

INDUCCIÓN DE AMINOÁCIDOS EN GERMINADOS DE AMARANTO POR EFECTO DE TRATAMIENTOS DE ELECTRO-INDUCCIÓN.

Cerón-García, A ^{a,*}, Sosa-Morales ^a, M.E., Alcántar-Rosales, V.M ^b, y Heras-Ramírez, M.E ^b.

^a Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida. Ex. Hacienda El Copal Km. 9, Carretera Irapuato-Silao, Gto., México. C.P. 36500. abel.ceron@ugto.mx

^b Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, Unidad Noreste. Parque de Investigación e Innovación Tecnológica, Vía de innovación 404, Apodaca, N.L., México. C.P. 66628.

RESUMEN:

El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de la electro-inducción en el perfil de aminoácidos libres en germinados de amaranto (*Amaranthus hypocondriacus*). La inducción por electro-inducción fue realizada en semillas de amaranto mediante una fuente de poder a nivel laboratorio a una intensidad constante de 500mA durante 0, 2, 5, 10 y 30 minutos. Después de aplicar los tratamientos correspondientes, las semillas de amaranto fueron germinadas en una cámara de germinación comercial durante 6 días a 25 °C. Las mediciones del perfil de aminoácidos libres fueron determinadas por LC-Q-TOF. Los aminoácidos más abundantes fueron prolina y glutamina (2.7 y 120 veces, respectivamente), ambos aminoácidos no esenciales, mientras que metionina e histidina (7.7 y 81 veces, respectivamente) fueron los aminoácidos esenciales más abundantes. El perfil de aminoácidos libres determinado resultó diferente entre las semillas de amaranto y los correspondientes germinados de amaranto. Siendo los tratamientos de electro-inducción con menor duración (2 y 5 minutos) los mejores tratamientos aplicados en semillas de amaranto para la cuantificación de aminoácidos libres esenciales y no esenciales.

ABSTRACT:

The aim of this study was investigate the effect of electric current elicitation on the as free amino acid profile in Amaranth sprouts (*Amaranthus hypocondriacus*). Electric current elicitation was made into amaranth seeds using a laboratory power supply at 500 mA of electrical current by 0, 2, 5, 10 and 30 min. After these treatments, amaranth seeds were sprouted into commercial growth chamber by 6 d at 25°C. Measurements of amaranth free amino acid profile was done by LC-Q-TOF. Free amino acid quantitation by LC-Q-TOF display increments between 2.7 and 120 times in proline and glutamine content, both non-essential amino acids, while in an essential amino acids, changes were from 7.7 and 81 times in methionine and histidine, respectively. Free amino acid profile was different between sprouts and seeds amaranth. Short term (2 and 5 min) electro-induction treatments were the best treatments applied in amaranth into free amino acid quantitation for both non-essential and essential amino acids.

Palabras clave:

Amaranto, aminoácidos, germinados.

Keywords:

Amaranth, aminoacids, sprouts.

Área: Nutrición y nutraceuticos.

INTRODUCCIÓN

El amaranto (*Amaranthus hypocondriacus*) es considerado como un cultivo tradicional prehispánico originario de América con excelentes propiedades nutrimentales similares e incluso superiores a las que presenta la carne, el trigo, el arroz o los frijoles (Venskutonis y Kraujalis, 2013). De hecho, el amaranto es altamente consumido por pacientes celíacos debido a que por sus propiedades funcionales es considerado como un pseudo-cereal. La principal vía para obtener estos beneficios nutricionales del amaranto ha sido mediante el consumo de las

semillas reventadas del amaranto principalmente en dulces tradicionales como las alegrías, y en menor grado como harina o en bebidas. Actualmente, el consumo de excelentes alimentos como la soya, alfalfa, rábano, quinua, mostaza y otros, en su modalidad de germinados, ha sido evaluado en diferentes investigaciones, ya sea a nivel laboratorio o en pacientes (Pajak *et al.*, 2014).

Sin embargo, resultan pocas las investigaciones realizadas que tienen como objetivo conocer mejor el gran potencial del amaranto, muchas de las cuales han sido realizadas únicamente en semillas de amaranto pero no en germinados. En México, el amaranto juega un importante papel en las preferencias de los consumidores debido a sus beneficios, pero solo como semilla reventada (alegrías) o como parte de bebidas, dejando de lado los beneficios que puede aportar como germinado. Día a día, expertos en el área de alimentos buscan nuevas alternativas para los compuestos naturales, incluidos los aminoácidos libres; de los cuales sus beneficios potenciales pueden ser destinados a usarse en la industria alimenticia, cosmetológica y farmacológica, por lo que el amaranto resulta una interesante opción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas de amaranto fueron adquiridas en una tienda de semillas ubicada en el Estado de Puebla, México y correspondían al ciclo de cosecha de 2014.

Limpieza y desinfección de semillas

Las semillas de amaranto fueron lavadas con agua y jabón para retirar la tierra acumulada y posteriormente, estas semillas fueron sometidas a la desinfección mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante 15 minutos, finalizando con un lavado triple con agua purificada para eliminar restos de cloro.

Tratamientos

Los tratamientos de electro-inducción fueron aplicados mediante el uso de una fuente de poder de laboratorio a una intensidad de 500mA en modo constante, durante una duración de 0, 2, 5, 10 y 30 minutos.

Obtención de germinados

La obtención de germinados de amaranto tratado fue realizada mediante el uso de una cámara de germinación comercial Easygreen® disponiendo 5 gramos de semilla tratada por charola acanalada y perforada (5 x 30 x 5 cm) y dejando germinar durante 6 días a 25 °C y con un régimen de riego por micro-aspersión de 15 minutos cada 8 horas con agua purificada.

Preparación de muestra

Una vez obtenidos los germinados de amaranto, cada tratamiento fue liofilizado a -50°C durante 24 horas a fin de mantener su integridad y eliminando el agua presente en la muestra mediante un liofilizador Labconco modelo Freezone 4.5. Una vez obtenida la muestra liofilizada, se protegió de la luz y se mantuvo en almacenamiento a -20°C hasta la determinación del perfil de aminoácidos por cromatografía de líquidos.

Cuantificación de aminoácidos libres

La determinación del perfil de aminoácidos libres en germinados de amaranto fue realizada mediante el uso del kit de reactivos comerciales Derivatization kit EZ:faast for free amino acid by LC/MS de Phenomenex® bajo las condiciones sugeridas por el fabricante y empleando el instrumento analítico LC-Q-TOF 6520 Agilent Technologies, bajo las siguientes condiciones de operación:

Condiciones de la Cromatografía de líquidos:

Fase móvil A: Formato de amonio 10 mM en agua. Fase móvil B: Formato de amonio 10 mM en metanol. Gradiente: 0.00 minutos 68 %B, 13.00 minutos 83 %B, 13.01 minutos 68 %B, 24.00 minutos 68 %B. Velocidad de flujo: 0.25 mL/min. Columna: EZ:faast AAA-MS 2.0x250mm, 4 µm. Temperatura de columna: 35 °C. Volumen de inyección: 20 µL

Condiciones del Espectrómetro de masas:

Fuente de iones: Electrospray Agilent JetStream. Modo: Positive Ion, Extended Dynamic Range, 2 GHz. Rango de búsqueda: 100-1000 m/z. Gas Heater: 350 °C. Flujo de gas: 12 L/min. Presión del nebulizador: 40 psi. Sheath gas temperature: 350 °C. Sheath gas flow: 10 L/min. Capillary voltage: 4000 V. Nozzle voltage: 500. Fragmentor: 120 V. Skimmer: 65 V. Octopole RF: 750.

La Figura 1 muestra el diagrama de proceso seguido para la determinación del perfil de aminoácidos libres en germinados de amaranto.

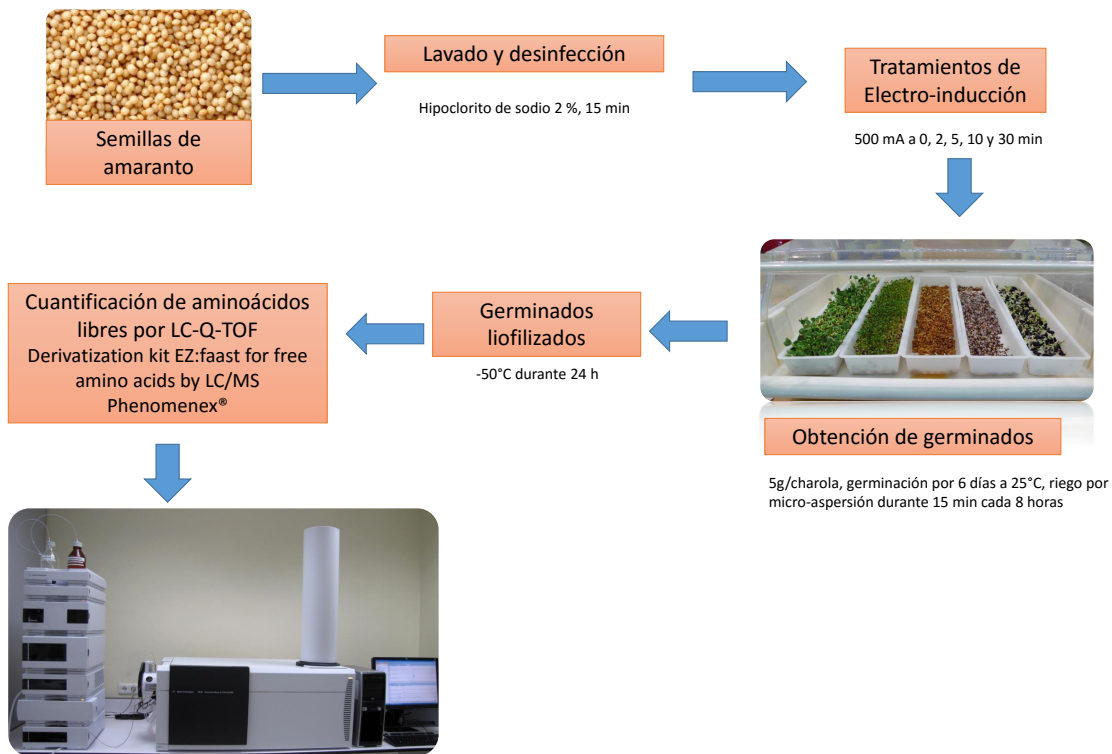


Figura 1. Procedimiento para la determinación del perfil de aminoácidos en germinados de amaranto bajo tratamiento de electro-inducción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla I, se aprecia el perfil de aminoácidos libres determinados en los germinados de amaranto bajo los tratamientos de electro-inducción.

Table 1. Free Amino acid contents in Amaranth seeds and sprouts quantitated by LC-Q-TOF.

Amino acid	Abb.	Type	Electro-induction treatments (min)					
			Seeds (µg/g)		Sprouts (µg/g)			
			0 min	0 min	2 min	5 min	10 min	30 min
Glutamic acid	GLU	NE	0.229 ± 0.003	1.669 ± 0.001 ^b	1.967 ± 0.004 ^d	1.656 ± 0.004 ^a	1.692 ± 0.001 ^c	1.673 ± 0.001 ^b
Arginine	ARG	NE	0.182 ± 0.002	6.074 ± 0.010 ^d	5.229 ± 0.001 ^b	5.885 ± 0.016 ^c	6.081 ± 0.002 ^d	5.034 ± 0.001 ^a
Aspartic acid	ASP	NE	0.162 ± 0.009	1.855 ± 0.007 ^d	1.644 ± 0.009 ^a	1.736 ± 0.008 ^b	2.176 ± 0.017 ^e	1.811 ± 0.002 ^c
Glutamine	GLN	NE	0.148 ± 0.007	18.392 ± 0.012 ^d	19.206 ± 0.037 ^e	16.449 ± 0.024 ^b	17.329 ± 0.002 ^c	14.961 ± 0.011 ^a
Cystine	CYS	NE	0.127 ± 0.002	0.561 ± 0.005 ^c	0.756 ± 0.005 ^e	0.631 ± 0.001 ^d	0.476 ± 0.001 ^a	0.547 ± 0.001 ^b
γ-amino-n-butyric acid	GABA	NE	0.128 ± 0.003	0.558 ± 0.001 ^c	0.755 ± 0.006 ^e	0.631 ± 0.001 ^d	0.475 ± 0.002 ^a	0.545 ± 0.001 ^b
Glycine	GLY	NE	0.129 ± 0.004	0.715 ± 0.001 ^c	0.888 ± 0.004 ^e	0.765 ± 0.001 ^d	0.664 ± 0.005 ^b	0.455 ± 0.001 ^a
Tyrosine	TYR	NE	0.110 ± 0.001	0.882 ± 0.001 ^c	0.855 ± 0.001 ^b	0.936 ± 0.001 ^e	0.895 ± 0.001 ^d	0.752 ± 0.002 ^a
Serine	SER	NE	0.078 ± 0.001	1.200 ± 0.001 ^c	1.150 ± 0.002 ^b	1.264 ± 0.001 ^d	1.302 ± 0.001 ^e	1.133 ± 0.009 ^a
Proline	PRO	NE	0.073 ± 0.001	0.205 ± 0.002 ^c	0.229 ± 0.001 ^e	0.136 ± 0.004 ^a	0.214 ± 0.001 ^d	0.145 ± 0.004 ^b
Asparagine	ASN	NE	0.071 ± 0.001	1.719 ± 0.001 ^c	1.649 ± 0.001 ^b	2.030 ± 0.001 ^e	1.864 ± 0.001 ^d	1.596 ± 0.003 ^a
Ornithine	ORN	NE	0.003 ± 0.001	0.046 ± 0.002 ^c	0.042 ± 0.001 ^c	0.044 ± 0.001 ^c	0.038 ± 0.001 ^b	0.031 ± 0.001 ^a
Threonine	THR	E	0.058 ± 0.002	1.126 ± 0.001 ^c	1.140 ± 0.005 ^d	1.308 ± 0.002 ^e	1.044 ± 0.001 ^b	0.942 ± 0.002 ^a
Leucine	LEU	E	0.047 ± 0.002	0.562 ± 0.003 ^c	0.641 ± 0.002 ^e	0.368 ± 0.001 ^b	0.583 ± 0.004 ^d	0.315 ± 0.001 ^a
Phenylalanine	PHE	E	0.047 ± 0.001	1.237 ± 0.002 ^b	1.217 ± 0.006 ^a	1.393 ± 0.003 ^c	1.233 ± 0.003 ^b	1.223 ± 0.003 ^a
Lysine	LYS	E	0.045 ± 0.001	1.029 ± 0.002 ^b	0.951 ± 0.017 ^c	0.996 ± 0.003 ^d	0.913 ± 0.001 ^b	0.782 ± 0.002 ^a
Histidine	HIS	E	0.045 ± 0.001	3.616 ± 0.004 ^b	3.600 ± 0.001 ^a	4.240 ± 0.001 ^e	4.153 ± 0.005 ^d	4.042 ± 0.004 ^c
Tryptophan	TRP	E	0.043 ± 0.001	1.807 ± 0.003 ^a	1.936 ± 0.010 ^c	2.065 ± 0.002 ^d	2.105 ± 0.006 ^e	1.870 ± 0.002 ^b
Isoleucine	ILE	E	0.038 ± 0.002	0.910 ± 0.004 ^c	0.987 ± 0.003 ^d	0.577 ± 0.002 ^b	1.019 ± 0.001 ^c	0.555 ± 0.003 ^a
Methionine	MET	E	0.032 ± 0.001	0.246 ± 0.004 ^b	0.254 ± 0.003 ^c	0.270 ± 0.001 ^e	0.262 ± 0.001 ^d	0.211 ± 0.001 ^a
Citrulline	CIT	NE	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Alanine	ALA	NE	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Valine	VAL	E	ND	ND	ND	ND	ND	ND

NE, Non essential; E, Essential; ND, not detectable. Sprouts correspond to 6 days after sprouting. Values expressed as the mean ± SD of two assays. Different superscripts in the same row denote significant differences (p≤0.05).

De la tabla anterior puede observarse que con el solo hecho de germinar las semillas de amaranto se produce un incremento en los niveles de aminoácidos esenciales y no esenciales. De hecho, a cuantificación de aminoácidos libres por LC-Q-TOF reporto incrementos entre 2.7 y 120 veces para los aminoácidos prolina y glutamina, ambos aminoácidos no esenciales, comparados con los valores obtenidos de semillas sin germinar. Por otro lado, en cuanto a aminoácidos esenciales, fue posible observar cambios entre 7.7 y 81 veces de incremento para la metionina e histidina, respectivamente. Estos resultados resultaron mayores a los reportados por Nimbalkar *et al.*, 2012 realizados solo en semillas de amaranto. Así mismo, se aprecia que los tratamientos de electro-inducción de corta duración (2 y 5 minutos) resultaron ser los mejores tratamientos aplicados a las semillas de amaranto para la cuantificación de los aminoácidos esenciales y no esenciales. Además, con el uso del kit de detección utilizado en esta investigación fue posible detectar 20 de los 23 aminoácidos sugeridos por el kit, muchos de estos aminoácidos aun sin reportar para el amaranto.

CONCLUSIONES

Claramente, la aplicación de tratamientos de electro-inducción aplicado de manera conjunta con el proceso de obtención de germinados, incrementan los niveles de aminoácidos libres en germinados de amaranto, ofreciendo así un alimento con elevados contenidos de aminoácidos esenciales importantes para la dieta de los consumidores.

BIBLIOGRAFIA

- Nimbalkar, M. S., Pai, S. R., Pawar, N. V., Oulkar, D., & Dixit, G. B. (2012). Free amino acid profiling in grain Amaranth using LC–MS/MS. *Food chemistry*, 134(4), 2565-2569.
- Pajak, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food chemistry*, 143, 300-306.
- Venskutonis, P. R., & Kraujalis, P. (2013). Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(4), 381-412.