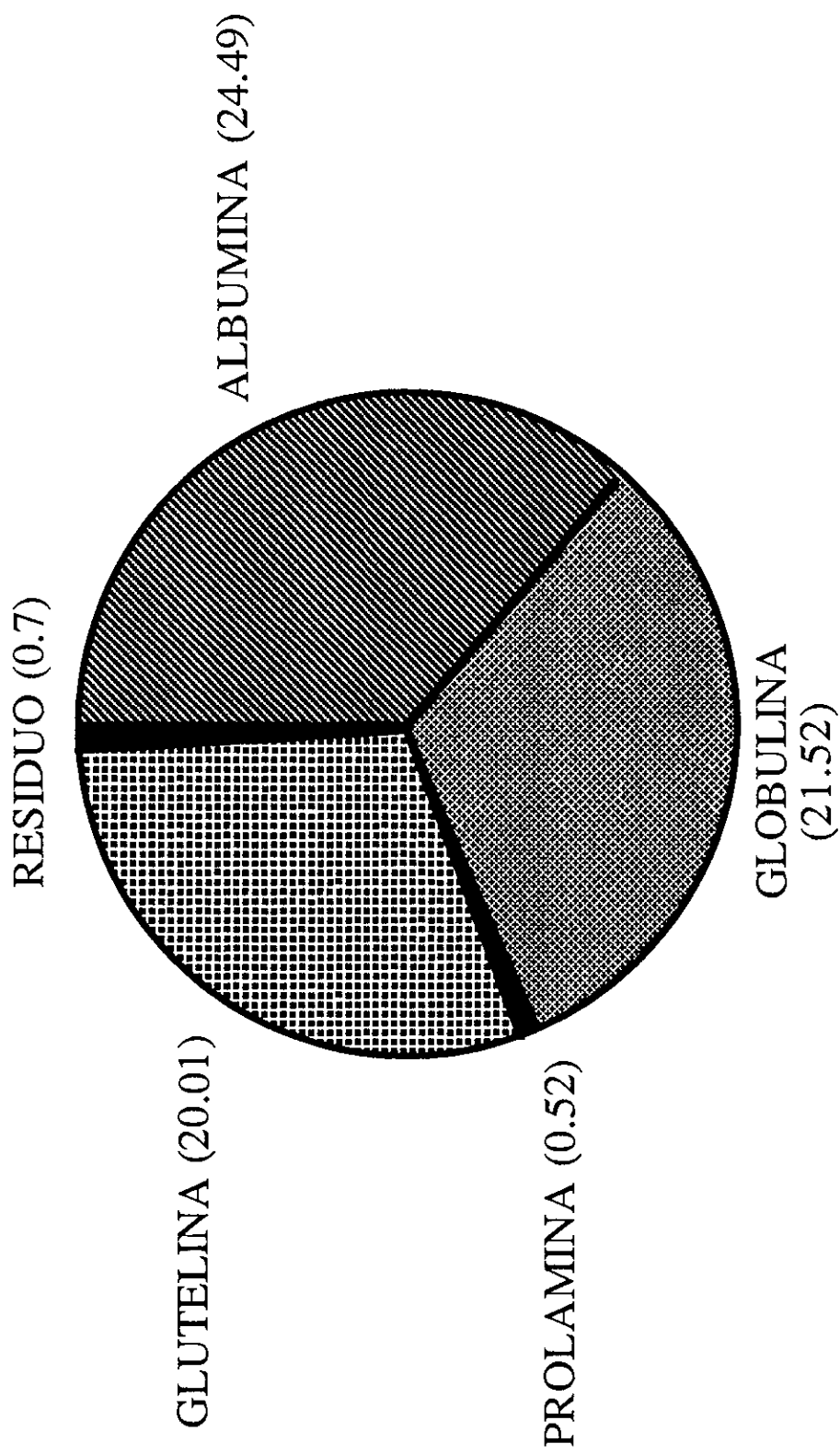


FIGURA No. 14
DETERMINACION PROTEICA DE FRACCION #30
POR METODO DE BRADFORD (%)

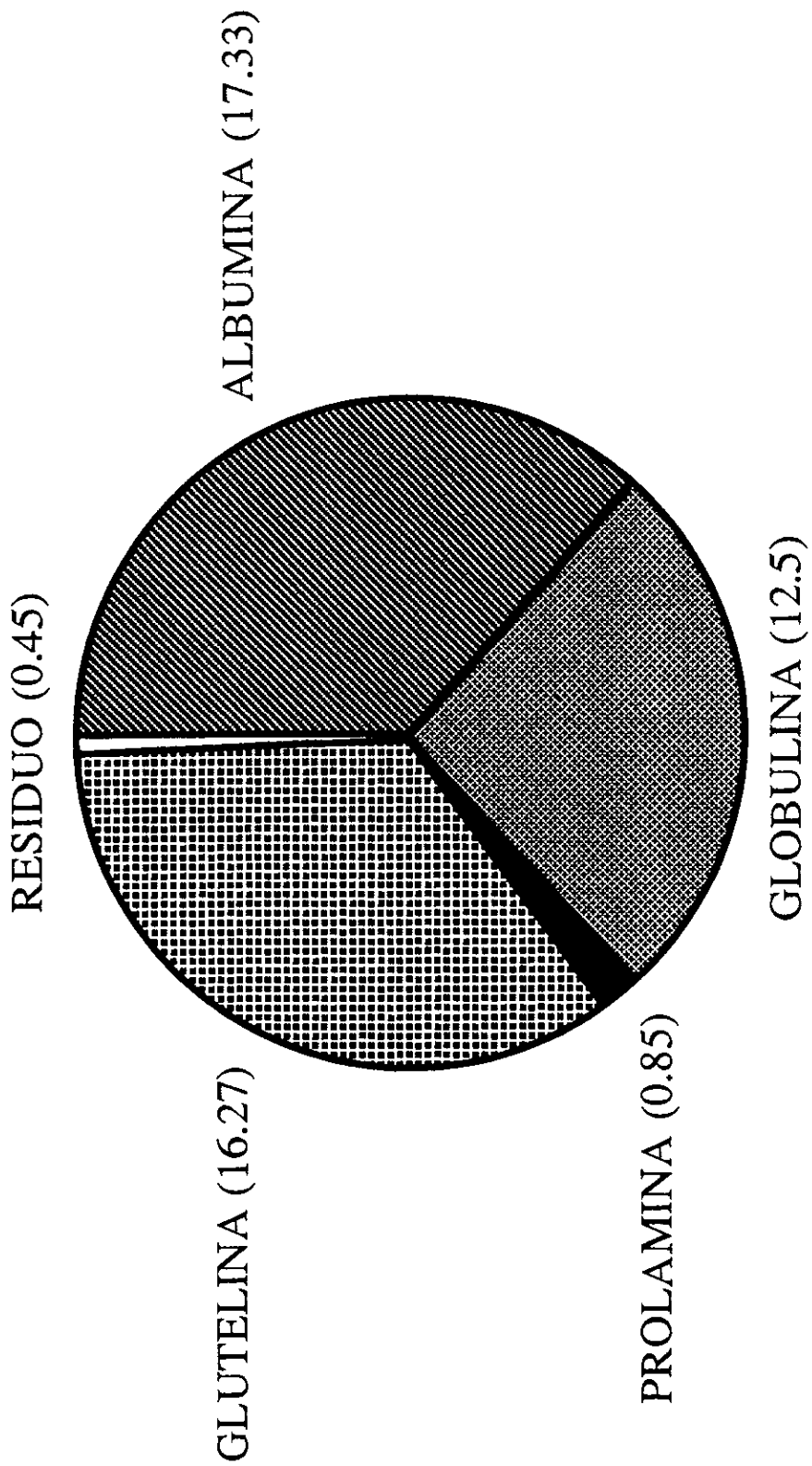


FIGURA No. 15
DETERMINACION PROTEICA DE FRACCION #40
POR METODO DE BRADFORD (%)

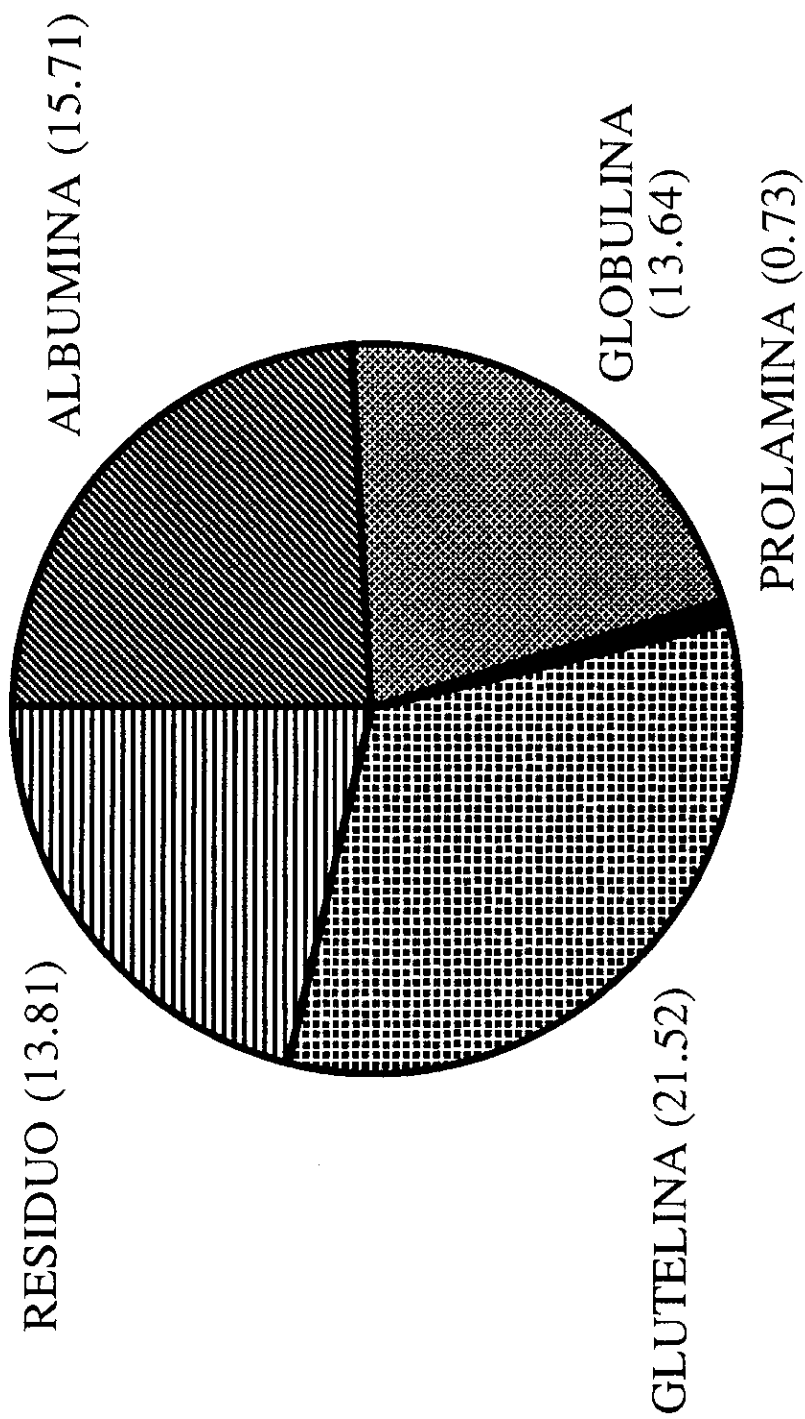
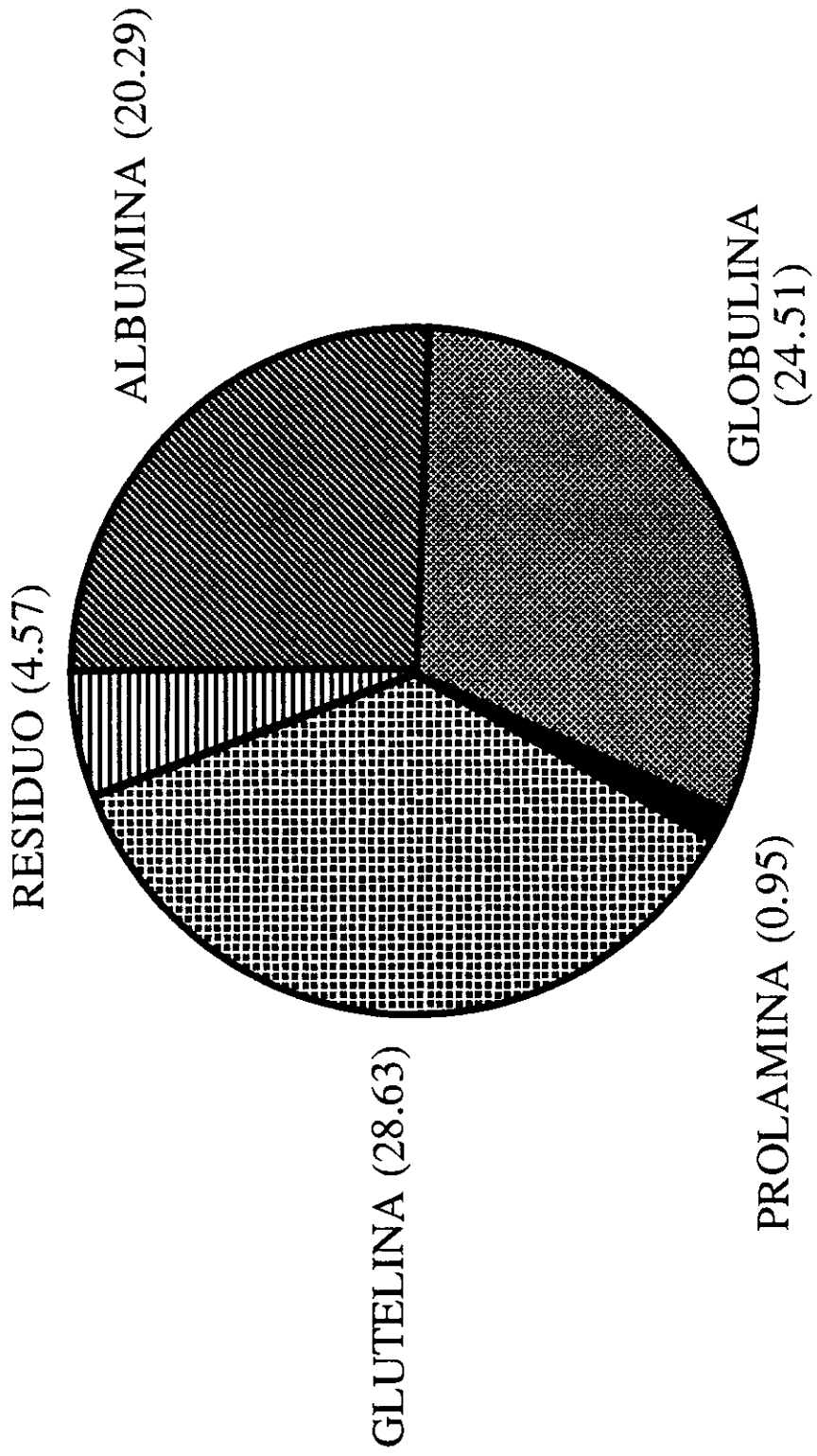


FIGURA No. 16
DETERMINACION PROTEICA DE FRACCION +#40
POR METODO DE BRADFORD (%)



En este caso la fracción germen contiene más albúminas, globulinas y glutelinas que el perispermo y cantidades similares de prolaminas. La recuperación es asimismo menor por el método de Bradford. El análisis de varianza demostró diferencias estadísticamente significativas entre grano, fracción mesh 30 (considerado perispermo) y fracción +#40 (considerado germen). Sin embargo, el análisis estadístico no demostró diferencias significativas entre R1, R2 y R3. Esto se puede observar en las figuras No. 17 y 18.

FIGURA No. 17
 DISTRIBUCION PROTEICA EN GRANO, #30 Y +#40
 (METODO KJELDAHL)

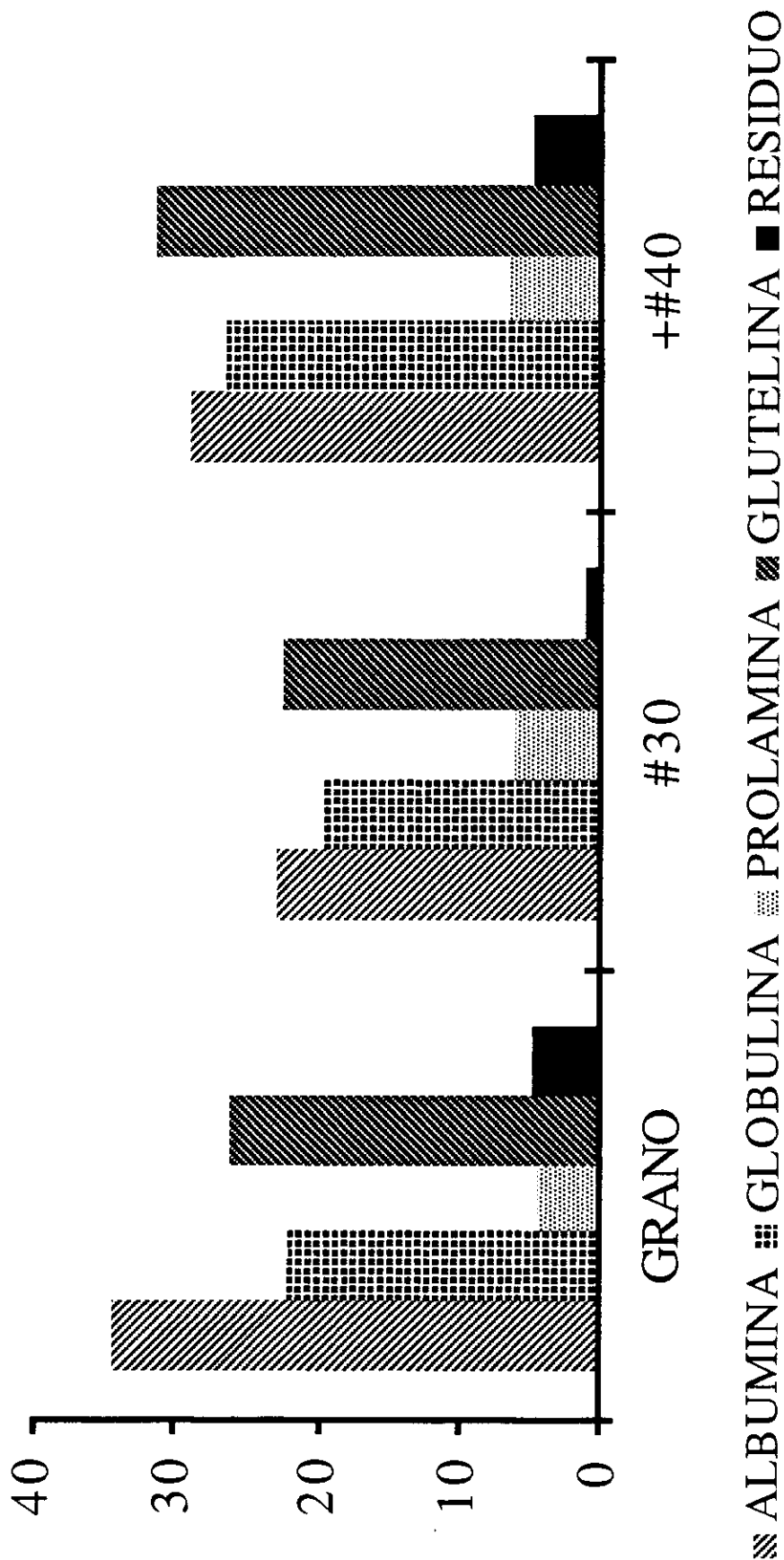
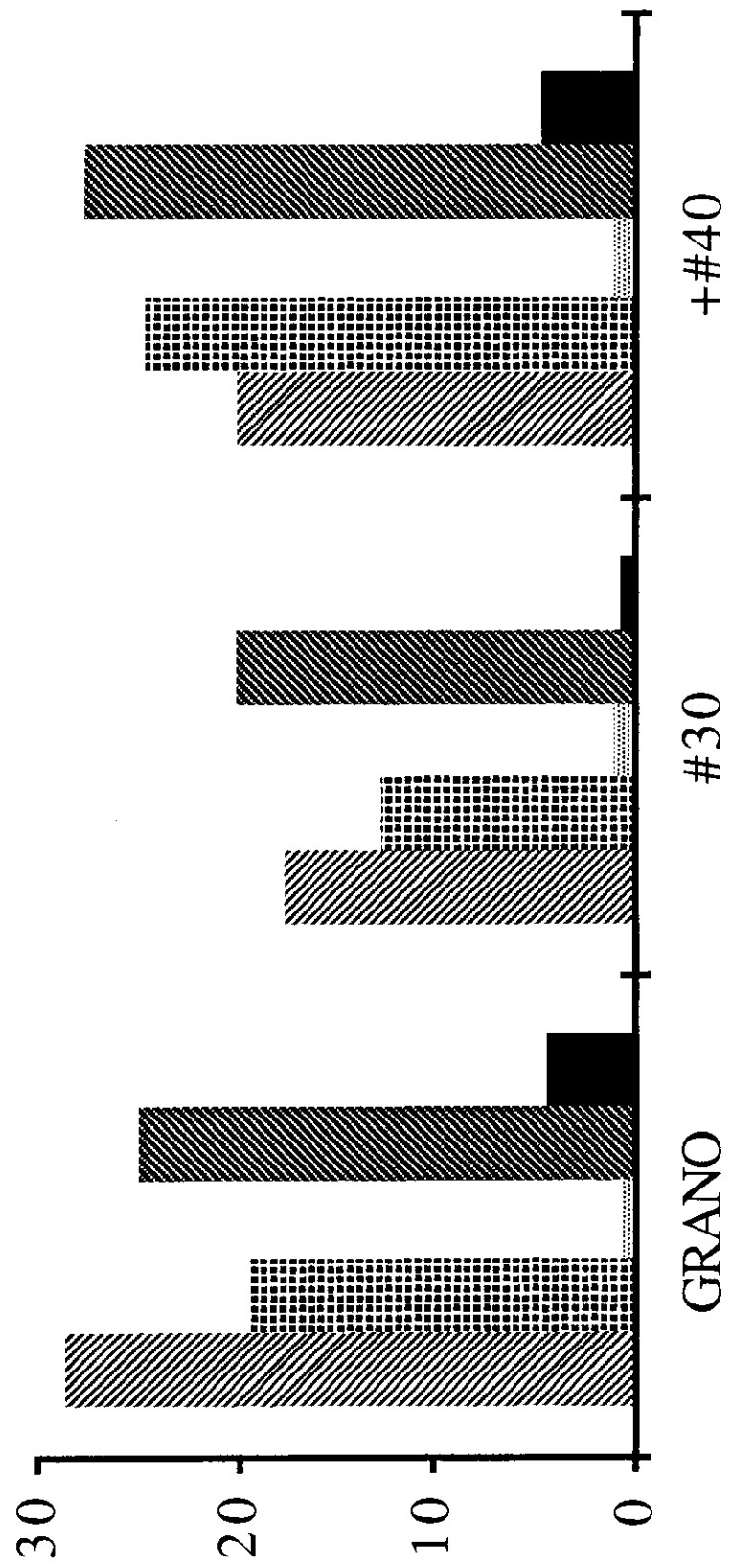


FIGURA No. 18
 DISTRIBUCION PROTEICA EN GRANO, #30 Y +#40
 (METODO DE BRADFORD)



▨ ALBUMINA ▩ GLOBULINA ▧ PROLAMINA ▨ GLUTELINA ■ RESIDUO

Como se puede observar, tanto el método de micro-Kjeldahl y Bradford demostraron una recuperación baja de la fracción del mesh 30. Esto pudo haber sido el efecto del hexano, como fuera indicado por otros investigadores mencionados anteriormente. La baja recuperación también puede ser atribuida a la estructura del perispermo que se caracteriza por un alto contenido de almidón en células bien empaçadas protegiendo de esta manera a las estructuras proteínicas.

Para el cálculo del porcentaje proteico del grano y fracciones #30 y +#40, por el método de Bradford, se utilizaba el valor del nitrógeno total de la muestra determinada por micro-Kjeldahl. Esto provocó una disminución del porcentaje proteico de las muestras y dificultad de comparación entre los métodos micro-Kjeldahl y Bradford. Para solucionar este problema, se calculó los gramos de nitrógeno solubles de todas las muestras, tanto para el método de micro-Kjeldahl como para el de Bradford, (ver tabla No. 16 y No. 17).

Como se puede observar, se encontraron valores más altos por el método de micro-Kjeldahl que por el de Bradford, como ya fuera indicado. Esto explica el hecho que el método de Kjeldahl determina nitrógeno total, mientras que Bradford sólo determina nitrógeno proteico.

Luego de este cálculo se estableció la distribución de las proteínas en el grano, perispermo y germen del Amaranthus cruentus por ambos métodos, expresándolos como

TABLA No. 17

DETERMINACION PROTEICA DE FRACCIONES Y GRANO
A. CRUENTUS. METODO DE KJELDAHL (gr SOLUBLES)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA | TOTAL |
|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| GRANO-1 | 0.059 | 0.037 | 0.0070 | 0.044 | 0.147 |
| GRANO-2 | 0.067 | 0.040 | 0.0078 | 0.048 | 0.163 |
| GRANO-3 | 0.060 | 0.041 | 0.0078 | 0.048 | 0.157 |
| PROMEDIO | 0.062 | 0.039 | 0.0075 | 0.047 | 0.156 |
| #30-1 | 0.021 | 0.018 | 0.0056 | 0.021 | 0.066 |
| #30-2 | 0.022 | 0.019 | 0.0056 | 0.021 | 0.068 |
| #30-3 | 0.022 | 0.019 | 0.0055 | 0.022 | 0.069 |
| PROMEDIO | 0.022 | 0.019 | 0.0056 | 0.021 | 0.068 |
| +#40-1 | 0.087 | 0.080 | 0.0192 | 0.097 | 0.283 |
| +#40-2 | 0.092 | 0.082 | 0.0195 | 0.095 | 0.289 |
| +#40-3 | 0.079 | 0.079 | 0.0183 | 0.093 | 0.269 |
| PROMEDIO | 0.086 | 0.080 | 0.0190 | 0.095 | 0.280 |

TABLA No. 18

DETERMINACION PROTEICA DE FRACCIONES DE GRANO DE
A. CRUENTUS. METODO DE BRADFORD (gr SOLUBLES)

| MUESTRA | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | GLUTELINA TOTAL |
|----------|----------|-----------|-----------|-----------------|
| GRANO-1 | 0.050 | 0.033 | 0.0011 | 0.043 0.1271 |
| GRANO-2 | 0.052 | 0.036 | 0.0011 | 0.045 0.1341 |
| GRANO-3 | 0.053 | 0.036 | 0.0011 | 0.046 0.1361 |
| PROMEDIO | 0.052 | 0.035 | 0.0011 | 0.045 0.1331 |
| #30-1 | 0.017 | 0.012 | 0.0008 | 0.015 0.0448 |
| #30-2 | 0.017 | 0.012 | 0.0008 | 0.016 0.0458 |
| #30-3 | 0.016 | 0.012 | 0.0008 | 0.016 0.0448 |
| PROMEDIO | 0.017 | 0.012 | 0.0008 | 0.016 0.0458 |
| +#40-1 | 0.063 | 0.075 | 0.0029 | 0.089 0.2299 |
| +#40-2 | 0.062 | 0.076 | 0.0029 | 0.087 0.2279 |
| +#40-3 | 0.060 | 0.073 | 0.0029 | 0.086 0.2219 |
| PROMEDIO | 0.062 | 0.075 | 0.0029 | 0.087 0.2269 |

TABLA No. 19

DISTRIBUCION PROTEICA EN GRANO, PERISPERMO Y GERMEN DE A. CRUENTUS.
 METODOS BRADFORD Y KJELDAHL (% PROTEINA SOLUBLE)

| MUESTRA | BRADFORD | | | GLUTELINA |
|------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| | ALBUMINA | GLOBULINA | PROLAMINA | |
| GRANO | 39.07 | 26.30 | 0.83 | 33.80 |
| PERISPERMO | 37.11 | 26.20 | 1.75 | 34.24 |
| GERMEN | 27.33 | 33.05 | 1.28 | 38.34 |
| | KJELDAHL | | | |
| GRANO | 39.24 | 25.08 | 4.82 | 30.23 |
| PERISPERMO | 32.54 | 28.11 | 8.28 | 31.02 |
| GERMEN | 30.71 | 28.57 | 6.79 | 33.93 |

porcentajes del nitrógeno o proteína solubilizada total. En general el contenido de albúminas, de globulinas y glutelinas en las tres muestras fueron un poco más elevadas con el método de Bradford que con el de Kjeldahl, no así en prolaminas, las cuales fueron presentes en menor cantidad por el método de Bradford. Los datos obtenidos concuerdan con los de Gorinstein y colaboradores (15) que las prolaminas son alrededor de 1%. Estos resultados se pueden observar en la tabla No. 18. Esta forma de cálculo de la distribución de proteínas en las fracciones no cambia el hallazgo ya indicado de una distribución de proteínas muy similar entre las partes físicas perispermo y germen del grano de amaranto.

Los resultados de esta investigación indican que no existen grandes diferencias en la distribución de proteínas entre la fracción morfológica perispermo y la fracción germen. Esto confirma los resultados de Betschart y colaboradores (4) respecto del contenido de aminoácidos de la proteína del perispermo y la proteína del germen que son bastante similares. La relación albúminas + globulinas a glutelinas fue de 2 a 1 para el grano, de 1.9 a 1 para el perispermo y de 1.6 a 1 para el germen. La relación en el grano es similar a los informados por otros autores. La distribución de proteínas en el perispermo del grano de Amaranthus cruentus es muy diferente a lo que se ha informado para los cereales, en los cuales las

prolaminas son las proteínas más abundantes en el endospermo. La distribución de las proteínas en el germen de los cereales es, sin embargo, bastante similar a los del germen del amaranto.

Entre las aplicaciones del amaranto, trataremos comentarlas de acuerdo a sus características proteicas por fracciones. Las aplicaciones del grano son muy conocidas y están ya descritas en los antecedentes.

Respecto del perispermo y al germen, y con base en su contenido y distribución de proteína, éstas fracciones físicas per se o sus aislados proteicos pueden ser excelentes suplementos proteicos para cereales y otros alimentos, como por ejemplo para extender la leche de vaca. En este estudio el perispermo presenta más limitaciones por contener un nivel de proteína más bajo que la fracción germen. Sin embargo, en base a su distribución de proteína sus aplicaciones serían similares al germen.

Estudios realizados por Konishi y colaboradores (18) demostraron que las globulinas del germen del amaranto son excelentes emulsificantes, por lo que puede significar un futuro uso y aplicaciones en la producción de mayonesas y salsas.

El bajo contenido de prolaminas en el germen y perispermo de amaranto tiene gran aplicación en la fabricación de pan libre de gluten de trigo (que es alto en contenido de prolaminas), especialmente para aquellas personas con

Sprue Tropical (alergia al gluten del trigo).

VIII. CONCLUSIONES

1. La molienda con molino de discos de tres fases y el tamizado posterior no son suficientes para lograr una separación completa del perispermo y germen del grano de Amaranthus cruentus.

2. De acuerdo a sus características físicas y químicas se dedujo que la fracción mesh #30 corresponde al perispermo y la fracción mesh +#40 corresponde al germen.

3. La extracción de las proteínas del perispermo fue la de más baja recuperación.

4. Los grupos proteicos más importantes, tanto en el germen como en el perispermo del grano de Amaranthus cruentus fueron glutelinas y albúminas.

5. La relación de albúminas + globulinas a glutelinas fue de 2 a 1 en el grano, 1.9 a 1 en el perispermo y de 1.6 a 1 en el germen.

6. La distribución de proteínas del perispermo es muy similar a la distribución de proteínas en el germen, y

los valores informados para el grano son similares a los informados por otros autores.

IX. RECOMENDACIONES

1. Buscar una mejor separación de las fracciones físicas del grano de Amaranthus cruentus.
2. Aplicar otros métodos para el fraccionamiento de proteína.
3. Mejorar la caracterización de las proteínas extraídas por medio de electroforesis en gel de las fracciones proteínicas del germen y del perispermo.
4. Encontrar una caracterización más detallada para la determinación de nitrógeno no proteico de las extracciones proteicas.
5. Realizar análisis de aminoácidos de fracciones proteicas de igual solubilidad del germen y perispermo.
6. Buscar las causas por la menor extracción y por consiguiente menor recuperación de las proteínas del perispermo.
7. Para la ejecución de estudios similares al presente

en el futuro, se recomienda el uso de un molino más adecuado
así como una separación por aire

X. BIBLIOGRAFIA

1. Barba de la Rosa, A., O. Paredes-Lopez & O. Gueguen. 1992. **Characterization of amaranth Globulins by Ultracentrifugation and Chromatographic Techniques.** J. Agric. Food Chemistry 6:937-940.
2. Barba de la Rosa, A., O. Paredes-Lopez, O. Gueguen. 1992. **Fractionation Procedures, Electrophoretic Characterization, and Amino Acido Composition Of Amaranth Seed Proteins.** J. Agric. Food Chemistry. 6: 931-936.
3. Becker, R., L. Wheeler & A. Lorenz. 1981. **A Compositional Study of Amaranth Grain.** J. of Food Science 46: 1175-1180.
4. Betschart, A., D. Irving & D. Shepherd. 1981. **Amaranthus CRUENTUS: Milling Characteristics, Distribution of Nutrients within Seed Components, & the Effects of temperature on Nutritional Quality.** J. of Food Science 46: 1181-1187.
5. Bradford, M. 1976. **A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding.** Analytical Biochemistry 72: 248-254.
6. Bressani, R., A. Sanchez-Marroquín & E. Morales. 1992. **Chemical Composition of Grain Amaranth Cultivars and the Effects of Processing on their Nutritional Quality.** Food Reviews International 1: 23-49.
7. Bressani, R. & L. García-Vela. 1990. **Protein Fractions in Amaranth grain and their Chemical Characterization.** J. Agric. Food Chemistry 5: 1205-1209.
8. Calderón de la Barca, A., J. Ochoa & M. Valencia. 1985. **Effect of the Extraction of a Hemagglutinin on the Nutritive Value of Amaranthus leucocarpus Seeds.** J. of Food Science 50: 1700-1702.
9. Desrosier, N. 1989. **Conservación de los Alimentos.** 2da ed. México, D.F. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 467 pp.
10. Desrosier, N. 1989. **Elementos de tecnología de Alimentos.** 6ta. ed. México, D.F. Compañía Editorial Continental

S.A. de C.V. 702 pp.

11. Duarte-Correa, A. & R. Carrison. 1986. **Amino Acid Composition of Some Amaranthus Sp. Grain Proteins and of its Fractions.** archivos Latinoamericanos de Nutrición 3: 466-476.
12. Eskin, N. 1971. **Biochemistry of Foods.** Academic Press, Inc. USA. 240 pp.
13. Feldman, E. 1990. **Principios de Nutrición Básica.** Editorial El Manual Moderno. México, D.F. 660 pp.
14. Fernald, M. 1970. **Manual of Botany.** 8th ed. USA. D. Van Nostrand Company. 601-604 p.
15. Gorinstein, S. & R. Moshe. 1991. **Evaluation of Four Amaranthus Species through Protein Electrophoretic Patterns and their Amino Acid Composition.** J. Agric. Food Chemistry 5:851-854.
16. Harper, H. 1971. **Química Fisiológica.** Editorial El Manual Moderno. México, D.F. 775 pp.
17. Irving, D., A. Betschart & R. Saunders. 1981. **Morphological Studies on Amaranthus cruentus.** J. Food Science 4: 1170-1174.
18. Konishi, Y., Y. Fumita & K. Ikeda. 1985. **Isolation and Characterization of Globulin from Seeds of Amaranthus hypochondriacus.** L. Biol. Chem. 5: 1453-1459.
19. Lehninger, A. 1981. **Bioquímica.** 2da. ed. Ediciones Omega, S.A. España. 1117 pp.
20. Marcone, M. & R. Yada. 1992. **Study of the Charge Profile and Covalente Subunit Association of the Oligomeric Seed Globulin from Amaranthus hypochondriacus.** J. Agric. Food Chemistry 3; 385-389.
21. Mendoza, C. 1985. **El Amaranto, su Cultivo y Evaluacion Nutricional de un Alimento Producido por Extrusion.** Tesis Universidad del Valle de Guatemala. Facultad de Ciencias y Humanidades. 66 p.
22. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 1984. 12th ed. USA. Association of Official Analytical Chemists, Inc. 3234 pp.
23. Paredes-Lopez, O., R. Mora-escobedo y C. Odorica. 1987. **Isolation of Amaranth Proteins.** Lebenism Wiss Technology 21: 59-61.
24. Potter, N. 1979. **La Ciencia de los Alimentos.** 2da. ed. EDUTEX, S.A. Mexico, D.F. 737 pp.

25. Saunders, R & R. Becker.- 1984. **Amaranthus: A Potential Feed Resource.** Advances in Cereal Science and Technology 6: 357-396.
26. Segura-Nieto, M., N. Vasquez-Sanchez & R. Rubio-Velazquez. 1992. **Characterization of Amaranth (Amaranth hypochondriacus L.) Seed Proteins.** J. Agric. Food Chemistry 9: 1553-1558.
27. Singhal, R. & P. Kulkarni. 1988. **Review: Amaranthus-An Underutilized Resource.** J. Food Science and Technology 23: 125-139.
28. Singhal, R. & P. Kulkarni. 1988. **Composition of the Seeds of Some Amaranthus Species.** J. Agric. Food Science 42: 325-331.
29. Soriano-Santos, J., S. Wiwabuchi & K. Fujimoto. 1992. **Solubility of Amaranth Seed Proteins in Sodium Sulfate and Sodium Chloride: The Main Factor in Quantitative Extraction for Analysis.** J. Food Science and Technology 27: 337-346.
30. Teutonico, R. & D. Knorr. 1985. **Amaranth: Composition, Properties and Applications of a Rediscovered Food Crop.** Food Technology 1: 49-60.
31. Varios Autores. 1984. **Amaranth Modern Prospects for an Ancient Crop.** USA. National Academy Press. 14-17 p.
32. Yamane, T. 1979. **Estadística.** Editorial Harla. México, D.F. 422-429 p.



. APENDICE



FIGURA A

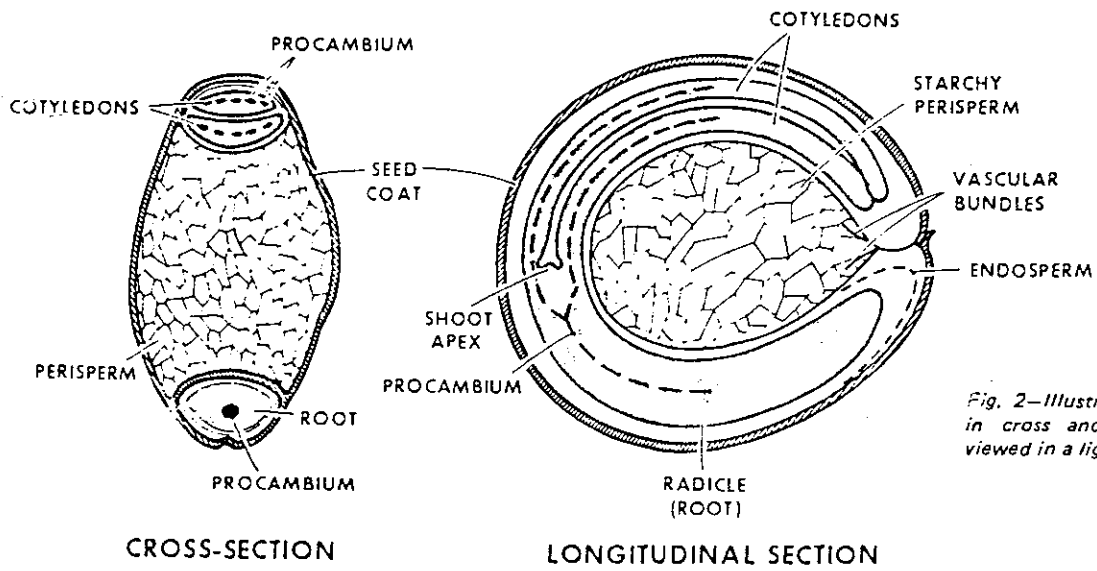
"SEMILLA DE A. CRUENTIS"

Fig. 2—Illustrations of A. cruentus seed in cross and longitudinal sections as viewed in a light microscope.

Irving et al, 1981 (17)

FIGURA B

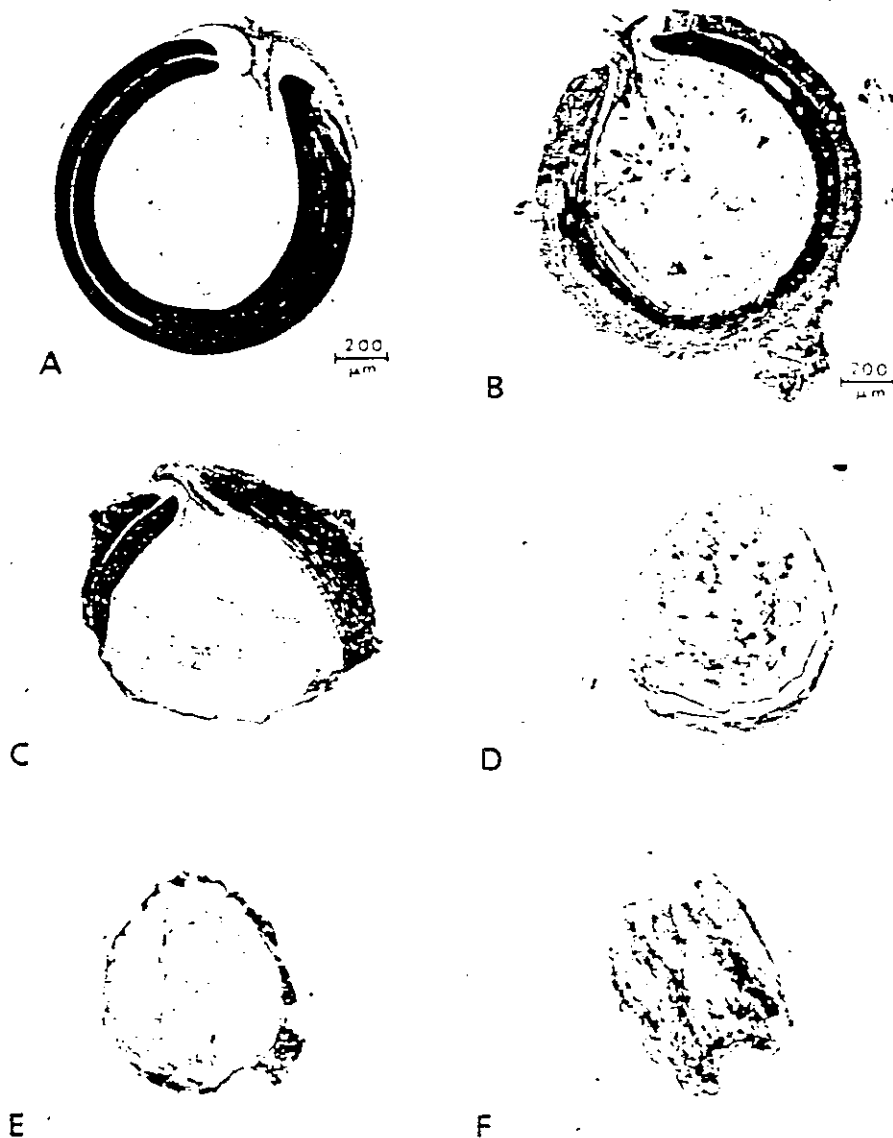
MICROFOTOGRAFIA DEL GRANO ENTERO Y FRACCIONES
DEL A. CRUENTUS

Fig. 1—Light micrographs of Amaranthus seeds (A) unmilled; (B) after one pass through the Strong-Scott barley pearler; (C), (D), (E), and (F), after two, three, four and five passes, respectively. Magnification was the same for all micrographs.

FIGURA C

"MICROFOTOGRAFIAS DEL GRANO ENTERO Y
GERMEN DE A. CRUENTIS

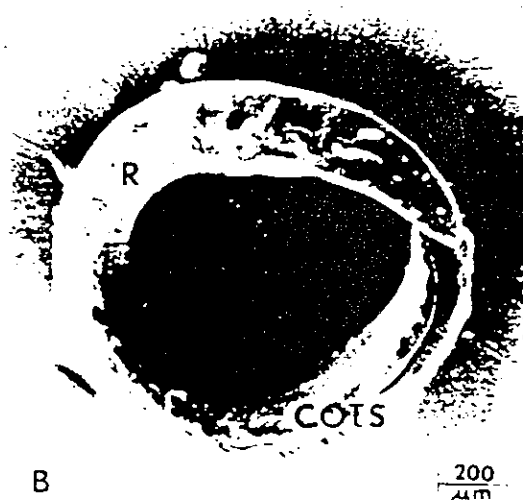
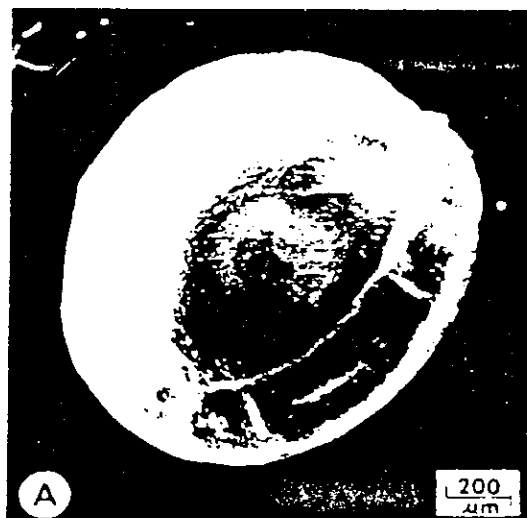


Fig. 1-- (A) Intact *A. cruentus* seed and (B) embryo which was dissected from the seed. COTS, cotyledons; R, root.

Irving et al, 1981 (17).

FIGURA D

COMPOSICION QUIMICA DE LA MOLIENDA DEL A. CRUENTUS

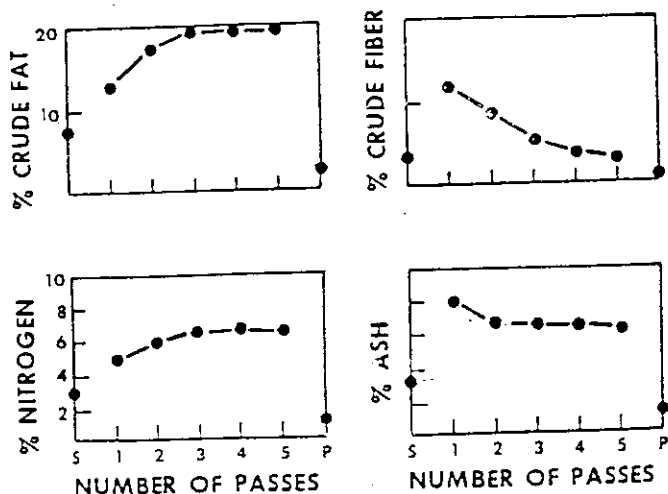


Fig. 4—Composition of *A. cruentus* intact seed (S), seed coat-embryo fractions removed on the first through the fifth passes (1, 2, 3, 4, 5) by a barley pearler, and the milled perisperm (P).

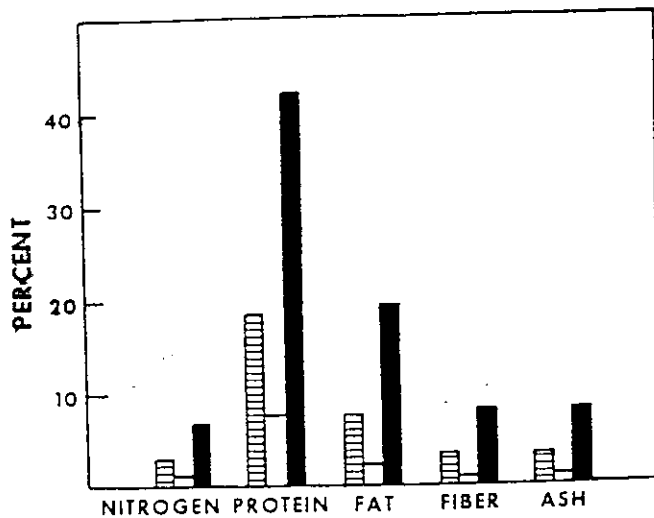


Fig. 5—Comparative composition of *A. cruentus* seed \square , composite seed coat-embryo sample milled off on the first through the fifth passes on a barley pearler \blacksquare , and milled perisperm \square .

FIGURA E

COMPOSICION DE AMINO ACIDOS DEL A. CRUENTISTable 2—Amino acid composition of *Amaranthus cruentus*

| | Whole seed control | Whole seed 60° C | Whole seed popped | Perisperm | Seed coat-embryo | Amaranthus hybridus (FAO 1970) | FAO Provisional Scoring Pattern ^a |
|--------------------------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|--------------------------------|--|
| mg Amino Acid/g Nitrogen | | | | | | | |
| Isoleucine | 224 | 239 | 226 | 267 | 222 | 222 | 250 |
| Leucine | 320 ^b | 339 ^b | 323 ^b | 388 ^b | 316 ^b | 329 | 440 |
| Lysine | 318 | 333 | 274 | 401 | 306 | 310 | 340 |
| Methionine | 121 | 117 | 119 | 131 | 124 | 110 | |
| Cystine | 134 | 128 | 112 | 136 | 142 | — | |
| Methionine + Cystine | 255 | 245 | 231 | 267 | 266 | — | 220 |
| Phenylalanine | 213 | 228 | 210 | 256 | 217 | 226 | |
| Tyrosine | 164 | 193 | 166 | 191 | 183 | 210 | |
| Phenylalanine + Tyrosine | 377 | 421 | 376 | 447 | 400 | 436 | 360 |
| Threonine | 211 | 224 | 218 | 244 | 209 | 216 | 250 |
| Valine | 261 | 269 | 268 | 304 | 266 | 269 | 310 |
| Arginine | 494 | 535 | 514 | 517 | 588 | 463 | |
| Histidine | 151 | 161 | 143 | 155 | 150 | 144 | |
| Alanine | 211 | 223 | 218 | 236 | 213 | 213 | |
| Aspartic Acid | 488 | 513 | 478 | 568 | 458 | 519 | |
| Glutamic Acid | 888 | 956 | 973 | 1002 | 1064 | 960 | |
| Glycine | 438 | 459 | 461 | 499 | 443 | 544 | |
| Proline | 224 | 236 | 243 | 247 | 251 | 226 | |
| Serine | 339 | 354 | 364 | 355 | 362 | 441 | |
| % N Recovered | 85 | 90 | 87 | 96 | 90 | | |
| Amino Acid Score | 73 | 77 | 73 | 68 | 72 | 75 | |

^a FAO (1973).^b First limiting amino acid when FAO Provisional Amino Acid Scoring Pattern (1973) is used as the reference protein.Table 3—Protein efficiency ratio and apparent nitrogen digestibility of *A. cruentus* fractions

| | Final body weight ^a | Total feed consumption | PER | | Digestibility ^b | |
|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|--------------------------|----------|----------------------------|----------|
| | | | Actual | Adjusted | Diet | Nitrogen |
| ANRC casein | 155 ± 9 ^a | 305 = 20 ^d | 3.30 ± .14 ^a | 2.50 | 95 | 93 |
| Whole seed, control | 95 ± 4 ^{cd} | 199 = 7 ^{ce} | 1.99 ± .14 ^{cd} | 1.51 | 90 | 76 |
| Whole seed, dried 60° C | 89 ± 5 ^d | 182 = 12 ^{ef} | 1.37 ± .09 ^d | 1.42 | 90 | 73 |
| Whole seed, hot-air popped | 115 ± 6 ^o | 260 = 20 ^{cc} | 2.29 ± .09 ^{bc} | 1.73 | 92 | 77 |
| Seed coat-embryo fraction | 109 ± 4 ^{oc} | 233 = 6 ^{co} | 2.42 ± .09 ^o | 1.83 | 91 | 76 |
| Perisperm fraction | 62 ± 3 ^e | 146 ± 7 ^f | 0.99 ± .10 ^a | 0.62 | | |
| | | | | (1.03)* | 95 | 73 |
| ANRC casein (6.26% protein) | 99 ± 5 ^{co} | 291 = 20 ^{ad} | 2.40 ± .12 ^o | 1.82 | | |
| | | | | (2.50)* | 95 | 91 |

^a Mean ± Standard error, Duncan's Multiple Range Test. Means without superscript letter in common are significantly different, P < 0.05.^b Digestibility: Diet = (feed intake - fecal weight)/feed intake × 100; nitrogen = (N intake - fecal N)/N intake × 100. Data pooled from 6th through 13th day of test period.

* ANRC casein diet containing 6.26% protein (as is) corrected to 2.50.

Betschart et al, 1981.