

3 300627

24



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.

"DIGESTIBILIDAD APARENTE DEL TRIPTOFANO
PROVENIENTE DE LA SEMILLA PROCESADA DE
Amaranthus hypochondriacus"

TESIS PROFESIONAL

*Que para obtener el título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
presenta*

MARTHA ALVAREZ OCHOA

México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	PAGINAS
CAPITULO I.	
SITUACION HISTORICA Y ACTUAL DEL AMARANTO EN MEXICO Y OTROS PAISES.	
INTRODUCCION.....	6
OBJETIVOS.....	7
GENERALIDADES.....	8
Antecedentes Históricos.....	8
Resurgimiento Actual.....	8
Cultivo del Amaranto.....	8
Usos del Amaranto.....	9
Potencial del Amaranto.....	11
Composición Química y Valor Nutritivo.....	11
Calidad de la Proteína de Amaranto.....	12
CAPITULO II.	
ANTECEDENTES.	
DIGESTION DE PROTEINAS.....	16
Absorción de Aminoácidos.....	17
Efecto de la dieta en la digestión de proteínas.....	17
METODOS ANALITICOS PARA LA EVALUACION DE LA CONCENTRACION DEL TRIPTOFANO.....	
Método de Miller.....	22
Ventajas del Método.....	22
Desventajas del Método.....	25
CAPITULO III.	
MATERIALES Y METODOS.	
CARACTERISTICAS DE LAS SEMILLAS Y PREPARACION DE LAS MISMAS.	
Características Físicas de la Semilla de Amaranto.....	26
Reventado de las Semillas y Evaluación del Proceso.....	26
METODOS QUIMICOS.....	
Análisis Químico Proximal.....	26
Cocimiento del Amaranto.....	27
Determinación de Triptofano.....	28

Pruebas para determinar la Digestibilidad in vivo de los alimentos	
Análisis del Oxido Crómico.....	31
Análisis del Contenido de Aminoácidos.....	32
PREPARACION DE DIETAS.....	33
EXPERIMENTO BIOLOGICO.....	41
Digestibilidad in vivo.....	42
METODOS ESTADISTICOS.....	42

CAPITULO IV.

RESULTADOS.

Análisis Químicos.....	43
Determinación de triptofano.....	43
Evaluación Biológica.....	51

CAPITULO V.

DISCUSION DE RESULTADOS.

Análisis Químico Proximal.....	57
Determinación de triptofano.....	57
Valor de la Proteína.....	58
Pruebas de Digestibilidad in vivo.....	59

CAPITULO VI.

CONCLUSIONES.....61

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	63
---------------------------------	----

CAPITULO I.

SITUACION HISTORICA Y ACTUAL DEL AMARANTO (Amaranthus hypochondriacus) EN MEXICO Y OTROS PAISES.

INTRODUCCION.

El triptofano además de ser un aminoácido esencial para la síntesis de proteínas en humanos, es un precursor de importantes compuestos que intervienen en el metabolismo celular, como son niacina y serotonina. La niacina es una vitamina que puede formarse por una reacción secundaria del triptofano en el hígado a través del mecanismo nicotin-adenin-dinucleótido (NAD), su equivalencia es de 60 mg de triptofano por 1 mg de niacina (Kirk-Othmer,1981). Los requerimientos de triptofano para adultos son: 250 y 157 mg/día para hombres y mujeres, respectivamente (Stare y Mc Williams,1984), la carencia de niacina y triptofano en la dieta causan pelagra, enfermedad que provoca dermatitis, diarrea y demencia. La serotonina es importante porque es un vasoconstrictor potente y estimulante de la contracción del músculo liso, también es un neurotransmisor que ejerce un efecto importante en el metabolismo celular (Tovar,1981; Badui,1982).

Además, el triptofano es un aminoácido escaso en las proteínas de origen vegetal que constituyen principalmente las dietas de los países latinoamericanos. El maíz, por ejemplo que se utiliza en México para elaborar tortillas; tiene una baja concentración de triptofano además de lisina; por esta razón es importante que los alimentos ricos en triptofano como son los de origen animal y el amaranto, que a pesar de ser un alimento de origen vegetal es buena fuente de este aminoácido (Tovar y Carpenter,1982; National Research Council,1984; Sánchez-Marroquín et al.,1985 C), lleguen a formar parte de la alimentación en estos países. Tovar y Carpenter (1982), la MEC (1984) y Sánchez-Marroquín et al. (1985 C) han contribuido notablemente a la evaluación de este aminoácido en el amaranto.

Debido a esto, una buena alternativa para los países en desarrollo es suplementar las deficiencias de proteína con la semilla de amaranto.

OBJETIVOS.

De acuerdo a la literatura, los aminoácidos sufren daño cuando se someten a un tratamiento térmico, debido a esto, en este trabajo, además de cuantificar el triptotano en semillas crudas y procesadas de amaranto, se observarán los efectos que ocasione el tratamiento térmico seco sobre este aminoácido.

Esto se va a realizar para verificar si el triptotano presente en la proteína del amaranto será más afectado cuando la semilla se someta a un tratamiento térmico por contacto directo, o cuando se someta a un flujo de aire caliente, en este último caso se espera que el valor proteico del amaranto no se vea afectado significativamente con respecto a la semilla cocida (libre de factores antifisiológicos), planteándose para dicho fin los siguientes objetivos:

1) Determinar el contenido de triptofano tanto en las semillas del amaranto crudo como en las semillas procesadas por el método de contacto directo (reventado-tostado tradicional) y por la adaptación del sistema de lecho fluidizado.

2) Evaluar el posible daño que el triptotano pueda sufrir por los diferentes sistemas de tratamiento térmico de la semilla.

3) Observar si la digestibilidad de la proteína se ve afectada por los diferentes tratamientos térmicos a los que son sometidas las semillas de amaranto.

4) Determinar la digestibilidad aparente del triptofano *in vivo* mediante una evaluación biológica de la semilla sometida a diferentes tratamientos térmicos, utilizando la rata macho como modelo experimental.

5) Encontrar si existe una correlación entre la determinación química del triptofano y su digestibilidad *in vivo*.

GENERALIDADES.

Antecedentes Históricos.

Pocas plantas tienen un origen histórico o cultural comparable a aquellas de la familia Amaranthaceae. La producción de amaranto como grano tuvo su mayor importancia durante el período azteca, cuando este era uno de los principales cereales consumidos y formaba parte de los ritos religiosos (Ortiz de Montellano, 1978; Sánchez-Marroquín, 1980; Odtojan, 1983; Saunders y Becker, 1984). Los aztecas hacían ídolos con una pasta compuesta de semillas de amaranto molidas y tostadas, mezclada con la sangre de los sacrificados. Cuando Hernán Cortés y sus soldados conquistaron México en 1519, los misioneros prohibieron las religiones nativas y el cultivo del amaranto con el objeto de eliminar dichos ritos. Por lo tanto, el amaranto obtuvo la rara distinción de ser una de las pocas especies de plantas alimenticias eliminadas del cultivo popular como resultado de una orden legislativa (Marx, 1977; Casillas, 1977; Cole, 1979; Odtojan, 1983; NRC, 1984; Saunders y Becker, 1984).

Resurgimiento Actual.

Dadas las condiciones actuales en muchas áreas del mundo, donde existen limitaciones de tierra y reducción de abastecimiento de agua, la posibilidad de cultivar el amaranto como fuente de proteína es muy grande debido a que esta semilla presenta características particulares como son: su alta tolerancia a condiciones áridas y suelos pobres en nutrientes, donde los cereales no pueden crecer con facilidad, además de su utilidad como grano o legumbre, o ambon (Saunders y Becker, 1984).

Cultivo del Amaranto.

El cultivo del amaranto actualmente se encuentra en forma comercial o en pequeña escala como planta de ornato. Proporciona una buena rotación de cultivos y además responde bien a los abonos orgánicos y a la fertilización (Saunders y Becker, 1984).

Las especies de *Amaranthus hypochondriacus* y *A. cruentus* son nativas de México y Guatemala, predominando en México la variedad *A. cruentus* (NRC,1984). En el México antiguo la especie *A. hypochondriacus* o *A. leucocarpus*, como también ha sido llamada, fué con toda probabilidad la de empleo más frecuente como alimento con el nombre común de "alegría", junto con *A. cruentus* (también denominada *A. paniculatus*) (Sánchez-Marroquín,1983). La especie de *A. caudatus* de Perú no era conocida, fué cultivada principalmente en Argentina y Bolivia y se utilizaba como grano y como verdura (Connor et al.,1980; Sánchez-Marroquín,1983).

Asimismo, las especies *A. gangeticus* y *A. dubius* se usaban como hortalizas y granos, en varias regiones de América del Sur ambas especies jugaron un papel importante en la dieta de varios pueblos. También se sabe que las especies silvestres *A. hybridus*, *A. powellii* y *A. retroflexus* fueron usadas como hortalizas en tiempos antiguos y que aún ahora se utilizan en algunos países (Sánchez-Marroquín,1983).

El crecimiento y vigor de la especie espinosa (*A. spinosus*), planta de tipo comestible, indica la adaptabilidad de este cultivo en las Filipinas (Odtojan,1983).

Usos del Amaranto.

Las recetas tradicionales para la preparación de semillas de amaranto varían de cultura a cultura; en México la semilla se puede utilizar directamente para la elaboración de dulces tales como la tradicional "alegría", para lo cual la semilla se somete a un proceso de reventado que se realiza en un comal de barro calentado con fuego de leña; una vez reventada, se mezcla con miel de abeja o piloncillo hasta formar una masa pegajosa que se extiende perfectamente y se corta ya sea en forma circular o cuadrada (Cole,1979). También se pueden elaborar atoles agregando agua o leche a la harina integral de la semilla e hirviendo la mezcla; de los granos reventados o tostados se prepara el pinole, simplemente molliéndolos y agregándoles un poco de dulce, asimismo se pueden elaborar los tradicionales tamales, los cuales se llamaban zoales, llamados actualmente chuales en Tlaxcala. Todas estas aplicaciones ya eran conocidas por los aztecas, sin embargo un aprovechamiento industrial de mayor dimensión de la semilla es el de producir harina, cuya única limitación es su casi nulo contenido de gluten, dicha harina puede ser utilizada en industrias específicas, tales como fábricas de pan de caja, pastas hechas a máquina, hojuelas, mazapanes y galletas, entre otras (Cole,1979; Sánchez-Marroquín,1980).

El amaranto constituye una parte importante de la dieta en regiones de Latinoamérica, Africa y Asia en donde se utiliza como grano y como legumbre (en forma de "quintonil" y "huazontle" respectivamente), y en algunos casos proporciona una gran parte de los nutrimentos necesarios para cubrir los requerimientos humanos (Saunders y Becker, 1984).

En Centro y Sudamérica la semilla tiene varios usos, ya que se emplea como ingrediente en la preparación de pan dulce, crepas, cereal granola, pastillitos, galletas, etc (Odojjan, 1983).

En países de Asia y Africa tienen su propia manera de utilizarlo, la semilla comunmente es tostada y empleada como ingrediente en confitería, además las hojas son utilizadas en ensaladas. Las recetas modernas para el uso del amaranto a veces se encuentran en libros de cocina orientados al consumo de alimentos nutritivos. Además, algunas personas que padecen de alergia a ciertos granos (por ejemplo intolerancia al gluten del trigo) han empleado el amaranto como sustituto de éstos (Rodale Research Center, 1984).

El amaranto también se puede combinar con granos tradicionales como el trigo y el maíz debido a la deficiencia en lisina de estos cereales. Se debe hacer notar que las mezclas de amaranto-maíz y amaranto-trigo integral proporcionan una proteína que es de calidad nutritiva semejante a la de la leche (RRC, 1984).

Además de que esta semilla puede servir para incrementar la producción de proteína en países en desarrollo, para el consumo humano, puede también sustituir a una gran proporción de los concentrados de proteína utilizados en dietas comerciales para alimento animal (Connor et al., 1980).

Al igual que en algunos países, en México se está tratando de industrializar la semilla y para dicho fin un grupo de investigadores de la UNAM desarrollaron un sistema en el que se aplicó un flujo de aire caliente con el objeto de provocar el reventado de la semilla evitando que se tostase.

Se intenta la producción de "alegría" a nivel industrial con una mínima pérdida en su contenido proteico; pero es necesario que existan las condiciones adecuadas de procesamiento, ya que de lo contrario se pueden efectuar ciertas reacciones de algunos aminoácidos, como la lisina, con carbohidratos prementes en el alimento, lo cual indudablemente deteriorará la calidad nutritiva de la semilla (Hayase et al., 1975).

Entonces, es indispensable que estas alteraciones se tomen en cuenta, en caso de que ocurran, para que se puedan minimizar hasta donde sea posible, y evitar con ello la pérdida de su valor nutritivo.

Una aplicación importante en México, es la de enriquecer la tortilla con semilla de amaranto (Tovar y Carpenter, 1982) en la proporción de 80% de maíz y 20% de amaranto, mezcla con la cual se obtiene una tortilla que cumple con las especificaciones dadas en normas oficiales (Sánchez-Marroquín, 1980). Una variante de la aplicación anterior es la de enriquecer la harina de maíz con harina de amaranto en proporciones de 90:10, 80:20 y 50:50, respectivamente, para la elaboración de tortillas y arepas que son constituyentes nutricionales básicos de la dieta de México y varios países latinoamericanos (Sánchez-Marroquín y Maya, 1985 B); en este trabajo se utiliza esta última alternativa para la preparación de una mezcla en proporción 50:50 de harina de maíz-harina de amaranto reventado y su posterior evaluación.

Es interesante resaltar que la mayoría de la población mundial se alimenta solo de siete tipos de cosechas (arroz, trigo, papa, maíz, soya, frijol y cebada). Además ha sido una práctica común durante los pasados quince años que los agricultores se especializan solamente en la cosecha de uno o pocos granos (RRC, 1984), y no han enfocado su atención hacia una cosecha tan promisoriosa como la de la semilla de amaranto.

Potencial del Amaranto.

Respecto al potencial agronómico del amaranto, Sauer (1950) reportó que un buen desarrollo del grano produce tal cantidad de semilla que el rendimiento de la cosecha por unidad de área supera al del maíz, lográndose en la India (Sauer, 1967) una cosecha de una tonelada de A. hypochondriacus por hectárea de terreno cultivado. En México se han obtenido rendimientos de 1 hasta 5 toneladas por hectárea (Anónimo, 1979; Sánchez-Marroquín, 1980).

Composición Química y Valor Nutritivo.

La composición de la semilla del amaranto varía a causa de las prácticas agronómicas; se ha determinado un contenido de 62 - 69% de almidón, 12 - 16% de proteína, 2 - 3% de azúcares totales, 6 - 7.5% de lípidos, 3 - 3.5% de cenizas, 4 - 7.2% de fibra y 1.0 - 1.5% de vitaminas (Becker et al., 1981; Sánchez-Marroquín, 1983; NRC, 1984; Teutonico y Knorr, 1985).

El almidón, el carbohidrato más abundante en la semilla de amaranto, está constituido principalmente por amilopectina, con sólo un 5 o 7% de amilosa.

Los ácidos grasos encontrados en los extractos del amaranto son: oleico (C 18:1), linoleico (C 18:2) y palmítico (C 16:0) en un 76%; 20% de ácido esteárico (C 18:0) con trazas de linoléico (C 18:3) y 4% de escualeno; contiene además trazas de esteroides y ésteres de esterol (Becker et al., 1981; Anónimo, 1983; Bressani, 1983; NRC, 1984).

El contenido de minerales del amaranto generalmente es más alto que el de los cereales de consumo tradicional, con predominio de fósforo, magnesio, potasio, calcio y hierro, precisamente en ese orden. Estudios de molienda han demostrado que las cenizas están concentradas en un 66% en el reventimiento de la semilla y en la fracción del germen. La envoltura es rica en calcio, sodio y manganeso, en tanto que el hierro y cobre están concentrados en el germen (Saunders y Becker, 1984).

La semilla de amaranto es rica en vitamina C, niacina y vitaminas B₁ y B₂ además de β -caroteno (Toufexis y Knorr, 1985). Las hojas son una buena fuente de carotenos, hierro, calcio, ácido ascórbico y proteína (Saunders y Becker, 1984).

El amaranto contiene algunos factores inhibidores de tripsina, polifenoles y saponinas (actividad hemolítica) y aunque su concentración es relativamente baja y similar a las presentes en otras leguminosas, si no se eliminan antes del consumo, el valor nutritivo disminuye considerablemente (Córrea y Jokl, 1984; Calderón de la Barca et al., 1985). Afortunadamente estos factores son termolábiles y el procesamiento de cocción parece ser el adecuado para su eliminación (Becker et al., 1981; Bressani, 1983).

Calidad de la Proteína de Amaranto.

Su proteína contiene un alto nivel de lisina, lo que la hace diferente a la de los cereales comunes, debido a que ninguno de éstos contienen una cantidad adecuada de este aminoácido para cubrir las necesidades humanas (Marx, 1977).

Los cortes anatómicos y las técnicas de molienda demostraron que la proteína de la semilla de amaranto (*A. cruentus*) está principalmente distribuida en el qérmén y la envoltura de la semilla (65%) y en el perispermo amiláceo (35%). Además, la proteína de la semilla contiene niveles más altos de aminoácidos azufrados que los granos convencionales, por lo tanto el amaranto es un primer candidato en los países menos desarrollados donde la deficiencia de proteína es un problema nutricional (Marx, 1977; Irvin et al., 1981; Saunders y Becker, 1984; Sánchez-Marroquín, 1985 A).

La semilla de amaranto contiene en promedio, un nivel de proteína más alto que la mayoría de los granos de uso convencional. En la tabla 1.1 se puede observar que únicamente la avena posee un contenido mayor de proteína que el amaranto, no obstante, la calidad proteica de este último es superior. El contenido en triptofano del amaranto es superior al de la soya y la harina de trigo; es semejante al de la leche y llega a ser el doble del maíz (ver tabla 1.2).

El balance de aminoácidos de la proteína del amaranto es cercano al balance óptimo requerido por el hombre, por lo tanto, su adición a los alimentos, puede suplementar a los cereales convencionales que son deficientes en triptofano, y aunque se ha sugerido que la proteína del amaranto contiene una baja concentración de leucina, este aminoácido se encuentra en exceso en los demás cereales (Becker et al., 1981; Betschart et al., 1981; Sánchez-Marroquín, 1983; NRC, 1984; Saunders y Becker, 1984; Teutonico y Knorr, 1985).

Sin embargo, de las investigaciones realizadas por otros autores, se puede deducir que no es leucina el aminoácido limitante. Una controversia similar se presenta en la literatura considerando al triptofano como el aminoácido limitante en la proteína del amaranto (Martine de Lospinasse, 1979; Tovar y Carpenter, 1982; Brennan, 1983; Soriano, 1987).

Existen algunos índices para determinar la calidad de las proteínas como son el PER, que mide la facilidad con que una proteína es digerida y utilizada, y por otra parte el factor de conversión que relaciona la cantidad de nitrógeno total que contienen las proteínas. Para el amaranto cocido el PER es de 2.5, similar al de la caseína, con una digestibilidad del 90% y un valor biológico (VB) de 75 que es cercano al balance ideal de aminoácidos esenciales que teóricamente es de 100.0 (NRC, 1984; Soriano, 1987).

Para el *Amaranthus caudatus* el factor de conversión de nitrógeno a proteína es 5.85; en otras especies de amaranto estos factores de conversión oscilan entre 5.2 y 5.6. Sin embargo, el factor 5.85 es adecuado para cualquier especie de amaranto (NRC, 1984; Saunders y Becker, 1984).

Tabla 1.1 Contenido de proteína de diversos cereales¹

Cereal	% de proteína ²
Avena	16.2
Amaranto	14.5
Trigo	12.3
Centeno	12.1
Cebada	11.6
Sorgo	11.0
Mijo	9.9
Maíz	8.9
Arroz	7.5

¹ Saunders y Becker, 1984.

² Se presentan valores promedio de cada cereal.

Tabla 1.2 Contenido de triptofano y cuenta química en proteínas de diversos alimentos¹

Alimento	q trp/100 q prot.	cuenta química ⁶	aminoácido limitante
Amaranto ²	1.10 - 1.55	75 - 87	*
Maiz ³	0.7	49	Lis
Arepas ³	0.5	--	Lis
Tortilla ⁴	0.5 - 0.69	--	Lis
Huevo ⁵	1.7	100	Trp
Leche ⁵	1.4	95	Cis
Carne de res ⁵	1.2	93	--
Harina de trigo ⁵	1.1	57	Lis
Soya ⁵	1.1	74	Met
FAO (1973)	1	100	

¹Keith, 1979; Fox y Cameron, 1982.

²Tovar, 1981; Sánchez-Marroquín et al., 1985 C.

³Sánchez-Marroquín y Maya, 1985 B (mezcla harina de maíz-harina de amaranto).

⁴Tovar, 1981.

⁵Fox y Cameron, 1982.

⁶cuenta química = $\frac{\text{q de aa esenciales en 100 g de muestra}}{\text{q de aa esenciales en 100 g del patrón}} \times 100$

*Hay controversia en la literatura respecto a cual es el aminoácido limitante de la semilla de las diversas variedades de amaranto.

CAPITULO II.

ANTECEDENTES.

DIGESTION DE PROTEINAS.

Las moléculas proteicas presentes en los alimentos son muy grandes para su conveniente absorción a través de la membrana intestinal, para esto, debe ocurrir un largo proceso digestivo para romperlas en sus componentes, los cuales pueden ser absorbidos fácilmente (Sklan, 1980; Fox y Cameron, 1982; Stare y Mc Williams, 1984; Austic, 1985 y Eggum et al., 1985).

La digestión de los alimentos es un proceso que incluye acciones físicas y químicas; las físicas incluyen la ruptura de las partículas de alimento, mientras que el proceso químico incluye la hidrólisis de las moléculas. Las proteínas contenidas en los alimentos deben ser parcialmente hidrolizadas dentro del tracto gastrointestinal por la acción de las endopeptidasas (pepsina, tripsina, quimotripsina, elastasa y enteroquinasa) y las exopeptidasas (carboxipeptidasa A y B).

La digestión de las proteínas comienza en el estómago, cuando el precursor inactivo pepsinógeno se transforma en la enzima activa pepsina. Alrededor de 20 min después de ingerir el alimento, movimientos musculares vigorosos comienzan en la región más baja del estómago, la contracción muscular ocasiona que el alimento se mueva a través del estómago y se mezcle con el jugo gástrico, de esta manera, la acidez del quimo aumenta y la pepsina es capaz de catalizar la conversión de la proteína en polipéptidos.

Cuando el quimo entra en contacto con el medio alcalino del intestino delgado, la acción de la pepsina concluye y los polipéptidos son removidos hacia el intestino delgado.

Las enzimas proteolíticas que se encuentran disponibles en el intestino delgado provienen de los jugos pancreático e intestinal, los cuales muestran un pH alcalino para neutralizar la acidez del quimo y de esta manera las enzimas puedan ejercer su acción catalítica. Una de las principales enzimas procedentes del jugo pancreático es la tripsina que rompe polipéptidos en donde se encuentran los aminoácidos lisina o arginina, el producto de esta digestión son dipéptidos y polipéptidos de cadena corta.

Otra proteasa proveniente del jugo pancreático es la quimotripsina, la cual rompe las cadenas peptídicas en donde el grupo ácido corresponde a la metionina, el triptofano, la tirosina y la fenilalanina.

Los jugos intestinal y pancreático contienen otras proteasas para continuar el proceso digestivo, estas son carboxipeptidasas, aminopeptidasas y dipeptidasas.

Las carboxipeptidasas actúan en el extremo ácido de las cadenas polipeptídicas, mientras que las aminopeptidasas inician su acción en el extremo amino de las cadenas. De esta hidrólisis se producen los dipéptidos que son desdoblados por la acción de dipeptidasas.

Absorción de Aminoácidos.

El proceso digestivo está casi concluido después de que las proteínas han permanecido en el intestino delgado por algún tiempo; antes de que los aminoácidos puedan ser utilizados por el cuerpo deben pasar a través de las paredes del tubo digestivo hacia el torrente sanguíneo mediante el proceso de absorción (Fox y Cameron, 1982).

La absorción de algunos aminoácidos resultantes de la acción de la pepsina ocurre en el estómago. Sin embargo, la mayoría de los aminoácidos y pequeños péptidos (de 2 o 4 residuos de aminoácidos) se absorben en los enterocitos mediante los procesos de transporte activo y pasivo. Generalmente los aminoácidos son absorbidos más rápidamente como dipéptidos o tripéptidos, que como aminoácidos libres (Skian, 1980; Stare y Mc Williams, 1984; Austic, 1985).

Los péptidos pequeños pueden ser hidrolizados por peptidasas intracelulares y los aminoácidos resultantes pasan a través de la membrana basolateral hacia el torrente sanguíneo mediante un transportador o acarreador. De acuerdo a Stare y Mc Williams (1984), los aminoácidos absorbidos son transportados hacia el hígado donde forman parte del almacén de aminoácidos hasta que se requiere transportarlos a otras partes del organismo.

Efecto de la dieta en la digestión de proteínas.

Las proteasas pancreáticas se ven afectadas por la composición de la dieta; al incrementar la concentración de proteína, se incrementan las actividades de tripsina y quimotripsina en el jugo pancreático; con las dietas libres de proteína la actividad de estas enzimas es baja.

El transporte de los aminoácidos también puede estar influenciado por la concentración de los nutrientes ingeridos, ya que altos niveles de proteína en la dieta tienden a incrementar la velocidad de absorción de los aminoácidos en el intestino de la ratas; sin embargo, no todos los aminoácidos son afectados de la misma manera. Algunos aspectos de la digestión de proteínas, como la secreción de enzimas proteolíticas, la hidrólisis de péptidos, el transporte de los aminoácidos y la actividad de las peptidasas intracelulares están influenciados por el alimento y por la composición de la dieta (Austin, 1985).

Ya que los aminoácidos participan en una gran variedad de vías metabólicas alternas, se puede suponer que un exceso en la ingesta de los aminoácidos que no fuera utilizado para la síntesis de proteínas no ejerce ningún efecto negativo en el metabolismo celular. Sin embargo, actualmente se estudia la importancia del balance total de los aminoácidos al determinar la calidad de una proteína y que los llamados "alimentos ideales" no contengan simplemente cantidades adecuadas de cada aminoácido, sino que debe preocupar también el evitar en lo posible, un exceso de ellos (Kjellum et al., 1985).

En un estudio con ratas realizado por Kjellum et al. (1985), utilizaron proteína de huevo como dieta basal. Los resultados indicaron que un exceso de aminoácidos esenciales provocó un antagonismo y observaron que leucina, isoleucina y valina tuvieron un efecto significativo sobre el valor biológico. El antagonismo entre estos aminoácidos ya lo había discutido Warner (1964). Él mostró que en una dieta basal, adecuada en aminoácidos, un exceso de isoleucina y valina causaban una depresión en el crecimiento de ratas el cual se prevenía por adición de leucina aún cuando leucina no fuera el aminoácido limitante; además encontraron que un exceso de lisina, arginina e histidina, los aminoácidos básicos, provocaban un efecto negativo en la utilización de la proteína.

Se ha encontrado que el exceso de un aminoácido en la dieta puede ocasionar un efecto negativo en la utilización de proteínas, así se ha demostrado que el uso de una proteína de alta calidad como la del huevo se ve menos afectada que una proteína de menor calidad por la administración simultánea de un aminoácido en exceso. Esto probablemente debido a que la proteína del huevo contiene aparentemente, según Bender (1961), un exceso de aminoácidos esenciales, una fracción de los cuales se convierten en aminoácidos no esenciales sin pérdida de valor biológico (Kjellum et al., 1985).

De acuerdo a Harper (1977), como los aminoácidos no pueden ser almacenados por el cuerpo, cualquier cantidad mayor a la necesaria para la síntesis de proteínas, debe oxidarse como fuente de energía. Krebs reportó que el hígado oxida a los aminoácidos cuando estos se encuentran en un exceso a la concentración mínima para cubrir las necesidades en la síntesis de proteínas.

La capacidad de los sistemas para utilizar a los aminoácidos está influenciada por el estado nutricional y endócrino del organismo. Las actividades enzimáticas de los sistemas que catabolizan a los aminoácidos tienden a disminuir si la ingestión de proteína es crónicamente baja o inadecuada y a aumentar si la ingestión de proteína es crónicamente alta.

MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA EVALUACION DE LA CONCENTRACION DEL TRIPTOFANO.

Según es de conocimiento general, en el humano, los aminoácidos leucina, treonina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, valina y triptofano son los ocho aminoácidos esenciales necesarios para las personas adultas, y en el caso de niños, se consideran además la histidina y la arginina. Estos deben suministrarse en la dieta de consumo habitual (Carlsson y Senft, 1985). El triptofano además de ser esencial para el hombre lo es para muchos organismos vivos (Acheson, 1981).

Se han empleado muchos métodos analíticos para determinar la concentración de triptofano, específicamente en la presencia de otros aminoácidos y constituyentes de productos biológicos. En tales métodos se han usado hidrólisis ácida, alcalina o enzimática seguida por ensayos espectrofotométricos, espectrofluorométricos o biológicos y combinaciones de estos (Friedman y Finley, 1971).

Se han realizado estudios tanto *in vivo* como *in vitro* para evaluar la digestibilidad de triptofano.

En algunos estudios *in vitro* en donde se han combinado la hidrólisis enzimática y la hidrólisis alcalina de las proteínas, se ha encontrado que en esta última los valores de triptofano son menores y que además sufre racemización. Estos métodos también han sido utilizados para la determinación de la utilización del triptofano contenido en alimentos con alto contenido de proteína. Becker et al. (1981) determinaron el contenido de aminoácidos en semillas de *A. cruentus* con el objeto de calcular la cuenta química y el factor de conversión de nitrógeno a proteína; encontraron que el aminoácido esencial limitante era leucina, para tal efecto sometieron algunas muestras a hidrólisis ácida para posteriormente realizar cromatografía

de intercambio iónico. Para evaluar el triptofano realizaron una hidrólisis básica de acuerdo al método de Knox et al. (1970).

Posteriormente, Tovar y Carpenter (1982) determinaron el contenido de triptofano en tortillas y en amaranto crudo y reventado. En primer lugar lo determinaron por hidrólisis básica de las muestras para posteriormente analizarlas por cromatografía de intercambio iónico; finalmente el contenido de triptofano en tortillas, amaranto crudo y procesado lo determinaron por el método de Miller (1967), un objetivo de su estudio fue analizar el valor nutritivo de la proteína de amaranto elaborando dietas para ratas en las cuales el maíz fuera suplementado con amaranto crudo y procesado; encontrando que el amaranto tiene un contenido de triptofano de 1.55 g/100 g proteína, que en mayor a la cantidad que contiene el maíz, y por tanto es una fuente adecuada de suplementación para dicho cereal.

Debido a la importancia que representa este aminoácido en el organismo, el interés en el mismo se ha ido incrementando y recientemente Sánchez-Marroquín et al. (1985 C) realizaron un estudio con A. hypochondriacus y A. cruentus en el que también se ocuparon de la evaluación de triptofano en semilla cruda y procesada, no encontrando diferencia significativa en el contenido de este aminoácido (1.12 g/100 g proteína) en la semilla cruda y sometida a los diferentes tratamientos térmicos.

Cada uno de estos métodos (in vivo o in vitro) aunque aparentemente dan resultados diferentes, tienen ciertas ventajas y desventajas. Los estudios in vitro son muy útiles para detectar cualquier diferencia que ocurre en la liberación de aminoácidos durante el tiempo de hidrólisis in vivo y puede relacionarse con el crecimiento de los animales, además son menos caros y se emplea menos tiempo en su realización que los ensayos con animales. Sin embargo, los estudios in vivo proporcionan valores absolutos más correctos que los estudios in vitro (Tovar, 1981); además al realizar un ensayo con animales se puede observar directamente su desarrollo y algún cambio físico o fisiológico que ocurra, entre otras cosas.

La disponibilidad de triptofano es de importancia práctica en dietas en las cuales es un aminoácido limitante; sin embargo ha recibido mucho menos atención que lisina y metionina (Tovar, 1981).

La cuantificación exacta del triptofano contenido en proteínas proporciona dificultades ya conocidas desde hace mucho tiempo. Uno de los principales problemas se encuentra en la preparación de las muestras (hidrólisis de proteínas) para su determinación. Más difícil aún es evaluar su

aprovechamiento en organismos vivos, es decir, determinar su disponibilidad (Soriano y Gutiérrez, 1984).

La mayoría de los métodos enfocados a la determinación de triptófano se basaron en la reactividad del anillo indólico para producir derivados coloridos con cloruro férrico, nitrato caprico, bromo, nitrato de sodio o hipoclorito de sodio, usualmente en solución ácida. Posteriormente los métodos incluían reacción con nitrato de potasio y un aldehído alifático o aromático en HCl concentrado o H_2SO_4 . Uno de los procedimientos más ampliamente utilizados ha sido tratar el triptófano con p-dimetilaminobenzaldehído (p-DMAB) en H_2SO_4 , y entonces oxidar el producto con $NaNO_2$ (Friedman y Finley, 1971).

El triptófano no destruye durante la hidrólisis ácida de proteínas (HCl 6 N, 22 horas, 110°C), particularmente en presencia de carbohidratos (Miller, 1967; Simpson et al., 1976), proporcionando amoníaco como el único producto identificado (Friedman y Finley, 1971). Se ha reportado una fuerte afinidad de α -cetoácidos por el triptófano; la serina es desaminada en medio ácido para producir ácido pirúvico, por lo que no es sorprendente encontrar una disminución en la recuperación del triptófano, en hidrólisis ácida de proteínas, con altos niveles de serina (Soriano y Gutiérrez, 1984).

Se ha confirmado la estabilidad del triptófano en condiciones ácidas cuando no está presente cistina y en ausencia de oxígeno. Cuando triptófano y cistina están presentes en condiciones de hidrólisis ácida, en ausencia de carbohidratos y metales se lleva a cabo una reacción de óxido-reducción. La destrucción del triptófano fue descrita por su interacción con cistina durante hidrólisis ácida de proteínas, en la cual el ion "sulfonio" ($^+SCH_2CH(NH_2)COOH$) proveniente de cistina es el principal responsable de la pérdida de triptófano (Soriano y Gutiérrez, 1984).

Otros aminoácidos que interfieren con triptófano bajo condiciones ácidas severas son hidroxiprolina y tirosina (Tovar, 1981).

Debido a lo anterior se seleccionaron métodos alternos, como hidrólisis alcalina; muchos autores a través del tiempo han considerado al triptófano más estable en condiciones alcalinas que en condiciones ácidas, además, en general las proteínas hidrolizadas bajo condiciones alcalinas proporcionan una recuperación alta con respecto a su contenido real (Friedman y Finley, 1971; Soriano y Gutiérrez, 1984).

Para producir reacciones coloridas se han empleado diversos métodos, uno de ellos es utilizar ácido glioxílico, pero, ya que esta reacción incluye el grupo amino del triptófano, probablemente no ocurre en una proteína a menos que el triptófano sea N-terminal; también se ha utilizado el reactivo de Ehrlich (10% H_2SO_4 y 5% p-DMAB); posteriormente Friedman y Finley (1971) encontraron que otros aldehídos aromáticos como vainillina y p-nitrobenzaldehído podían sustituir al reactivo de Ehrlich; desde entonces la mayoría de procedimientos para triptófano se han basado principalmente en reacción con aldehídos.

Se ha comprobado que de los agentes alcalinos, el $Ba(OH)_2$ es uno de los más adecuados (Spies y Chambers, 1949); ya que en general produce mayor velocidad de hidrólisis, no causa destrucción de triptófano y es de fácil neutralización y finalmente los iones bario pueden eliminarse de la solución en que se medirá triptófano (Miller, 1967). En el desarrollo del presente trabajo se empleó el método de Miller.

La hidrólisis de proteínas por métodos enzimáticos es otro camino que se puede seguir para la determinación de aminoácidos, evitando así la destrucción y modificación del triptófano y otros aminoácidos (Friedman y Finley, 1971; Soriano y Gutiérrez, 1984).

El hecho de que la hidrólisis ácida lo destruye, la hidrólisis alcalina lo racemiza y la hidrólisis enzimática es lenta y a veces incompleta, hace de este aminoácido esencial un fascinante objeto de estudio (Tovar, 1981).

MÉTODO DE MILLER.

Se sabe que la hidrólisis alcalina promueve la racemización del triptófano, sin embargo una racemización incompleta no es de consecuencia cuando se utiliza un procedimiento químico para analizar un hidrolizado alcalino (Miller, 1967).

En este método se efectúa una hidrólisis con $Ba(OH)_2$, precipitación de los iones bario como sulfato de bario de una solución ácida y análisis colorimétrico utilizando p-DMAB, lo cual supera varias limitaciones observadas en métodos anteriores.

Ventajas del Método.

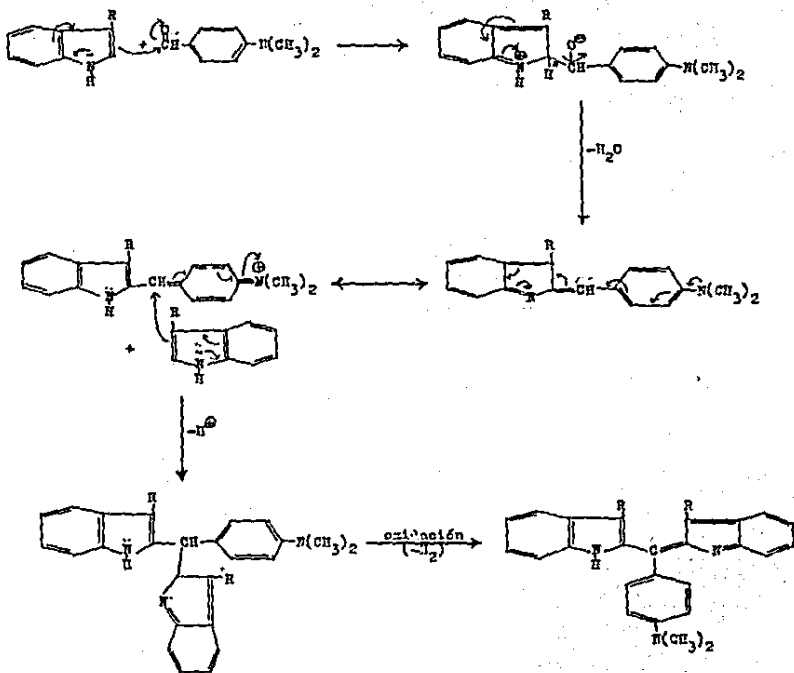
Una de sus ventajas es que se puede utilizar para cuantificar triptófano en cereales y otros alimentos (concentrados de proteína vegetales y animales, entre otros), no provoca la pérdida de triptófano.

Además es el más adecuado para análisis de triptófano en alimentos con alto contenido de carbohidratos debido a que en las reacciones efectuadas durante el transcurso de la determinación se evita la interferencia de los carbohidratos con el triptófano.

El color azul de la reacción de p-DMAB con triptófano puede desarrollarse adecuadamente de hidrolizados neutralizados con HCl; además es de los pigmentos más estables y parece ser el más adecuado para los ensayos colorimétricos (Miller, 1967). Dos moléculas de triptófano se condensan con una de p-DMAB para dar el cromóforo que absorbe a 590 nm (Friedman y Finley, 1971). En la figura 2.1 se presenta el mecanismo para la formación del cromóforo azul.

Los resultados obtenidos por otros métodos, por ejemplo, análisis microbiológicos son similares a los obtenidos en este método. sin embargo, la recuperación de triptófano es mayor con este método, siendo casi 80% en cereales, 90% en concentrados de proteína vegetal y animal y 95% en proteínas purificadas de origen animal.

Figura 2.1 Mecanismo para la formación del cromóforo compuesto por triptofano y p-dimetilaminobenzaldehído.



R = H (trp)
 R = $CH_2CH(NH_2)COOH$ (trp)

Desventajas del Método.

Una de las principales desventajas es la utilización del estándar interno, ya que se agrega triptofano como aminoácido libre el cual es diferente a los residuos triptofanil presentes en proteínas.

Al aumentar el tiempo de hidrólisis se incrementa la destrucción de triptofano añadido (libre) y de triptofano unido a la proteína; sin embargo, en este caso se justifica utilizar factores de recuperación para estas pérdidas.

Otra limitación del método radica en la determinación colorimétrica, debido a que una alteración en el tiempo al agregar el p-DMAB provoca una alteración en la densidad óptica, por lo tanto también una alteración en la concentración de triptofano (Miller, 1967).

Otro factor importante es utilizar la concentración adecuada de nitrato de sodio, ya que si ésta se incrementa, la densidad óptica disminuye. En la determinación se cuantifican los dos isómeros (Miller, 1967).

CAPITULO III.

MATERIALES Y METODOS.

CARACTERISTICAS DE LAS SEMILLAS Y PREPARACION DE LAS MISMAS.

Características Físicas de la Semilla del Amaranto.

Se pudieron observar las siguientes características en las semillas: presentaban un color amarillo claro, de forma lenticular, tenían aproximadamente 1 mm de diámetro y una gran uniformidad en cuanto al tamaño. Estas semillas fueron cultivadas y adquiridas en Tulvehualco, Distrito Federal; la especie de amaranto utilizada en el presente trabajo fue A. hypochondriacum.

Reventado de las Semillas y Evaluación del Proceso.

Para el reventado de las semillas de amaranto por el método de contacto directo, se realizó lo siguiente: 10.0 g de semillas se expusieron sobre una superficie caliente a una temperatura de 175°C durante 1 min con agitación constante; entre muestra y muestra hubo remoción total de los granos para evitar que se carbonizaran. Los granos así reventados adquieren un mayor volumen, característica que permite separarlas de aquellas no reventadas, pues el resto se tuesta durante el tratamiento. En el caso del reventado por lecho fluidizado, la semilla se hizo pasar por una corriente de aire caliente con el objeto de que disminuyera el porcentaje de semilla tostada.

En el caso del reventado del maíz palomero se agregaron 100 ml de aceite de maíz por cada 200.0 g de semilla de maíz, esto se realizó en un recipiente tapado a fuego mediano y con agitación constante para evitar la carbonización de las semillas no reventadas. Para mayor detalle de estos procesos, véase Soriano (1987).

MÉTODOS QUÍMICOS.

Análisis Químico Proximal.

El análisis químico se efectuó de acuerdo a los métodos oficiales del AOAC (1989) que incluyen:

- determinación de humedad por el método de la estufa (método No. 14.004).

- determinación de cenizas por incineración (método No. 14.006).

- determinación de proteína cruda por Macrokjeldahl (método No. 2.057). Este método se utilizó tanto para la determinación de nitrógeno en las muestras, como para la determinación de nitrógeno en las heces para la prueba de digestibilidad que se describirá más adelante. Se utilizó el factor 5.85 para conversión a proteína (NRC,1984).

- determinación de fibra cruda por hidrólisis ácida y alcalina (método No. 7.070).

- determinación de extracto etéreo por el método de percolación.

- determinación de carbohidratos (por diferencia).

Antes de efectuar estos análisis todos los materiales se sometieron a molienda usando un molino (Chuo Boeki Goshi Kaisha Central Commercial Co. Ibaraki, Osaka, Japan) a un tamaño de malla de 0.5 mm. Dichos materiales fueron los siguientes:

Caseína (Droquería Cosmopolita, S.A. México, D.F.), amaranto crudo, amaranto cocido a temperatura de ebullición del agua durante 30 min, amaranto reventado y tostado por el método de contacto directo, amaranto reventado por el sistema de lecho fluidizado, harina de nixtamal (Minda), mezcla harina de nixtamal-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50), palomitas de maíz (Verde Valle, S.A. México, D.F., el maíz fue reventado y molido en el laboratorio del Depto. de Alimentos de la Facultad de Química, UNAM), mezcla harina de palomitas de maíz-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50).

Cocimiento del Amaranto.

Con el objeto de eliminar factores antifisiológicos termolábiles, una porción del amaranto que se utilizó para elaborar la dieta control, fue sometido a un proceso de coccción en agua a ebullición (1 parte de amaranto por 7 de agua) durante 30 min a presión atmosférica (580 mm Hg). Posteriormente se deshidrató sobre charolas en una estufa con vacío a 60°C, para después molerse a un tamaño de malla de 0.5 mm (Bressani, 1983).

Determinación de Triptotano (Método de Miller, 1967).

El primer paso para la determinación de este aminoácido, es someter la muestra a hidrólisis; para lo cual se utilizó un tratamiento alcalino empleando para ello $\text{Ba}(\text{OH})_2$ y un estándar interno como se describe a continuación. El propósito del estándar interno es para cuantificar el daño provocado al triptotano durante la hidrólisis. Se asume que en el mismo daño que sufre el triptotano contenido en la proteína en cuestión, que se tomó en cuenta para la cuantificación del aminoácido en cada material.

En la tabla 3.1 se indica la manera como se realizó el análisis del hidrolizado. Se debe hacer notar que es esencial para la determinación y para un número de análisis hechos al mismo tiempo de adición de los reactivos en intervalos iguales de tiempo:

1) Se comparó contra un blanco preparado con una alícuota de 2 ml de agua deionizada y la misma secuencia de reactivos.

2) Se construyó una curva estándar para la determinación de absorbancia producida por el cromóforo azul producido por 2 ml de alícuota de soluciones conteniendo de 0.5 a 3.0 mg de Trp/100 ml siguiendo el mismo procedimiento.

3) El contenido aparente del triptotano de los materiales de prueba se corrigió por el porcentaje de recuperación del triptotano añadido al estándar interno.

Este análisis se utilizó tanto para los materiales de prueba como para la determinación de triptotano en heces (prueba de digestibilidad aparente que se explicará a continuación).

METODO DE MILLER.

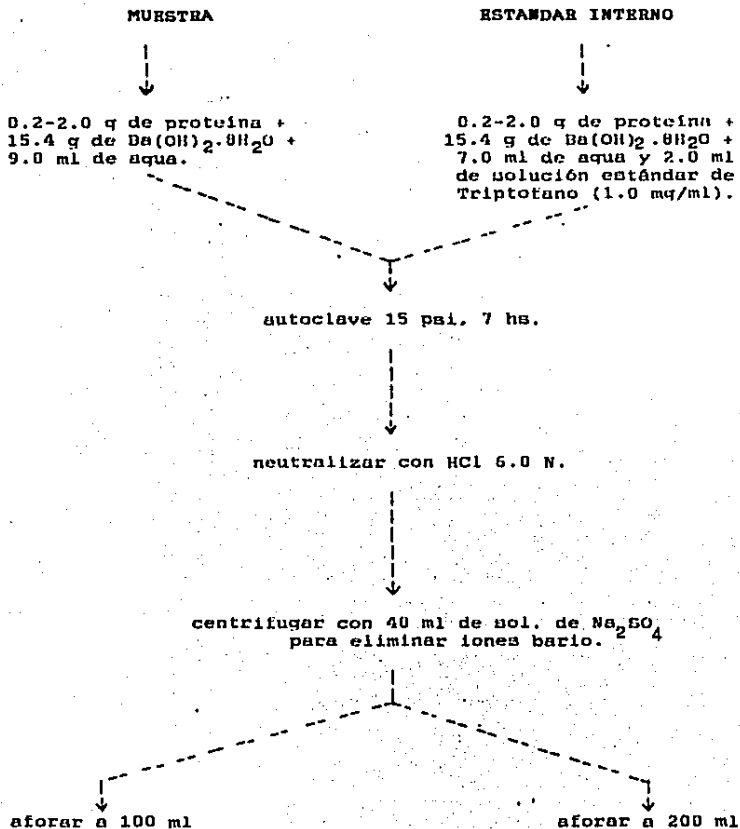


Tabla 3.1 Diagrama de tiempos de adición de los reactivos para la determinación del triptofano

MUESTRA	A	A'	A''	B	B'	B''	C	C'	C''
Alicuota del hidrolizado(ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Adición de 5.0 ml de pDMAB al tiempo	0	1	3	5	7	9	11	13	15
Adición de 0.2 ml de NANO al tiempo	20	21	23	25	27	29	31	33	35
Filtrar al tiempo	24	25	27	29	31	33	35	37	39
Leer Abs. 590 nm al tiempo	40	41	43	45	47	49	51	53	55

Cada literal denota una muestra diferente.
 Literales con ' o '' son muestra problema.
 Literal sola es estándar interno.
 pDMAB 0.5% en HCl concentrado.
 NANO 0.2% en agua.

**Pruebas para determinar la Digestibilidad "in vivo"
de los alimentos (Análisis del Oxido Crómico).**

El análisis del óxido crómico (Varnish y Carpenter, 1975) de las heces deshidratadas recolectadas en el experimento biológico descrito adelante, se efectuó de la siguiente manera:

1) Se pesaron 200 mg de las heces, sobre papel filtro con un mínimo de cenizas al incinerarse y se introdujo en un matraz Kjeldahl de 30 ml.

2) Se adicionaron 3 perlas de vidrio y 2 ml de HNO₃ concentrado (para las dietas se usaron 3 ml de HNO₃ concentrado).

3) Se calentó el matraz a temperatura baja hasta que carbonizó totalmente la muestra.

4) Entonces se incrementó el calor hasta la deshidratación total de la muestra y se dejó enfriar.

5) Posteriormente se añadieron 3 ml de la mezcla digestora (Varnish y Carpenter, 1975) calentando hasta la aparición de un color amarillo. A partir de ese momento se dejó ebullición durante 20 min.

6) Una vez frío, se transfirió a un matraz volumétrico de 25 ml y se llevó a volumen con H₂SO₄ 1.1 M.

7) Una vez que sedimentó el material en suspensión, se determinó la D.O. a 440 nm contra agua.

8) Al mismo tiempo se efectuó un estándar que contenía 15 mg de Cr₂O₃ digeridos con la mezcla digestora y diluidos a 100 ml con H₂SO₄ 1.1 M.

El porcentaje de Cr₂O₃ se calculó así:

$$\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 = \frac{\text{D.O. del std}}{\text{D.O. de muestra}} \times \frac{15 \text{ mg Cr}_2\text{O}_3}{100 \text{ ml}} \times \frac{25 \text{ ml}}{\text{mg muestra}} \times 100$$

9) Para calcular la digestibilidad aparente de nitrógeno se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidad ap. de nitrógeno} = 100 - (100 \times \frac{\text{N heces}}{\text{Cr heces}} \times \frac{\text{Cr dieta}}{\text{N dieta}})$$

10) Para calcular la digestibilidad aparente de triptofano se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidad ap. de triptofano} = 100 - (100 \times \frac{\text{trp heces}}{\text{Cr heces}} \times \frac{\text{Cr dieta}}{\text{trp dieta}})$$

Análisis del Contenido de Aminoácidos.

Se utilizó un analizador de aminoácidos Durrum, modelo D-500 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA). Este análisis se realizó únicamente en el amaranto crudo y amaranto reventado-tostado por contacto directo, pues cuando se realizó el análisis aún no se contaba con el resto de los materiales (Soriano, 1987). Para la harina de nixtamal se empleó el aminograma presentado por Bressani y Scrimshaw (1958) y en el caso de palomitas de maíz se supuso una composición de aminoácidos semejante al del nixtamal pues no se encontró información en la literatura.

PREPARACION DE DIETAS.

Las dietas se prepararon 5 días antes de iniciar el experimento con los animales de laboratorio y se mantuvieron en refrigeración (5°C) hasta su uso.

En la tabla 3.2 se muestra la composición general de las dietas, basadas en la dieta para ratas y ratones AIN-76 (AIN, 1977). Las cantidades fueron modificadas para que las fuentes proteicas utilizadas fueran amaranto sometido a diferentes procesos termicos o una mezcla de maíz nixtamalizado-amaranto. Se puede notar que la única diferencia entre las dietas se encuentra en el contenido de grasas, que fué aportada por los materiales de prueba, ya que se utilizó una mezcla del 50:50t de ambos cereales.

Las tablas 3.3, 3.4 y 3.5 muestran la composición de las mezclas de vitaminas y minerales (ICN Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio, USA), usadas en la preparación de cada dieta. Además se encuentran registrados los requerimientos para ratas de estos nutrientes, así como la contribución de minerales del amaranto a la dieta.

En la tabla 3.5 se puede apreciar que en base a la composición de minerales de la semilla de amaranto reportados en la literatura, probablemente se tengan deficiencias en los requerimientos para la rata en cuanto a calcio, fósforo y yodo, así como un exceso en magnesio, hierro y zinc. De esto se puede sugerir que cuando se utilizan alimentos naturales para la elaboración de dietas es muy difícil ajustar todas las necesidades nutricionales de la especie en estudio, debido a que la composición del alimento es muy variable.

En el caso de la suplementación amaranto-harina de nixtamal, a pesar de que contribuye con 70 mg de calcio adicionales por cada 100 g de dieta, aún así no se alcanzó a cubrir los requerimientos de la rata, que son de 500 mg/100 g de dieta; mientras que quizá pudo haber exceso en otros minerales por la contribución adicional del maíz. Para el caso del maíz palomero, se estimó que la composición de minerales y su contribución a la mezcla con el amaranto fué la misma que en el caso del maíz nixtamalizado, ya que no se encontró en la literatura la composición de los nutrientes de este alimento.

En la tabla 3.6 se puede observar la composición de cada una de las dietas experimentales. A las dietas D1 y D2 además se les adicionó: L-treonina 0.06 g/100 g; L-metionina 0.240 g/100 g; L-valina 0.050 g/100 g y L-isoleucina 0.03 g/100 g, estos aminoácidos se adicionaron para satisfacer los requerimientos de aminoácidos para la rata reportados por la NAS (1978) tomando en consideración la cantidad de cada aminoácido aportada por el amaranto. Una parte de cada dieta fue macedada con óxido crómico (Varnish y Carpenter, 1975; Tovar, 1981) en la forma de "pan de cromo" a un nivel de 1.0% de este último en las dietas, con el fin de recolectar heces para evaluar su digestibilidad aparente. Cada dieta se elaboró individualmente, ya que todas ellas variaban en la adición de uno o más componentes. Las semillas de amaranto tratadas técnicamente fueron molidas y se homogeneizaron con los demás ingredientes manualmente. Se procuró utilizar el mismo tiempo y orden de homogeneizado para la preparación de cada una de las dietas. Al final de la homogeneización se adicionaron los minerales y vitaminas. Finalmente, en la tabla 3.7 se presenta la descripción de las dietas experimentales.

Todas las dietas fueron isoprotéicas e isocalóricas, a excepción de la dieta elaborada con harina de palomitas de maíz-amaranto reventado por leche fluidizado (H) siendo sólo isoprotéica, debido a que su contenido de grasa es mayor que en las otras dietas (ver tabla 3.6).

Tabla 3.2 Composición de la dieta base¹

INGREDIENTES	g/100 g dieta	
Proteína		10.00
Grasa	5.35 ²	5.00 17.00 ³
Fibra ⁴		5.00
Mezcla de vitaminas ⁵		1.00
Minerales ⁶		3.50
Sacarosa ⁷		7.40
Cloruro de colina ⁸		0.11

¹Basado en la dieta AIN-76 para ratas (1977). A cada una de las dietas se adicionó almidón de maíz "Maizena" para completar el 100%. Los números centrales representan cantidades comunes a todas las dietas.

²Nivel de grasa para la dieta harina de maíz nixtamalizado-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50).

³Nivel de grasa para harina de palomitas de maíz-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50).

⁴Proporcionado por amaranto y celulosa (Fibra no nutritiva Tekland Dieto, Houston Texas).

⁵AIN-76 Mezcla de vitaminas (NAS,1978).

⁶AIN-76 Mezcla de minerales (NAS,1978).

⁷Azúcar de caña refinada.

⁸Comsolmex, S.A., México, D.F.

Tabla 3.3 Composición y aportación a la dieta de la mezcla de vitaminas AIM-76¹

Ingrediente	Cantidad		
	g/Kg de mezcla vitamínica	q/Kg de mezcla por 1% en dieta de ratas	Requerimientos (mg/kg ó UI/kg de peso)
Tiamina hidrocioruro	0.6	6	1.25
Riboflavina	0.6	6	2.5
Vitamina B ₆	0.7	7	7
Acido nicotínico	3	30	15
Pantotenato de calcio	1.6	16	8
Acido fólico ²	0.2	2	--
Biotina ²	0.02	0.2	--
Cianocobalamina	0.001	0.01	0.005
Vitamina A ³	--	4000.0 UI	2000.0 UI
Vitamina D ₃	0.0025	1000.0 UI	1000.0 UI
Vitamina B ₁₂	--	50.0 UI	50.0 UI
Vitamina K	0.005	0.05	0.05
Sacarosa para hacer	1 kg		

¹ Basado en las recomendaciones para la rata de la National Academy of Sciences (1978).

² Debido a la síntesis por la flora intestinal, no existen requerimientos dietéticos en condiciones normales.

³ 400,000 UI de vitaminas A ó 120,000 equivalentes de retinol.

⁴ 5000 UI de actividad vitamínica E.

Tabla 3.4 Composición de la mezcla de minerales AIM-76¹

INGREDIENTE	G/KG DE MEZCLA
Fosfato de calcio dibásico	500.00
Cloruro de sodio	74.00
Citrato de potasio, monohidratado	220.00
Sulfato de potasio	52.00
Oxido de magnesio	24.00
Carbonato de manganeso	3.50
Citrato férrico	6.00
Carbonato de zinc	1.60
Carbonato cáprico	0.30
Iodato de potasio	0.01
Selenuro de sodio, pentahidratado	0.01
Sulfato de cromo y potasio, dodecahidratado	0.55
Sacarosa, finamente pulverizada	118.03
TOTAL	1000.00

1

Basado en las recomendaciones para la rata de la National Academy of Sciences (1978) para usarne al 3.5% en dieta.

Tabla 3.5 Contribución de elementos de la mezcla de minerales AIN-76 y amaranto a las distintas dietas

Elemento	Cantidad proporcionada por la mezcla AIN-76 a la dieta mg/100 g dieta ¹	Cantidad proporcionada por la semilla de amaranto ² mg/100 g dieta ²	Requerimientos de rata mg/100 g dieta ³	Contribución total a la dieta mg/100 g
Calcio	193.0 - 223.0	88.0 - 106.0	500.0	281.0 - 329.0
Fósforo	149.0 - 171.0	-	400.0	-
Sodio	38.0 - 44.0	4.24 - 6.33	50.0	42.24 - 50.33
Potasio	134.0 - 154.0	-	180.0	-
Magnesio	18.5 - 21.0	185.0 - 230.0	40.0	204.0 - 251.0
Manganeso	1.7 - 2.3	1.2 - 1.8	5.0	2.9 - 4.1
Hierro	1.3 - 1.5	5.8 - 13.7	3.5	7.1 - 15.2
Cobre	0.22 - 0.26	0.4 - 0.5	0.5	0.62 - 0.76
Zinc	1.1 - 1.3	2.3 - 2.5	1.2	3.4 - 3.8
Yodo	0.008 - 0.009	-	0.02	-
Selenio	0.004 - 0.005	-	0.004	-
Cromo	-	-	-	-
Cloruro	58.0 - 67.0	-	50.0	-

¹Se agregó a cada dieta de 1.3 a 1.5 g de mezcla de minerales, dependiendo de la materia prima usada por cada 100 g de dieta.

²El amaranto a la dieta contribuye con 1.9 g de cenizas; en base a la composición de minerales de Teutonico y Knorr (1985).

³Basado en las recomendaciones para la rata de la National Academy of Sciences (1978).

Tabla 3.6

Composición de dietas experimentales¹

INGREDIENTES	A	B	C	D ₁	D ₂	E	F	G ₁	G ₂	H
g componente / 100 g dieta										
Caseína	12.95	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amaranto cocido	-	67.16	-	-	-	-	-	-	-	-
Amaranto tostado ²	-	-	64.19	63.87	63.19	-	-	-	-	-
Amaranto reventado ²	-	-	-	-	-	66.66	-	-	-	-
Amaranto reventado ³	-	-	-	-	-	-	65.87	-	-	-
LF-Harina de nixtamal (50:50)	-	-	-	-	-	-	-	87.03	85.37	-
LF-Harina de palomitas (50:50)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87.87
L-lisina.HCl	-	-	0.123	-	0.082	-	0.24	-	0.18	-
L-leucina	-	-	-	0.06	0.13	-	-	-	-	-
Aceite de maíz	5.00	-	0.40	0.390	0.19	0.12	-	-	-	-
Celulosa	5.00	1.78	2.17	2.13	2.10	2.06	1.72	1.72	0.47	-
Mezcla de minerales	3.50	1.38	1.33	1.30	1.55	1.52	1.39	1.39	1.78	-
Mezcla de vitaminas	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Sacarosa	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40	7.40
Cloruro de colina	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
Almidón	65.04	21.17	23.27	23.74	24.33	20.86	21.68	1.35	2.83	1.37
CALORÍAS	374.76	370.41	375.02	375.77	379.01	376.92	380.98	369.27	369.61	442.40

¹Los números centrales representan cantidades comunes a todas las dietas.

²Tostado y reventado por sistema de contacto directo (CD).

³Reventado por sistema de lecho fluidizado (LF).

Tabla 3.7 Descripción de dietas experimentales

DIETA	DESCRIPCION
A	Control de caseína.
B	Control de amaranto cocido 30 min a ebullición a presión atmosférica.
C	Amaranto tostado por contacto directo adicionado de lisina al nivel que se encontró en el amaranto crudo.
D ₁	Amaranto tostado por contacto directo cubriendo los requerimientos de aminoácidos para la rata excepto lisina.
D ₂	Igual que la dieta D ₁ , solo que adicionado de lisina.
E	Amaranto reventado por contacto directo adicionado de leucina al nivel que requiere la rata.
F	Amaranto reventado por leche fluidizado adicionado de lisina al nivel que se encontró en el amaranto crudo.
G ₁	Harina de nixtamal-amaranto reventado por leche fluidizado (50:50) carente de lisina.
G ₂	Igual que la dieta G ₁ , solo que adicionado de lisina.
H	Harina de palomitas de maíz-amaranto reventado por leche fluidizado (50:50) carente de lisina.

EXPERIMENTO BIOLÓGICO.

Para este fin se utilizaron 48 ratas Wistar machos recién dentados, de 23 días de nacidos, con pesos de 32 a 72 g. Al mismo momento de recibir a los animales se efectuó una estratificación por pesos de los mismos (la suma de pesos de cada grupo no fué significativamente diferente a $p < 0.05$) en un estante de 48 jaulas de aluminio de 21.5 x 17.5 x 14 cm (8 jaulas verticales por 6 horizontales), que se fijó en la pared para evitar movimientos y ruidos bruscos que perturbaran la tranquilidad de los animales experimentales.

Se formaron 8 grupos de 6 animales cada uno que correspondían a 8 dietas experimentales, que fueron distribuidas al azar en el estante evitando que la misma dieta coincidiera con los niveles superior o inferior en el estante del bioterio.

Los animales se alimentaron ad libitum y cada tercer día se les proporcionó alimento fresco. Además, de la misma manera tenían acceso a beber agua, la cual previamente se potabilizó (0.75 ml de hipoclorito de sodio por cada 20 l de agua). Esta agua se cambiaba dos veces por semana.

Los animales se identificaron con una clave que incluía número de rata y la literal que identificaba a cada dieta. No fué necesario regular la temperatura del bioterio ya que se trabajó en primavera (del 17 de abril al 12 de mayo de 1986), registrándose 20°C y 26°C como temperaturas mínima y máxima, respectivamente. Tampoco fué necesario controlar la luz del cuarto, ya que en esta estación el período de luz y oscuridad es casi el mismo; aproximadamente 12 ha. Los pesos de los animales se registraron cada tercer día, antes de que ingirieran alimento fresco. Las dietas de caseína y amaranto cocido fueron los controles del experimento.

Este experimento se realizó por un período de 15 días, que consistió en la administración de las dietas que contenían como fuente proteica el amaranto sometido a diferentes condiciones térmicas, con carencia o adición de los aminoácidos lisina o leucina (ver tabla 3.7). En el décimo día se marcaron las dietas con óxido crómico, con el objeto de recolectar heces para determinar la digestibilidad de las distintas fuentes proteicas. Únicamente las dietas D2 y G, se ensayaron por un período de 11 días posteriores al término del experimento con el objeto de observar el efecto de la adición de lisina sobre la digestibilidad aparente de triptofano; de la misma manera, al octavo día de esta segunda etapa, las dietas fueron marcadas con óxido crómico y se procedió a la recolección de las heces.

Digestibilidad "in vivo".

La digestibilidad de las dietas se midió usando óxido crómico como indicador (Schürch et al., 1950; Danzky y Hill, 1952; Varnish y Carpenter, 1975) a través de un "pan de cromo" (Tovar, 1981) que se preparó con 30 g de óxido crómico y 70 g de almidón "Malzena", homogeneizando perfectamente la mezcla con 40 ml de agua destilada. La masa resultante se extendió sobre un papel aluminio y se sometió a secado dentro de una estufa a 90°C durante toda la noche. Una vez seco, el "pan de cromo" se pulverizó a un tamaño de malla del número 40. Al décimo día se administraron a las ratas las dietas marcadas con el "pan de cromo" al nivel de 1%, en el caso de las dietas D₂ y C₂ se administraron estas dietas marcadas con el "pan de cromo" al octavo día de esta segunda etapa; en ambos casos, 24 h después se procedió a recolectar las heces de color verde, esto se realizó diariamente hasta el último día de la experimentación. Poste riormente, las heces se secaron durante toda la noche en una estufa a temperatura de 60°C para después ser molidas a un tamaño de malla del número 40.

La digestibilidad aparente de triptofano se midió determinando el contenido de triptofano (Miller, 1967) en cada una de las dietas y en las heces recolectadas de todos los animales de cada grupo al final del experimento (ver método de digestibilidad).

MÉTODOS ESTADÍSTICOS.

Se realizaron análisis de varianza y prueba "t de student" para los análisis químico proximales; además se realizaron análisis de varianza y prueba de Duncan al contenido de triptofano del amaranto, con el objeto de detectar el efecto de los diferentes tratamientos térmicos sobre el contenido de proteína cruda y triptofano de cada material.

De igual manera, para el experimento biológico también se realizaron análisis de varianza y prueba de Duncan para determinar si existía diferencia significativa en el desarrollo de los animales experimentales, debido al deterioro de la proteína del amaranto sometido a los diferentes tratamientos térmicos. Todas las pruebas se manejaron a un nivel de significancia $p < 0.05$.

CAPITULO IV.

RESULTADOS.

Análisis Químicos.

En la tablas 4.1 y 4.2 se puede observar el análisis químico proximal de las semillas de amaranto crudas y sometidas a los diferentes tratamientos térmicos. No se encontró diferencia significativa en el contenido de los macronutrientes del amaranto sometido a los diversos procesos térmicos ($p < 0.05$) y los resultados del análisis proximal concuerdan con los reportados en la literatura (Decker et al., 1981; Sánchez-Marroquín, 1983; NRC, 1984). En la tabla 4.3 se encuentran registrados los análisis de las mezclas maíz-amaranto así como la composición de cada alimento. Las mezclas resultaron ser de composición protéica semejante, pero diferente en los demás nutrientes.

Determinación de triptofano.

En la tabla 4.4 se muestran los resultados para la curva estándar, ecuación y coeficiente de correlación que se utilizó para la cuantificación de triptofano en los diferentes materiales de prueba, que se encuentran registrados en la tabla 4.5. Se encontró un contenido de triptofano (1.8 q/100 q proteína) mayor al reportado por diferentes autores (1.1 - 1.5 q/100 q proteína), medido por autoanálizador de aminoácidos, tanto para la semilla cruda como procesada (Tovar y Carpenter, 1982; NRC, 1984; Sánchez-Marroquín, 1985 C). El mayor contenido en este aminoácido lo presentaron el amaranto tostado y reventado por el método de contacto directo (1.89 q/100 q proteína), no encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) entre éste y el amaranto crudo, cocido y reventado por el sistema de lecho fluidizado; pero sí se encontró diferencia significativa con respecto a caseína y las mezclas realizadas; el menor contenido de triptofano lo presentó caseína (1.19 q/100 q de proteína). Por otra parte, Tovar y Carpenter (1982) enriquecieron harina de nixtamal con amaranto reventado llegando a niveles de triptofano de 1.16 q/100 q de proteína, semejante al que se logró para este trabajo. El maíz por sí solo es limitante en este aminoácido (0.7 q/100 q proteína) pero al realizar la mezcla con amaranto en proporción 50:50, encontramos un nivel de triptofano de 1.37 y 1.43 q/100 q de proteína para palomitas de maíz-amaranto y harina de nixtamal-amaranto, respectivamente, lo cual cubre

el requerimiento de triptofano para la rata que es de 1.25 g/100 g de proteína (NAS, 1978).

En la misma tabla también se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza que se realizó a estos datos.

En la tabla 4.6 se muestra el perfil de aminoácidos del amacanto crudo y amacanto reventado-tostado (CR). Así como la cuenta química. Los valores de triptofano son los que se encontraron mediante el método de Miller (1967), debido a que el analizador de aminoácidos no lo registró. Para el amacanto reventado-tostado se encontraron 4 picos que no lograron identificarse.

Tabla 4.1 Análisis químico proximal de caseína y amaranto crudo¹

Componente	Caseína	Amaranto crudo
	g / 100 g	
Humedad	8.91±0.01	10.08±0.03
Proteína ²	77.24±0.01	14.18±0.00
Extracto etéreo		6.77±0.22
Fibra cruda		4.46±0.00
Cenizas		2.86±0.00
Extracto libre de N ³		60.93

¹ Se da el promedio de tres réplicas y su desviación estándar.

² * N x 5.85

³ Se calculó por diferencia.

Tabla 4.2 Análisis químico proximal del amaranto sometido a diferentes tratamientos¹

Componente	Amaranto cocido	Amaranto reventado (CD) ⁴	Amaranto tostado (CD)	Amaranto reventado (LF) ⁴
	g/100 g			
Humedad	5.91±0.08	3.46±0.05	4.44±0.03	2.0±0.00
Proteína	14.89±0.06	14.88±0.05	15.36±0.04	14.88±0.00
Extracto etéreo	7.46±0.22	7.15±0.36	7.06±0.00	7.26±0.05
Fibra cruda	4.91±0.00	4.32±0.00	4.34±0.00	4.38±0.04
Cenizas	3.15±0.00	2.90±0.00	3.34±0.01	2.94±0.01
Extracto libre de N	63.68	67.29	65.46	68.54

¹Se da el promedio de tres réplicas y su desviación estándar.

² N x 5.85

³ Se calculó por diferencia.

⁴ CD = método de contacto directo.
LF = sistema de lecho fluidizado.

Tabla 4.3 Análisis químico proximal de harina de nixtamal, palomitas de maíz y su suplementación con amaranto reventado por lecho fluidizado¹

Componente	Harina de nixtamal (HN)	Palomitas de maíz (PM)	HN-amaranto reventado(LF) 50:50	PM-amaranto reventado(LF) 50:50
	g/ 100 g			
Humedad	9.06±0.02	2.45±0.11	5.67±0.02	2.24±0.01
Proteína ²	8.35±0.15	8.63±0.02	11.49±0.17	11.38±0.06
Extracto etéreo	5.13±0.01	34.89±0.01	6.15±0.00	20.22±0.07
Fibra cruda	2.80±0.02	6.33±0.03	3.56±0.07	5.16±0.03
Cenizas	1.94±0.00	1.10±0.00	2.42±0.05	1.96±0.01
Extracto libre de N ³	72.72	49.05	70.71	59.04

¹Se da el promedio de tres réplicas y su desviación estándar.

²N x 6.25

³Se calculó por diferencia.

Tabla 4.4 Curva estándar para la determinación de triptofano

Concentración de triptofano mg/100 ml	Absorbancia 590 nm (encontrada)	Absorbancia 590 nm (esperada)	Diferencia
0.51	0.052	0.0342	1.8E-02
0.99	0.127	0.1351	-8.0E-03
1.5	0.23	0.2424	-1.2E-02
2.01	0.342	0.3497	-7.7E-03
2.49	0.447	0.4507	-3.7E-03
3	0.572	0.5579	-1.4E-02

Variable	Promedio	Varianza	Desviación estándar
X = conc. de trp	1.75	0.8711	0.9333
Y = abs	0.295	0.0387	0.1967

Ecuación y coeficiente de correlación

$$y = 0.21036 x - 0.07313$$

$$r = 0.99791$$

Error estándar del cálculo = 0.01422
 varianza del cálculo = 0.0002
 grados de libertad = 4

Tabla 4.5 Contenido de triptofano de los diferentes materiales empleados¹

Alimento	g trp/100 g proteína ²
Caseína	1.19 ± 0.07 ^b
Amaranto	
Crudo	1.83 ± 0.08 ^a
Cocido	1.83 ± 0.08 ^a
Tostado (CD)	1.89 ± 0.06 ^a
Reventado (CD)	1.89 ± 0.03 ^a
Reventado (LF)	1.79 ± 0.17 ^a
Mezclas	
Harina de nixtamal-amaranto reventado (LF) (50:50)	1.43 ± 0.005 ^b
Palomitas de maíz-amaranto reventado (LF) (50:50)	1.37 ± 0.13 ^b

¹Se presentan los resultados promedio de tres réplicas y su desviación estándar.

²Las medias seguidas de las mismas letras no difieren significativamente a $p < 0.05$.

Análisis de varianza:

Medio.....	48.659
Grados de libertad.....	15
Error estándar del cálculo.....	0.136
F calculada.....	9.075
F de tablas.....	3.5

Tabla 4.6 Perfil de aminoácidos de la semilla de amaranto

Aminoácido	Crudo		reventado-tostado (CD)	
	g/100 g de proteína	cuenta* química	g/100 g de proteína	cuenta* química
Acido aspártico	11.08		10.5	
Treonina	4.58	114.5	4.39	109.75
Serina	8.38		7.08	
Acido glutámico	22.11		22.4	
Prolina	5.61		5.46	
Glicina	10.51		10.22	
Alanina	4.92		5.23	
Cistina	1.47		----	
Valina	5.56	111.2	5.58	11.6
Metionina	2.79	126.82	3.33	151.36
Isoleucina	4.85	121.25	5.03	125.75
Leucina	7.48	106.86	7.73	110.43
Tirosina	4.71		4.72	
Fenilalanina	5.45	196.64	5.53	197.5
Histidina	3.67		3.37	
Lisina	7.54	137.09	3.09	56.18
Arginina	13.05		9.31	
Triptofano	1.83		1.89	
X1			0.111	
X2			0.362	
X3			0.343	
X4			0.184	

1, 2, 3 y 4 Se calcularon como leucina.
*ver tabla 1.2

Evaluación Biológica.

En la tabla 4.7 se presentan las concentraciones de triptófano contenidas en cada dieta. Las dietas A y B fueron los controles de caseína y amaranto para todos los experimentos, respectivamente. Debido a que no se adicionó triptófano a ninguna de las dietas, los valores registrados fueron los niveles de triptófano que aportaron los materiales per se.

La dieta R fue adicionada de leucina al nivel recomendado para la rata por la NAS (1978), que es de 0.63 g/100 g proteína, como óptimo para su desarrollo. En nuestro experimento se consideraron como controles a las dietas de caseína, por ser una proteína de buena calidad y de amaranto tratado térmicamente con calor húmedo, en la cual aparentemente no se dañaron los nutrientes de la semilla.

Durante el experimento, la mortandad fue de 8.3% que representa a 4 animales; 3 de las ratas correspondían al grupo alimentado con la dieta G y 1 rata pertenecía al grupo de la dieta H. La causa de su muerte fue que enfermaron de las vías respiratorias provocando que no consumieran alimento.

En la tabla 4.8 se encuentran registrados, el alimento consumido, el peso ganado y la eficiencia alimentaria de los animales alimentados con las distintas dietas durante el transcurso del experimento. También se presenta el análisis de varianzas realizado a dichos datos, este análisis revela que no existía diferencia significativa entre los mismos, por lo que no fue necesario aplicar la prueba de Duncan; asimismo se realizó una prueba "t de student" para verificar si existía diferencia significativa entre las dietas D₁ y D₂, y entre G₁ y G₂ pero tampoco se encontró diferencia significativa entre estos resultados (p < 0.05). La dieta que presentó el mayor consumo de alimento fue D₂ (12.10 g/rata/día), el peso ganado siguió un comportamiento similar ya que la mayor ganancia en peso la registraron las ratas de la dieta D₂ (3.84 g/rata/día); en ambos casos las ratas de la dieta H registraron los menores valores. Respecto a la eficiencia alimentaria, la mayor la presentó el control de caseína A (0.346), nuevamente el menor resultado lo presentó la dieta H con una eficiencia alimentaria de 0.198.

En la tabla 4.9 se registra el contenido de nitrógeno y óxido crómico en heces y la digestibilidad aparente de las dietas. La digestibilidad aparente (sin haber hecho corrección por pérdidas metabólicas) registró pérdidas similares de nitrógeno en heces (de 3.7 a 4.0%) en todas las dietas que contenían amaranto, mientras que caseína solo registró el 1.96% de excreción en heces.

El contenido de nitrógeno en las diferentes dietas fué: 1.66% en la dieta A, 1.93% en la dieta B y 1.72% para las dietas restantes, aunque el contenido de proteína cruda en todas las dietas era el mismo (10%). Todas las dietas contenían 0.32% de Cr_2O_3 . De acuerdo a la tabla se puede observar que la mayor digestibilidad la presentó la dieta A (90.53%) y la digestibilidad más baja la presentó la dieta H (67.45%). Estos valores concuerdan con los reportados en la literatura que son de 90.80% para caseína y de 77 a 79.29% para amaranto libre de sustancias antinutricionales (Betschart et al., 1981; Calderón de la Barca et al., 1985). En este caso no se realizó análisis de varianza puesto que únicamente se efectuaron 2 réplicas debido a que no se contaba con suficiente cantidad de muestra.

En la tabla 4.10 se encuentran registrados el contenido de triptofano en dietas y heces correspondientes al ensayo animal, así como la digestibilidad aparente de este aminoácido. Se encontró un contenido de triptofano similar en todas las dietas, el contenido mayor lo presentó la dieta R (0.151) y el menor lo presentaron las dietas G₁ y G₂ (0.097). En las heces se realizaron únicamente dos determinaciones debido a que no se contaba con suficiente muestra, por lo que se presenta el resultado promedio. De acuerdo a los resultados de digestibilidad aparente, la mayor la presentó caseína (90.46%) y la menor la presentó la dieta G₁ (62.91%). En las mezclas de maíz-amaranto se observa un valor de digestibilidad muy bajo respecto a caseína, sin embargo, en las dietas elaboradas con amaranto se observan valores de digestibilidad similares respecto a la dieta control de amaranto cocido. En este caso tampoco se realizó análisis de varianza debido a que únicamente se pudieron efectuar dos réplicas.

Los análisis de varianza del experimento animal se realizaron en computadora con el programa: Statistics with Daisy, Version 1.2.2. Copyright 1981, Kevin C. Killion.

Tabla 4.7 Niveles teóricos de triptofano en las dietas experimentales

DIETA	% TRP	DIETA	% TRP
A	0.12	E	0.19
B	0.18	F	0.18
C	0.19	G ₁	0.14
D ₁	0.19	G ₂	0.14
D ₂	0.19	H	0.13

- A Control de caseína
- B Control de amaranto cocido 30 min a ebullición a presión atmosférica.
- C Amaranto tostado por contacto directo adicionado de lisina al nivel que se encontró en el amaranto crudo.
- D₁ Amaranto tostado por contacto directo cubriendo los requerimientos de aminoácidos para la rata excepto lisina.
- D₂ Igual que la dieta D₁, solo que con adición de lisina.
- E Amaranto reventado por contacto directo adicionado de leucina al nivel que se encontró en el amaranto crudo.
- F Amaranto reventado por lecho fluidizado adicionado de lisina al nivel que se encontró en el amaranto crudo.
- G₁ Harina de nixtamal-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50) carente de lisina.
- G₂ Igual que la dieta G₁, solo que con adición de lisina.
- H Harina de palomitas de maíz-amaranto reventado por lecho fluidizado (50:50) carente de lisina.

Tabla 4.8

Resultados del experimento animal¹

	Dieta	Alimento consumido	Peso ganado	Eficiencia alimentaria
A		9.57 ± 1.67	3.28 ± 0.44	0.346 ± 0.04
B		11.16 ± 2.08	3.69 ± 0.60	0.331 ± 0.03
C		8.47 ± 1.07	2.07 ± 0.35	0.244 ± 0.03
D ₁		8.91 ± 1.31	2.26 ± 0.44	0.253 ± 0.03
D ₂		12.10 ± 1.57	3.84 ± 0.67	0.316 ± 0.02
E		8.09 ± 1.11	2.06 ± 0.45	0.253 ± 0.03
F		8.40 ± 1.76	2.22 ± 0.57	0.270 ± 0.03
G ₁		8.97 ± 2.60	2.27 ± 0.91	0.246 ± 0.03
G ₂		10.30 ± 2.66	2.70 ± 0.66	0.263 ± 0.01
H		7.44 ± 1.88	1.50 ± 0.60	0.198 ± 0.03

¹ Todos los resultados son el promedio de seis réplicas, excepto por la dieta G de 3 réplicas y la dieta H de 5 réplicas.

Análisis de varianza:

	Alimento consumido	Peso ganado	Eficiencia alimentaria
Media.....	5090.73	363.53	4.30
Grados de libertad.....	59	59	59
Error estándar del cálculo	150.63	24.99	0.62
F calculada.....	5.37	8.38	11.69

Tabla 4.9 Contenido de nitrógeno y óxido crómico en heces y digestibilidad aparente de las dietas de prueba¹

Dieta	N en heces	Cr $2O_3$ en heces	Digestibilidad de N aparente
A	1.96 ± 0.03	3.99 ± 0.00	90.53
B	3.78 ± 0.005	2.46 ± 0.08	74.1
C	3.73 ± 0.005	2.69 ± 0.009	74.1
D ₁	3.80 ± 0.003	2.65 ± 0.012	73.27
D ₂	3.77 ± 0.005	3.09 ± 0.02	79.38
E	3.96 ± 0.13	2.67 ± 0.004	72.46
F	3.73 ± 0.02	2.57 ± 0.008	72.94
G ₁	3.74 ± 0.01	2.58 ± 0.003	73.04
G ₂	3.97 ± 0.00	2.96 ± 0.06	77.36
H	4.00 ± 0.02	2.29 ± 0.001	67.45

$$\text{Digestibilidad ap. de N} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{N heces}}{\text{Cr heces}} \times \frac{\text{Cr alimento}}{\text{N alimento}} \right)$$

Se presenta el resultado promedio de 2 réplicas.

Tabla 4.10 Contenido de triptofano en dietas y heces y digestibilidad aparente 1

Dietas	trp en dieta g/100 g	trp en heces %	Digestibilidad aparente trp(%)
A	0.122 ± 0.04	0.145	90.46
B	0.153 ± 0.06	0.2	82.99
C	0.138 ± 0.11	0.191	83.53
D ₁	0.107 ± 0.09	0.19	78.55
D ₂	0.107 ± 0.09	0.205	80.15
E	0.151 ± 0.18	0.278	77.93
F	0.155 ± 0.05	0.18	85.54
G ₁	0.097 ± 0.00	0.29	62.91
G ₂	0.097 ± 0.00	0.243	72.91
H	0.120 ± 0.00	0.26	69.72

$$\text{Digestibilidad ap. de triptofano} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{trp heces}}{\text{Cr heces}} \times \frac{\text{Cr dieta}}{\text{trp dieta}} \right)$$

Se presentan los resultados promedio de 2 réplicas.

CAPITULO V.

DISCUSION DE RESULTADOS.

Análisis Químico Proximal.

De acuerdo a este análisis efectuado a los diferentes materiales, se obtuvo un contenido de proteína de 14 - 15% en el amaranto crudo y sometido a los diferentes sistemas de procesamiento, lo cual coincide con el valor reportado por diversos autores (Becker et al., 1981; Sánchez-Marroquín, 1983; NRC, 1984).

En la harina de nixtamal y en la harina de palomitas de maíz se encontró un bajo contenido de proteína (8.35 y 8.63 g/100 g, respectivamente), pero al realizar las mezclas de estos materiales con harina de amaranto, se encontró un aumento considerable en este contenido, esto es debido al aporte de proteína del amaranto, lo anterior se puede corroborar en la tabla 4.2.

De acuerdo a lo anterior, se puede observar que la cantidad de proteína no disminuye al tratar la semilla por los diferentes sistemas de procesamiento térmico.

Determinación de triptófano.

Al realizar esta determinación a los materiales de prueba, se encontró un contenido de este aminoácido de 1.89 g/100 g proteína que es mayor al encontrado por otros autores (Tovar y Carpenter, 1982; NRC, 1984; Sánchez-Marroquín et al., 1985 C).

Uno de los objetivos planteados era evaluar el daño que podía provocar el procesamiento térmico sobre el triptófano, de acuerdo a nuestros resultados, se observa que el triptófano no sufre daño alguno al tratar el amaranto por cualquiera de los sistemas de procesamiento térmico; debido a esto no fué necesario adicionar triptófano a las dietas que se utilizaron en el experimento animal.

En 1979, Martine de Lespinasse supuso que el triptófano podía ser el aminoácido limitante del amaranto, sin embargo, en este trabajo comprobamos que no es el aminoácido limitante.

Tovar y Carpenter (1982) utilizaron el método de Miller (1967) para cuantificar triptofano en tortillas y en amaranto crudo y reventado, fué el mismo método que utilizamos, y encontramos que es muy adecuado para la cuantificación de este aminoácido pues presenta ciertas ventajas como son: la alta recuperabilidad de este aminoácido (del 80 al 95%), evita la interferencia de los carbohidratos con el triptofano (Miller, 1967), por lo que se obtendrán resultados reales; el cromóforo producido es muy estable y parece ser el más adecuado para los ensayos colorimétricos; además no se emplea mucho tiempo en su realización. Una de las principales desventajas de este método es la utilización del estándar interno puesto que el triptofano que se agrega en la determinación es de naturaleza diferente al triptofano contenido en la mezcla, lo cual puede provocar diferencias en los resultados obtenidos; una propuesta para esta limitante es que el estándar interno sea un péptido con una concentración de triptofano conocida, esto se propone como una posible mejora al método analítico utilizado.

Adicionalmente, respecto a otros cereales, se encontró que este aminoácido esencial está presente en la proteína de amaranto en una cantidad mayor (ver tabla 1.2). El maíz es limitante en este aminoácido pero al realizar las mezclas maíz-amaranto se encontró un aumento en el contenido del mismo, con lo anterior corroboramos que la semilla de amaranto es una fuente adecuada de suplementación para este cereal.

Valor de la Proteína.

Respecto a esta evaluación, se pudo observar que los controles de caseína y amaranto cocido funcionaron adecuadamente en el experimento biológico; en las dietas elaboradas con amaranto se encontraron valores similares a la dieta control de amaranto cocido, además, los valores encontrados coinciden con los reportados en la literatura.

No fué necesario adicionar triptofano a las dietas, ya que no se encontró disminución en el contenido del mismo en los materiales de prueba, además se encontró que cubrió adecuadamente los requerimientos de triptofano para la rata reportados por la NAS (1978).

Al agregar lisina en las dietas D₂ y G₂ hubo un aumento tanto en el consumo de alimento como en la ganancia en peso y la eficiencia alimentaria respecto a las dietas D₁ y G₁, lo cual quiere decir que la proteína se puede aprovechar más eficientemente porque existe un mejor balance de aminoácidos.

La suplementación harina de nixtamal - amaranto reventado por leche fluidizado (50:50) resultó ser teóricamente completa en todos los aminoácidos esenciales para niños y ratas, excepto en lisina en el que fue limitante la mezcla en la primera etapa de la experimentación. Durante toda la evaluación se encontró que la dieta elaborada con harina de palomitas de maíz-amaranto fue la de menor calidad nutritiva.

Pruebas de Digestibilidad "in vivo".

Para realizar estas pruebas las dietas se marcaron con óxido crómico, este marcador funcionó adecuadamente en nuestro experimento; su uso es muy recomendable en ensayos biológicos.

Se encontró un contenido similar de nitrógeno y óxido crómico en heces de las dietas elaboradas con amaranto, de la misma manera los valores de digestibilidad aparente de las dietas resultaron similares, pero en las mezclas, harina de palomitas de maíz - amaranto registró la menor digestibilidad y harina de nixtamal - amaranto con adición de lisina alcanzó un nivel de digestibilidad superior al control de amaranto cocido.

Bresnani (1984) reportó que el tratamiento térmico provocaba una disminución en la digestibilidad del amaranto, lo cual no coincide con nuestros resultados ni con la información reportada por Bettschart et al. (1981) que encontraron un valor de 77% y por Calderón de la Barca et al. (1985) que reportan un valor de 79%, estos valores sí coinciden con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Se encontró un contenido de triptofano similar en las dietas elaboradas con amaranto al igual que en las heces recolectadas durante el ensayo biológico. Al realizar el cálculo de digestibilidad aparente de este aminoácido, se encontraron resultados sumamente interesantes puesto que en las dietas elaboradas con amaranto se obtuvieron valores de digestibilidad similares; además en las dietas D₂ y G₂ en las que se adicionó lisina, se obtuvo una digestibilidad mayor (80.15 y 72.91%, respectivamente) respecto a las dietas D₁ y G₁ (78.55 y 62.91%, respectivamente) carentes en

dicho aminoácido. Esto se podría explicar debido a que al faltar lisina en las dietas se produce un desequilibrio de aminoácidos lo que repercute en el desarrollo de las ratas; en nuestro experimento observamos que al agregar lisina se incrementó la digestibilidad aparente de triptofano; al parecer, la adición de lisina hace más digerible al triptofano y muy probablemente a otros aminoácidos.

Otro de los objetivos planteados era encontrar, si existía, una correlación entre la determinación química del triptofano y su digestibilidad in vivo, de acuerdo a nuestros resultados, se observó el mismo comportamiento de este aminoácido en el ensayo animal y en la determinación química, por lo que se puede decir que en este caso, si existe una correlación de este aminoácido al evaluarlo por un método químico y uno biológico.

En las mezclas amaranto - harina de nixtamal se acentuó la baja digestibilidad de este aminoácido en el maíz puesto que la digestibilidad de la mezcla es muy baja respecto a la dieta control de caseína que alcanzó un nivel de 90.47%.

En general se puede decir que el sistema de reventado utilizando un flujo de aire caliente es una alternativa adecuada de procesamiento a nivel industrial, teniendo cuidado de todos los factores que pueden intervenir en dicho procesamiento, como son el hecho de que una proporción de la semilla sólo se tuesta y la humedad de la misma; tomando en cuenta esto se podrá lograr un procesamiento de "alegrías" a nivel industrial con la mínima o nula obtención de semilla tostada y sobre todo con la mínima pérdida en cuanto a su contenido proteico.

CAPITULO VI.

CONCLUSIONES.

- 1) El amaranto cocido durante 30 min en agua a ebullición posee una calidad nutritiva semejante a caseína.
- 2) El contenido de proteína del amaranto no disminuye al tratar la semilla por los diferentes sistemas de procesamiento térmico.
- 3) El contenido de triptofano no varía al someter la semilla a los diferentes sistemas de procesamiento térmico.
- 4) El Método de Miller resultó ser adecuado para la determinación de triptofano en amaranto, además de ser barato y rápido.
- 5) Se encontró que el óxido crómico no interfiere en la determinación de triptofano mediante el método analítico utilizado en el presente trabajo para realizar la evaluación de digestibilidad in vivo de este aminoácido.
- 6) La digestibilidad aparente de triptofano resultó ser similar en todas las dietas respecto al control de amaranto cocido.
- 7) El hecho de adicionar lisina a las dietas D y G, provocó un sorpresivo aumento en la digestibilidad aparente de triptofano y no sería raro que lo provoque a otros aminoácidos, esto se debe muy probablemente a que en nuestro experimento existió un imbalance de aminoácidos.
- 8) El sistema de reventado utilizando un sistema con aire caliente (lecho fluidizado) es una alternativa adecuada de procesamiento a nivel industrial.

9) La adición de amaranto reventado a productos realizados a base de maíz mejorará la calidad proteica de este cereal, elevando por tanto su valor biológico, a pesar del daño térmico que por este método sufre el amaranto; en nuestro trabajo comprobamos que el amaranto es una fuente adecuada de suplementación para el maíz.

10) El uso del amaranto en productos alimenticios es una opción adecuada y necesaria para la difusión de esta semilla a nivel industrial lo que repercutirá en la creación de alimentos hechos a base de amaranto o como suplemento en los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Acheson, R.M. (1981). Química Heterocíclica. 1a Ed., Publicaciones Cultural, S.A. México, D.F. pp 220.
- AIN (1977). Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. J. Nutr. 107: 1340 - 1348.
- Anónimo (1979). "Amaranto: planta rica en proteínas adaptable a diferentes climas". México Indígena 30: 13 - 14.
- Anónimo (1983). "Studies on the nutritional quality of grain amaranth". Nutrition Reports International 23: 1445 - 1456.
- AOAC (1984). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemistry. Washington, D.C.
- Austic, R.R. (1985). "Development and Adaptation of Protein Digestion" J. Nutr. 115: 686 - 697.
- Badui, D.S. (1982). Química de los Alimentos. 1a Ed., Editorial Alhambra. S.A. México, D.F. pp 145.
- Becker, R., Wheeler, E.L., Lorenz, K., Stafford, A.E., Grosjean, O.K., Betschart, A.A. and Saunders, R.M. (1981). "A Compositional Study of Amaranth Grain". J. Food Sci. 46: 1175 - 1180.
- Betschart, A.A., Irving, D.W., Shepard, A.D. and Saunders, R.M. (1981). "Amaranthus cruentus: Milling Characteristics, Distribution of Nutrients within Seed Components, and the Effects of Temperature on Nutritional Quality" J. Food Sci. 46: 1181 - 1187.
- Bressani, R. (1983). "Calidad proteínica de la semilla de amaranto cruda y procesada". En: El amaranto y su potencial. Boletín No. 3. Publicado por la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición. INCAP, Guatemala, Guatemala, C.A. pp 1 - 3.
- Bressani, R. and Scrimshaw, N.S. (1958). "Effect of lime treatment on in vitro availability of essential amino acids and solubility of protein fractions in corn". J. Agric. Food Chem. 6: 774 - 778.
- Calderón de la Barca, A.M., Ochoa, J.L. and Valencia, M.E. (1985). "Effect of the Extraction of a Hemagglutinin on the Nutritive Value of Amaranthus leucocarpus Seeds". J. Food Sci. 50: 1700 - 1702.

Carlsson, R. and Gentl, J.P. (1985). "Una comparación de la composición de aminoácidos de las hojas y semillas de ciertos tipos de *Amaranthus*" En: El amaranto y su potencial. Boletín No. 1 Publicado por la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición. INCAP. Guatemala, Guatemala, C.A.

Casillan, G.F.J. (1977). "Anteproyecto técnico-económico de una planta industrializadora de semillas de alacra (*Amaranthus leucocarpus*)". Tesis de licenciatura. UNAM. México, D.F.

Cole, J.M. (1979). "Amaranth, from the past to the future". Rodale Press, Inc. Emmaus, Pennsylvania. pp 22 - 29, 150 - 279.

Connor, J.K., Gartner, R.J.W., Runge, D.M. and Amos, R.N. (1980). "*Amaranthus edulis*: an ancient food source re-examined". Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 20: 156 - 161.

Córrea, A.D. y Joki, L. (1984). "Estudios de la composición química, factores antinutricionales y contenido proteínico de algunas semillas de *Amaranthus* sp". En: El amaranto y su potencial. Boletín No. 4. Publicado por la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición. INCAP, Guatemala, Guatemala, C.A. pp 1.

Dansky, L.M. and Hill, F.W. (1952). "Applications of the chromic oxide indicator method to balance studies with growing chickens". J. Nutr. 47: 449 - 459.

Eqqum, B.O., Bach Knudsen, K.E. and Jacobsen, I. (1985). "The effect of amino acid imbalance on nitrogen retention (biological value) in rats" Br. J. Nutr. 45: 175 - 180.

Fox, A.B. and Cameron, G.A. (1982). Food Science a chemical approach. 4th Edition. pp 191 - 207.

Friedman, M. and Finley, W.J. (1971). "Methods of Tryptophan Analysis". J. Agric. Food Chem. 19: 626 - 631.

Harper, A.E. (1977). "Animal Models: Plasma Amino Acids and Body Protein Status". Human Nutr. Clin. Nutr. (Symp). 5B: 111 - 116.

Hayase, F., Kato, H. and Fujimaki, M. (1975). "Racemization of Amino Acid Residues in Proteins and Poly (L-amino acids) during Roasting" J. Agric. Food Chem. 23: 491 - 494.

Irving, D.W., Betschart, A.A. and Saunders, R.M. (1981). "Morphological studies on *Amaranthus cruentus*". J. Food Sci. 46: 1170 - 1174.

Keith, H. (1979). "Reviving the food of the aztecs". Science News 116. 168 - 169.

Kirk-Othmer. (1981). Encyclopedia of Chemical Technology. 3rd Edition. Ed. John Wiley and sons. U.S.A. Vol 15. pp 771.

Knox, R., Kohler, G.O., Palter, R. and Walker, H.G. (1970). "Determination of tryptophan in feeds". Anal. Biochem. 36(1): 136.

Martine de Jessinabac, M.J. (1979). "Estudio del valor nutritivo y determinación de la actividad de los factores antinutricionales de la semilla de *Amaranthus leucocarpus* wats (alegría)". Tesis de licenciatura. Universidad Iberoamericana, México, D.F.

Marx, J.L. (1977). "Amaranth: A Comeback for the Food of the Aztecs?". Science 198: 40.

Miller, R.L. (1967). "Determination of the tryptophan content of feeding stuffs with particular reference to cereals". J. Sci. Food Agric. 18: 381 - 386.

National Academy of Sciences (1978). Control of diets in laboratory animal experimentation. From ILAR News. Vol XXI, No. 2, winter/spring, Washington, D.C.

National Research Council (1984). "Amaranth: Modern prospects for an ancient crop". National Academy Press. Washington, D.C.

Odojari, C.R. (1983). "El amaranto: una cosecha promisoriosa descuidada". En: El amaranto y su potencial. Boletín No. 4. Publicado por la Oficina Editorial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición. INCAP. Guatemala, Guatemala, C.A. pp 1 - 4.

Ortiz de Montellano, B.R. (1978). "Aztec Cannibalism: An Ecological Necessity?". Science 200: 611 - 617.

Rodale Research Center. (1984). "Amaranth Grain Production Guide". Rodale Press, Inc. pp 1 - 10.

Sánchez-Marroquín, A. (1980). Potencialidad agroindustrial del amaranto. Monografía. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, A.C. México, D.F. pp 90 - 110.

Sánchez-Marroquín, A. (1983). "Dos cultivos olvidados de importancia agroindustrial: El amaranto y la quinua". Arch. Latinoamer. Nutr. 33: 11 - 32.

Sánchez-Marroquín, A., Maya, A. and Domingo, M.V. (1985 A). "Milling procedures and air classification of amaranth flour". Arch. Latinoamer. Nutr. 35: 621 - 629.

Sánchez-Marroquín, A., Maya, S. (1985 B). "Industrial corn flour enrichment with whole amaranth flour and milling fractions in corn-based products". Arch. Latinoamer. Nutr. 35: 518 - 535.

Sánchez-Marroquín, A., Maya, S. and Domingo, M.V. (1985 C). "Effect of heat treatment and milling on the seed, flour, rheology and baking quality of some amaranth ecotypes". Arch. Latinoamer. Nutr. 35: 603 - 619.

Sauer, J.D. (1950). The Grain Amaranths: A Survey of their History and Classification. Annals of the Missouri Botanical Garden 37: 561 - 632.

Saunders, R.M. and Decker, R. (1984). "Amaranthus: A Potential Food and Feed Resource". Adv. Cereals Sci. Technol. 6: 357 - 396.

Schurch, A.F., Lloyd, L.E. and Crampton, E.W. (1950). "The use of chromic oxide as an index for determining the digestibility of a diet" J. Nutr. 11: 629 - 636.

Simpson, J.R., Neuberger, R.M. and Liu, T.Y. (1976). "Complete Amino Acid Analysis of Proteins from a Single Hydrolysate". J. Biol. Chem. 25: 1936 - 1940.

Sklan, D. (1980). "Digestion and Absorption of Casein at Different Dietary Levels in the Chick: Effect on Fatty Acid and Bile Acid Absorption". J. Nutr. 110: 989 - 994.

Soriano, S.J. y Gutiérrez, O.J.L. (1984). "Efecto del Alkali sobre la Disponibilidad del Triptofano en Caseína y en Concentrado de Proteínas de Pescado". Tesis mancomunada. UNAM. Facultad de Química.

Soriano, S.J. (1987). Lisina-Reactiva y Valor Biológico de Semillas Procesadas de *A. hypochondriacus*. Tesis de Maestría. Facultad de Química. UNAM. México, D.F.

Spies, R.J. and Chambers, C.D. (1949). "Chemical Determination of Tryptophan in Proteins". Anal. Chem. 21: 1249 - 1266.

Stare, J.F. and Mc Williams, M. (1984). Living Nutrition. Ed. John Wiley and sons. 4th Ed. pp 102, 203 - 204.

Teutonico, A.R. and Knorr, D. (1985). "Amaranth: Composition, Properties, and Applications of a Rediscovered Food Crop". Food Technol. 39: 49 - 59.

Tovar, L.R. (1981). "The effects of treatment with alkali on the nutritional characteristics of proteins". Ph. D. Thesis, University of California, Berkeley.

Tovar, L.R. and Carpenter, K.J. (1982). "The effects on alkali-cooking of corn and supplementation with amaranth seed on its deficiencies in lysine and tryptophan". Arch. Latinoamer. Nutr. 32: 961 - 972.

Varnish, S.A. and Carpenter, K.J. (1975). "Mechanisms of heat damage in proteins". The digestibility of individual aminoacids in heated and propionylated proteins. Br. J. Nutr. 34: 339 - 349.