

INDUCCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN GERMINADOS DE AMARANTO MEDIANTE EL USO DE TRATAMIENTOS DE ELECTRO-INDUCCIÓN

A. Montoya-González, A. Cerón-García, J.A. Gómez -Salazar, Ma. E. Sosa-Morales y C. Ozuna *

Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca. * cesar.ozuna@ugto.mx

RESUMEN:

Se han descrito diferentes actividades biológicas de componentes aislados de amaranto tales como actividad antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antiinflamatoria y antihipertensiva. Este hecho demuestra que el amaranto puede ser una buena fuente de compuestos bioactivos. El uso de tratamientos de electro-inducción sobre las semillas de amaranto tiene como objetivo el aumento de la concentración de compuestos bioactivos (clorofila, antocianinas, compuestos fenólicos y flavonoides), lo que beneficia la calidad nutrimental de sus germinados. La aplicación de tratamientos con una misma intensidad a diferentes tiempos produjo respuestas de incremento en los niveles de compuestos bioactivos. La exposición a periodos cortos de electro-inducción usando una baja intensidad provocó un aumento significativo de los compuestos bioactivos del germinado de amaranto respecto al control. Por tal motivo, el tratamiento de 5 min a 200 mA tuvo un efecto positivo en el aumento de ciertos compuestos bioactivos, mientras que los niveles de otros biocomponentes del germinado se mantuvieron estables.

ABSTRACT:

Individual components of amaranth have been seen to have different biological activities, including an antibacterial, antitumor, antioxidant, anti-inflammatory and antihypertensive activity, thus possibly making amaranth an excellent source of bioactive compounds. As a way to improve the quality of amaranth sprouts, electro-induction treatments were applied to amaranth seeds in order to increase the concentration levels of bioactive compounds such as chlorophyll, anthocyanins, phenolics and flavonoids. The application of low-intensity treatments for different periods of time resulted in an increase in bioactive compound levels, showing a considerable increase compared to a control when treated for short periods of time. A treatment of 200 mA for 5 minutes had a positive effect on the levels of certain bioactive compounds while the levels of other bioactive compounds remained stable.

Palabras clave: compuestos bioactivos, electro-inducción, germinados.

Keywords: bioactive compounds, electro-induction, sprouts.

Área: Alimentos Funcionales

INTRODUCCIÓN

El amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) es una planta tradicional mexicana, que provee semillas y hojas con un alto valor nutricional, pero que aún permanece subvalorada. Es un pseudocereal, porque no pertenecen a la familia de las gramíneas; además son dicotiledóneas. Estos cultivos ancestrales han sido usados

por el hombre desde hace más de 6000 años. Fue un cultivo muy importante para culturas precolombinas como los Mayas, Aztecas e Incas. Pero su uso fue decreciendo después de la conquista de los españoles (Jacobsen *et al.*, 2002). El principal destino de esta semilla se orienta a la producción de dulces (alegrías), no se reporta evidencia de la explotación intensiva del amaranto en forma de germinado. Desde los años 70's, la germinación se ha usado para incrementar el valor nutricional en semillas (Chen *et al.*, 1975).

La germinación es un proceso fisiológico, el cual inicia con la absorción de agua por parte de las semillas, inmediatamente ocurren cambios en el metabolismo primario y secundario de las plantas. En años recientes, el consumo de germinados, que es común en Asia, ha incrementado su popularidad en países occidentales como Estados Unidos, debido a la percepción del consumidor hacia estos alimentos como parte esencial de una dieta saludable. Los germinados son considerados como un alimento funcional, ya que se ha demostrado su capacidad para disminuir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, esto debido principalmente al contenido en aminoácidos esenciales, fibra, micronutrientes, vitaminas, flavonoides y compuestos fenólicos (Pasko *et al.*, 2008).

Se tiene evidencia que la corriente eléctrica afecta a las plantas, por ejemplo; los campos magnéticos modifican procesos fisiológicos y biológicos en plantas. Otra modalidad de tratamientos eléctricos es el uso de campo eléctrico pulsado, empleado principalmente para la preservación de alimentos (Hamilton y Sale, 1967). Para esta investigación se utilizó un tratamiento de electro-inducción a la semilla de amaranto con una misma intensidad (200 mA) a diferentes tiempos (0, 5, 10 min), obteniendo resultados positivos en el incremento de compuestos bioactivos a periodos cortos de tiempo con este tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal, tratamientos y dispositivo de electro-inducción.

1. Obtención del material vegetal: Las semillas de amaranto se desinfectaron con jabón comercial. Se sumergieron por 10 min en una solución de cloro comercial al 1%. El exceso de cloro es eliminado realizando 4 lavados con H₂O estéril. Posteriormente las semillas se secaron a 60°C, durante 1 h. La obtención de germinados se llevó a cabo en un germinador comercial (7 días, luz natural, riego por aspersión cada 8 h, 15 min).
2. Descripción de los tratamientos de electro-inducción: Para la aplicación de los tratamientos en semillas de amaranto, se empleó una cámara de electroforesis horizontal, en una solución con H₂O y NaCl al 1.5 %. Los factores que se evaluaron fueron el tiempo e intensidad del tratamiento de electro-inducción de 200 mA a 0, 5 y 10 minutos de exposición. Siendo 0 min el control, T1 (5 min; 200 mA) y T2 (10 min; 200 mA).

Análisis de compuestos bioactivos en germinados de amaranto

- a) Clorofila: Se pesó 0.1 g de material vegetal (de 5 y 7 d de germinación) y se mezcló con 5 mL de acetona al 80%, dicha mezcla se molió en mortero y el extracto fue almacenado en tubos Eppendorff para posteriormente centrifugar a 10000 rpm, 10 min, 4 °C. Se recolectó el sobrenadante y se leyó absorbancia a 647 y 664 nm (Ziegler y Egle, 1965).
- b) Antocianinas: A partir de 1 g de germinado y 10 ml de acetona absoluta fría se realizó la extracción. Esta mezcla se centrifugó a 10000 rpm, 10 min, 4 °C. Posteriormente, se determinó la absorbancia (A) en los extractos a pH diferencial (1.0 y 4.5) a 510 y 700 nm (Cheng y Breen, 1991).
- c) Compuestos Fenólicos: La cuantificación se realizó usando el método propuesto por Slinkard y Singleton (1977). Se pesó 1 g de muestra con 5 ml de metanol al 80 %, las muestras fueron agitadas por 1 h en oscuridad y se centrifugaron a 10000 rpm, 10 min, 4 °C. Una alícuota de 200 µL del extracto se hizo reaccionar con 200 µL de reactivo Folin-Ciocalteu diluido 1:4 y 2 mL NaCO₃ al 0.5%. La mezcla resultante fue homogenizada y después de 1 h se midió la absorbancia a 765 nm.
- d) Flavonoides: La determinación se realizó de acuerdo al método propuesto por Marinova *et al.*, (2005). Partiendo de 1 g de germinado tratado, se le adiciono 10 mL de metanol al 90 %, dicha mezcla se llevó a ebullición (80-85 °C) por 1 h y se enfrió, posteriormente se centrifugó a 10000 rpm, 10 min, 4 °C. Se hizo reaccionar 200 µl de extracto, 50 µl AlCl₃ al 10%, 50 µl CH₃CO₂K 1M, 800 µl metanol 80 % y 1.4 mL de H₂O, agitar. Finalmente, se determinó el valor de absorbancia a 510 nm.

Análisis estadístico

Los valores de compuestos bioactivos fueron obtenidos por triplicado para cada tratamiento. Dichos datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) para encontrar diferencias significativas. Posteriormente, se realizó una prueba de comparación múltiple de medias por el método de Tukey con un nivel de probabilidad de 5% ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Clorofila: A consecuencia de los tratamientos de electro-inducción los niveles de clorofila aumentan considerablemente, aplicando un tratamiento a 200 mA por tiempos cortos (5 min), comparado con un tratamiento a mayor tiempo (10 min) esto disminuye por debajo del control. A partir de un ANOVA, se comprobó que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$), en donde el tratamiento 1 (5 min; 200 mA) resultó ser el mejor de los tratamientos para incrementar los niveles de clorofila. Comparando el día 5, los niveles de clorofila aumentan hasta 3 veces en el T1. Los tratamientos de electro inducción tienen un efecto favorable a periodos cortos de exposición aumentado la clorofila en germinados de amaranto (Fig. 1).

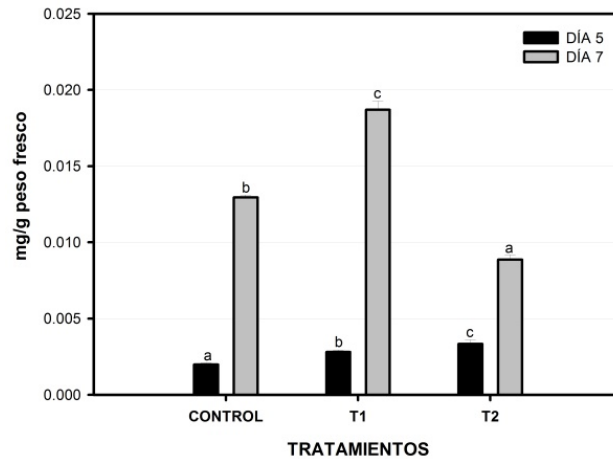


Figura 1. Niveles de clorofila en germinados de *Amarantus* spp.

Antocianinas: Los niveles de antocianinas a los 5 días de germinado son considerablemente bajos en tratamientos, en T2 son 3 veces menor que el control. Para el día 7 se observa un incremento entre estos tratamientos, superando al control, para determinar cuál de estos es el mejor tratamiento se realizó un ANOVA, arrojando como el mejor al T1, existe una diferencia estadísticamente significativa entre el control y el tratamiento 1. El tratamiento de corto tiempo está favoreciendo el incremento de las antocianinas, mientras que para tiempo largos no se reducen solo se mantienen estables con el control. Es importante ver que en el control existe una disminución entre muestras del día 5 y 7, mientras que con los tratamientos de electro-inducción se presentó lo contrario, encontrándose un incremento significativo de este compuesto bioactivos (Fig. 2)

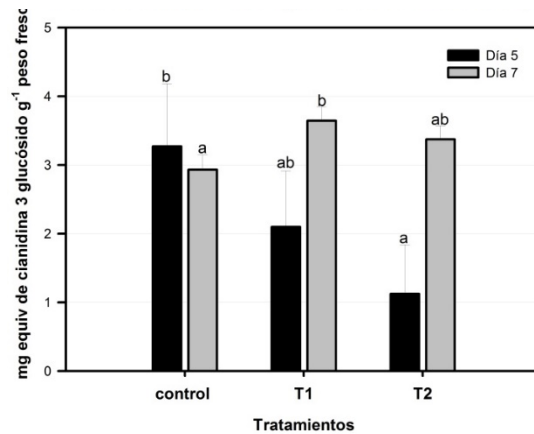


Figura 2. Niveles de antocianinas en germinados de *Amarantus* spp.

Compuestos Fenólicos: Se encontró una disminución de fenólicos del día 5 al día 7 en los 3 parámetros evaluados, mientras que la disminución en el control es 4 veces; en los tratamientos es de solo 3, presentándose una degradación menor por la

aplicación de los tratamientos. La aplicación de los tratamientos no tuvo un incremento en estos componentes. Realizando un ANOVA, al día 5 los tratamientos 1 y 2 son estadísticamente igual, pero diferentes al control. En el día 7 no existe diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos y el control (Fig. 3). Por lo cual, se puede afirmar que los tratamientos no tienen un efecto negativo en la reducción de los biocomponentes, los mantiene estables comparados con el control, se esperaba un aumento a consecuencia del electro inducción como lo fue en otros componentes (fenoles y flavonoides).

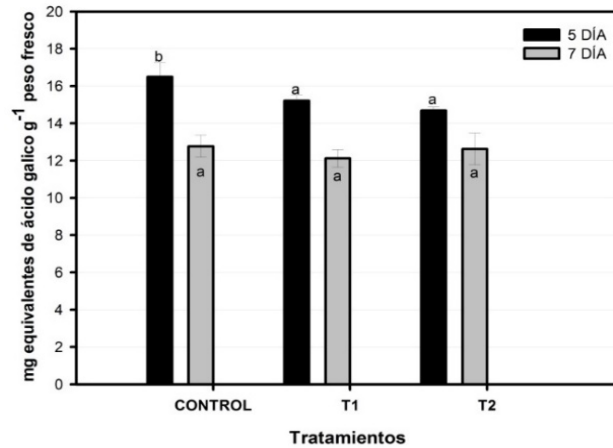


Figura 3. Compuestos Fenólicos en germinados de *Amaranthus* spp.

Flavonoides: De acuerdo a los resultados obtenidos el día 5 de la germinación, los valores aumentan con la aplicación de un tratamiento a tiempos largos, mientras que con tiempos cortos solo se mantienen con el control. Al analizar estadísticamente los datos encontramos que el control y T1 son iguales, por lo que el T1 no tiene un efecto significativo en el aumento de los flavonoides. (Fig. 4). Mientras que el T2 es el único tratamiento que tiene una respuesta positiva en el aumento de flavonoides al día 5 de la germinación ($p \leq 0.05$). Las determinaciones del día 7 demostraron una disminución en los valores de los 3 parámetros evaluados, tanto en el control existe una degradación de flavonoides, los tratamientos aplicados tienen una degradación de hasta 3 veces. Es notoria la disminución de flavonoides al paso del tiempo de evaluación. A pesar de que los valores al día 7 de germinación son estadísticamente diferentes, los tratamientos de electro inducción no superan el valor de flavonoides totales detectados en la muestra control.

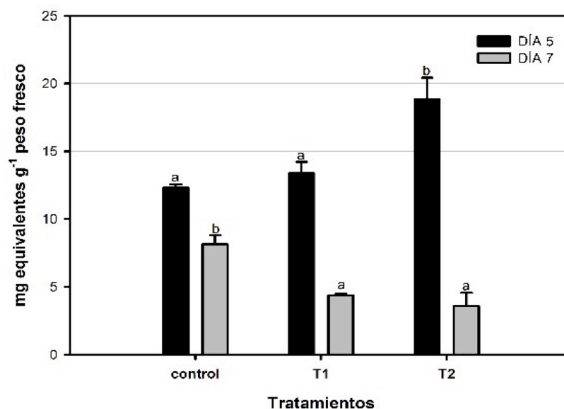


Figura 4. Flavonoides en germinados de *Amaranthus* spp.

Los germinados de amaranto son poco comunes en la dieta de las personas. Por tanto, el consumo de este alimento podría representar un beneficio a la salud. El tratamiento de electro inducción en las semillas de amaranto tiene un efecto positivo en la estimulación de compuestos bioactivos, mejorando de manera favorable los germinados. Se observó que la aplicación de tiempos cortos con una intensidad constante provocó un incremento en la concentración de estos biocomponentes. En conclusión, los germinados de amaranto representan una excelente fuente para la extracción de compuestos bioactivos, los cuales podrían ser utilizados en las formulaciones de nuevos productos en la industria alimentaria.

BIBLIOGRAFÍA

- Chen LH, Wells CE, Fordham JR (1975) Germinated seeds for human consumption. *J Food Sci* 40: 1290-1294.
- Cheng GW, Breen PJ (1991) Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J Am Soc Hortic Sci* 116: 865-869.
- Hamilton WA, Sale AJH (1967) Effects of high electric fields on microorganisms: II. Mechanism of action of the lethal effect. *Biochim Biophys Acta* 148: 789-800.
- Jacobsen SE, Sherwood S. Cultivos de granos andinos en Ecuador. Informe sobre los rubros quinua, chocho y amaranto. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2002.
- Marinova D, Ribarova F, Atanassova M (2005) Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J U Chem Technol Metallurgy* 40: 255-260
- Pasko P, Sajewicz M, Gorinstein S, Zachwieja Z (2008) Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta Chromatogr* 20: 661-672.
- Slinkard K, Singleton VL (1977) Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 28: 49-55.
- Ziegler R, Egle K (1965) Zur quantitativen analyse der chloroplastenpigmente. I. Kritische Überprüfung der spektralphotometrischen chlorophyll-bestimmung. *Beitr Biol Pflanz* 41: 11-37.