



## PERFIL NUTRICIONAL DE HARINAS DE SEMILLAS DE AMARANTO GERMINADAS

L.M. Guardianelli<sup>1</sup>, M.V. Salinas MV<sup>1</sup>, M.C. Puppo MC<sup>1,2</sup>

*1 Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA)-Fac. Ciencias Exactas-UNLP-CONICET-CIC, 47 y 116, 1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina.*

*2 Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-Universidad Nacional de La Plata. 60 y 119, 1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
E-mail: [mcpuppo@quimica.unlp.edu.ar](mailto:mcpuppo@quimica.unlp.edu.ar)*

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios de composición porcentual, el perfil de aminoácidos y de ácidos grasos como consecuencia de la germinación de las semillas de amaranto, con el fin de utilizar estas harinas en panes funcionales de harina de trigo. Para ello, se germinaron las semillas a 30 °C durante 0 (C), 18 (G18) y 24 hs (G24). Se evaluó la composición porcentual: proteínas (Kjeldahl, f=5.85), lípidos (Soxhlet), cenizas (método directo-550°C) y humedad (método indirecto-105°C). La fibra dietaria total (FDT) se determinó mediante método enzimogravimétrico y los hidratos de carbono solubles y el almidón por HPLC. Además, se analizaron los cambios en los perfiles de ácidos grasos (cromatografía gaseosa), de aminoácidos (RP-HPLC) y proteínas (Electroforesis SDS-PAGE) debido a la germinación. El proceso de germinación aumentó el contenido de cenizas y proteínas, en este último caso debido probablemente a un incremento en la síntesis de enzimas que son responsables de activar el proceso de germinación de la semilla. Los carbohidratos solubles en agua aumentaron con la germinación, coincidente con una disminución del contenido de almidón; el aumento de azúcares simples podría atribuirse a la hidrólisis del almidón y/o a la gluconeogénesis a partir de aminoácidos. Simultáneamente el contenido de lípidos disminuyó (de 7,14% en C a 5,86% en G18). Por otra parte, la proporción de globulinas P y 11S (62 kDa) disminuyó mientras que el polipéptido A-11S (34 kDa) aumentó con la germinación. La harina obtenida de semillas germinadas durante 18 hs a 30°C mejoró la proporción de lisina y de ácidos grasos insaturados esenciales (ácidos linoleico y linolénico), lo que condujo a una baja relación de  $\omega 6/\omega 3$  (<13). Estos resultados sugieren que la germinación es un tratamiento adecuado para mejorar el perfil nutricional de la harina de amaranto, convirtiéndola en un ingrediente alimentario interesante.

**Palabras clave:** germinación de semilla; harina de amaranto; fracciones proteicas; perfil de aminoácidos; ácidos grasos esenciales.

### **1. Introducción**

El amaranto es un pseudocereal perteneciente a la familia Amaranthaceae. Las semillas de amaranto son una buena fuente de almidón (58-66%), proteínas (13-19%) con un balance adecuado de contenido de aminoácidos esenciales, fibra dietaria (14-16%) y lípidos (5-13%). Por otra parte, minerales como Ca, Mg, Fe, K, Zn y vitaminas del



complejo B están presentes en estas semillas. Existen numerosas evidencias de que el amaranto posee componentes bioactivos con actividad antioxidante, que abren un mundo muy interesante para la obtención de ingredientes y nuevos productos alimenticios de mayor valor agregado y de alto valor para la salud del consumidor.

Por otra parte, hay un interés creciente en la aplicación de la germinación controlada de granos con el objetivo de mejorar su calidad nutricional. La germinación comienza con la absorción de agua por parte de la semilla y se completa cuando una parte del embrión, generalmente la radícula, se extiende fuera de la cubierta de la semilla (Albarracín y col., 2016). Durante la germinación del grano se produce un flujo dinámico y complejo de nutrientes. El catabolismo de almidón, lípidos y proteínas produce compuestos simples que son importantes para el crecimiento de las plantas (Theodoulou y Eastmond, 2012).

Varios estudios han demostrado que durante la germinación aumenta el contenido de proteínas, la fibra dietaria total y los compuestos fenólicos libres y relacionados (Perales-Sánchez y col., 2014; Paucar-Menacho y col., 2017). El incremento de estos compuestos saludables mejoraría la calidad nutricional de los granos que se utilizarían en varios alimentos funcionales. Por esta razón, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la germinación sobre el perfil nutricional de las semillas de amaranto.

## **2. Materiales y métodos**

### **2.1. Materiales**

Las semillas de amaranto (*Amaranthus caudatus*) fueron proporcionadas por TAVIRA S.A. (La Plata, Argentina). Estas se almacenaron a 0°C en recipiente de plástico hermético.

### **2.2. Métodos**

#### **2.2.1. Germinación de semillas de amaranto**

Las semillas de amaranto (50 g/L) se embebieron en solución de hipoclorito de sodio comercial (20% v/v) durante 20 min como tratamiento antifúngico y luego se lavaron con abundante agua destilada varias veces. Se escurrieron y una parte de las semillas se secaron hasta 10% de humedad a 40 °C, se molieron y tamizaron (500 µm) para obtener la harina control (C). Las otras semillas se remojaron en 450 ml de agua destilada durante 6 hs con agitación constante, se escurrieron y aproximadamente 120 semillas/caja colocadas sobre papel absorbente y algodón humedecido con agua



destilada se germinaron en estufa de cultivo a 30 °C durante 18 (G18) y 24 (G24) hs. Finalmente, las semillas se secaron luego a 40 °C durante 6 hs con el fin de detener la germinación. Se realizaron tres ensayos de germinación independientes.

### **2.2.2. Composición porcentual**

La humedad, la proteína total, las cenizas, los lípidos y el contenido total de fibra dietaria de las harinas se determinaron de acuerdo con los métodos AACC (2000).

El contenido de carbohidratos se cuantificó mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Para ello se prepararon diferentes extractos: i) azúcares solubles: se mezcló harina (1 g) con 13 mL de agua Milli-Q durante 10 min. Posteriormente, se clarificó con las soluciones Carrez I y Carrez II. La mezcla se calentó a 70 °C durante 30 min a 600 rpm; ii) almidón: se determinó después de realizar una hidrólisis total de harina (1 g) con 20 mL de una solución acuosa de HCl al 16,7% v/v a reflujo durante 2 hs, se enfrió y neutralizó (pH 8).

Ambos extractos se diluyeron, se filtraron (0,45 µm) y se inyectaron (1 µL) a 30 °C en un equipo Waters 1525 (Waters Corporation, Massachusetts, EEUU). Se usó un detector de índice de refracción Waters 2414 y una columna (4,6x150 mm) con uniones amida 3,5 µm (Thermo Fisher Scientific Inc. Massachusetts, EE. UU.). Fase móvil: solución isocrática [acetonitrilo: agua (75:25) con etilendiamina al 0,2%]. Caudal: 1,0 mL / min. Se prepararon estándares de glucosa, fructosa y sacarosa (0,05-13 mg / mL) en fase móvil (Sigma Aldrich, Missouri, EE. UU.). Los ensayos se realizaron por duplicado.

### **2.2.3. Análisis de aminoácidos**

Las harinas se hidrolizaron con HCl 6 M en atmósfera reductora a 110 °C durante 24 hs. Los aminoácidos se derivatizaron con dietil etoximetilmalonato usando ácido D, L-a-aminobutírico como patrón interno y se determinaron mediante RP-HPLC según Cian y col., 2015. La hidrólisis alcalina en condiciones anaeróbicas fue utilizada para la determinación del triptófano. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **2.2.4. Perfil de ácidos grasos**

Los lípidos se extrajeron utilizando el método de Folch y se derivatizaron con HCl en metanol (5% v/v). Los tubos se taparon herméticamente, se agitaron vigorosamente y se colocaron en agua hirviendo durante 10 min. Después de enfriar, se agregaron 2 mL de agua destilada milli-Q y 1 mL de hexano. Los tubos se taparon, agitaron y se



centrifugaron (1333xg, 15 min) hasta que ambas capas quedaron transparentes. La capa superior con los ésteres metílicos se filtró (0,45  $\mu$ m). Finalmente, los ésteres metílicos (1  $\mu$ L) se inyectaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A (Agilent Technologies; Santa Clara, CA, SA) con detectores de ionización de llama. Se utilizó una columna capilar DB 23. El Split fue 50: 1 y el programa de temperatura del horno fue: isoterma 1 min a 50 °C, de 50 a 175 °C a 25 °C/min, de 175 a 230 °C a 4 °C/min, isoterma a 230 °C durante 15 min. Caudal (helio): 0,4763 mL / min. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250 y 280 °C, respectivamente. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

### **2.2.5. Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS – PAGE)**

Las proteínas se extrajeron a partir de las harinas previamente desgrasadas, además, se suspendieron (40 mg) en 1,5 mL de una solución acuosa de acetona (50%v/v) durante 40 min a 25 °C y 650 rpm para eliminar compuestos con actividad antioxidante. Luego, se centrifugaron a 6100xg durante 10 min a 25 °C. La fracción insoluble se suspendió en diferentes soluciones buffer: **(A)** 0,086 M TRIS base, 0,090 M glicina y 0,003 M EDTA como buffer de extracción (BE) a pH = 8; **(B)** BE con SDS (2%) y **(C)** solución B con DTT (0,5%). Los diferentes extractos se agitaron durante 40 min (650 rpm a 60 °C) y se centrifugaron a 16100xg durante 10 min. Los extractos de proteína (10  $\mu$ L) se mezclaron con buffer de muestra (Tris-Base 0,5 M, glicerol al 50%, SDS al 0,4%, mercaptoetanol al 5% y azul de bromofenol al 0,05%) y se calentaron a 100 °C durante 2 min.

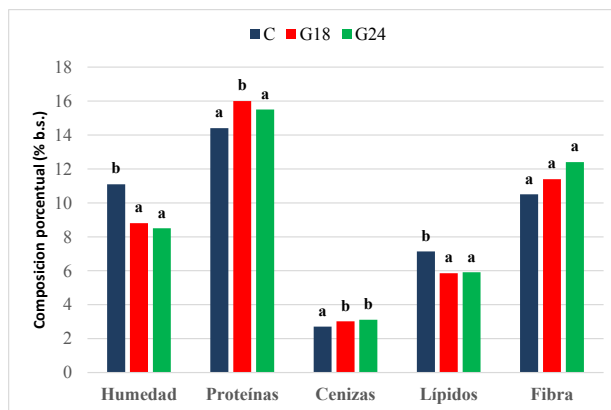
Los geles (corrida: 12% de poliacrilamida y apilamiento: 4% de poliacrilamida) se prepararon en las celdas de corrida Mini-PROTEAN® III (Bio-Rad, California, EE. UU.). La electroforesis se realizó a 30 mA en buffer de corrida 5X (glicina 0,96M, Tris-Base 0,125M y 0,5% p/v SDS). Los geles fueron luego coloreados por 24 hs con una solución colorante (2% p/v de Coomassie Brilliant Blue, 16% v/v de ácido acético, 40% v/v de metanol y 40% v/v de agua destilada) y se decoloraron con una mezcla de metanol (25% v/v), ácido acético (10% v/v) y 65% v/v de agua destilada. Se empleó un patrón de proteínas de bajo peso molecular (GE Healthcare, Inglaterra): fosforilasa b (97 kDa), albúmina de suero bovino (66 kDa), ovoalbúmina (45 kDa), anhidrasa carbónica (30 kDa), inhibidor de tripsina (20.1 kDa) y  $\alpha$ -lactoalbúmina (14,4 kDa).

### Análisis estadístico

Los datos se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar. Las variaciones entre los diferentes tratamientos se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software INFOSTAT. Las diferencias de  $p < 0,05$  fueron consideradas significativas.

### 3. Resultados y discusión

Se estudió la composición porcentual de las diferentes harinas de amaranto sin germinar y germinadas. La humedad de las harinas resultó entre 8,5 % y 11%, siendo mayor en la harina C. Luego de 18 hs de germinación se observó un aumento de 1,6% de proteína y de 0,31% de cenizas totales (Figura 1).



**Figura 1.** Composición porcentual de las harinas de amaranto C y germinadas (G18 y G24). Letras diferentes en un mismo macrocomponente indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En cambio, en la Figura 1 se puede observar que el porcentaje de lípidos de las harinas germinadas disminuyó un 1,28% respecto a la harina C. No hubo cambios significativos en los valores de fibra dietaria total.

Los principales carbohidratos disponibles encontrados en las diferentes harinas fueron la glucosa, fructosa, sacarosa y almidón, siendo éste último el que se encuentra en mayor proporción (Tabla 1).

**Tabla 1.** Composición porcentual de las harinas de amaranto control y germinadas

	Carbohidratos disponible (% b.s.)			
	Fructosa	Glucosa	Sacarosa	Almidón
<b>C</b>	0,11 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	1,1 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	2,0 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	64,4 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>
<b>G18</b>	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	5,2 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>	2,2 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	55,3 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>
<b>G24</b>	3,5 $\pm$ 0,3 <sup>c</sup>	11,1 $\pm$ 1,0 <sup>c</sup>	5,6 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	44,1 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). b.s.: base seca

Con la germinación, el contenido de fructosa, glucosa y sacarosa aumentó después de 24 horas de germinación y simultáneamente el del almidón disminuyó alrededor del



20% durante el proceso. Estos resultados fueron esperables debido a que las enzimas que degradan los carbohidratos complejos en azúcares simples se activan durante la germinación de las semillas, lo que proporciona los sustratos necesarios para la nueva planta (Nelson y col., 2013).

Una disminución en el contenido de lípidos junto con un aumento de glucosa durante la germinación podría deberse a que durante este proceso se activa el ciclo del glioxilato generándose moléculas de glucosa a partir de los ácidos grasos de los lípidos. A su vez, un aumento en la glucosa podría deberse a la activación de la gluconeogénesis (Nelson y col., 2008).

Durante la germinación aumentó el contenido de proteínas. Sin embargo, además de conocer el contenido de proteínas es importante evaluar la calidad de las mismas, en este caso, mediante el estudio de su composición aminoacídica. Las semillas de amaranto sin germinar presentaron una excelente proporción de aminoácidos esenciales, o sea de aquellos que el cuerpo humano no puede sintetizar. En la Tabla 2 se muestra el contenido de aminoácidos de la harina de amaranto C y de las germinadas (G18 y G24). Los aminoácidos no esenciales como el ácido glutámico, el ácido aspártico, la arginina y la glicina y los esenciales como la lisina, la leucina y la fenilalanina fueron los más abundantes en la harina C. Después de 18 horas de germinación, casi todos los aminoácidos esenciales aumentaron con la excepción de histidina y tirosina que no se modificaron y los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) que disminuyeron significativamente (Tabla 2).

Sin embargo, después de 24 horas, se observó una disminución significativa en la cantidad de todos los aminoácidos, con la excepción de triptofano. Por otro lado, el contenido de prolina aumentó significativamente después de 24 horas de germinación.

La suma de aminoácidos esenciales fue de 53,76, de 57,79 y de 43,24 g de aminoácido cada 100 g de proteína en las harinas C, G18 y G24, respectivamente. A pesar de que los porcentajes de aminoácidos esenciales disminuyeron después de 24 horas de germinación, la composición de la proteína de amaranto está cerca de la proteína ideal según los requisitos de la FAO para adultos, siendo la metionina el aminoácido limitante.



**Tabla 2.** Composición de aminoácidos (g / 100 g de proteínas) de proteínas de las harinas de amaranto control y germinadas.

Aminoácidos	C	G18	G24	FAO/WHO /UNU 2007*
<b>Lisina</b>	9,37 ± 0,21 <sup>b</sup>	10,25 ± 0,07 <sup>c</sup>	7,66 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,5
<b>Histidina</b>	3,48 ± 0,19 <sup>b</sup>	3,76 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,84 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,5
<b>Valina</b>	4,68 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,43 ± 0,00 <sup>c</sup>	4,06 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,9
<b>Isoleucina</b>	4,74 ± 0,02 <sup>b</sup>	5,39 ± 0,05 <sup>c</sup>	3,99 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,0
<b>Leucina</b>	8,76 ± 0,07 <sup>b</sup>	10,08 ± 0,06 <sup>c</sup>	7,52 ± 0,02 <sup>a</sup>	5,9
<b>Treonina</b>	5,38 ± 0,01 <sup>b</sup>	5,58 ± 0,04 <sup>c</sup>	4,16 ± 0,02 <sup>a</sup>	2,3
<b>Metionina</b>	2,05 ± 0,09 <sup>c</sup>	1,66 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,33 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,6
<b>Cisteina</b>	2,78 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,54 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,77 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,6
<b>Met+Cys</b>	4,83 ± 0,05	4,20 ± 0,00	3,10 ± 0,02	2,2
<b>Tirosina</b>	5,25 ± 0,00 <sup>b</sup>	5,31 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,92 ± 0,08 <sup>a</sup>	
<b>Fenilalanina</b>	6,52 ± 0,01 <sup>b</sup>	6,97 ± 0,11 <sup>c</sup>	5,08 ± 0,09 <sup>a</sup>	
<b>Tyr+Phe</b>	11,77 ± 0,00	12,28 ± 0,05	9,00 ± 0,09	3,8
<b>Triptofano</b>	0,75 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,91 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,6
<b>Serina</b>	8,72 ± 0,04 <sup>c</sup>	7,28 ± 0,00 <sup>b</sup>	5,17 ± 0,02 <sup>a</sup>	
<b>Ac. Aspártico + Ac. glutámico</b>	19,65 ± 1,72 <sup>b</sup>	17,7 ± 0,15 <sup>b</sup>	14,48 ± 0,18 <sup>a</sup>	
<b>Prolina</b>	7,26 ± 0,24 <sup>a</sup>	9,27 ± 0,36 <sup>a</sup>	36,53 ± 0,90 <sup>b</sup>	
<b>Glicina</b>	10,67 ± 0,04 <sup>c</sup>	7,32 ± 0,00 <sup>b</sup>	5,10 ± 0,02 <sup>a</sup>	
<b>Alanina</b>	5,62 ± 0,02 <sup>b</sup>	6,44 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,91 ± 0,03 <sup>a</sup>	
<b>Arginina</b>	12,87 ± 0,10 <sup>c</sup>	11,42 ± 0,06 <sup>b</sup>	8,30 ± 0,05 <sup>a</sup>	

\* Requerimientos de aminoácidos en la nutrición humana - FAO / OMS / UNU, 2007. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Los ácidos grasos encontrados en la harina de amaranto C fueron: palmítico (16: 0), esteárico (18: 0), oleico (18: 1- $\omega$ 9), linoleico (18: 2- $\omega$ 6),  $\alpha$ -linolénico (18: 3- $\omega$ 3), ácidos eicosanoicos (20:0) y eicosenoicos (20:1- $\omega$ 9) (Tabla 3). El contenido de ácido palmítico aumentó significativamente con el tiempo de germinación. Los ácidos esteárico y oleico disminuyeron mientras que los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico aumentaron, probablemente, debido a las enzimas desaturadas activas de la germinación que convierten el ácido oleico en ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico (Nelson y col., 2008).

Las harinas C, G18 y G24 presentaron un 29,5%, un 31,4% y un 30,5% de ácidos grasos saturados, respectivamente. Mientras que los insaturados fueron alrededor del 70%. A pesar de que los ácidos grasos insaturados no se modificaron con la germinación, la calidad de los mismos aumentó porque los ácidos grasos  $\omega$ 3 y  $\omega$ 6



aumentaron significativamente a expensas del ácido esteárico pero principalmente del ácido oleico, que disminuyeron significativamente.

**Tabla 3.** Contenidos de ácidos grasos (%) de la harina de amaranto control y germinada.

Ácidos grasos	C16:0	C18:0	C18:1- $\omega$ 9	C18:2- $\omega$ 6	C18:3- $\omega$ 3	C20:0	C20:1- $\omega$ 9
<b>C</b>	23,1 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	5,8 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	25,5 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	41,1 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	0,8 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,45 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,21 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
<b>G18</b>	25,8 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	5,1 $\pm$ 1,0 <sup>ab</sup>	18, $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	45,9 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	3,7 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,36 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,22 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
<b>G24</b>	25,4 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	4,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	19,3 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	46,7 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	3,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,42 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,25 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>

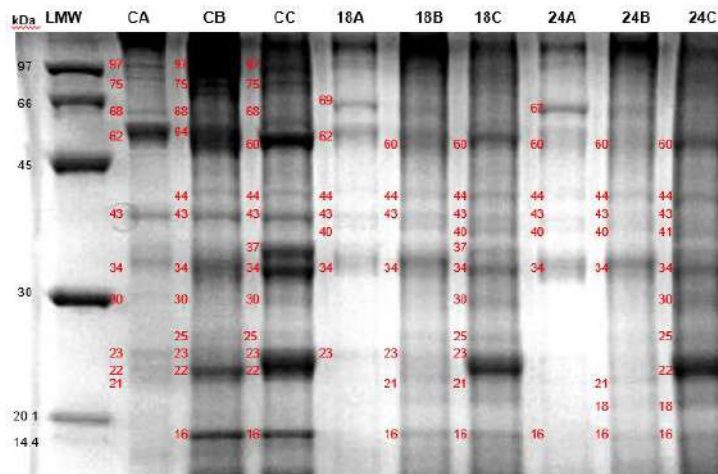
Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p <0,05).

La relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 para la harina C fue de 50, mientras que para las harinas germinadas fue menor (~12) debido a un aumento significativo en  $\omega$ 3 para las harinas de semillas germinadas. Una relación ideal de  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 es 5:1, con una relación máxima de 10:1 (Simopoulos, 2002). Los valores obtenidos en este trabajo confirman que la germinación es un proceso adecuado para mejorar el perfil nutricional de las harinas de amaranto destinadas a alimentos saludables.

Los perfiles de SDS-PAGE de las proteínas de amaranto extraídas con diferentes buffer se muestran en la Figura 2. Una gran cantidad de proteínas de 60-62 kDa y agregados de alto peso molecular se extrajeron de la harina de control con un buffer de pH 8 (CA). Además, se observó una banda débil de 43 kDa. La proteína extraída con un agente desnaturizante que rompe enlaces no covalentes como SDS presentó un perfil con una gran cantidad de bandas de masa molecular > 70 kDa (75 y 97 kDa), y también bandas de 34, 22 y 16 kDa (CB). Se obtuvo una alta cantidad de proteínas de 60, 37, 34, 23 y 22 kDa con un agente reductor como DTT (enlaces disulfuro disruptivos - S-S) (CC). Este comportamiento sugiere que estas bandas estaban estabilizando los agregados de alta masa molecular a través de enlaces S-S. Las proteínas de almacenamiento son las proteínas más abundantes de las semillas de amaranto compuestas por globulinas (globulina-11S, globulina-p) y glutelinas. La Figura 2 muestra que sin germinación (CA, CB, CC), la globulina-p es un monómero (60 kDa) que forma agregados de masa molecular alta mediante enlaces S-S, mientras que la globulina-11S es un dímero formado por los polipéptidos A (34-37 kDa) y B (23 kDa) (CC). La germinación aumentó la proporción de proteínas solubilizadas con el buffer de baja fuerza iónica (buffer A), de 68 y 34 kDa y disminuyó la fracción de 60 kDa (18A, 24A), lo que sugiere que algunas proteínas se están convirtiendo en otras. Aphalo y col.



(2009) encontraron que la hidrólisis de proteínas comenzó después de 15 h de germinación. Estos autores, también encontraron para la fracción de globulina una disminución en la intensidad de las proteínas de 64 y 45 kDa con la germinación y un aumento en la cantidad de los polipéptidos de 34 y 20 kDa; la mayoría de los cambios se observaron para la proteína globulina-p.



**Figura 2.** SDS-PAGE de proteínas de harinas de amaranto: C: control, G18: germinado 18 h, y G24: germinado 24 h. Proteína extraída en buffer pH = 8 (A), buffer pH = 8 con SDS al 2% p / v (B) y buffer pH = 8 con SDS al 2% p / v y DTT (C) al 0,5% p / v.

Al comparar los perfiles con SDS (CB, 18B, 24B), los polipéptidos de 22 y 16 kDa desaparecieron en las muestras germinadas, mientras que la fracción de 60 kDa disminuyó, lo que sugiere que estas proteínas se degradaron durante la germinación. En cambio, la proteína de 34 kDa no se modificó durante la germinación. Los agregados de alta masa molecular extraídos con SDS + DTT (CC, 18C, 24C) no resultaron afectados. La intensidad de las bandas correspondiente a proteínas de 60 y 34 kDa disminuyó ligeramente, mientras que las bandas de 43 pero principalmente de 37 y 16 kDa desaparecieron después de 24 h de germinación. En cambio, la banda de 22 kDa no se modificó.

Este comportamiento sugiere que la hidrólisis se realizó principalmente en los polipéptidos A (37 kDa) de la fracción 11S, debido a que estas proteínas no se extrajeron con el agente disociante; mientras que los polipéptidos B (22 kDa) no se hidrolizaron durante la germinación y, por lo tanto, se pudieron extraer con el agente reductor DTT.



#### 4. Conclusiones

La composición química de la semilla de amaranto fue modificada durante el proceso de germinación. La harina obtenida a partir de semillas germinadas durante 18 horas fue la que presentó mayor contenido de proteínas. Por otra parte, al comparar la harina C con G18, ésta última mejoró el contenido de lisina y de ácidos grasos insaturados esenciales (ácidos linoleico y linolénico), lo que conlleva a una disminución de la relación de  $\omega 6/\omega 3$  ( $<13$ ). Estas propiedades sugieren que la harina obtenida por la germinación de las semillas de amaranto por 18 horas a 30°C resulta un ingrediente interesante para complementar la harina de trigo en formulaciones funcionales de alimentos horneados.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a la Lic. Mariana Penissi por su asistencia técnica en el cromatógrafo gaseoso. Además, se agradecen las diferentes fuentes de financiamiento (UNLP, CONICET y ANPCYT).

#### Referencias

- AACC, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (10th Ed.). St. Paul: The Association (2000).
- Albarracín, M., Weisstaub, A. R., Zuleta, A., & Drago, S. R. (2016). Extruded whole grain diets based on brown, soaked and germinated rice. Effects on cecum health, calcium absorption and bone parameters of growing Wistar rats. Part I. *Food & function*, 7(6), 2722-2728.
- Aphalo, P., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2009). Structural modifications of amaranth proteins during germination. *The protein journal*, 28(3-4), 131-138.
- Cian, R. E., Garzón, A. G., Ancona, D. B., Guerrero, L. C., & Drago, S. R. (2015). Hydrolyzates from *Pyropia columbina* seaweed have antiplatelet aggregation, antioxidant and ACE I inhibitory peptides which maintain bioactivity after simulated gastrointestinal digestion. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 881-888.
- Nelson, D. L., Lehninger, A. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.
- Nelson, K., Stojanovska, L., Vasiljevic, T., & Mathai, M. (2013). Germinated grains: a superior whole grain functional food. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(6), 429-441.
- Paucar-Menacho, L. M., Peñas, E., Dueñas, M., Frias, J., & Martínez-Villaluenga, C. (2017). Optimizing germination conditions to enhance the accumulation of bioactive compounds and the antioxidant activity of kiwicha (*Amaranthus caudatus*) using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 245-252.
- Perales-Sánchez, J. X., Reyes-Moreno, C., Gómez-Favela, M. A., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Valdez-Ortiz, A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Increasing the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents by optimizing the germination conditions of amaranth seeds. *Plant foods for human nutrition*, 69(3), 196-202.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(8), 365-379.
- Theodoulou, F. L., & Eastmond, P. J. (2012). Seed storage oil catabolism: a story of give and take. *Current opinion in plant biology*, 15(3), 322-328