

**SUBPRODUCTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA DEL GRANO DE AMARANTO:
CARACTERIZACIÓN FÍSICA, ESTRUCTURAL Y REOLÓGICA**



**ALDAIR BOLAÑOS MONTILLA
BRIGITH ALEJANDRA JOAQUI**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POPAYÁN
2019**

**SUBPRODUCTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA DEL GRANO DE AMARANTO:
CARACTERIZACIÓN FÍSICA, ESTRUCTURAL Y REOLÓGICA**



**ALDAIR BOLAÑOS MONTILLA
BRIGITH ALEJANDRA JOAQUI**

Trabajo de grado en la modalidad de investigación para optar al título de
Ingeniería Agroindustrial

Director.

Ph.D. Diego Fernando Roa Acosta

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POPAYÁN
2019**

Nota de aceptación

El director y los Jurados han leído el presente documento, escucharon la sustentación del mismo por sus autores y lo encuentran satisfactorio.

Ph. D. DIEGO FERNANDO ROA ACOSTA
Director

M. Sc. MARIO GERMAN ENRÍQUEZ COLLAZOS
Presidente del Jurado

Esp. CARLOS ANDRES CHANTRE ORTIZ
Jurado

Popayán, 4 de octubre de 2019

DEDICATORIA

A Dios y mis padres por apoyarme.

Aldair

A Dios y a mi familia especialmente a mi madre por su apoyo incondicional.

Brigith

Una mente que ha sido estirada por nuevas ideas no podrá recobrar su forma original

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A la Ingeniera Lucila Certuche, encargada de las plantas piloto de la Facultad de Ciencias Agrarias por la colaboración prestada.

Al operario de las plantas piloto, el señor Wilson Orozco Méndez, por su disposición, cordialidad y amabilidad.

Al grupo de investigación CYTBIA de la Universidad del Cauca adscrito a la Facultad de Ciencias Agrarias, por avalar este trabajo.

A Evelyn Alegría encargada del laboratorio de Reología y Empaques, por su tiempo y disposición en la realización de las pruebas correspondientes.

A Lina Fernanda Restrepo Buesaquillo encargada del laboratorio de Biotecnología, por su tiempo y disposición en la realización de las pruebas correspondientes.

Al jefe de departamento del programa de Química Germán Cuervo Ochoa, por su colaboración y disponibilidad a la hora de hacer uso de los equipos e instalaciones de laboratorio.

A nuestro director el Dr. Diego Fernando Roa por su apoyo y comprensión durante el tiempo de realización de este proyecto, por la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia.

RESUMEN

El grano de amaranto es un pseudocereal, que se cultivó extensamente en Latinoamérica durante el periodo prehispánico, ya que era considerado un regalo de los dioses; investigaciones recientes demostraron que el grano de amaranto posee una proteína de alta calidad superior a la de los cereales, además de aportar gran cantidad de fibra dietaria. La molienda húmeda es una operación que se emplea en los cereales para obtener almidón con alto grado de pureza, sin embargo, durante esta operación se genera un coproducto compuesto de una mezcla de almidón/proteína, por lo tanto, la finalidad de este trabajo fue evaluar las características físicas, estructurales y reológicas de la mezcla almidón/proteína, para poder determinar un uso potencial.

Con el fin de determinar el efecto de las condiciones operacionales en la molienda húmeda se empleó un diseño factorial tipo Box-Benkhken de 3 factores con 3 niveles, los factores fueron concentración de tensoactivo (SDS), concentración de hidróxido de sodio (NaOH) y temperatura de maceración; mediante este diseño se obtuvieron 15 muestras, las cuales fueron estudiadas mediante la espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR) y reológica dinámica en el rango de visco-elasticidad lineal. Los resultados mostraron que las bandas 1012 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} y 1150 cm^{-1} asociadas a enlaces glucosídicos (C-O-C), fueron sensibles a la concentración de hidróxido de sodio (NaOH), lo que indica una posible modificación estructural en la relación amilosa/amilopectina del gránulo de almidón, mientras que las bandas a 1563 cm^{-1} y 1633 cm^{-1} , asignadas para amida II y amida I respectivamente fueron sensibles al efecto del NaOH y temperatura de macerado indicando que el contenido de proteína en los coproductos es variable y que depende significativamente de las condiciones de la molienda húmeda. Por otra parte, cuando se empleó la técnica de deconvolución mediante la función de la transformada de Fourier se reveló que las estructuras secundarias de las proteínas que sufrieron mayores cambios fueron las α -hélice, β -turns, β -sheet y β -sheet antiparalela; este cambio se atribuyó al SDS potenciado por la temperatura, ya que el tensoactivo fue capaz de penetrar en la estructura globular de la proteína y exponer los grupos funcionales. Se empleó el modelo de Ross-Murphy para determinar el índice gel (n), los resultados mostraron diferencias significativas en el índice (n) debido al efecto combinado del SDS y temperatura, el carácter del gel varió de medianamente viscoso a ligeramente viscoso. El análisis de correlación mostro una dependencia entre la estructura β -sheet y el índice gel, lo anterior es evidencia de que el cambio en un parámetro reológico puede ser generado también por la desconfiguración de la proteína, así como, por la cantidad de esta. Por lo tanto, el control de las condiciones de la molienda húmeda, afectan no solo el rendimiento de los productos sino también su tecnofuncionalidad.

PALABRAS CLAVE: Amaranto, Molienda húmeda, Espectroscopia infrarroja por FT-IR-ATR, Reología de geles.

ABSTRACT

Amaranth is a pseudocereal widely cultivated in Latin America during prehispanic period, since it was considered as a gift from gods; recent researches show that Amaranth has a high-quality protein superior to other cereals, besides of contribute an important quantity of dietary fiber. Wet milling is an operation used in cereals to obtained starch with high grade of purity, however, during this operation is generated a byproduct compound of a mix of starch/protein, therefore, the purpose of this work was to evaluate the physical, structural and rheological characteristics of the starch/protein mix to determine its potential use.

In order to determine the effect of the operational conditions in wet milling, it was used a factorial design Box-benhken type of three factors with three levels, the factors were surfactant concentration (SDS), sodium hydroxide concentration (NaOH) and maceration temperature; through this design it was obtained fifteen samples, which were studied through infrared spectroscopy (FTIR-ATR) and rheological dynamics in the range of linear visco-elasticity. Results showed that bands 1012 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} y 1150 cm^{-1} associated to glycosidic bonds, were sensitive to sodium hydroxide concentration (NaOH), indicating a possible structural change in the amylose/amylopectin relation of the starch granule, while, the bands 1563 cm^{-1} y 1633 cm^{-1} assigned to Amide II and Amide I respectively, were sensitive to NaOH effect and the maceration temperature, indicating that protein contain in the byproducts is variable and depends on significantly of wet milling conditions. In the other hand, when it was used the deconvolution technic through the Fourier transform function, It was revealed that secondary structures of proteins that suffered major changes were α -hélice, β -turns, β -sheet y β -sheet antiparallel, this change was attributed to the SDS enhanced by the temperature, since the surfactant was able to penetrate in the protein global structure and expose the functional groups. It was used the Ross-Murphy model to determine the gel index (n), results showed significant differences in the index (n) due to the combined effect of SDS and temperature, the character of the gel was between medium viscous and slightly viscous. The correlation analysis showed dependence between the β -sheet structure and the gel index, this is evidence of a change in a rheological parameter can also be generated by the desconfiguration of the protein, as well as, by the amount of it.

KEY WORDS: Amaranth, wet milling, infrared spectroscopy by FTIR-ATR

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	16
1.MARCO REFERENCIAL	17
1.1 LOCALIZACIÓN	17
1.2 MARCO TEÓRICO	17
1.2.1 Materia prima	17
1.2.2 Composición y estructura del amaranto	17
1.2.3 Proteínas del amaranto	18
1.2.4 Lípidos del amaranto	19
1.2.5 Fibra dietaría y otros micronutrientes	19
1.2.6 Almidón del amaranto	19
1.2.7 Gelatinización del almidón	20
1.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	21
1.3.1 Molienda húmeda	21
1.3.2 Molienda húmeda alcalina	22
1.3.3 Molienda húmeda ácida	23
1.3.4 Molienda enzimática	23
1.4 OPERACIONES	23
1.4.1 Reducción de tamaño	23
1.4.2 Tamizado	24
1.4.3 Centrifugación	24
1.4.4 Secado	24

	pág
1.5 CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL	24
1.5.1 Espectroscopia infrarroja (FTIR)	24
1.5.2 Espectroscopia infrarroja con ATR (FTIR-ATR)	26
1.5.3 Deconvoluciones de los espectros	27
1.6 Determinación del comportamiento reológico	28
1.6.1 Ensayo de flujo	28
1.6.2 Barrido de temperatura	29
1.6.3 Barrido de amplitud	29
1.6.4 Barrido de frecuencia	30
1.7 PROPIEDADES FÍSICAS	31
1.7.1 Colorimetría	31
1.8 MARCO HISTÓRICO	32
1.8.1 Antecedentes	32
1.8.2 Usos potenciales	33
1.8.3 Valor nutricional	33
2. METODOLOGÍA	34
2.1 MATERIALES	34
2.1.1 Materias primas	34
2.2 MÉTODOS	34
2.2.1 Obtención de fracción amiloproteica	34
2.2.2 Maceración húmeda	34
2.2.3 Diseño experimental Box-Benhken	34

	pág
2.2.4 Preparación de muestras	34
2.2.5 Espectroscopia infrarroja de la fracción amiloproteica	34
2.2.6 Determinación de propiedades viscoelásticas	40
2.2.7 Colorimetría del subproducto del grano de amaranto	41
2.2.8 Análisis estadístico	41
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
3.1 COLORIMETRÍA DE LAS MEZCLAS ALMIDÓN/PROTEÍNA OBTENIDAS EN LA MOLIENDA HÚMEDA	43
3.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA-ATR DE LAS MEZCLAS ALMIDÓN/PROTEÍNA OBTENIDAS EN LA MOLIENDA HÚMEDA	46
3.3 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA PROTEICA (GRUPO FUNCIONAL AMIDAS)	48
3.4 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA DE LA FRACCIÓN AMILÁCEA	52
3.5 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA	55
3.6 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LA REGIÓN CRISTALINO/AMORFA DE LA FRACCIÓN AMILÁCEA MEDIANTE DECONVOLUCIONES	58
3.7 ANÁLISIS DE LAS ESTRUCTURAS SECUNDARIAS DE LA AMIDA I MEDIANTE DECONVOLUCIONES	61
3.8 PROPIEDADES REOLÓGICAS	67
4. CONCLUSIONES	73
5. RECOMENDACIONES	74
BIBLIOGRAFÍA	75
ANEXOS	86

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Diseño experimental Box-Benhken para el estudio de la molienda húmeda, variables reales y codificadas	43
Cuadro 2. Análisis colorimétrico del subproducto de grano de amaranto	43
Cuadro 3. Intensidad de las bandas 1633 cm^{-1} y 1563 cm^{-1} en los diferentes tratamientos	48
Cuadro 4. Intensidades de los enlaces glucosídicos a 1077 cm^{-1} y 1150 cm^{-1} para los diferentes tratamientos	53
Cuadro 5. Intensidades para las bandas 2852 y 2921 cm^{-1} asociadas a lípidos para los diferentes tratamientos	56
Cuadro 6. Índice gel (n) de los módulos G' y G'' para cada uno de los tratamientos	68
Cuadro 7. Correlaciones del análisis multivariado	71

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. a) Corte longitudinal del grano de <i>Amaranthus cruentus</i> , caracterización morfológica. b) grano de <i>Amaranthus cruentus</i> con indicador Biuret.	18
Figura 2. Estructura de las moléculas de amilosa y amilopectina	19
Figura 3. Gránulo de almidón del amaranto	20
Figura 4. Esquema de la molienda húmeda del grano de amaranto	22
Figura 5. Movimientos vibracionales de tensión y flexión de los enlaces de un grupo metilo	25
Figura 6. Espectro de grupos funcionales del amaranto	26
Figura 7. Espectro y deconvoluciones película de sílice	27
Figura 8. Curvas de flujo para distintos comportamientos	28
Figura 9. Comportamiento del módulo elástico de un polímero frente a la temperatura	29
Figura 10. Estudio del barrido de amplitud	30
Figura 11. Espacio de color CIELab	32
Figura 12. Procedimiento para crear base línea	35
Figura 13. Asignación de número de puntos para crear base línea	35
Figura 14. Substracción de datos referencia de línea base	36
Figura 15. Aplicación de datos referencia línea base	36
Figura 16. Procedimiento para normalizar el espectro entre 0 y 1	37
Figura 17. Aplicación para normalizar datos	37
Figura 18. Espectros normalizados	38
Figura 19. Procedimiento para realizar deconvoluciones	38

	pág
Figura 20. Modificación de información para deconvolución de datos	39
Figura 21. Seleccionar y graficar los datos deconvolucionados	39
Figura 22. Espectro deconvolucionado de la Amida I	40
Figura 23. Etapa de maceración del grano de amaranto	42
Figura 24. Superficie de respuesta estimada de la luminosidad (L) de las mezclas almidón/proteína obtenidas en la molienda húmeda	44
Figura 25. a) superficie de respuesta coordenada "a". b) superficie de respuesta coordenada "b"	45
Figura 26. Zonas identificadas en los espectros obtenidos mediante FTIR-ATR	46
Figura 27. Asignación de vibraciones en espectros FTIR	47
Figura 28. Espectros FTIR normalizados de los tratamientos T4, T8, T10 y T12	48
Figura 29. a) diagrama de Pareto para amida I (1633 cm^{-1}). b) diagrama de Pareto para amida II (1563 cm^{-1})	49
Figura 30. a) efectos principales para amida I. b) efectos principales para amida II	50
Figura 31. a) superficies de respuesta para amida I. b) superficies de respuesta para amida II	51
Figura 32. Espectros acercados a la zona de almidón y enlaces glucosídicos I,II del tratamiento T1 a T7	53
Figura 33 a) diagrama de Pareto para glucosídicos I. b) diagrama de Pareto para glucosídicos II	54
Figura 34 Interacción entre hidróxido de sodio y temperatura para el enlace glucosídico II a 1150 cm^{-1}	55
Figura 35. Espectros FTIR de todos los tratamientos obtenidos por molienda húmeda alcalina acercados a la región de los lípidos	56
Figura 36. a) diagrama de Pareto para lípidos I. b) diagrama de Pareto para lípidos II	57

	pág
Figura 37. efectos principales para las bandas asociadas a lípidos	58
Figura 38. Bandas asociadas a región cristalino y amorfa del almidón	59
Figura 39. Diagrama de Pareto para la región cristalino y amorfa del almidón (1042/1012)	59
Figura 40. Efectos principales de la banda relacionada a la región cristalino/amorfa (1042/1012)	60
Figura 41. Interacciones de la banda relacionada a la región cristalino/amorfa (1042/1012)	60
Figura 42. Picos identificados utilizando deconvoluciones en la región de amida I (1633 cm ⁻¹)	61
Figura 43. a) efectos principales para la estructura β -sheet. b) efecto de interacción temperatura y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -sheet (1628 cm ⁻¹)	62
Figura 44. a) efectos principales para la estructura β -turns. b) efecto de interacción hidróxido de sodio y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -turns	63
Figura 45. a) efectos principales para la estructura β -turns. b) efecto de interacción temperatura y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -turns (1669 cm ⁻¹)	64
Figura 46. a) efectos principales para la estructura antiparallel B-sheet. b) efecto de interacción temperatura e hidróxido de sodio sobre la estructura antiparallel B-sheet (1683 cm ⁻¹)	65
Figura 47. a) diagrama de Pareto para la estructura α -helix. b) efectos principales para la estructura α -helix (1653 cm ⁻¹)	66
Figura 48. a) diagrama de Pareto para el índice gel del módulo G' . b) superficie de respuesta para el índice gel del módulo G'	69
Figura 49. a) diagrama de Pareto para el índice gel del módulo G'' . b) superficie de respuesta para el índice gel del módulo G''	70

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Análisis estructural del grano de amaranto obteniendo mediante molienda húmeda alcalina por medio de espectroscopía FTIR por ATR	86
Anexo B. Análisis de estructuras secundarias para la región amida I de 1600 a 1700 cm^{-1}	101
Anexo C. Análisis de la región cristalino-amorfa del almidón mediante espectros deconvoluciones entre 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1}	116
Anexo D. Análisis reológico de geles realizadas con el subproducto del grano de amaranto	131

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el mercado se encuentra en constante cambio ya que busca productos o compuestos innovadores. La industria es un sistema versátil que busca la mejora continua, teniendo en cuenta cambios físicos y químicos que contribuyan a mejorar la calidad del alimento con propiedades determinadas que ayuden a mejorar la salud, siendo tendencia en los últimos años un consumo saludable de alimentos (Barragán, 2011). El uso de componentes bioactivos extraídos a partir de semillas de gran valor nutricional como el amaranto y la quinua, permiten obtener productos con propiedades nutricionales y biológicas para reducir el riesgo de padecer enfermedades crónicas como el hipercolesterolemia, hipertensión, entre otras, además pueden prevenir la aparición de enfermedades cardiovasculares (Orona y Paredes, 2017). Hoy en día la industria de la molienda húmeda de granos se ha enfocado solo en el rendimiento de las fracciones obtenidas como el almidón, proteína, grasas y fibras principalmente en la industria del maíz; sin embargo no han profundizado en el uso de las diferentes mezclas de compuestos que salen como subproducto del proceso, los cuales pueden tener cierta capacidad biológica y funcional, que podría ser utilizada en la industria alimenticia y farmacéutica en el desarrollo de nuevos e innovadores productos (Roa *et al.*, 2017).

Existen alrededor de 60 especies, sin embargo, *Amaranthus hypochondricus*, *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus paniculatus* L. y *Amaranthus cruentus* son las tres especies que han creado fuerte interés como cultivo agrícola en los años recientes, teniendo en cuenta que superan en su composición proximal y atributos de calidad a diferentes cereales, con un alto valor nutricional de semillas y hojas (Kumar *et al.*, 2016). El amaranto se encuentra ampliamente extendido en América Central, en países como Guatemala y sureste de México, donde se cultiva y se encuentra altamente distribuida, también se tiene reporte de la producción en Ontario, Canadá para satisfacer la gran demanda, así como también en diferentes partes de la India entre otros países (Kawaljit y Kumar, 2007).

El amaranto es un pseudocereal de un gran valor nutricional al igual que la quinua, con la ventaja que no posee saponinas como factor antinutricional; en los años recientes los investigadores han realizado estudios acerca de sus propiedades, potenciales usos y consumo (Mapes, 2015). Algunas investigaciones reportan que el contenido de proteína se encuentra entre el 12 y 18 % pero la excelencia e importancia no se encuentra solo en la cantidad de proteína sino en la calidad de la misma, contando con aminoácidos esenciales que en otro tipo de cereales es deficiente (Condés, 2012). Dada las características de las proteínas de reserva del amaranto se han estudiado aislados proteicos y las interacciones proteína-proteína con respecto a sus propiedades biológicas y funcionales (Mapes, 2015; Arvanitoyannis y Van Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005).

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 LOCALIZACIÓN

El desarrollo del proyecto se realizó en los laboratorios de Semillas, Biotecnología, Reología y Plantas Piloto adscritos a la Facultad de Ciencias Agrarias, además se realizaron pruebas en el laboratorio de Aguas Residuales de la Facultad de Química de la Universidad del Cauca.

1.2 MARCO TEÓRICO

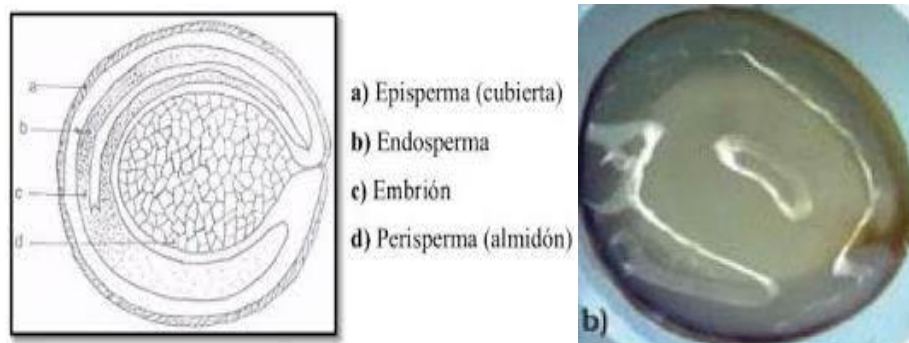
1.2.1 Materia prima. El grano utilizado para el proceso de molienda húmeda alcalina del cual se obtuvieron las fracciones proteicas (proteína-otros compuestos) para el desarrollo del presente trabajo de grado fue de la variedad *Amaranthus cruentus*, pseudocereal de gran importancia por su alto contenido de proteínas y su balance en el contenido de aminoácidos esenciales.

1.2.2 Composición y estructura del amaranto. Los granos de amaranto son muy pequeñas, con un diámetro aproximado de 0,9 a 2 mm, son lisos, brillantes, de forma lenticular, de un peso por semilla aproximadamente entre 0,6 a 1,3 mg, su color puede variar, tornándose blanco amarillento, dorado, rojo, rosado, púrpura y/o negro (Condés, 2012). La semilla de Amaranto ha cobrado importancia debido a su contenido de nutrientes donde se destaca en primera instancia su alto contenido de proteínas (12-18 %) rica en lisina y con niveles aceptables de triptófano y metionina que generalmente se encuentran en bajas concentraciones en cereales y leguminosas de consumo cotidiano, haciéndose aún más importante por su alta digestibilidad del 93 % según la FAO y la OMS. Esta semilla es fuente de folato esencial en la formación de los glóbulos rojos y material genético y es importante para la fertilidad además contribuye a la reducción y regulación de la hipertensión, arritmias cardíacas e índice glucémico (Instituto Nacional de Desarrollo Social de Mexico, 2014). La morfología de la semilla ha sido detallada y descrita por Irving *et al.*, (1981). En los cortes longitudinales del grano, donde se observa el embrión campilotropo, el cual rodea la perisperma en forma anular como se muestra en la Figura 1 a y b (Tejerina y Arenas, 2011). El perispermo es un tejido de depósito, constituido por células parenquimatosas poliédricas que alberga los depósitos de gránulos de almidón. El tejido meristemático o procambium, es decir, el pericarpio cumple la función de protección de la semilla, el cual está asociado con la perisperma, el embrión está unido a las células mediante una pared gruesa de endospermo y parte de este está unido al pericarpio y el embrión de forma anular, por otro lado, la cubierta de la semilla está limitada a una única y delgada capa con una porción externa que es la que contiene el pigmento que le confiere la coloración a la semilla (Calzetta, 1999).

Anatómicamente en el grano de amaranto se distingue tres partes principales: la cubierta, que es una capa de células muy finas conocida como episperma, una segunda capa que

está formada por los cotiledones y es la parte más rica en proteína y una capa interna rica en almidones conocida como perisperma, estas tres zonas se pueden observar detalladamente en la figura 1a,b donde el indicador de Biuret permite la diferenciación de la zona donde se concentra la mayor cantidad de proteína presentando una tinción azul a diferencia del almidón que no presenta esta coloración (Nieto, 1989; Torres *et al.*, 2018).

Figura 1. a) Corte longitudinal del grano de *Amaranthus cruentus*, caracterización morfológica. b) grano de *Amaranthus cruentus* con indicador Biuret



Fuente: Tejerina, 2011

1.2.3 Proteínas del amaranto. El contenido proteico del grano depende esencialmente de la especie a la cual pertenece puesto que estudios señalan que la especie *A. hypochondriacus* tiene un contenido de proteína del 18 %, sin embargo, la especie *A. cruentus* tiene un contenido proteico que varía entre el 12 – 18 % (Irving *et al.*, 1981; Bressani y Rodas, 1989). Los aminoácidos presentes en el grano son triptófano, treonina, metionina y otros aminoácidos esenciales, cabe resaltar que no carece de lisina (0,34 g Lys/g N) por consiguiente tienen una alta eficiencia proteica ya que este no resulta el aminoácido limitante como en muchos cereales y pseudocereales (Roa, 2015). Otras proteínas que constituyen al grano son las globulinas entre 22 y 42 % siendo ricas en lisinas y aminoácidos azufrados (Paredes *et al.*, 1994) además glutelinas y albuminas las cuales son fuentes de reserva del grano (Petras *et al.*, 2013). Las globulinas presentes en el amaranto se pueden clasificar en fracciones de globulinas 11S y globulinas P, donde las primeras se encuentran organizadas en hexámeros, caracterizadas por ser solubles en soluciones salinas neutras, al contrario resulta con las globulinas P que a esas condiciones se comportan de manera insoluble formando agregados de alto peso molecular, estabilizado por puentes disulfuros, además esta proteína presenta una alta estabilidad térmica, por otro lado las glutelinas se encuentran entre 14 y 18 %, constituidas por subunidades que unen a través de enlaces disulfuro teniendo solubilidad en pH extremos (Castel, 2010). Otras de las proteínas representativas en el grano de amaranto son las albúminas estando presentes en 49 % y 68 %, tienen una alta solubilidad, además estructuralmente están conformadas por polipéptidos de masas moleculares de 10 a 40 kDa, estas a diferencia de las gluteninas no se encuentran unidos por enlaces disulfuro, y tienen una baja estabilidad térmica con una temperatura de desnaturalización alrededor de 60 °C, también se ha encontrado que dentro de su estructura hay alto grado de β -plegadas que corresponde a estructuras secundarias y una baja proporción de las estructuras terciarias (Castel, 2010). El grano de amaranto tiene proteínas que presentan estas

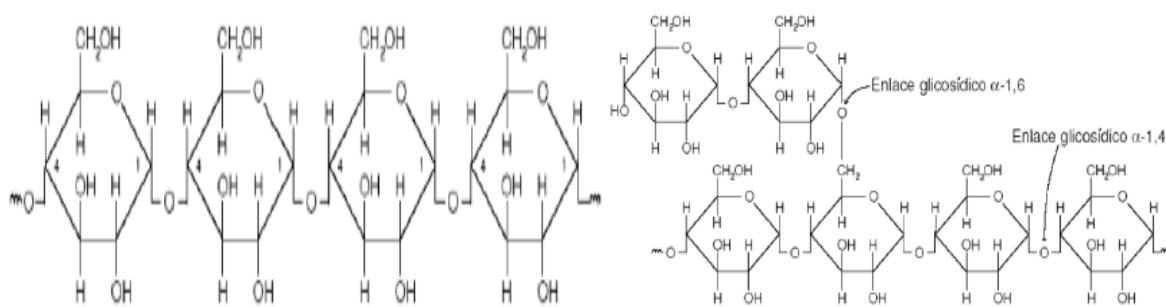
estructuras; en general las proteínas dependen de su composición química y la estructura tridimensional, siendo definida la estructura primaria como la cadena de aminoácidos que la componen y es la secuencia de aminoácidos los que contiene la información que da lugar a la estructura tridimensional donde se encuentran las estructuras secundarias que tienen patrones repetitivos y ordenados como las α -hélice y las β -láminas y giros, que generalmente se encuentran conectadas por regiones (Degreve *et al.*, 2014).

1.2.4 Lípidos del amaranto. La fracción lipídica se encuentra entre el 6 y el 10 %, sin embargo, otras variedades reportan hasta un 19,3 % (*A. tenuifolius*) (Ventureira, 2010; Ariza *et al.*, 2016). Su semilla contienen alto contenido de grasas mono y poliinsaturadas como el ácido linoleico (70 %), seguido del ácido oleico (25 %), de gran importancia en la dieta por su beneficio a la salud, disminuyendo el riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, otros de los ácidos presentes son el palmítico y el esteárico los cuales se clasifican como saturados (Petras, 2009), también se destaca la presencia de escualeno que representa alrededor del 5 al 8 % del total del aceite, siendo un potente antioxidante y fortalecedor del sistema inmune (Petras *et al.*, 2013; Algara *et al.*, 2013).

1.2.5 Fibra dietaria y otros micronutrientes. El amaranto es considerado una buena fuente de fibra dietaria que representa alrededor del 20 % del grano, la cual ejerce un efecto positivo en la salud, al promover el bienestar digestivo, reducir la incidencia de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo II (Aleixandre y Miguel, 2008). Entre los minerales que se encuentran en el amaranto con mayor importancia nutricional están el hierro, calcio, zinc y fósforo con cantidades superiores a los tradicionales: hierro 10 mg/g, calcio 162 mg/100 g, fósforo 400 mg/100 g, en cuanto a vitaminas contiene riboflavina, niacina, ácido ascórbico y fólico, tiamina, biotina, b-caroteno, este grano es un alimento completo y con bajos factores que afecten la nutrición humana (Recalde y Fierro, 2013; Roa, 2015).

1.2.6 Almidón del amaranto. El almidón es un polisacárido que representa una fuente de energía de reserva con un contenido que se encuentra entre el 50 % y 60 % (Tovar, 2008). Este polisacárido se encuentra constituido por dos estructuras amilosa y amilopectina las cuales se presentan en la Figura 2.

Figura 2. Estructura de las moléculas de amilosa y amilopectina

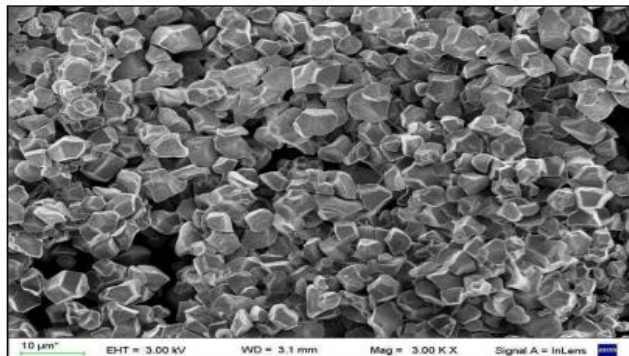


Fuente: Meneses *et al.*, 2007

La amilosa y la amilopectina están conformadas por unidades de glucosa, en el caso de la amilasa se encuentran unidas a través de enlaces glucosídicos α (1-4) y un leve grado de ramificaciones en enlaces α (1-6), dando lugar a cadenas lineales, por otro lado, la fracción de amilopectina del almidón, presenta una cadena ramificada con enlaces α 1-4 y α 1-6 (Acosta y Blanco, 2013; Meneses *et al.*, 2007). La funcionalidad y propiedades como la resistencia mecánica y la flexibilidad del almidón están relacionadas con la región cristalina, la cual depende de la relación amilosa y amilopectina, grado de ramificación y de la distribución del peso molecular. (Peñaranda *et al.*, 2008), también se tiene en cuenta las diferentes características del almidón, no sólo la morfología y el tamaño del gránulo, sino también la calidad y la composición que posee, están muy relacionadas con la procedencia de la fuente vegetal de la cual se obtiene (Peñaranda *et al.*, 2008) y a su vez puede variar las características entre la misma especie.

En el grano de amaranto se encuentra que el almidón tiene gránulos que presentan diámetros que varían entre 0,5 y 2 μm como se presentan en la Figura 3 y posee una digestibilidad que varía entre 2,4 y 5 veces mayor al almidón de maíz debido al tamaño (Marcone, 2001). La estructura del almidón está constituida principalmente por amilopectina, ya que solo contiene de 3 a 8 % de amilosa, lo cual varía dependiendo de la especie, así como también del grado de madurez (Choi *et al.*, 2004). El almidón del amaranto tiene un alto potencial tecnológico (Tovar, 2008), donde se han encontrado tres tipos de almidones basado en el contenido de amilosa: normal (19.4 - 27.8 % de amilosa) waxy o glutinoso (0 a 1 % de amilosa) y no waxy o no-glutinoso de 6.6 a 12.6 % de amilosa, siendo el glutinoso apropiado para la industria panadera de productos que no necesiten expansión porque carecen de gluten funcional (Tapia *et al.*, 2010).

Figura 3. Granulo de almidón del amaranto



Fuente: Roa, 2015

1.2.6.1 Gelatinización del almidón. El almidón crudo no es digerible por el organismo humano debido a su estructura compleja, tamaño y semicristalinidad, por lo tanto, es necesario utilizar procesos que permitan transformarlos como la combinación de calor y humedad (Kawaljit y Kumar, 2007). El proceso más empleado es la gelatinización donde ocurre una transición de orden y desorden de los polímeros del almidón debido a el calentamiento y al hinchamiento de los gránulos que pueden formar micelas hidratadas por su capacidad para formar puentes de hidrogeno con el agua y formar una estructura

helicoidal, el resultado de estas condiciones tiene efecto en la pérdida de semicristalinidad, la hinchazón del gránulo (Avanza *et al.*, 2004), que al final afecta en el procesamiento, calidad y estabilidad de los productos elaborados a partir de almidón (Knutzon y Grove, 1994, Mark *et al.*, 2004).

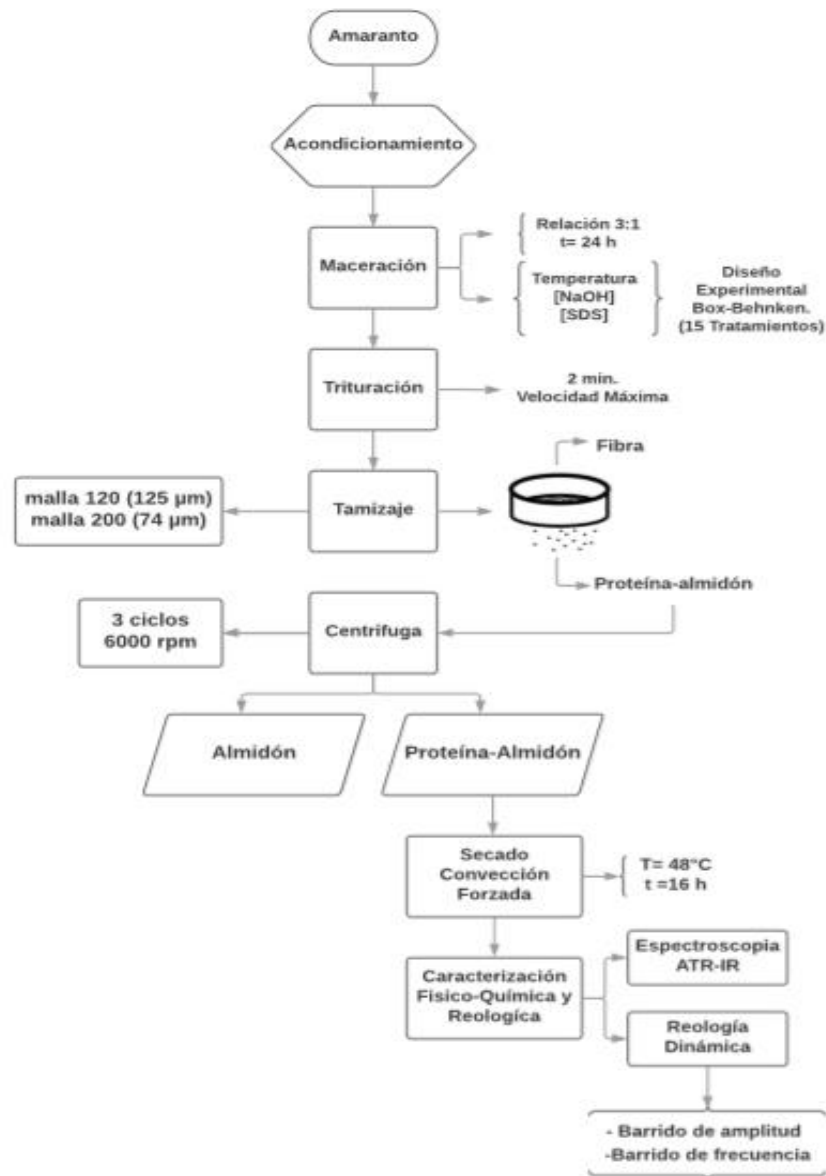
El almidón no presenta cambios cuando se encuentra en una suspensión de agua fría, porque presenta fuertes uniones intermoleculares en las áreas cristalinas, siendo afectado cuando las temperaturas alcanzan 60 a 75 °C, este rango puede variar dependiendo del tipo de almidón y de otros factores intrínsecos como tamaño del grano, velocidad de calentamiento, entre otros (Parker y Ring, 2001). Con el aumento de la temperatura en solución acuosa se presenta de igual manera un aumento del volumen de los gránulos debido a la absorción de agua por los grupos polares hidroxilos, lo cual provoca la formación de nuevos enlaces que envuelven moléculas de agua (Stone *et al.*, 1984). Sin embargo, la gelatinización no se presenta al mismo tiempo para todos los gránulos porque los que presentan mayor tamaño tienden a absorber agua antes que los pequeños, otros factores que inciden, es la variedad de almidón, contenido de amilosa y amilopectina, pH, cantidad de agua agregada y contenido de sales (Paredes *et al.*, 1994). Otro de los comportamientos ligados a molécula del almidón es la retrogradación, donde el almidón previamente gelatinizado es almacenado a una temperatura ambiente o de refrigeración, entonces las moléculas de almidón se aglomeran, provocando un aumento de la cristalinidad dentro del gel; por lo cual resulta una estructura ordenada dentro del mismo (Kawaljit y Kumar, 2007).

1.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

1.3.1 Molienda húmeda. Es un proceso donde se utilizan aditivos químicos en solución acuosa con el fin de separar componentes del grano como almidón, proteína, fibra y aceites. A nivel industrial, el uso de molienda húmeda es realizada a pocos cereales tales como maíz, trigo y arroz (Calzetta, 2006). Sin embargo, la molienda húmeda en granos de amaranto ha sido desarrollado a escala piloto (Roa, 2015). A escala de laboratorio se han desarrollado métodos para la molienda húmeda del grano de amaranto como se muestra en la Figura 4, en los que se realizan dos pasos, en donde se utilizan soluciones alcalinas o ácidas, proceso en el cual la solución se difunde en el grano, suavizando y degradando la estructura intercelular y desprendiendo el germen del grano, esto con el fin de que la etapa de molido sea más eficiente, posteriormente se realiza una separación mecánica que aprovecha las diferencias en las propiedades físicas del grano como densidad y tamaño de partícula, de las fracciones de almidón, proteína, germen y fibra.

Debido a las características y condiciones de la molienda húmeda y que es un proceso difusivo su velocidad depende en gran medida de la temperatura manejada y la presencia o no de productos químicos (Calzetta y Tolaba, 2009). Sin embargo, Calzetta (2006), encontró que en soluciones diluidas en agentes químicos como hidróxido de sodio y bisulfito de sodio aumentan la tasa de absorción de agua y los niveles de saturación de humedad, así mismo las condiciones de temperatura, tipo y concentración de producto químico pueden afectar las características de la molienda húmeda en cuanto a cantidad y calidad de las fracciones recuperadas del proceso.

Figura 4. Esquema de la molienda húmeda del grano de Amarantho



1.3.2 Molienda húmeda alcalina. Roa *et al.*, (2014) utilizaron una solución alcalina de hidróxido de sodio con el fin de obtener almidón nativo de amaranto, la cual fue asistida por un molino planetario que favorece la disgregación de la matriz almidón-proteína. También Kumar *et al.*, (2016), utilizaron el hidróxido porque facilita la solubilización de proteína permitiendo una mayor extracción y calidad del almidón para el *Amaranthus paniculatus* *rajgeera* y *Amaranthus chaulai*. Sin embargo, en este momento se han desarrollado pocos trabajos sobre el grano de amaranto (Roa *et al.*, 2014). Dado el alto contenido de almidón en el grano de amaranto la industria se ha enfocado en la obtención solo de esta fracción para usar como ingrediente funcional en alimentos como pudines, sopas y aderezos para

ensaladas, por lo tanto los procesos son muy similares variando en los productos químicos utilizados para la separación de proteínas, sin embargo estos reactivos a altas concentraciones dañan la calidad del almidón (fracciones amiloproteicas) y aumentan los costos de producción, además debido al tamaño del granulo del almidón y al alto contenido de proteína, se buscan métodos que puedan mejorar el procesamiento sin dañar sus propiedades, características y estructuras. Uno de esos métodos es la combinación de productos álcali con la hidrólisis de proteasas (Villareal *et al.*, 2013) debido a un alto rendimiento en recuperación de almidón con bajos contenidos de proteína porque las enzimas proteolíticas aumentan a la solubilidad de las proteínas en el grano (Spanheimer *et al.*,1972).

1.3.3 Molienda húmeda ácida. Roa *et al.*, (2017) buscaron evaluar la fracción proteica a partir de una molienda húmeda utilizando un medio ácido para el aislamiento del almidón , investigando el efecto de la temperatura y la concentración de dióxido de azufre (SO₂), el cual propicia que los enlaces o puentes disulfuros se rompan debilitando la estructura de la matriz proteica que retiene los gránulos de almidón, este proceso también conlleva a la reducción del peso molecular de las proteínas haciéndolas más hidrófilas, liberando el almidón de la matriz proteica con mayor facilidad, aumentando su rendimiento, durante el proceso de maceración se reduce la concentración de iones bisulfito en la solución debido a las interacciones con la proteína (Ponce, 2015).

1.3.4 Molienda enzimática. Para obtener un mejor aislamiento del almidón, se han realizado estudios de la molienda húmeda convencional con adición de enzimas, debido a que la solubilidad de las proteínas aumenta en presencia de enzimas proteolíticas, también se ha realizado la etapa de maceración en presencia de múltiples enzimas con dióxido de azufre para mejorar la separación del almidón y reducir el tiempo de remojo (Villareal *et al.*, 2013). Algunas de las enzimas más utilizadas para la hidrolisis enzimática en la molienda húmeda son α -amilasa, β -amilasa, las cuales hidrolizan enlaces α -1,4 en puntos internos y externos respectivamente, pululanasa enzima que actúa sobre los enlaces α -1,6, es decir, es una enzima de carácter desramificante, por otro lado, se encuentra la glucoamilasa la cual es capaz de hidrolizar α -1,4 y α -1,6, teniendo mayor afinidad por el primero (Sepúlveda, 2016).

1.4 OPERACIONES

1.4.1 Reducción de tamaño. Este proceso es aplicable a partículas sólidas que se puedan cortar o romper en piezas más pequeñas, siendo el objetivo tener el material en tamaños manejables, también se aumenta la reactividad de los sólidos al tener mayor área expuesta a un determinado medio, favoreciendo la separación de diferentes componentes mediante medios mecánicos, los sólidos se pueden romper de diversas maneras pero por lo general se utilizan compresión, impacto, frotación o rozamiento y corte, empleándose de acuerdo a las características del sólido. Los equipos para la reducción de tamaño varían desde trituradores, molinos, molinos de ultrafinos y máquinas de corte, hasta equipos menos industriales como una licuadora (McCabe *et al.*,1991).

1.4.2 Tamizado. Es un método de separación que se basa exclusivamente en el tamaño de las partículas, en el que los sólidos se colocan sobre una serie de tamices que constan de una tela metálica, los cuales se hacen vibrar mecánica o manualmente, haciendo que las partículas más finas pasen a través de las aberturas del tamiz, mientras que las de mayor tamaño no pasan (McCabe *et al.*, 1991). Dadas las características del proceso y aprovechando las diferencias de tamaño entre el almidón, proteína, fibra y sólidos solubles, se utilizaron tamices con mallas de diferente abertura para facilitar la separación de componentes en la lechada.

1.4.3 Centrifugación. Se basa en la aplicación de la fuerza centrífuga en cambio de la fuerza de gravedad, incrementando la velocidad de sedimentación y disminuyendo las áreas y tiempo de trabajo, en este método la solución entra en la centrífuga y es sometida a movimiento circular, dirigiendo las partículas más pesadas que el fluido hacia el exterior, el proceso es posible gracias a las diferencias de densidad y tamaño de los componentes presentes en la solución, además de la velocidad utilizada (Alvarado y Ramírez, 2013).

1.4.4 Secado. Consiste en retirar agua u otro líquido de un material sólido, hasta un valor de humedad aceptable o el valor deseado, la humedad de los materiales se puede retirar con ayuda de operaciones mecánicas utilizando prensas o centrifugas, o por métodos térmicos mediante la evaporación, siendo más económico el primero, razón por la cual se recomienda reducir el contenido de humedad tanto como sea posible mecánicamente antes de alimentar el material a un secador térmico. Generalmente el secado es la etapa final de una serie de operaciones, en las que se obtiene un producto listo para ser empacado, o en este caso el producto final tiene las condiciones óptimas para el análisis posterior (McCabe *et al.*, 1991).

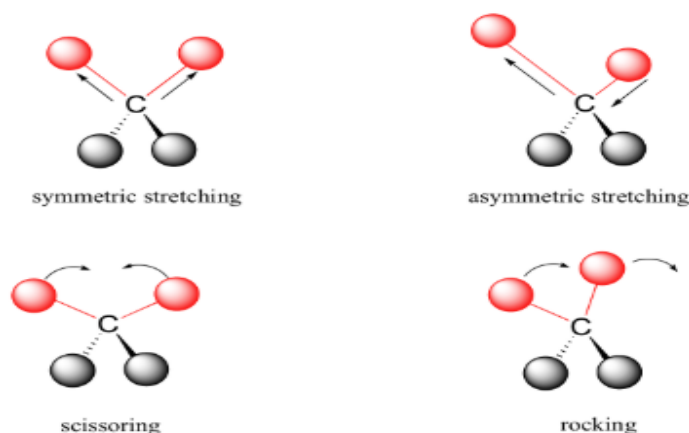
1.5 CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL

1.5.1 Espectroscopia infrarroja (FTIR). La técnica consiste en analizar la radiación infrarroja que es absorbida por un compuesto, de tal manera que el espectro infrarrojo registra la radiación transmitida frente a la frecuencia de la radiación incidente generando un espectro específico de la estructura (Miller y Dumas, 2010). Para que resulte posible la asignación de picos de absorción a grupos funcionales específicos es necesario que la frecuencia vibracional de la onda electromagnética usada sea la misma que la radiación absorbida del enlace (Bonda *et al.*, 2011; Didonna *et al.*, 2011).

La región infrarroja del espectro electromagnético se encuentra entre 10 a 14000 cm^{-1} , dividida en tres secciones: cercana, media y lejana. El IR cercano NIR 14000-4000 cm^{-1} , IR medio: 4000-400 cm^{-1} ; IR lejano: 400-10 cm^{-1} (Larrañona *et al.*, 2001). El mayor uso en las aplicaciones se da a través del IR medio, útil para aplicaciones analíticas tradicionales, la región lejana se utiliza para el estudio de compuestos organometálicos e inorgánicos, y por último la región cercana es empleada para determinaciones cuantitativas (Larrañona *et al.*, 2001; Garip, 2009). Esta técnica es una de las herramientas más importantes disponibles para identificar tipos de enlaces químicos en una molécula mediante la obtención de un

espectro, siendo rápida, sensible, no destructiva, de fácil presentación y manejo (Rees, 2010). También se puede utilizar para cuantificar algunos componentes de una mezcla desconocida, sin importar el estado en que se encuentre la muestra, ya sea líquido, soluciones, pastas, polvos, películas, fibras, gases o superficies (Stuart, 2005). El principio básico de esta técnica se basa en la excitación de grupos moleculares por un haz de luz infrarroja (2.5 a 15 μm ; equivalentes a número de onda comprendido entre 4000 a 650 cm^{-1}) que genera movimientos vibracionales en los enlaces de la molécula (Kowalska y Gajdab, 2012). Las moléculas pueden presentar una serie de bandas de absorción que son los que conforman los espectros, cada banda corresponde a un movimiento de vibración específico dentro de la molécula, lo anterior es conocido como la “huella dactilar” del compuesto (Miller y Dumas, 2010). Los movimientos vibracionales pueden ser de tensión o de flexión y esto depende del desplazamiento generado por los enlaces en donde las vibraciones de flexión inducen a un estiramiento o estrechamiento del enlace y las vibraciones de flexiones generan una deformación del enlace (Gazi *et al.*, 2005). También se presenta movimientos simétricos y asimétricos, en los primeros se identifican porque los enlaces se desplazan en direcciones contrarias y los segundos lo hacen con un movimiento en la misma dirección o sentido como se muestra en la Figura 5 (Bonda *et al.*, 2011; Gazi *et al.*, 2005; Miller y Dumas, 2010).

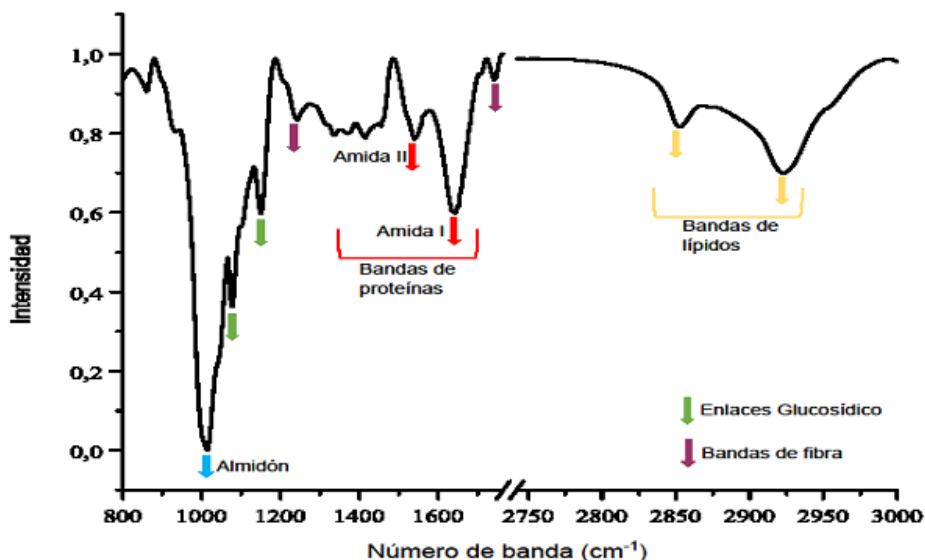
Figura 5. Movimientos vibracionales de tensión y flexión de los enlaces de un grupo metilo



Fuente: Barraza *et al.*, 2013.

El análisis de la espectroscopía infrarroja mediante la ley de Fourier permite determinar las modificaciones químicas en diversos procesos a los que se someten los alimentos. Estudios demuestran que el amaranto ha sido sometido a esta técnica como también sus películas biodegradables (Shrestha *et al.*, 2010; Roa *et al.*, 2015). Moléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos entre otras presentes en una muestra biológica tiene cada una un espectro infrarrojo específico, donde en su mayoría los componentes de enlaces químicos tienen movimientos vibracionales con frecuencias dentro del infrarrojo medio (4000 a 650 cm^{-1}) (Kowalska y Gajdab, 2012). En la Figura 6 se muestra las diferentes bandas pertenecientes a grupos estructurales específicos, donde se aprecia la banda de almidón y los denominados enlaces glucosídicos, además de las amidas I, II, asociadas a la proteína, como también se identifica las bandas pertenecientes a los lípidos.

Figura 6. Espectro de grupos funcionales del amaranto



Fuente: Roa, 2015.

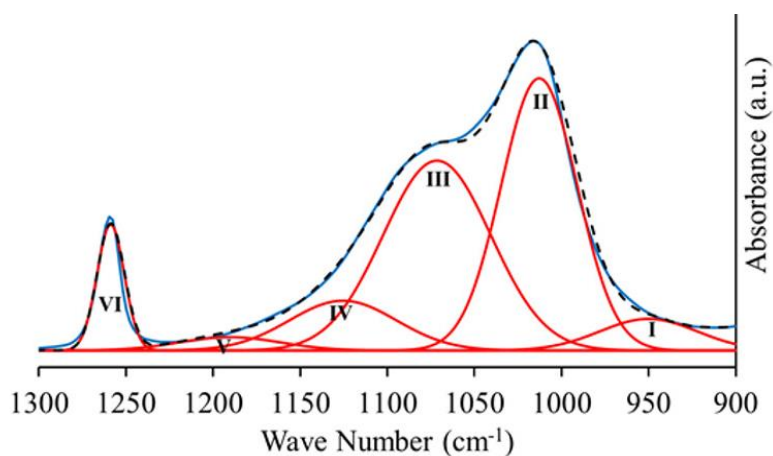
El espectro FTIR de una proteína muestra las bandas características donde identifican las bandas de amida I (1600–1700 cm^{-1}) como resultado de la vibración de estiramiento del enlace $\text{C}=\text{O}$, y la amida II (1540–1560 cm^{-1}) a la flexión del enlace N-H y al estiramiento C-N . (Barraza *et al.*, 2013) El FTIR es sensible a la estructura secundaria de la frecuencia de vibración de la banda amida I, donde resulta afectada por diferentes entornos de enlace de hidrógeno para estructuras α - hélice, β -hoja-giro con frecuencias vibratorias de amida I a aproximadamente 1655 y 1630 cm^{-1} , respectivamente (Barraza, *et al.*, 2013; (Szczerbowska-Boruchowska *et al.*, 2007). Esta técnica permite también conocer características de absorción dominantes de un espectro lipídico con una región (3000-2800 cm^{-1}), con vibración de los enlaces metilos C-H , que se encuentran en las bandas 2956 y 2874 cm^{-1} , como también se encuentran las vibraciones de los CH_2 en las bandas 2922 y 2852 cm^{-1} , por otro lado se encuentra la banda de absorción entre 1750 y 1720 cm^{-1} , que corresponde al grupo éster presente en los lípidos. (Miller y Dumas, 2010). También en el estudio del almidón y enlaces glucosídicos, se encuentran bandas entre 2900-3000 cm^{-1} para el estiramiento del enlace C-H , 1100-1150 cm^{-1} del estiramiento de C-O , C-C y CO-H , y 900-1100 cm^{-1} del enlace C-O-H (Miller y Dumas, 2010). Las bandas que están en la región de 900-1100 cm^{-1} son sensibles a los cambios en la estructura del almidón, donde las bandas 1000, 1022 y 1047 cm^{-1} , han sido las más estudiadas, pertenecientes a las regiones cristalino-amorfa del almidón.

1.5.2 Espectroscopía infrarroja con ATR (FTIR-ATR). La espectroscopía infrarroja puede realizarse con un con un accesorio ATR (Reflexión Total Atenuada), donde el haz de luz de IR ingresa al elemento ATR, es decir, al cristal con un elevado índice de refracción, el rayo IR ingresa en un ángulo crítico entre el accesorio y la muestra, donde el IR se refleja varias veces dentro del cristal en forma de onda evanescente, decayendo exponencialmente con la distancia, por lo tanto la profundidad de penetración será una

fracción de su longitud de onda. Si en el lado exterior del cristal se coloca un material absorbente, la luz que viaja a través del cristal se verá atenuada y se puede registrar el espectro de la muestra (Pemble y Gardner, 2009). Esta técnica originalmente fue diseñada para muestras en estado líquido sin embargo con el paso del tiempo, su uso se ha extendido para muestras en polvo, así como para investigar propiedades superficiales de sólidos o películas. En la actualidad es la técnica de interacción más frecuente utilizada por su versatilidad y porque no necesita preparación de muestra (Barraza *et al.*, 2013).

1.5.3 Deconvoluciones de los espectros. Consiste en un tratamiento matemático que permite aumentar la resolución y la calidad de la función original, para analizar ciertas regiones de los espectros, donde las bandas de los espectros IR mediante la función de transformada de Fourier pueden reducirse y así observar las zonas con mayor determinación debido a que la resolución de características espectrales se superponen completamente (Mejía *et al.*, 2012), obteniéndose espectros con bandas más estrechas donde se distinguen bandas de frecuencia similar. La aplicación de deconvoluciones busca contrarrestar los inconvenientes que se presentan para interpretar espectros de infrarrojo por la presencia de solapamiento de bandas que se producen en las diferentes longitudes de onda, debido a la absorción de la radiación de diferentes enlaces moleculares que vibran en una frecuencia muy próxima, lo cual genera un aumento de la amplitud de la banda (Stuart, 1996). Existen diferentes softwares y espectrofotómetros que tienen tratamientos para corregir la dispersión de la radiación que afectan los espectros. La aplicación de esta técnica es ampliamente usada para estudios de proteínas secundarias, donde se encuentran las estructuras α hélice, β -láminas, giros, relacionadas a especialmente a la banda amida I (Kong y Yu, 2007). También tiene gran valor para determinar la afectación de la región cristalina y amorfa del almidón de diferentes alimentos, aportando información que ayuda a predecir el comportamiento durante su transformación, por otro lado resulta de gran importancia en estudios de diferentes materiales un ejemplo se presenta en la figura 7, donde se aprecia el espectro FTIR y las deconvoluciones en la misma región con las bandas superpuestas estudiando la hidrofobicidad de películas delgadas de sílice (Saputra *et al.*, 2018).

Figura 7. Espectro y deconvoluciones película de sílice



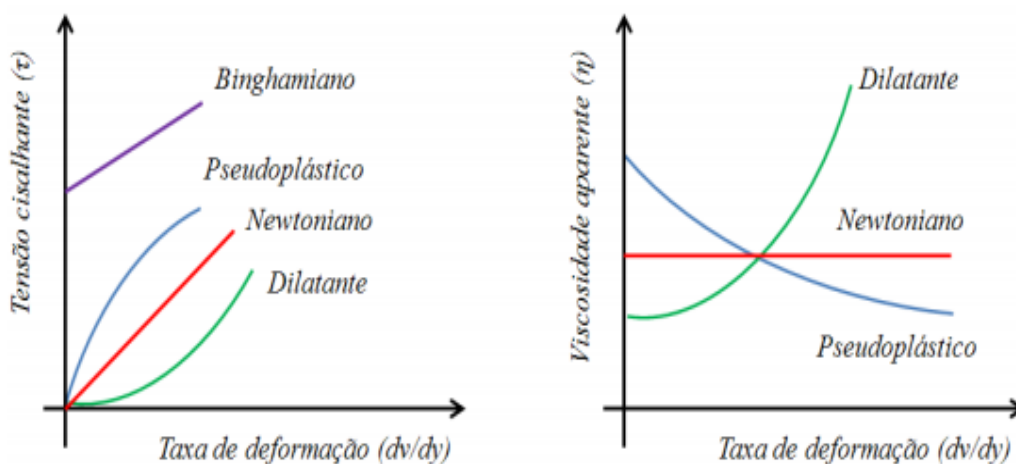
Fuente: Riza Eka Saputra *et al.*, 2018.

1.6 DETERMINACIÓN DEL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

Las propiedades reológicas de un almidón o mezcla proteína-almidón son muy importantes puesto que permite establecer variables de proceso de extracción, ya que estos productos son ampliamente usados en la industria como estabilizante de suspensiones, espesante, texturizador, por ende, es necesario determinar dicho comportamiento, ya que las condiciones del proceso de extracción pueden ocasionar cambios en la estructura de los componentes (Roa, 2015; Suárez *et al.*, 2017). Generalmente, los estudios para determinar el comportamiento reológico de una muestra son mediante el viscoamilografo, viscosímetros rotatorios que permiten medir la viscosidad de las pastas de almidón, pero el reómetro permite determinar las propiedades viscoelásticas de la muestra en este caso la mezcla proteína-almidón de amaranto, con estos resultados se puede relacionar su composición química, estructural y cambios de funcionalidad. Algunos trabajos evaluaron algunas características químicas, físicas y reológicas de almidones de especies de amaranto (Roa *et al.*, 2017).

1.6.1 Ensayo de flujo. Determina la variación de la viscosidad con respecto la velocidad de cizalla, en este la velocidad de corte se incrementa manteniendo la temperatura constante, con esta prueba se permite establecer el tipo de comportamiento del material. Es uno de los ensayos más tradicionales en reología de fluidos, que permiten distinguir entre un comportamiento newtoniano y no newtoniano, y consiste en determinar la influencia de la velocidad de deformación por cizalla sobre el esfuerzo de cizalla, dichos ensayos se pueden realizar variando la velocidad angular en reómetros rotacionales y midiendo el par de torsión correspondiente (Jimenez *et al.*, 2017).

Figura 8. Curvas de flujo para distintos comportamientos



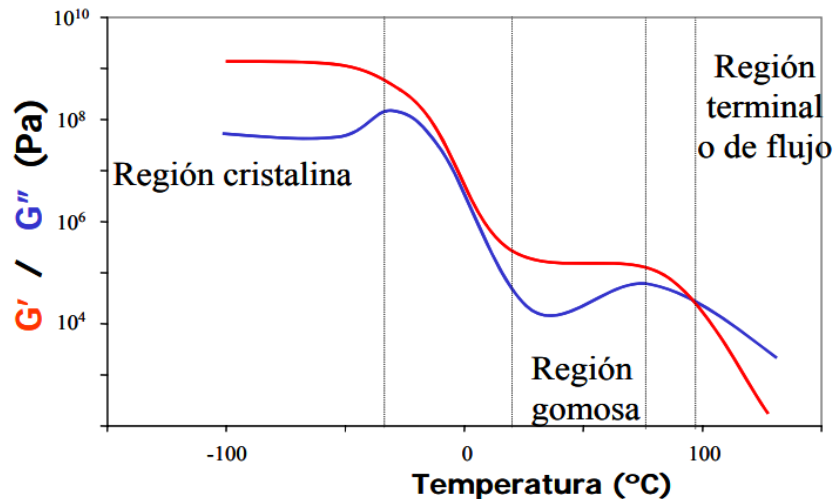
Fuente: Jiménez, 2017.

En la Figura 8 se observa que el comportamiento dilatante lo presentan fluidos que aumentan su viscosidad al incrementar la velocidad de cizalla que se le aplica a causa de

la reorganización en su estructura. El comportamiento pseudoplástico es el más común y se presenta en fluidos donde se ve reducida su viscosidad al aumentar la velocidad de deformación. Este comportamiento se da en emulsiones, suspensiones o dispersiones (Herrero *et al.*, 2017). La viscosidad de la mayoría de sustancias puede verse afectada sensiblemente por variables como la naturaleza de la muestra, la temperatura, la presión, la velocidad y el tiempo de cizalla, e incluso se habla que la presencia de campos eléctricos y electromagnéticos pueden afectar la viscosidad; siendo de todas estas variables la velocidad de cizalla la más importante desde el punto de vista reológico, por eso algunos modelos como el modelo de Newton asume que existe proporcionalidad directa entre el esfuerzo aplicado y el gradiente de velocidad producido, en consecuencia tenemos que la representación gráfica del esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla se denomina curva de flujo (Moreno, 2005).

1.6.2 Barrido de temperatura. Son ensayos que se realizan a frecuencia de oscilación constante y son aplicados normalmente al estudio de miscibilidad de polímeros, procesos de gelificación, curado y cristalización en la que normalmente se distingue a bajas temperaturas una zona en las que el módulo elástico alcanza una meseta que posee módulos relativamente elevados, que posteriormente con un aumento de temperatura provoca una disminución de ambos módulos, que alcanza una segunda meseta en el módulo elástico conocida como región gomosa o cauchosa, finalmente con un aumento mayor de temperatura provoca un desmoronamiento en la estructura del material alcanzando la zona llamada terminal o de flujo como se muestra en la figura 9. (García, 2018).

Figura 9. Comportamiento del módulo elástico de un polímero frente a la temperatura

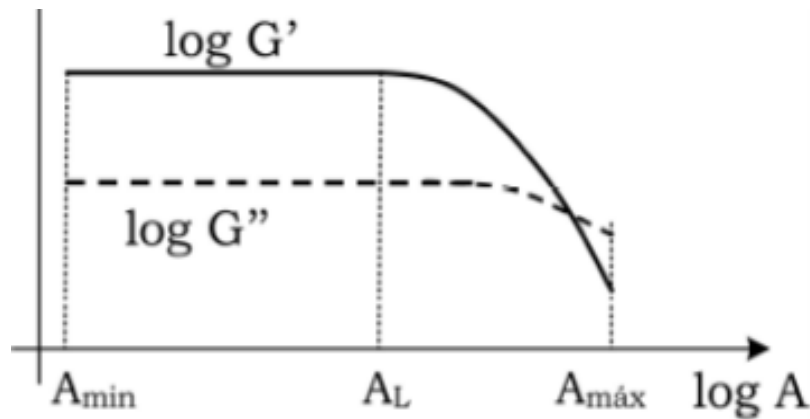


Fuente: García, J, 2008.

1.6.3 Barrido de amplitud. Consiste en un estudio elástico del fluido que permite determinar la zona de relación lineal entre la deformación y la respuesta de los módulos de almacenamiento (Sanchez, 2017). En este ensayo se mantiene constante la frecuencia

de la oscilación y se varía de forma creciente la amplitud de la misma con lo que se modifica la intensidad de la acción mecánica sobre el sistema y así determinar el valor de amplitud que delimita la región de respuesta lineal del sistema, este comportamiento se puede observar en la figura 10. (Rubio *et al.*, 2015).

Figura 10. Estudio del barrido de amplitud



Fuente. Sánchez, 2017.

1.6.4 Barrido de frecuencia. Son normalmente empleados para la caracterización de materiales manteniendo una temperatura constante teniendo en cuenta el principio de equivalencia entre tiempo, frecuencia, temperatura, así como también se utilizan para comparación de efectos de varios ingredientes en un mismo tipo de alimento, estos muestran como los comportamientos elásticos y viscosos de un material cambian con la velocidad de esfuerzo y deformación (Guerrero y Llerena, 2015), en este ensayo se mantiene fija la amplitud de la oscilación variando la frecuencia con lo que obtiene información sobre la respuesta del material en función de la duración de la acción mecánica (Rubio *et al.*, 2015). Es decir, en los ensayos de reología dinámica se aplica de forma oscilatoria una deformación o velocidad de deformación sobre un fluido para medir la amplitud de la respuesta del esfuerzo cortante y del ángulo de fase entre el esfuerzo cortante y la deformación. Este tipo de ensayo permite determinar la proporción entre el componente elástico y viscoso de un material y así cuantificar en qué medida se comporta como sólido o como líquido, a través de funciones viscoelásticas, tales como el módulo complejo G^* (Tirado *et al.*, 2014).

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad (\text{Ec.1})$$

Donde G' es el módulo de almacenamiento y representa el componente elástico del producto y G'' es el módulo de pérdidas y representa su carácter viscoso.

$$G' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \cos \delta \quad (\text{Ec.2})$$

$$G'' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \text{sen } \delta \quad (\text{Ec.3})$$

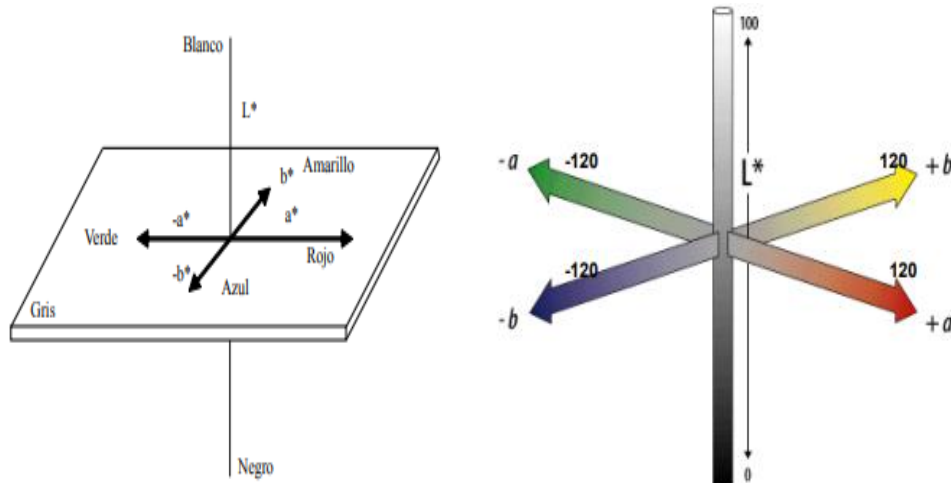
Donde τ_0 corresponde a la amplitud de las ondas del esfuerzo, γ_0 la deformación y δ es el ángulo de desfase. Si el fluido es puramente elástico, $\delta=0^\circ$, $G^*=G'$ Y $G''=0$; mientras que en un fluido viscoso ideal $\delta=90^\circ$, $G^*=G''$ Y $G'=0$ (Tirado *et al.*, 2014).

1.7 PROPIEDADES FÍSICAS

1.7.1 Colorimetría. La caracterización física a través de la percepción visual humana ha sido usada para diferentes procesos, sin embargo, es subjetiva variando de un individuo a otro, (Novoa y Ramírez, 2012; Otlés, 2008) convirtiéndose en una técnica lenta y de preparación especializada de los observadores (León *et al.*, 2006) por lo tanto se han buscado diferentes métodos que permitan una objetividad, así como también obtener resultados de manera cuantitativa. La colorimetría es un método físico no destructivo que ha tenido auge para determinar el color de una muestra, tratando de imitar la respuesta humana promedio a las longitudes de onda de luz cómo una persona ve el color a través del espectro visible reproduciendo matemáticamente la fisiología de la visión humana a partir de valores triestímulos, permitiendo la comparación el análisis sensorial debido a que convierte en números para medir, comparar y reproducir diferentes colores (Santos, 2009), por lo cual tiene múltiples aplicaciones en la industria, como lo es el control de calidad de productos textiles, de pinturas, y en alimentos (Carvajal *et al.*, 2011; Ramos *et al.*, 2008). Existen diferentes modelos propuestos (Carreño *et al.*, 1995; Mendoza *et al.*, 2006) para facilitar la especificación de objetos en colores de una forma estándar. Los diferentes modelos plantean un sistema de coordenadas tridimensional en el cual se define un sub espacio donde cada color queda definido por un punto único.

El modelo más utilizado es el CIELab siendo el que más se asemeja a la percepción humana donde se han definido tres coordenadas L^* a^* b^* con magnitudes adimensionales (Hunt y Pointer, 2011). La coordenada acromática L^* es la luminosidad o claridad y representa si un color es oscuro, gris o claro, varía desde 0 para negro hasta 100 para blanco, la coordenada a^* corresponde a rojo si $a^* > 0$, o a verde si $a^* < 0$. La coordenada b^* corresponde al amarillo si $b^* > 0$, y al azul si $b^* < 0$, las coordenadas a^* y b^* van desde -120 hasta 120 y forman un plano perpendicular a L^* (Dominguez *et al.*, 2012; León *et al.*, 2006), como muestra la figura 11. También se resalta que las coordenadas a^* y b^* definen el tono y el croma en el espacio donde el color se identifica mejor como un vector que presenta las coordenadas (a^* , b^* equivalen a 0,0) siendo el origen del plano cartesiano y se extiende más allá de las coordenadas de color real a^* , b^* de la muestra a una rueda de color circundante. El ángulo que se crea, conocido como el ángulo de tono del color, es un indicador del color presente a lo largo del perímetro de la rueda de color (Hunt y Pointer, 2011), por otro lado el croma, como se usa en el sistema de color Munsell, y se puede considerar como la distancia desde un color neutral con valores a^* y b^* que equivalen a 0, a los valores reales medidos de ese color (Fairchild, 2013). Los colores tienen una mayor cromaticidad y aparecen más vibrantes a medida que uno se acerca al exterior (en un eje a^* o b^*) y se silencian más hacia el interior (Fairchild, 2013).

Figura 11. Espacio de color CIELab



Fuente: Fairchild, 2013.

1.8 MARCO HISTÓRICO

1.8.1 Antecedentes. El amaranto es una dicotiledónea de la familia *Amaranthaceae*. Perteneció al género *Amaranthus* que comprende aproximadamente 60 especies, las cuales se pueden cultivar tanto para la producción del grano como para verdura (forraje), las tres principales especies cultivadas para la producción de grano son *A. hypochondriacus*, originario de México, *A. cruentus*, originario de Guatemala y del sureste de México y *A. caudatus*, cuyo origen es América del Sur (Matías *et al.*, 2018). Los estudios arqueobotánicos realizados en las cuevas del valle de Tehuacán (México) señalan que este pseudocereal se cultivaba desde los años 9000 a 5000 a. C., en lengua náhuatl se conoce como *huauhtli* y su nombre derivado del griego significa “inmortal” e “inmarchitable” (Mapes, 2015).

En cuanto al *Amaranthus cruentus* se reporta que alcanza hasta los 2 metros de altura, su tallo es simple y en ocasiones ramificado, las hojas son elípticas, rombo-ovatinadas u ovalo-lanceoladas con el ápice agudo, la inflorescencia cuando está completamente desarrollada presenta en la parte inferior espigas suaves y laxas y en la parte superior panículas, las semillas pueden ser negras, marrones, blancas o amarillas, siendo los colores claros los que se utilizan para la producción del grano (Cervantes, 2014). En Mesoamérica el amaranto es uno de los cultivos más antiguos y constituyó una de las principales fuentes de alimentación junto con el maíz, el frijol, la calabaza y el chile, las culturas prehispánicas utilizaron el amaranto tanto para consumo humano como para usos religiosos, debido a ello, esta planta fue cultivada a gran escala bajo el sistema intensivo de chinampas que desarrollaron los Aztecas en la zona lacustre del Valle de México. Actualmente el cultivo del amaranto se ha difundido a nivel mundial, cultivándose en los cinco continentes, los principales países productores de amaranto de grano son China, India, Kenia, México, Nepal, Perú, Estados Unidos, Bolivia, Pakistán, Nepal, Argentina y Rusia (Matías *et al.*, 2018).

1.8.2 Usos potenciales. En los últimos veinte años se ha dado un aumento notorio en la investigación y producción de amaranto en América, Asia, África y varios países de Europa, incrementando el interés por las características nutritivas que se le atribuyen (Mapes, 2015). Sus aplicaciones van desde dulces tradicionales, granolas, harina integral hasta alimentos extruidos (frituras), papillas para bebés, concentrados proteicos, barras energéticas y alimentos nutricionales y funcionales para la salud, además dada la carencia de gluten funcional lo hace apto para personas celiacas y propensos a alergias, también se utiliza como materia prima de sectores industriales más específicos como el químico, cosmetología y farmacéutico. El almidón del amaranto está dividido en dos tipos: aglutinante y no aglutinante, siendo el primero el apropiado para la industria panadera para la elaboración de productos que no necesiten expansión., también cabe resaltar que el amaranto fue seleccionado por la Administración Nacional de Aeronáutica y del Espacio (NASA, por sus siglas en inglés) para alimentar a los astronautas debido al alto valor nutricional y contenido de fibra, así como por su ciclo corto de cultivo y capacidad de crecer en condiciones adversas (Matías, *et al.*, 2018).

1.8.3 Valor nutricional. La característica más importante sin duda es su valor nutritivo, tanto la hoja como el grano poseen un valor nutricional superior comparado con otros granos, siendo el contenido de proteína, fibra y grasa del amaranto superior respecto a cereales como trigo, avena, maíz y arroz, además su alto contenido de lisina, treonina, leucina, entre otros aminoácidos esenciales lo hacen indispensable en la dieta humana, también contiene diversos compuestos como péptidos antimicrobianos, inhibidores de proteasas, lecitinas y compuestos antioxidantes (Matías *et al.*, 2018; Grobelnik *et al.*, 2009). Algunos autores reportan que la fracción amilácea que es aproximadamente 62 % tiene gran importancia industrial como materia prima para la formulación de nuevos alimentos y otros procesos, utilizándose como aglutinante, encapsulante y espesante, dichos estudios también han reportado su alto contenido de ácidos grasos insaturados como ácido oleico y linoleico (Bressani y Rodas, 1989; Roa, 2015). Desafortunadamente, el rendimiento de grano es relativamente bajo, con una producción promedio de 1 a 3 ton/ha, lo cual está relacionado con la falta de recursos para un apropiado manejo agronómico. Un factor adicional es la escasa información respecto a la presencia y control de plagas y enfermedades, las cuales pueden causar grandes pérdidas económicas a los productores de amaranto (Matías *et al.*, 2018).

2. METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES

2.1.1 Materias primas. Para la realización de las pruebas se utilizaron granos de amaranto de la variedad *Amaranthus cruentus* los cuales fueron inspeccionados para descartar contaminación por impurezas, materiales extraños, así como también descartar daño fitosanitario, los granos fueron almacenados en bolsas de polipropileno de alta densidad a temperatura ambiente, el lote presentó una humedad endógena en base seca (b.s.) de 10,8 %. Para la extracción de los diferentes componentes del pseudocereal se utilizaron hidróxido de sodio con una pureza del 99 % como agente lixivante, dodecilsulfato de sodio al 70 % de pureza como agente tenso-activo y agua destilada.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Obtención de fracción amiloproteica. La solución de inmersión se preparó con hidróxido de sodio (99 %), dodecilsulfato de sodio (70 %) y agua destilada.

2.2.2 Maceración húmeda. Se llevó a cabo con una solución compuesta por hidróxido de sodio, dodecilsulfato de sodio y agua destilada a diferentes concentraciones las cuales fueron establecidas con ensayos previos donde las semillas fueron sumergidas durante 12 horas e incubadas a diferentes temperaturas, lo anterior optimizado bajo un diseño experimental.

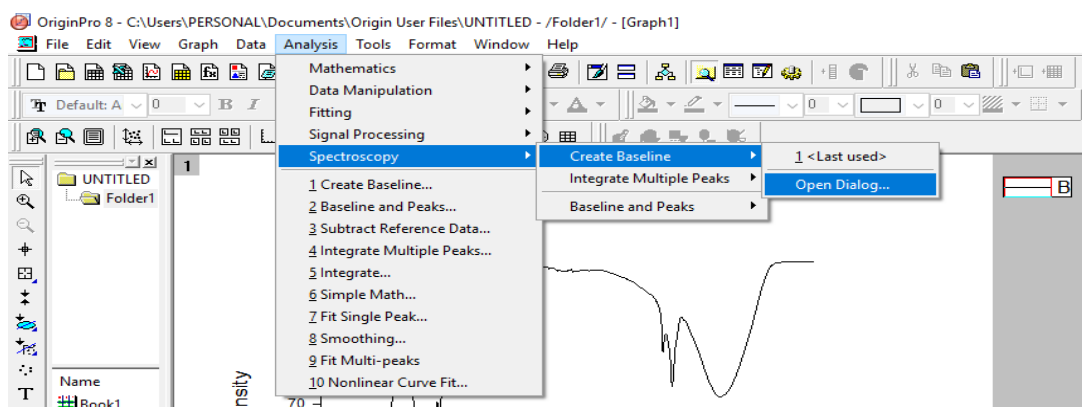
2.2.3 Diseño experimental Box-Benhken. El efecto de las condiciones de extracción como temperatura, concentración de hidróxido de sodio (NaOH) y dodecilsulfato de sodio (SDS) fueron analizadas bajo el método de superficies de respuesta (MRS), utilizando el software Statgraphics Centurion versión XVI.II con un diseño experimental de Box – Benhken, en el cual se trabajó con temperaturas de 24 °C, 37 °C y 51 °C, concentraciones de hidróxido de sodio de 0,2 %, 1,6 % y 3 % y dodecilsulfato de sodio 0.1 %, 0.5 %, 0.9 %.

2.2.4 Preparación de muestras. El subproducto obtenido del proceso de molienda húmeda se tamizó utilizando el juego de tamices marca Rob-Tab, con el fin de obtener un tamaño de partícula adecuado para realizar las diferentes pruebas, el subproducto utilizado posteriormente fue el retenido en la malla de 150 µm. Posteriormente se midió la humedad obteniendo humedades entre 8 % y 11 %.

2.2.5 Espectroscopia infrarroja de la fracción amiloproteica. Los espectros FT-IR se obtuvieron mediante espectrómetro SHIMADZU modelo IRAFFINITY-1S con accesorio ATR de reflexión única con un cristal de diamante en un ángulo incidente de 45° se utilizó el método de reflexión total atenuada (ATR) para facilitar la medición de las muestras, ya

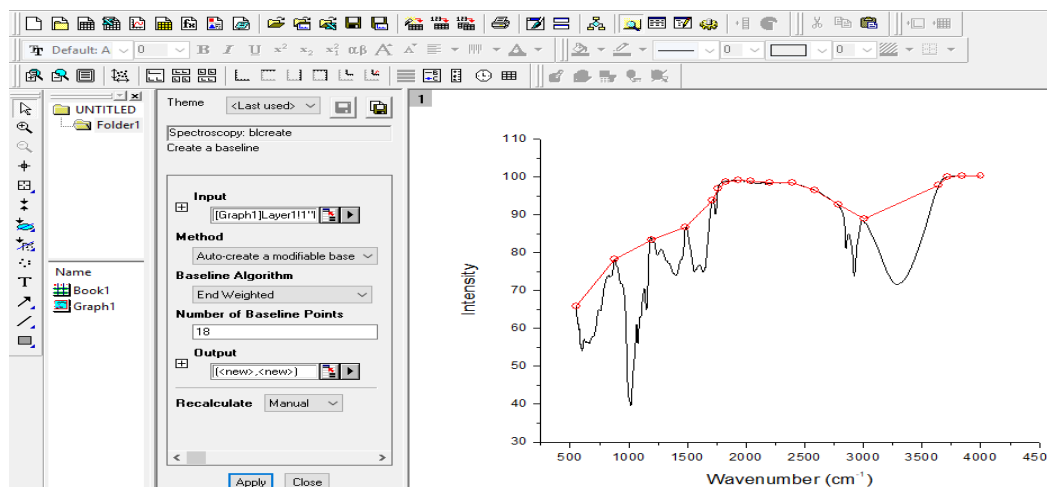
que con este accesorio no hay necesidad de preparación previa de la muestra, obteniéndose una muy buena relación señal/ruido. Los espectros fueron adquiridos en el modo reflexión entre 400 cm^{-1} y 4000 cm^{-1} , el equipo proporcionó espectros promediando 32 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} . Se obtendrá un espectro “background” del aire antes de obtener el espectro de cada muestra, cada sistema se midió por duplicado a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. El análisis espectral se realizó utilizando Microsoft Excel para adecuar los datos arrojados por el equipo, seguido a esto se utilizó el software OriginPro versión 8.0 (OriginLab Corporation Northampton, Estados Unidos) en el cual se graficaron los espectros, posteriormente se realizó una corrección de la línea base mediante la herramienta spectroscopy>>create baseline como se muestra en la Figura 12.

Figura 12. Procedimiento para crear base línea



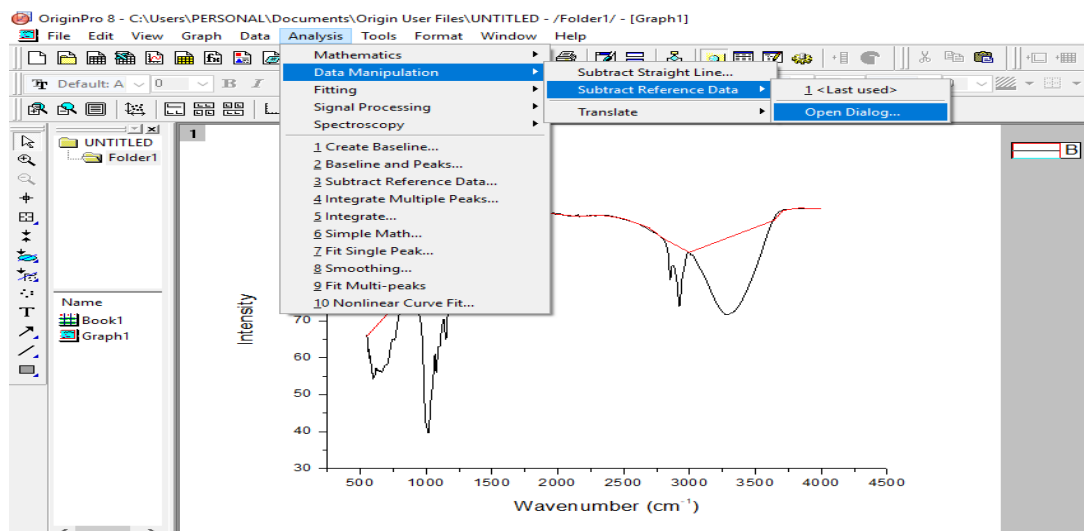
Una vez realizados los pasos de la Figura 12, se configura el número de puntos a utilizar para la realización de la línea base, en este caso fueron 18 puntos en cada una de los espectros trabajados, los puntos se localizan como se muestra en la Figura 13.

Figura 13. Asignación de número de puntos para crear base línea



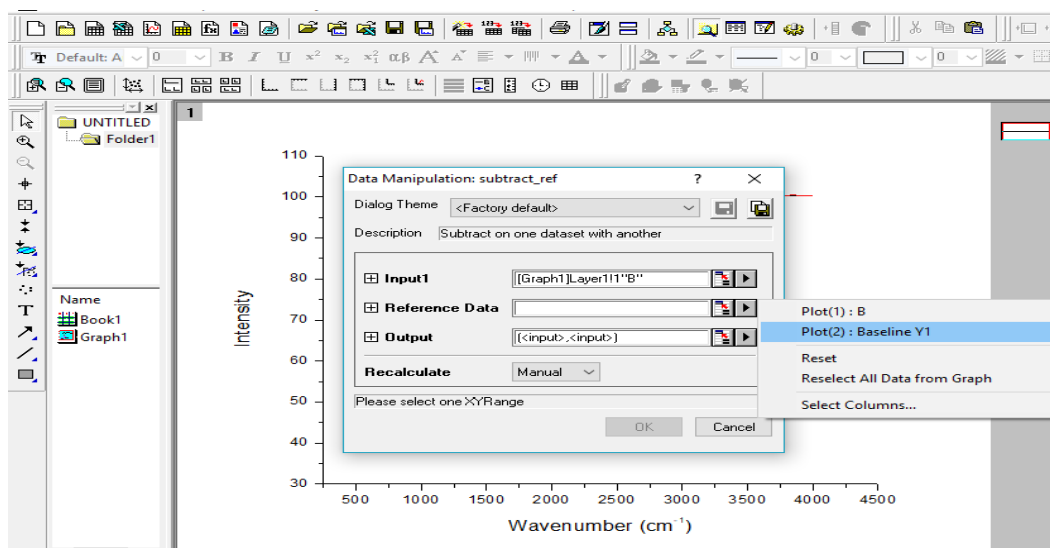
Luego de organizar los puntos sobre el espectro original, y ejecutar el procedimiento de la Figura 13, se procede a substraer los datos de referencia de la línea base como se muestra en la Figura 14, los cuales son necesarios para realizar nuevamente la gráfica y proceder a trabajar con los datos del book 1.

Figura 14. Substracción de datos referencia de línea base



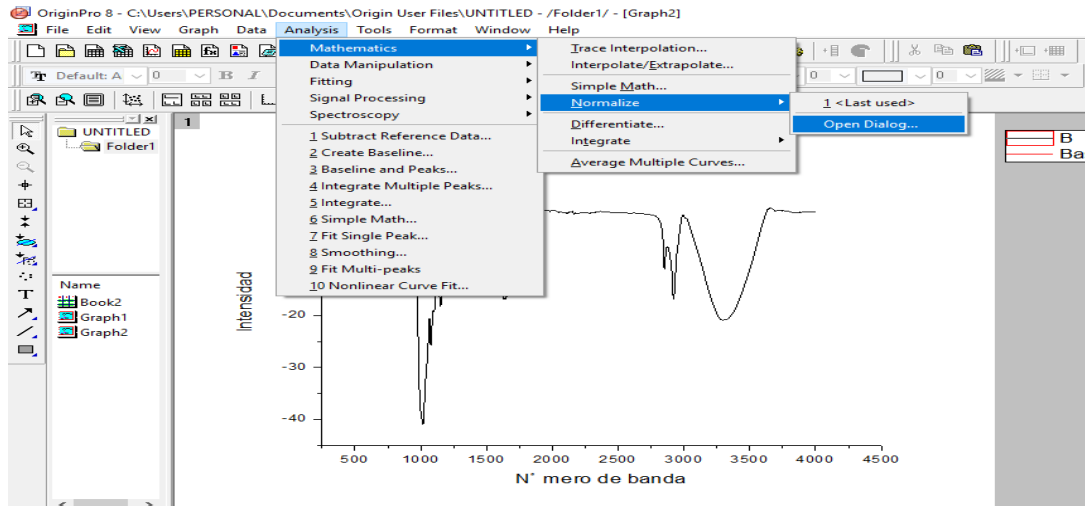
Posteriormente se realizó la asignación Plot (2), a los datos obtenidos en baseline Y1, las demás casillas no se modifican como se muestra la Figura 15.

Figura 15. Aplicación de datos referencia línea base



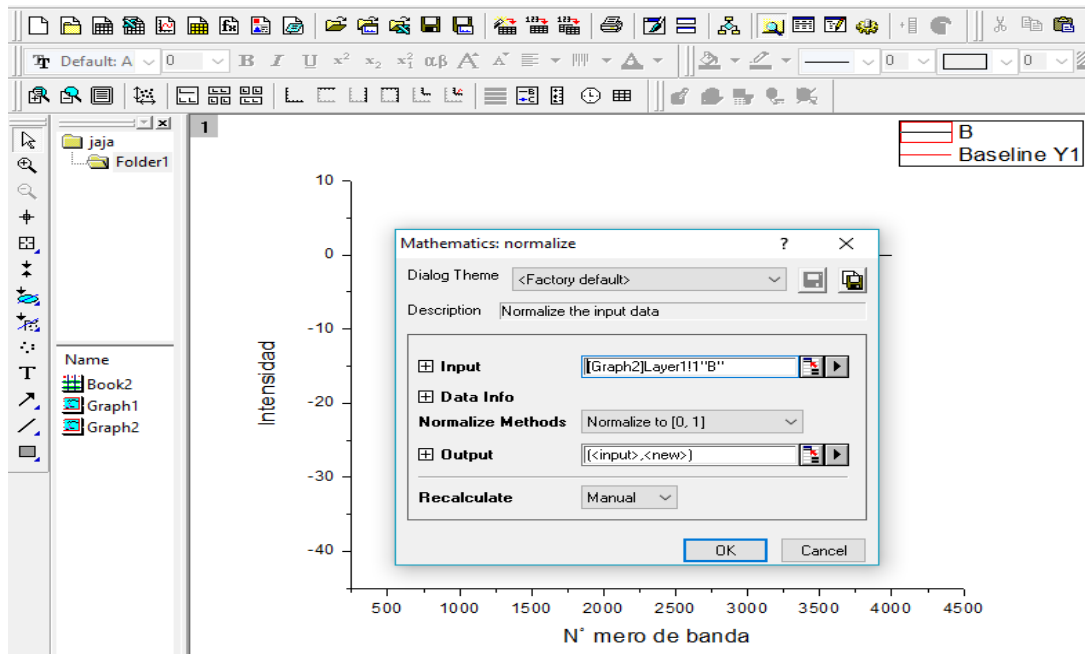
En la Figura 16 se muestran los pasos a seguir para normalizar los espectros debido a que se encuentran con una intensidad que no es comparable con las reportadas en la bibliografía.

Figura 16. Procedimiento para normalizar el espectro entre 0 y 1



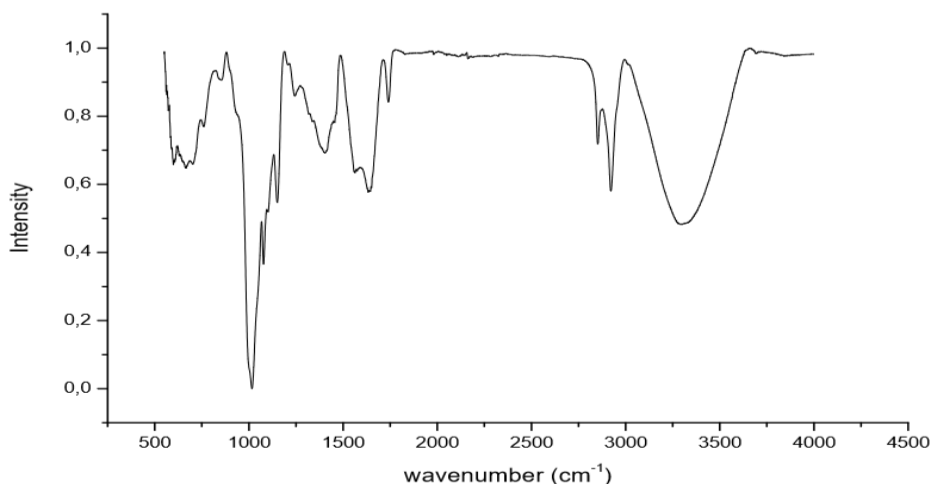
En la Figura 17 se muestra el procedimiento para normalizar los espectros entre 0 y 1, datos que son necesarios para graficar nuevamente.

Figura 17. Aplicación para normalizar datos



Una vez terminado el procedimiento se obtienen espectros como el de la Figura 18.

Figura 18. Espectros normalizados



Para realizar la deconvolución de los espectros y estudiar el cambio en las estructuras secundarias de las proteínas y la región cristalino-amorfa del almidón se debe primero seleccionar los datos en el rango establecido por literatura, en el caso de las proteínas se realiza la deconvolución en un rango de 1600 cm⁻¹ a 1710 cm⁻¹ con los datos normalizados previamente. En la Figura 19 se muestran los pasos para realizar el procedimiento de espectros deconvolucionados.

Figura 19. Procedimiento para realizar deconvoluciones

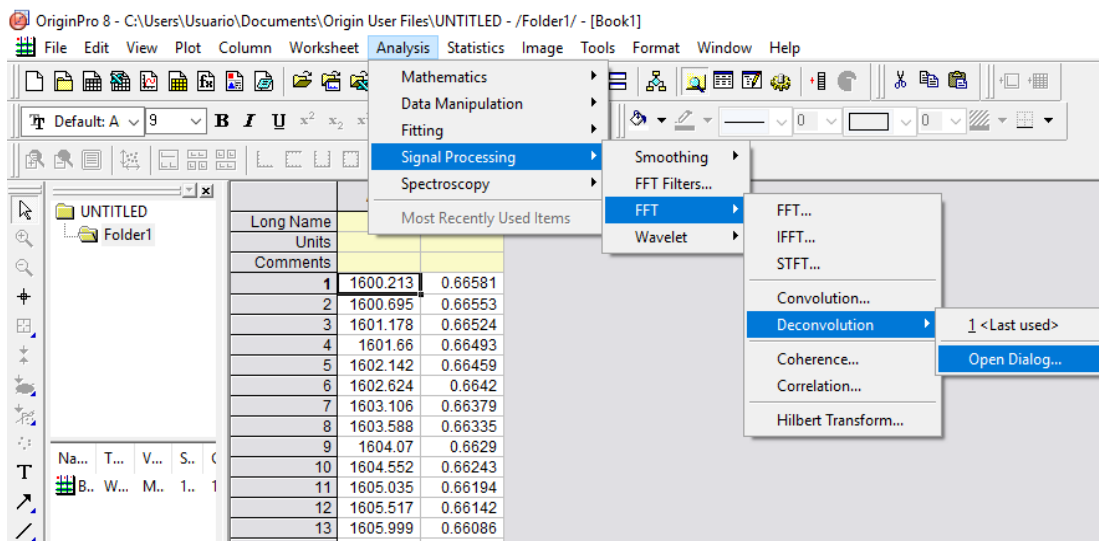
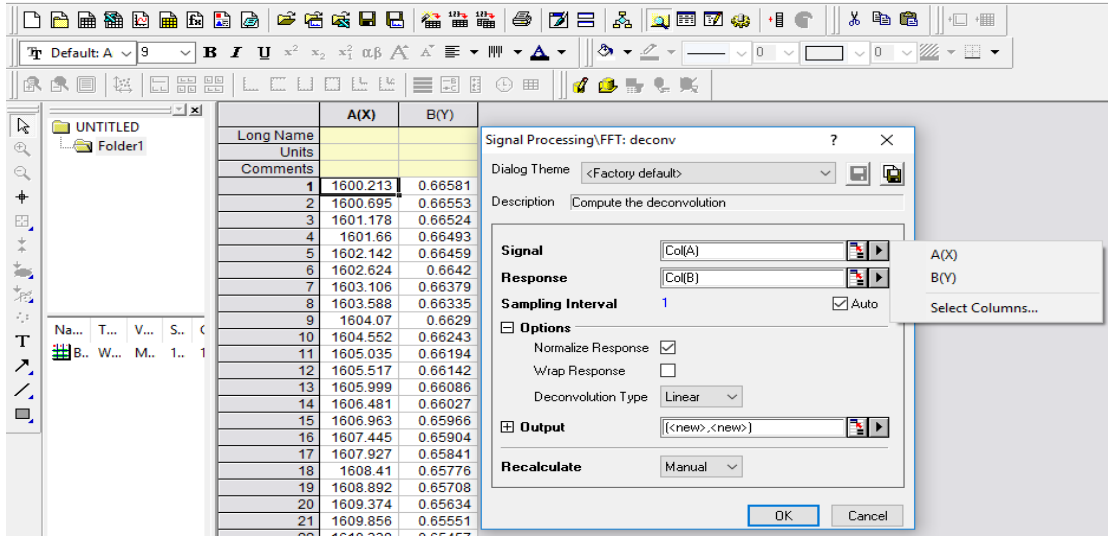
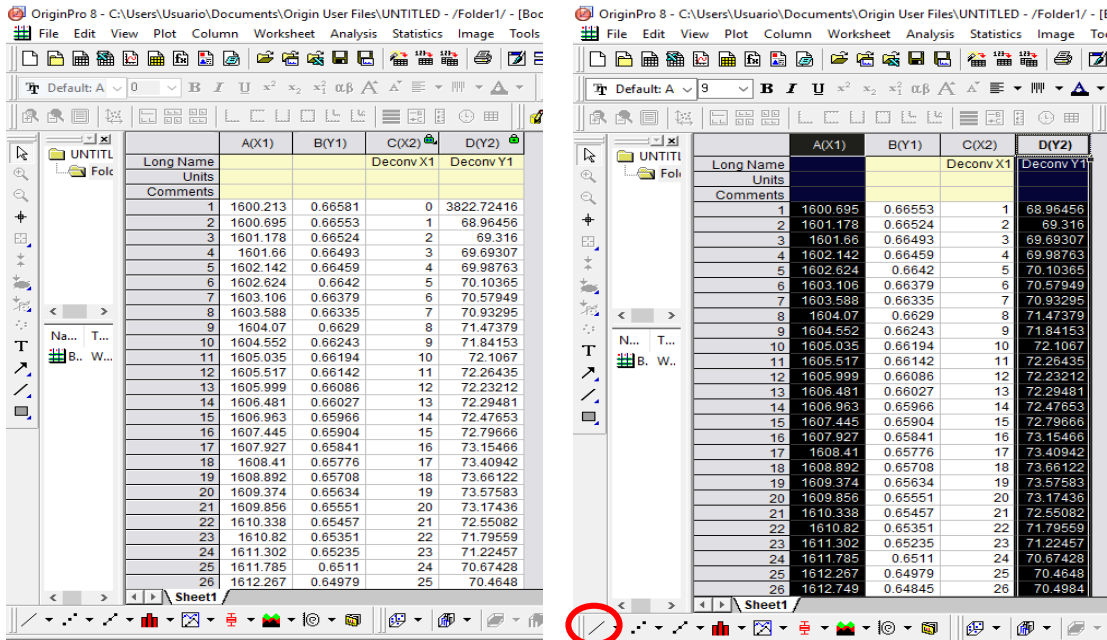


Figura 20. Modificación de información para deconvolucionar los datos



Una vez realizados los pasos de la Figura 19, el programa muestra un cuadro de diálogo como se ve en la Figura 20 en el cual se realizan 3 modificaciones, la primera en el recuadro de “signal” se seleccionan los datos de la columna A(X), segundo en la casilla “response” se debe seleccionar los datos de la columna B(Y) y por último en la opción “deconvolution type” se cambia de linear a circular representando esta opción el tipo de deconvolución a realizar.

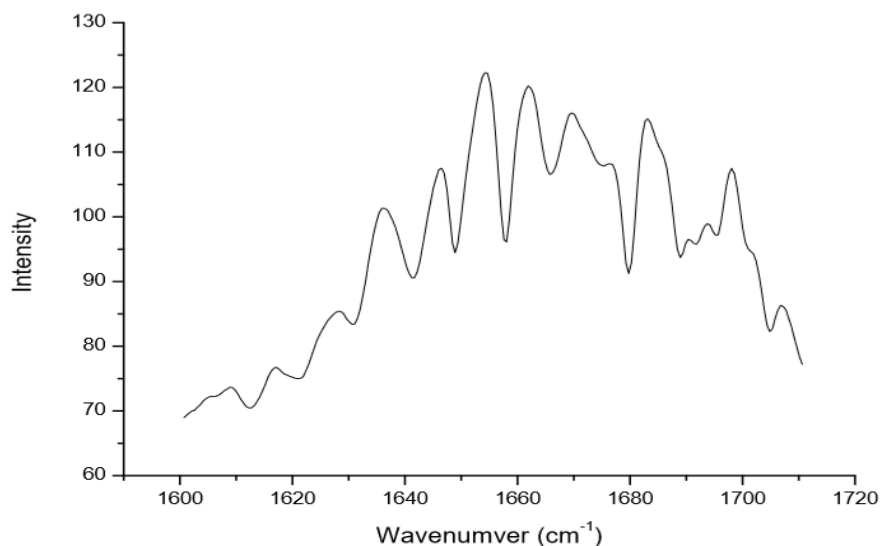
Figura 21. Seleccionar y graficar los datos deconvolucionados



Después de ejecutados los pasos enunciados en la Figura 20 se obtienen los datos deconvolucionados como se muestra en la Figura 21.a de estos datos se debe eliminar el primer valor de las cuatro columnas ya que este está fuera de proporción con relación a los demás ocasionando problemas al momento de realizar la gráfica, después de eliminar dicho valor se seleccionan los datos de las columnas A(X1) y D(Y2) como se observa en la Figura 21.b y se procede a graficar seleccionando la opción enmarcada en un círculo de color rojo ubicado en la parte inferior derecha de la figura.

Los espectros deconvolucionados, en este caso para la región amida I obtenidos mediante este método se muestra en la Figura 22, mostrando diferentes picos a longitudes de onda características, los cuales han sido identificados y cada uno representa estructuras secundarias de las proteínas globulares como son las β -sheet, β -turns, α -helix, a las cuales se les calculó el área bajo la curva. Tanto los espectros FTIR-ATR como las deconvoluciones de proteínas y la región cristalino-amorfa del almidón se realizaron en el programa Origin pro versión 8.

Figura 22. Espectro deconvolucionado de la Amida I



2.2.6 Determinación de propiedades viscoelásticas. Para realizar los ensayos respectivos, las fracciones amiloproteicas fueron sometidas a un proceso de gelificación, teniendo en cuenta una relación 3:1, agua- muestra, la preparación de las muestras se realizó en tubos falcón, posteriormente las 15 muestras fueron sometidas a 90 °C durante 40 minutos utilizando el termostato marca polystat, seguido fueron almacenadas a 5 °C durante 24 horas. Las propiedades viscoelásticas se determinaron mediante ensayos oscilatorios realizados en un reómetro Híbrido Discovery HR-2, utilizando un sistema de platos planos paralelos; se realizó un barrido de amplitud con deformación de 2 % a 10 % a 25 °C con una frecuencia angular de (10 Hz), donde se determinó la región lineal óptima (RVL), para realizar posteriormente barridos de frecuencia, estos ensayos se

realizaron a 25 °C, con deformación fija 5 %, variando la frecuencia 0,1 a 100 Hz, se determinaron los módulos elástico y viscoso (G' y G'') respectivamente. Lo anterior sirve como base para poder identificar el potencial gel de las fracciones amiloproteicas.

El tratamiento de los datos del comportamiento reológico en función de la frecuencia de los 15 tratamientos se realizó utilizando la ecuación de Ross-Murphy.

$$Y=K*X^n \quad (\text{Ec.4})$$

Donde:

Y = valores de los módulos (G' , G'')

K = consistencia

X = velocidad angulas

n = índice gel

Donde K y n son los parámetros a determinar. El valor n se considera un indicador de la naturaleza viscoelásticas de los geles, cuando n tiende a cero significa que los geles tienen tendencia a ser puramente elásticos, por el contrario cuando n comienza a aumentar o tiende a 2 presenta un incremento de la contribución del componente viscoso (Spotti, 2013), además el módulo G' resulta independiente de la frecuencia, mientras que para $n > 0$ se relaciona con geles de débil firmeza (Roa *et al.*, 2015).

2.2.7 Colorimetría del subproducto del grano de amaranto. se utilizó un colorímetro triestímulos NR20XE – 3nh (Shanghái, China), con iluminante CIE D65 y un ángulo de observación de 5°, a los 15 tratamientos se les midió las funciones de color L, a y b componentes del sistema CIELAB, para ello se depositaron las muestras sobre cajas de Petri de manera uniforme asegurando que el haz de luz del equipo incida solo sobre la muestra de interés, tomando mediciones en diferentes puntos de la superficie de la muestra.

2.2.8 Análisis estadístico. Los efectos de las diferentes condiciones de extracción sobre las diferentes propiedades fueron evaluados mediante el análisis ANOVA (nivel de confianza $\alpha=0.05$) con un Tukey's post-test usando el programa Prism 5 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, Estados Unidos de América), donde se analizaron las diferencias significativas entre los tratamientos, posteriormente aquellos que mostraron diferencia fueron sometidos a el modelo Box-Benhken utilizando un diseño compuesto con tres puntos centrales, análisis realizado a través del método de superficie de respuesta a partir del software Statgraphics Centurion XVI.II.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La molienda húmeda se realizó controlando las condiciones de dodecilsulfato de sodio (SDS), hidróxido de sodio (NaOH) y temperatura en la etapa de maceración con el fin de ablandar el grano, este es un proceso complejo que involucra una separación por medios físicos y químicos.

En la Figura 23 se muestra la etapa de maceración del grano de amaranto, donde el hidróxido de sodio es empleado porque permite obtener un buen rendimiento y recuperación de contenidos proteicos en los coproductos como también reduciendo el tiempo de remojo en aproximadamente 12 horas (Villa Real, 2013) además el rendimiento de estos productos proteicos obtenidos mediante molienda húmeda alcalina son mayores a los publicados por Calzetta *et al.*, (2006) los cuales trabajaron bajo condiciones de molienda húmeda ácida en el grano de amaranto. El SDS caracterizado por ser un tensoactivo aniónico se utiliza en la molienda húmeda ya que causa cambios en las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas, debido a que al unirse con estas forman complejos facilitando la extracción. En la Figura 23 se muestra el desprendimiento del germen del grano de amaranto luego del proceso de maceración.

Figura 23. Etapa de maceración del grano de amaranto



En el Cuadro 1 se muestran las combinaciones de variables reales (temperatura, SDS y NaOH) y codificadas (X1, X2 y X3) utilizadas durante el proceso de molienda húmeda realizada al grano de amaranto para cada uno de los tratamientos trabajados bajo el diseño experimental Box-Benhken, teniendo los tratamientos T1, T6 y T12 como puntos centrales los cuales presentan las mismas condiciones de proceso durante la molienda húmeda.

Cuadro 1. Diseño experimental Box-Benhken para el estudio de la molienda húmeda, variables reales y codificadas

Tratamiento	T° (°C)	SDS (p/v)	NaOH (p/v)	Variable codificada X1	Variable codificada X2	Variable codificada X3
1*	37	0,50%	1,60%	0	0	0
2	24	0,50%	0,20%	-1	0	-1
3	51	0,90%	1,60%	1	1	0
4	37	0,90%	3,00%	0	1	1
5	24	0,10%	0,20%	-1	-1	-1
6*	37	0,50%	1,60%	0	0	0
7	24	0,90%	1,60%	-1	1	0
8	24	0,50%	3,00%	-1	0	1
9	37	0,90%	0,20%	0	1	-1
10	37	0,10%	3,00%	0	-1	1
11	51	0,50%	0,20%	1	0	-1
12*	37	0,50%	1,60%	0	0	0
13	51	0,10%	1,60%	1	-1	0
14	51	0,50%	3,00%	1	0	1
15	37	0,10%	0,20%	0	-1	-1

Temperatura: X1, Dodecil Sulfato de Sodio: X2, Hidróxido de Sodio: X3. *Puntos centrales del diseño, realizados por triplicado.

3.1 COLORIMETRÍA DE LAS MEZCLAS ALMIDÓN/PROTEÍNA OBTENIDAS EN LA MOLIENDA HÚMEDA

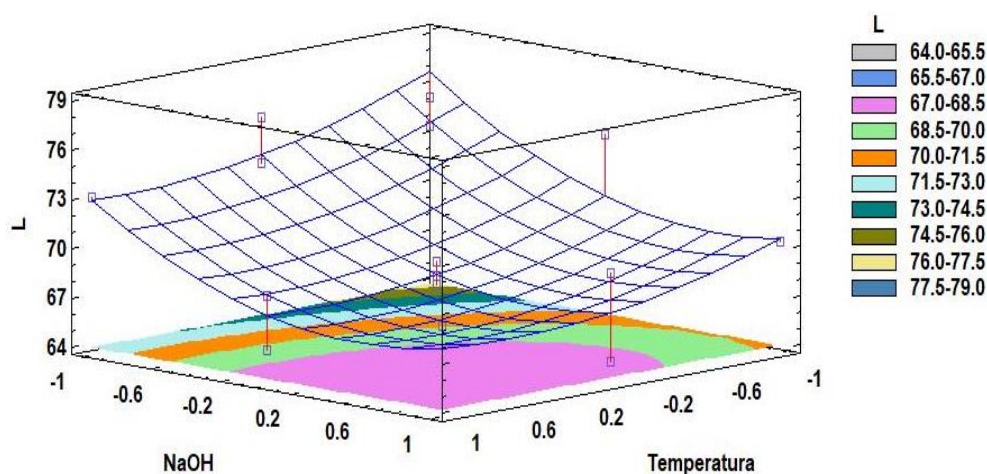
Cuadro 2. Análisis colorimétrico del subproducto de grano de amaranto

Tratamiento	Luminosidad L	Coordenada a	Coordenada b
1*	67.80	6.80	17.42
2	75.26	3.95	13.03
3	65.76	6.47	19.56
4	64.94	8.17	20.26
5	73.59	4.32	14.37
6*	68.25	6.79	17.51
7	74.94	4.54	13.07
8	70.34	5.95	16.83
9	76.03	4.41	13.46
10	70.39	5.82	18.58
11	73.17	4.78	15.32
12*	69.12	6.65	17.70
13	68.99	6.80	18.70
14	69.13	6.29	18.70
15	73.23	5.42	14.47

En el Cuadro 2 se muestran los valores obtenidos para la colorimetría de los diferentes tratamientos del subproducto del grano de amaranto obtenido por molienda húmeda alcalina, los datos obtenidos se analizaron mediante superficie de respuesta.

La Figura 24 muestra que la luminosidad (L^*) tiene valores altos cuando la temperatura y el hidróxido de sodio (NaOH) disminuyen, lo cual indica que hay mayor cantidad de almidón y menor cantidad de proteína en el subproducto, visto de otra manera con concentraciones altas de hidróxido de sodio (NaOH) y manejando temperaturas altas en el proceso de molienda húmeda, la separación de proteína de la fracción amilácea es eficiente tendiendo a coloraciones más opacas en el subproducto.

Figura 24. Superficie de respuesta estimada de la luminosidad (L) de las mezclas almidón/proteína obtenidas en la molienda húmeda



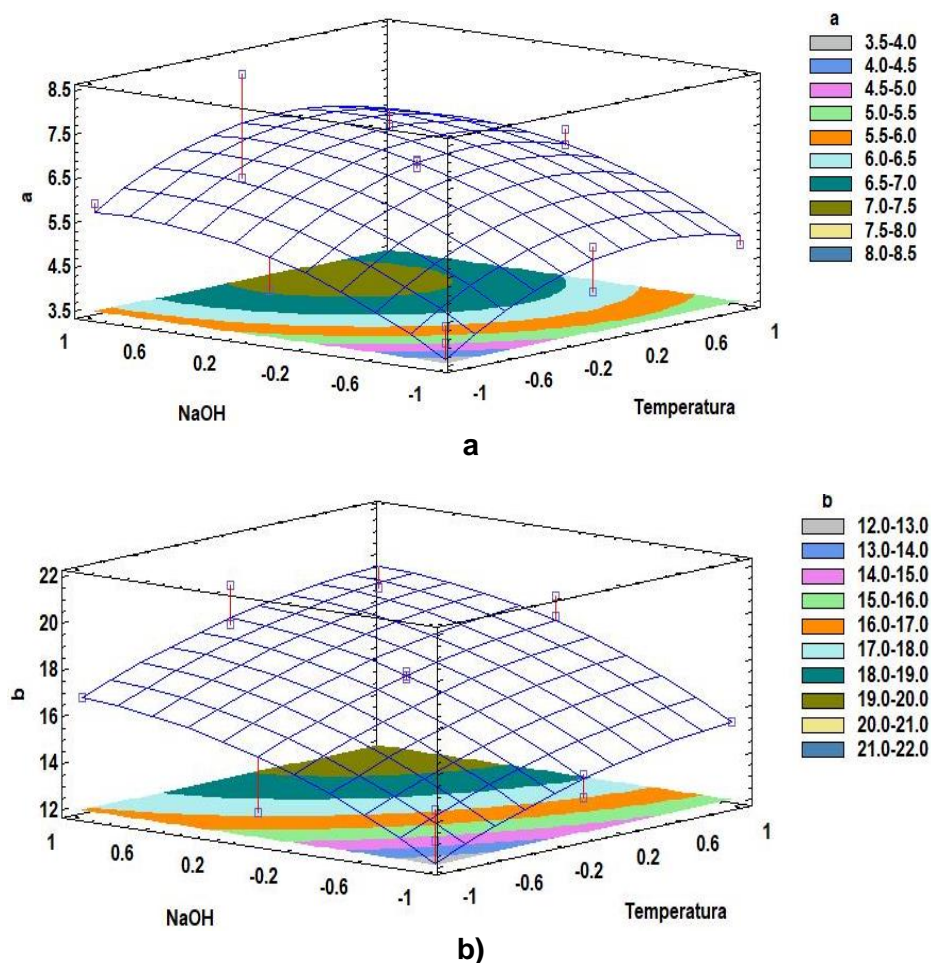
La ecuación polinómica de segundo grado utilizada para determinar la superficie de respuesta estimada para la luminosidad (L) es: $L = 68.3364 - (1.6688 * T) - (0,1001*SDS) - (2.9014*NaOH) + (1.1693*T^2) - (2.0773*T*SDS) + (0.3004*T*NaOH) + (0,3418*SDS^2) - (1.9821*SDS*NaOH) + (2.5095*NaOH^2)$, con un coeficiente de correlación de $R^2 = 92.6794$.

En las Figuras 25. a) y b) se observa el comportamiento de las coordenadas a^* y b^* , respectivamente, las cuales presentan un comportamiento similar respecto a las condiciones trabajadas en la molienda húmeda, siendo ambas afectadas por el hidróxido de sodio (NaOH) y la temperatura, mostrando que a condiciones bajas de estos efectos disminuyen los valores de a^* y b^* , siendo inversamente proporcional al comportamiento presentado por la luminosidad (L^*). En la tabla 2 se muestra que a^* tiene valores superiores a 0, comprendidos entre 3.95 y 8.17 lo cual sugiere que las muestras analizadas tienden a presentar colores rojos claros, por otro lado, el valor b^* presenta color amarillo claro con valores entre 13.03 y 20.26. Para la coordenada "a" la ecuación polinómica de segundo grado utilizada en la determinación de la superficie de respuesta estimada es la siguiente:

$a = 6.7467 + (0.5857 \cdot T) + (0.0419 \cdot \text{SDS}) + (0.9588 \cdot \text{NaOH}) - (0.8516 \cdot T^2) + (0.0860 \cdot T \cdot \text{SDS}) - (0.1226 \cdot T \cdot \text{NaOH}) - (0.1391 \cdot \text{SDS}^2) + (0.8399 \cdot \text{SDS} \cdot \text{NaOH}) - (0.6527 \cdot \text{NaOH}^2)$, el coeficiente de correlación para este caso es de $R^2 = 92.9148$.

Mientras que para la coordenada "b" la ecuación es: $b = 17.5468 + (1.5346 \cdot T) - (0.3091 \cdot \text{SDS}) + (2.2638 \cdot \text{NaOH}) - (0.5830 \cdot T^2) + (1.2157 \cdot T \cdot \text{SDS}) - (0.1101 \cdot T \cdot \text{NaOH}) + (0.1395 \cdot \text{SDS}^2) + (0.6673 \cdot \text{SDS} \cdot \text{NaOH}) - (0.9964 \cdot \text{NaOH}^2)$, este parámetro presentó un ajuste de $R^2 = 93.3771$.

Figura 25. a) superficie de respuesta coordenada "a". b) superficie de respuesta coordenada "b"



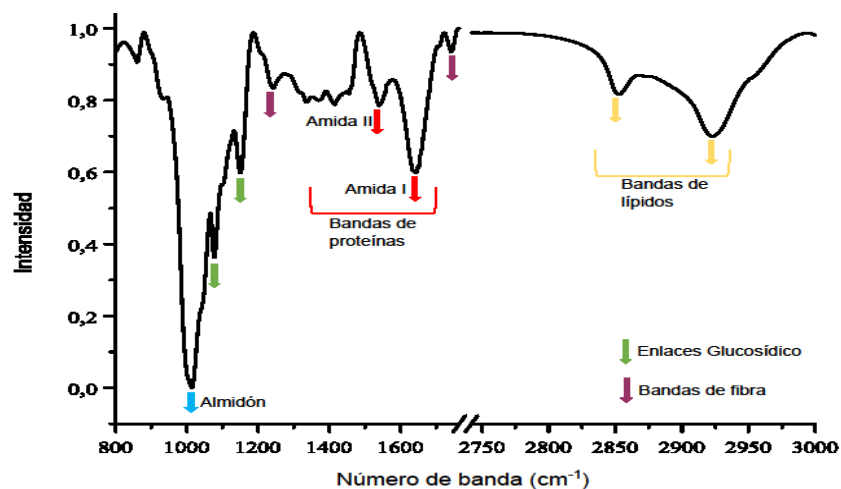
Las muestras absorben y reflejan la luz de forma distinta dependiendo de características como la composición. Oli, *et al.*, (2016) encontraron que los valores L^* , a^* y b^* en muestras de arroz cambian según la forma y de la variedad, también determinaron que la luminosidad aumenta y los valores de a^* y b^* disminuyen al retirar las capas externas y salvado del arroz, donde se encuentra la mayor cantidad de proteína, también Kristell S, (2017) evaluó

el efecto de la concentración de almidón de maíz en queso, sobre las características colorimétricas (L^* , a^* , b^*) encontrando que a medida que se aumenta la concentración de almidón en el producto el valor L^* aumenta presentando un color más claro en las muestras estudiadas, por otro lado, afirma que si la muestra presenta una menor concentración de almidón el valor a^* será más alto presentando un desplazamiento al color rojo, de igual manera el valor de b^* podría inferir la concentración de almidón en las muestras debido a que cuando este valor aumenta estas tienden a presentar un color amarillento, sin embargo la coordenada b^* podría verse afectada por la concentración del componente graso el cual posee un color amarillento-naranja. Con el análisis colorimétrico se puede determinar el efecto de las condiciones de proceso sobre el color de los subproductos, en este caso los datos de la luminosidad (L) concuerdan con los datos obtenidos mediante el análisis estructural realizado mediante FTIR-ATR donde se observa que a mayores intensidades en las bandas de proteína (amida I y amida II) los valores de luminosidad son más bajos indicando un menor paso de la luz a través de la muestra analizada, lo cual se podría deber a un contenido mayor de proteína en el subproducto.

3.2 ESPECTROSCOPIA INFRAROJA-ATR DE LAS MEZCLAS ALMIDÓN/PROTEÍNA OBTENIDAS EN LA MOLIENDA HÚMEDA

La Figura 26 muestra un espectro típico de la mezcla almidón/proteína, en el espectro se identifican diferentes intensidades de los grupos funcionales zonas asociados a la proteína, lípidos, almidón y fibra. En este trabajo se determinaron los espectros o “huella dactilar” de las diferentes mezclas obtenidas mediante los 15 tratamientos.

Figura 26. Zonas identificadas en los espectros obtenidos mediante FTIR-ATR



Fuente: Roa, 2015

En trabajos anteriores Roa *et al.*, (2014), encontró que los contenidos de proteínas, lípidos y carbohidratos en el grano de amaranto pueden obtenerse mediante espectroscopía infrarroja FTIR con gran precisión cuando los contenidos de estos se encuentran en los

rangos, 5-47 % de proteína, 2-23 % de lípidos y 73-99 % de carbohidratos. Sin embargo, en este trabajo se pretende estudiar por medio de la espectroscopía, la influencia de las condiciones de operación sobre las propiedades estructurales.

Figura 27. Asignación de vibraciones en espectros FTIR

Banda (cm ⁻¹)	Asignación	Componente	Referencia
1630 – 1640	Vibración de C=O (AMIDA I)	Proteína	Barth 2007; Güler <i>et al.</i> , 2011; Roa <i>et al.</i> , 2014; Ramadhan y Foster, 2018
1540 – 1545	Vibración de flexión N-H acoplada y vibración de estiramiento C-N (AMIDA II)		Barth 2007; Güler <i>et al.</i> , 2011; Abidi <i>et al.</i> , 2014; Roa <i>et al.</i> , 2014; Herrero <i>et al.</i> , 2017
2850 – 2860	Estiramiento C-H (simétrico)	Lípidos	Abidi <i>et al.</i> , 2014; Roa <i>et al.</i> , 2014; Ramadhan y Foster, 2018; Herrero <i>et al.</i> , 2018
2918 – 2925	Estiramiento C-H (asimétrico)		
667	O –H Fuera del plano de flexión	Fibra	Abidi <i>et al.</i> , 2014
1239 – 1254	Estiramiento por C–O de la vibración de C del grupo acetilo en lignina y hemicelulosa		Célino <i>et al.</i> , 2014; Mallek-Fakhfakh <i>et al.</i> , 2017; Sanjay <i>et al.</i> , 2018
1733 – 1740	Estiramiento C=O del grupo ester en hemicelulosas		Sain y Panthapulakkal, 2006; Abidi <i>et al.</i> , 2014; Roa <i>et al.</i> , 2014; Mallek-Fakhfakh <i>et al.</i> , 2017
1147 1076	Estiramiento C-O-H	Enlace glucosídico	Jiugao <i>et al.</i> , 2005; Roa <i>et al.</i> , 2014

Fuente: Gonzales Maritza, Castillo Sandra, 2018.

El contenido de almidón, enlaces glucosídicos, proteínas, lípidos y fibra se identificaron de acuerdo a estudios realizados anteriormente en los cuales se utilizó la espectroscopía FTIR-ATR, en este trabajo para la correcta asignación entre el número de onda y los grupos funcionales se tomaron como base estas investigaciones las cuales se encuentran resumidas en la Figura 27 en la cual se muestra el número de onda con su respectiva asignación además el grupo de macronutrientes al que pertenecen.

En la Cuadro 3 se muestran los resultados de las intensidades en las bandas amida I (1633cm⁻¹) y amida II (1563 cm⁻¹), las cuales están asociadas al contenido de proteína, se observa que la intensidad de la amida I es mayor a la amida II. Sin embargo, la sensibilidad fue mayor en la amida II con un coeficiente de correlación (R² mayor a 94 %) cuando los resultados fueron modelados mediante el polinomio de la superficie de respuesta, también se puede observar la variación de la intensidad de la amida II, por ejemplo, para el tratamiento 9 se obtiene un 0,079, mientras que para el tratamiento 14 se obtuvo una intensidad de 0,392; a mayor intensidad mayor contenido del grupo funcional NH₂, por lo tanto, mayor contenido de nitrógeno proteico. Al encontrar diferencias en los contenidos de proteína obtenidos en las mezclas almidón/proteína, surge la necesidad de estudiar los efectos de las condiciones de extracción en la molienda sobre estas mezclas, por lo tanto, en el siguiente título se estudió más detalladamente el efecto de la molienda húmeda sobre los coproductos.

Cuadro 3. Intensidad de las bandas 1633 cm⁻¹ y 1563 cm⁻¹ en los diferentes tratamientos

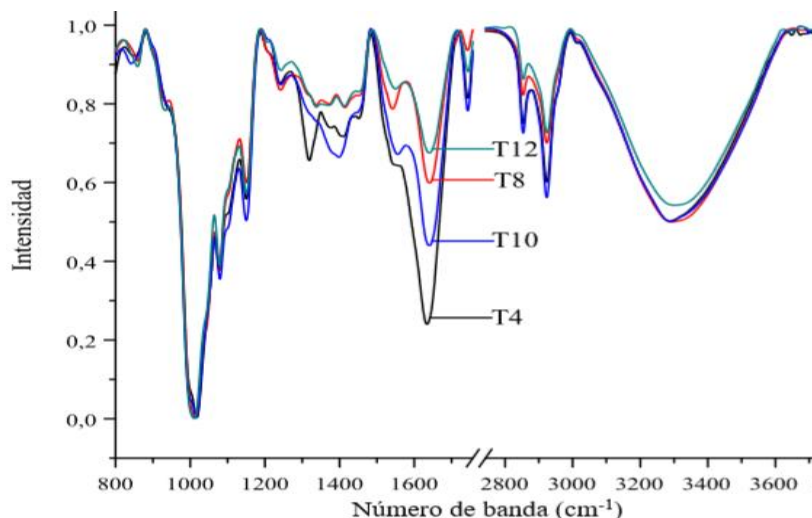
Tratamientos	Amida I (1633 cm ⁻¹)	Amida II (1563 cm ⁻¹)
1*	0,423±0,020 ^{c,d,e}	0,360±0,030 ^{c,d}
2	0,274±0,002 ^{h,i}	0,117±0,001 ^{h,i}
3	0,427±0,001 ^{c,d}	0,258±0,005 ^f
4	0,710±0,020 ^a	0,340±0,030 ^d
5	0,317±0,004 ^{f,g,h}	0,160±0,004 ^{g,h}
6*	0,460±0,010 ^b	0,330±0,020 ^b
7	0,292±0,001 ^{g,h,i}	0,117±0,001 ^{h,i}
8	0,380±0,030 ^{d,e,f}	0,190±0,040 ^g
9	0,244±0,007 ⁱ	0,079±0,006 ⁱ
10	0,561±0,005 ^b	0,330±0,001 ^{d,e}
11	0,360±0,030 ^{e,f}	0,185±0,030 ^g
12*	0,390±0,020 ^{f,g,h}	0,269±0,001 ^{e,f}
13	0,455±0,007 ^c	0,284±0,001 ^{e,f}
14	0,561±0,001 ^b	0,392±0,002 ^{b,c}
15	0,350±0,020 ^{f,g}	0,170±0,030 ^g

Los valores representan el promedio y desviación de los duplicados. Las diferentes letras (a-i) muestran la diferencia significativa existentes entre los tratamientos (p<0.05), evaluando comportamientos paramétricos y no paramétricos con la finalidad de realizar un análisis más profundo. *Tratamientos centrales del diseño.

3.3 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA PROTEICA (GRUPO FUNCIONAL AMIDAS)

En la Figura 28 se muestra los espectros normalizados de los tratamientos T4, T8, T10 y T12, donde se identifican las diferentes bandas para cada uno de ellos, mostrando el contenido aparente de almidón, lípidos, fibra y proteína.

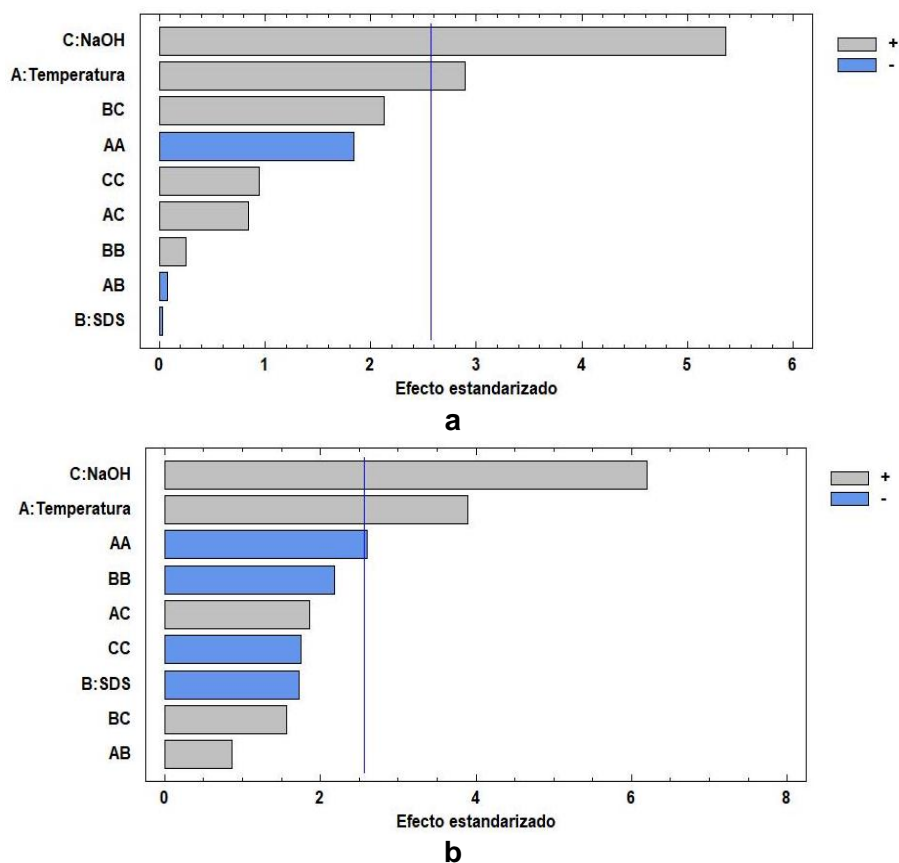
Figura 28. Espectros FTIR normalizados de los tratamientos T4, T8, T10 y T12



Las bandas de las amidas presentan diferencias significativas en las intensidades de los picos (tabla 3), encontrándose las amidas I en la banda 1633 cm^{-1} y la amida II con una banda de 1563 cm^{-1} , para cada uno de los tratamientos, estas son las principales bandas al estudiar las proteínas (Cremer y Kaletunç., 2003). Se resalta la importancia de estas bandas porque las amidas son compuestos orgánicos utilizados como puentes entre los aminoácidos para la formación de proteínas Chang, (2007).

En la Figura 29. a) y b) se muestra el diagrama de Pareto obtenido en el análisis estadístico para las bandas de amida I (1633 cm^{-1}) y amida II (1563 cm^{-1}); en la figura el eje "x" muestra el efecto estandarizado y el eje "y" los factores experimentales codificados (temperatura, concentración de SDS y NaOH), además muestra el efecto de la interacción entre los factores y sus efectos cuadráticos (puntos mínimos y máximos).

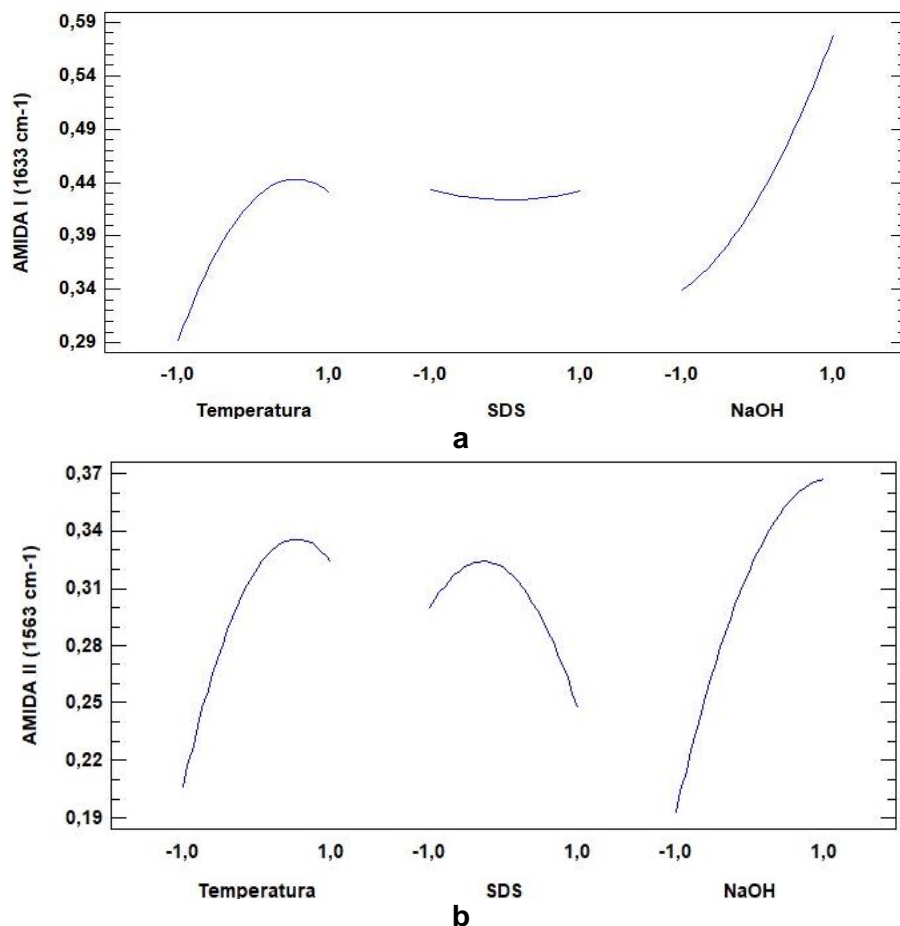
Figura 29. a) diagrama de Pareto para amida I (1633 cm^{-1}). b) diagrama de Pareto para amida II (1563 cm^{-1})



En las Figuras 29. a) y b) se observa que las amidas I y II son afectadas significativamente por el hidróxido de sodio (C) y temperatura (A), siendo más significativo el efecto del NaOH (C). En la misma gráfica también se observa el efecto positivo (+) esto significa que, si la

concentración de hidróxido aumenta, la extracción de la proteína también lo hará, en el rango de concentraciones estudiadas; este efecto se debe a que los iones de sodio atacan la interacción entre el gránulo de almidón y proteína, por lo tanto, al aumentar la concentración de estos iones provocará un efecto de lixiviación de las proteínas. De igual forma, el efecto positivo de la temperatura sobre la extracción de proteínas, se debe principalmente a que un aumento en la temperatura produce un incremento en las constantes cinéticas de hidratación, por lo tanto, facilita la entrada de reactivo sobre la matriz a separar. También se observa un efecto en cuadrático de la temperatura en la amida II, esto quiere decir que existe una temperatura crítica a partir de la cual, el efecto de la temperatura sobre la extracción de proteína cambia de sentido, esto quiere decir que al superar la temperatura crítica de extracción, entonces el rendimiento de extracción se verá afectado disminuyendo la concentración de proteína en la mezcla almidón/proteína, y por lo tanto, sería muy probable que esta proteína se pierda en las aguas de procesos.

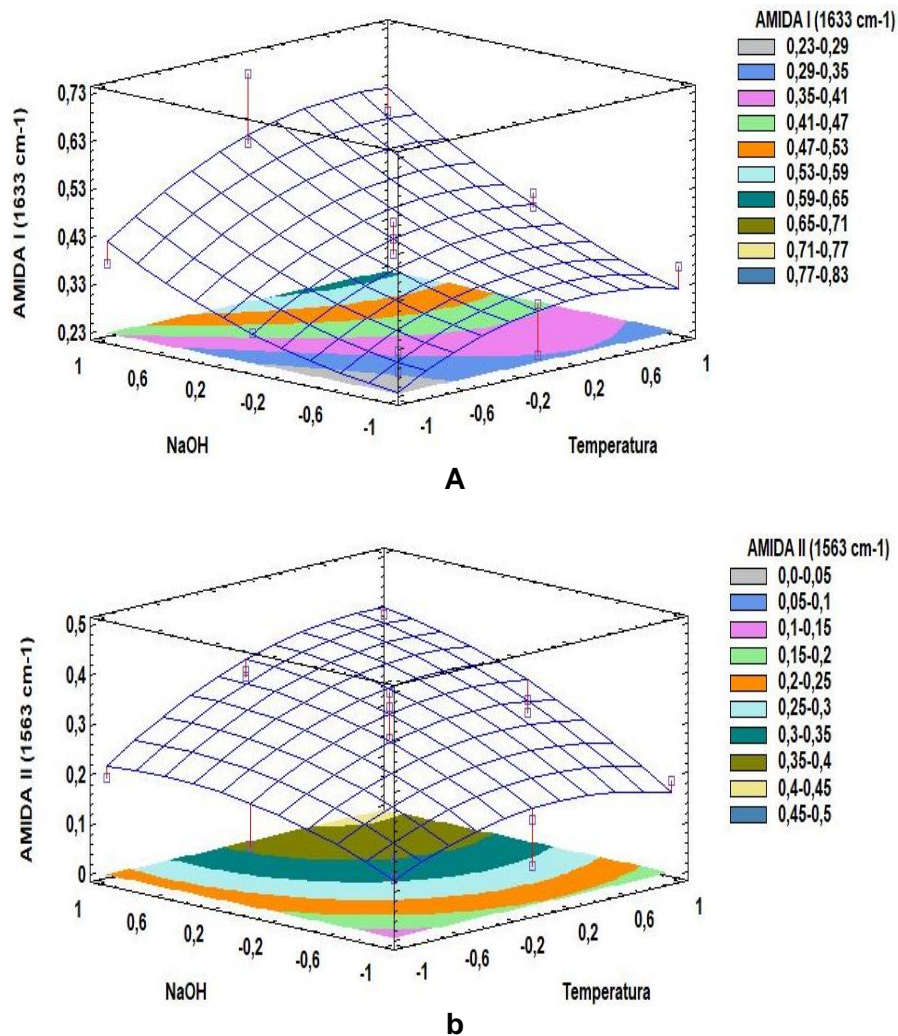
Figura 30. a) efectos principales para amida I. b) efectos principales para amida II



En las Figuras 30. a) y b) se pueden observar de una mejor forma los efectos de las condiciones de operación sobre las intensidades de las Amidas, por ejemplo, concentraciones bajas de NaOH (-1) y bajas temperaturas (-1), la intensidad de las amidas

es baja, ósea que la concentración de proteína en la mezcla son bajas, sin embargo, el incremento de estas variables aumenta también la intensidad de las amidas. Se puede observar que el aumento de la temperatura a niveles cercanos a 1, ocasionan el descenso de la proteína en la mezcla, este descenso puede ser, al aumento en los coeficientes de difusión que pueden provocar rápida hidratación, incrementando los sólidos en las aguas de maceración, además las altas temperaturas pueden modificar y desnaturalizar las proteínas, lo que puede aumentar los sólidos de lixiviación. Es interesante que el tensoactivo no fue una variable significativa en la extracción de proteínas, sin embargo, si lo fue en la desconfiguración de estas, este aspecto será descrito con más detalle en el próximo título. A continuación, se muestran las superficies de respuestas para las bandas amida I (1633 cm^{-1}) y amida II (1563 cm^{-1}) en función de la temperatura (A) y el NaOH (C) siendo estos los principales factores que mostraron efecto significativo en los diagramas de Pareto de la Figura 29.

Figura 31. a) superficies de respuesta para amida I. b) superficies de respuesta para amida II

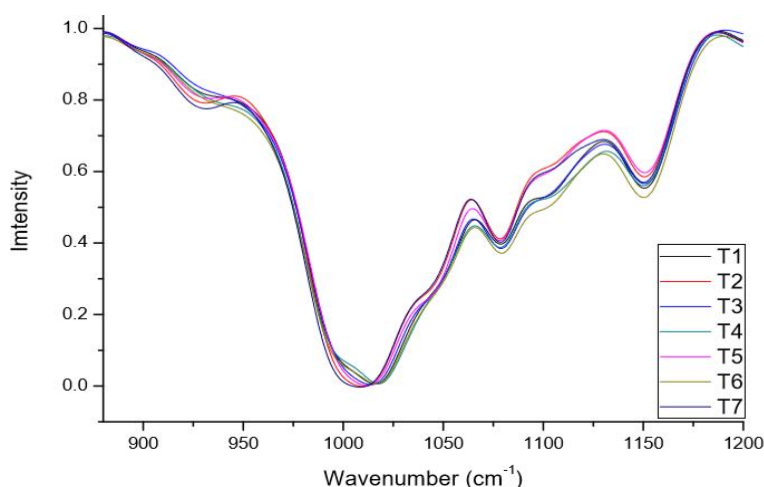


En las Figuras 31. a) y b) se observa la superficie de respuestas de la intensidad de las amidas I y II, las superficies fueron determinadas mediante las ecuaciones polinómicas de segundo grado: $1633 \text{ cm}^{-1} = 0.4239 + (0.0694*T) - (0.0006*SDS) + (0.1199*NaOH) - (0.0676*T^2) - (0.0027*T*SDS) + (0.0264*T*NaOH) + (0.087*SDS^2) + (0.0663*SDS*NaOH) + (0.0348*NaOH^2)$ y $1563 \text{ cm}^{-1} = 0.3203 + (0.0585*T) - (0.0260*SDS) + (0.0869*NaOH) - (0.0555*T^2) + (0.0194*T*SDS) + (0.0362*T*NaOH) - (0.0467*SDS^2) + (0.0305*SDS*NaOH) - (0.0404*NaOH^2)$ respectivamente, para la amida I el $R^2 = 90.3230$ y para la amida II un $R^2 = 94.2841$. Avanza *et al.*, (2006) encontraron que las configuraciones proteicas son afectadas por los tratamientos térmicos generando cambios conformacionales y de agregación provocando una desnaturalización de las albuminas y globulinas presentes en el grano de amaranto; el calentamiento en la molienda húmeda pudo provocar un desdoblamiento de las estructuras secundarias, lo que ocasionó la disociación y/o agregación a nivel de la estructura cuaternaria de las proteínas, lo que afectó la solubilidad y modificó la extracción de estas en la molienda húmeda. Por otro lado, en un estudio realizado por Radosavljevic *et al.*, (1998) se obtuvo que al trabajar con concentraciones altas de hidróxido de sodio mejora el proceso de extracción de almidón es decir facilita una mejor separación con la proteína. En dicho estudio se utilizaron dos concentraciones de hidróxido de sodio, en la primera solución se utilizó 0,25 % obteniéndose una recuperación de $72,4 \% \pm 5,4$ de almidón con un contenido (impureza) de proteína de $0,40 \% \pm 0,12$, mientras que con la solución al 1 % de NaOH se obtuvo un $79,4 \% \pm 1,1$ de recuperación de almidón con un contenido de proteína de $0,08 \% \pm 0,00$, para el caso del presente trabajo se evidencia el mismo comportamiento ya que como se muestra en la Cuadro 3 los tratamientos con concentración de NaOH 3 % (T4, T8, T10 Y T14), obtuvieron mayores intensidades en la región de las proteínas comparados con otros tratamientos de menor concentración como el tratamiento T11 el cual se trabajó al 0,20 % de NaOH. Teniendo en cuenta esto se puede decir que una alta recuperación de almidón, alto rendimiento de almidón y bajo contenido de proteínas en los almidones son indicadores de un buen proceso de molienda húmeda, además el mayor rendimiento de proteína en el coproducto también se debe a que las albúminas son la principal fracción proteica en el grano de amaranto que va desde el 42 % al 46 % de las proteínas totales las cuales son altamente solubles en soluciones alcalinas (M. Radosavljevic *et al.*, 1998). Sanchez, (2007) también concuerda con que las proteínas en el amaranto están representadas en mayor proporción por el grupo de las albúminas las cuales son afectadas por los tratamientos térmicos con temperaturas superiores a $60 \text{ }^\circ\text{C}$, debido a que a esta temperatura se desnaturalizan siendo consideradas con baja estabilidad térmica.

3.4 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA DE LA FRACCIÓN AMILÁCEA

En la Figura 32 se observan algunos de los espectros correspondientes a los enlaces glucosídicos I y II a 1077 cm^{-1} y 1150 cm^{-1} respectivamente; como la muestras de análisis es de un pseudocereal, estas bandas se pueden relacionar a la presencia de almidones, los que se encuentran entre $800\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$ esta región se caracteriza por ser sensible al orden conformacional y cristalino del almidón, por lo cual, se resalta la importancia del estudio de esta región para analizar el comportamiento bajo las condiciones utilizadas para su extracción (Xiong *et al.*, 2017).

Figura 32. Espectros acercados a la zona de almidón y enlaces glucosídicos I,II del tratamiento T1 a T7



En la Cuadro 4 se presentan los resultados de las intensidades de las bandas de los enlaces glucosídicos I (1077 cm^{-1}) y II (1150 cm^{-1}), las cuales están asociadas al contenido de la fracción amilácea, siendo el enlace glucosídico I el que presenta las intensidades más altas y con una sensibilidad mayor, presentando un coeficiente de correlación (R^2) de 92,53,

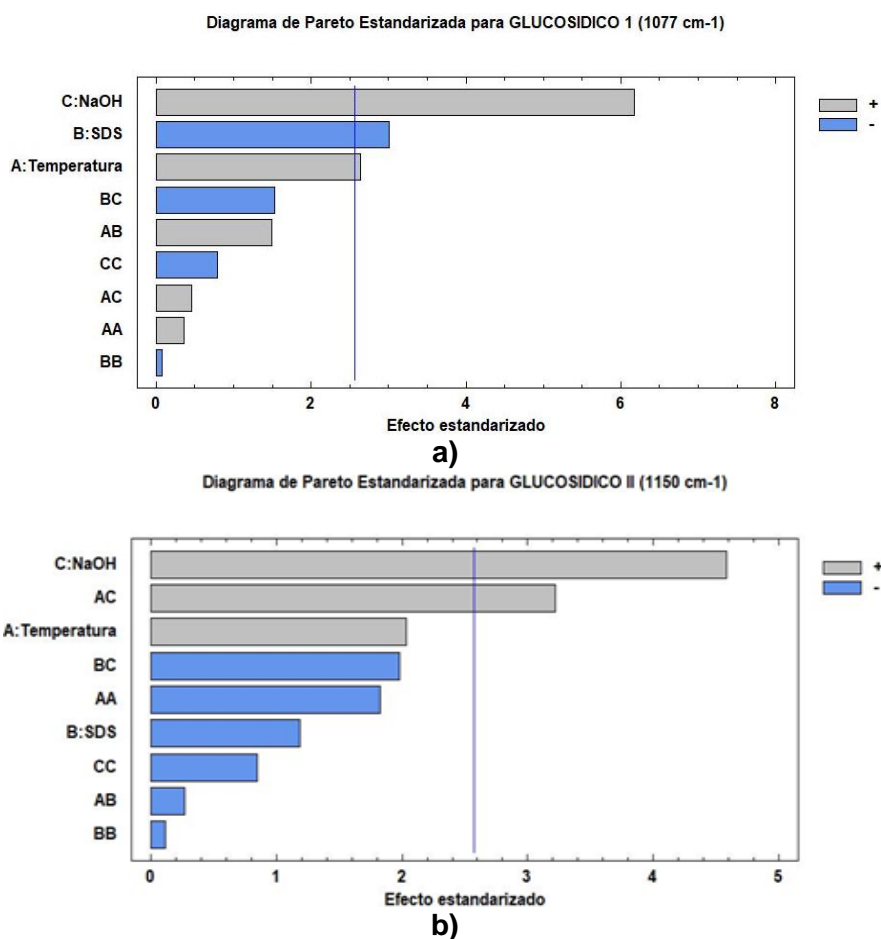
Cuadro 4. Intensidades de los enlaces glucosídicos a 1077 cm^{-1} y 1150 cm^{-1} para los diferentes tratamientos

Tratamientos	Glucosídico I (1077 cm^{-1})	Glucosídico II (1150 cm^{-1})
1	$0,629\pm 0,001$ ^{c,d,e}	$0,444\pm 0,008$ ^d
2	$0,609\pm 0,002$ ^{h,i}	$0,415\pm 0,003$ ^{g,h,i}
3	$0,635\pm 0,001$ ^{b,c}	$0,434\pm 0,004$ ^{d,e,f}
4	$0,625\pm 0,008$ ^{c,d,e,f}	$0,440\pm 0,007$ ^{d,e}
5	$0,614\pm 0,002$ ^{g,h,i}	$0,403\pm 0,002$ ⁱ
6	$0,634\pm 0,003$ ^{a,b}	$0,458\pm 0,001$ ^c
7	$0,616\pm 0,003$ ^{f,g,h,i}	$0,427\pm 0,004$ ^{e,f,g}
8	$0,630\pm 0,007$ ^{c,d}	$0,405\pm 0,001$ ⁱ
9	$0,606\pm 0,001$ ⁱ	$0,412\pm 0,005$ ^{h,i}
10	$0,653\pm 0,003$ ^a	$0,491\pm 0,005$ ^b
11	$0,620\pm 0,002$ ^{d,e,f,g}	$0,403\pm 0,008$ ⁱ
12	$0,621\pm 0,004$ ^{e,f,g}	$0,434\pm 0,002$ ^{f,g,h}
13	$0,632\pm 0,001$ ^c	$0,439\pm 0,003$ ^{d,e,f}
14	$0,649\pm 0,002$ ^a	$0,480\pm 0,002$ ^{b,c}
15	$0,618\pm 0,005$ ^{e,f,g,h}	$0,410\pm 0,010$ ^{h,i}

Los valores representan el promedio y desviación de los duplicados. Las diferentes letras (a-i) muestran la diferencia significativa existentes entre los tratamientos ($p < 0.05$), evaluando comportamientos paramétricos y no paramétricos con la finalidad de realizar un análisis más profundo. *Tratamientos centrales del diseño.

En las Figuras 33. a) y b) se muestra los diagramas de Pareto estandarizados, los cuales fueron obtenidos mediante el análisis estadístico para el enlace glucosídico I y II, siendo significativa la concentración del hidróxido de sodio presentando un efecto positivo (+) en ambos enlaces, teniendo como resultado que a mayor concentración de este reactivo aumenta la intensidad de los enlaces glucosídicos en el subproducto en el rango de concentraciones objeto de estudio.

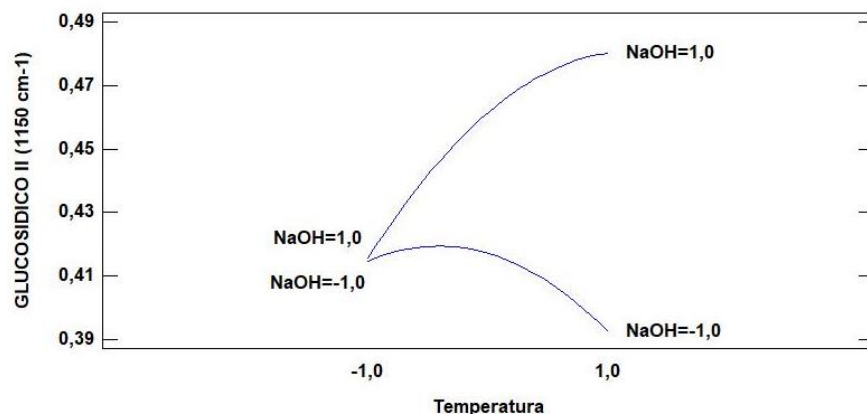
Figura 33 a) diagrama de Pareto para glucosídicos I. b) diagrama de Pareto para glucosídicos II



Mistry y Eckhoff (1992) determinaron que al utilizar diferentes concentraciones afectan el proceso de molienda húmeda obteniéndose diferente composición, en el caso del NaOH afecta la interacción almidón/proteína resultando en una mejor separación de estos dos macronutrientes, en el caso de la temperatura su efecto positivo (+) radica en el aumento de la cinética de hidratación a medida que se incrementa la temperatura, facilitando el ingreso del reactivo sobre la matriz que se desea separar, para el caso del enlace glucosídico I, las intensidades se ven reducidas con el aumento de la concentración del tensoactivo (SDS), también se resalta que no presenta efectos cuadráticos, ni de

interacciones entre factores que resulten significativos. Por otro lado, también se observa significativa la interacción del agente lixiviante (NaOH) y el efecto de la temperatura, asociado al enlace glucosídico II, lo cual indica que la combinación de estas variables afecta la extracción de este tipo componentes en el subproducto, el comportamiento de dicha interacción se observa en la en la Figura 34.

Figura 34 Interacción entre Hidróxido de sodio y Temperatura para el enlace glucosídico II a 1150 cm^{-1}

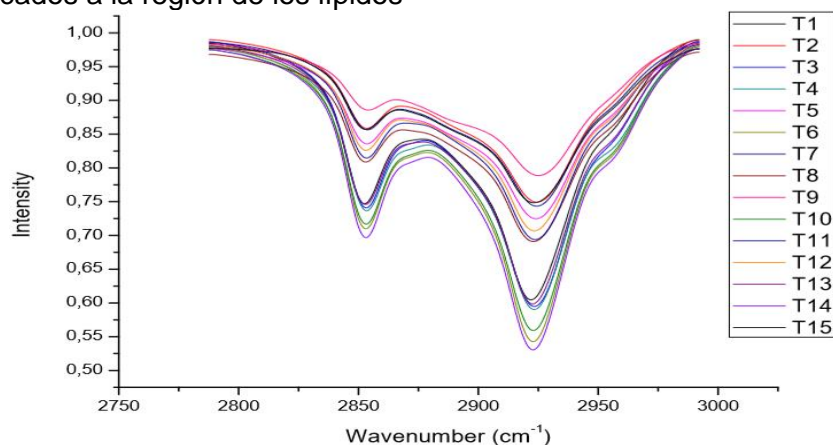


En la Figura 34 se observa la interacción entre la temperatura y el hidróxido de sodio para el enlace glucosídico II, donde se muestra que con un aumento de la temperatura y manteniendo concentraciones altas de hidróxido de sodio, se incrementa la presencia de este tipo de compuestos en el subproducto, por otro lado, manejando temperaturas altas y concentraciones bajas de hidróxido de sodio, las intensidades para este tipo de estructuras tienden a disminuir, indicando que para tener mayor contenido de este tipo de estructuras en el subproducto es viable operar a concentraciones altas de hidróxido de sodio y al mismo tiempo mantener temperaturas altas en reactor, lo cual resulta eficiente, si es lo que se desea en el proceso operativo, debido a que permite una mejor separación de macronutrientes en la matriz del grano.

3.5 EFECTO DE LA MOLIENDA HÚMEDA SOBRE EL CONTENIDO Y ESTRUCTURA DE LA FRACCIÓN LIPÍDICA

El contenido de lípidos en el grano de amaranto puede variar entre 4.8 % a 8.1 % aunque algunas especies como *A. spinosus* y *A. tenuifolius* presentan 17 % y 19.3 % respectivamente. El aceite de amaranto contiene variedad de ácidos grasos insaturados y saturados, tocofeolores y escualeno. Los ácidos grasos más abundantes en el aceite crudo son: ácido linoleico (45 %), oleico (29 %), palmítico (22 %) y en menor cantidad ácido esteárico (3 %). Se han cuantificado también un 2.8 % a 7.8 % de tocoferoles y tocotrienoles y un alto contenido de escualeno (4,2 %), siendo la especie vegetal que produce la mayor cantidad de escualeno, el cual es un antioxidante y un fortalecedor del sistema inmune. (Algara *et al.*, 2013).

Figura 35. Espectros FTIR de todos los tratamientos obtenidos por molienda húmeda alcalina acercados a la región de los lípidos



En la Figura 35 se muestran los espectros FTIR acercados a la región comprendida entre 2800 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} , los cuales son característicos en los lípidos cuando se analizan por espectroscopia FTIR en la región media. (Herrero *et al.*, 2017). Los picos de los lípidos se encuentran a un número de onda aproximado de 2854 cm^{-1} que corresponde a vibraciones de estiramiento simétricas y a 2924 cm^{-1} correspondiente a vibraciones de estiramiento asimétricas, en ambos casos de los grupos acilo CH_2 , los cambios en las intensidades de cada uno de los espectros lo que se puede atribuir generalmente a cambios en el orden conformacional de las cadenas de acilo lipídico, así como también a el aumento en su dinámica (Herrero *et al.*, 2017), debido a las condiciones manejadas en el diseño experimental.

En el Cuadro 5 se muestra las intensidades obtenidas a partir de la técnica de espectroscopia FTIR-ATR donde se pueden observar los cambios en las intensidades para las bandas 2852 cm^{-1} y 2921 cm^{-1} , asociadas a la fracción lipídica presente en el subproducto del grano de amaranto de los 15 tratamientos.

Cuadro 5. Intensidades para las bandas 2852 cm^{-1} y 2921 cm^{-1} asociadas a lípidos para los diferentes tratamientos

Tratamientos	Lípidos I (2852 cm^{-1})	Lípidos II (2921 cm^{-1})
1	$0,257 \pm 0,002^e$	$0,398 \pm 0,003^e$
2	$0,144 \pm 0,001^{g,h}$	$0,251 \pm 0,002^h$
3	$0,259 \pm 0,004^e$	$0,404 \pm 0,005^e$
4	$0,262 \pm 0,014^e$	$0,408 \pm 0,018^e$
5	$0,155 \pm 0,001^{g,h}$	$0,267 \pm 0,001^{g,h}$
6	$0,289 \pm 0,020^{c,d}$	$0,457 \pm 0,025^{b,c}$
7	$0,143 \pm 0,001^h$	$0,256 \pm 0,001^h$
8	$0,181 \pm 0,007^f$	$0,300 \pm 0,007^f$
9	$0,111 \pm 0,004^i$	$0,207 \pm 0,004^i$
10	$0,276 \pm 0,002^{d,e}$	$0,435 \pm 0,004^{c,d}$

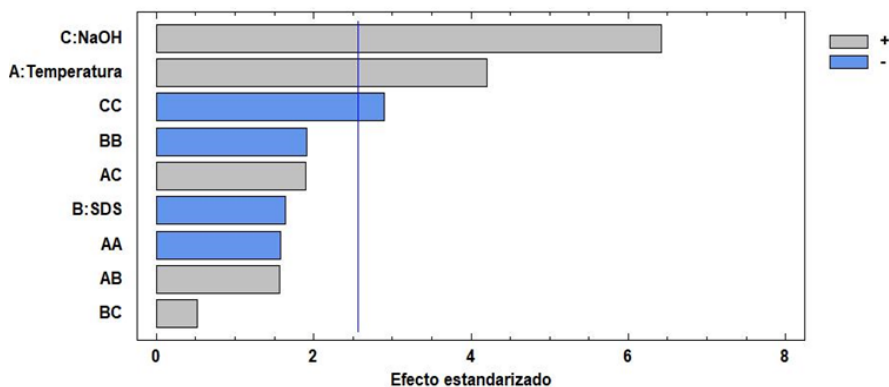
CONTINUACIÓN CUADRO 5.

Tratamientos	Lípidos I (2852 cm ⁻¹)	Lípidos II (2921 cm ⁻¹)
11	0,181±0,002 ^f	0,302±0,001 ^f
12	0,248±0,005 ^{f,g}	0,378±0,004 ^{f,g}
13	0,253±0,012 ^e	0,401±0,017 ^e
14	0,303±0,002 ^c	0,469±0,004 ^b
15	0,144±0,009 ^{g,h}	0,249±0,011 ^h

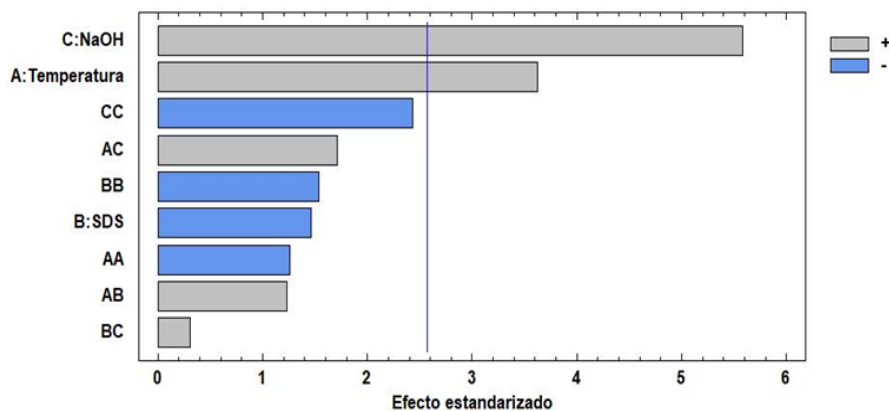
Los valores representan el promedio y desviación de los duplicados. Las diferentes letras (a-i) muestran la diferencia significativa existentes entre los tratamientos ($p < 0.05$), evaluando comportamientos paramétricos y no paramétricos con la finalidad de realizar un análisis más profundo. *Tratamientos centrales del diseño.

En los diagramas de Pareto presentados en la Figuras 36. a) y b) se observa que hay dos efectos principales que afectan la extracción de la fracción lipídica, los cuales son el hidróxido de sodio (C) siendo este el efecto más relevante, seguido por la temperatura la cual ayuda en la difusión del NaOH del medio hacia el interior del grano, por otro lado en ambos diagramas se observa una tendencia negativa cuando se presenta una interacción cuadrática del hidróxido de sodio.

Figura 36. a) diagrama de Pareto para lípidos I. b) diagrama de Pareto para lípidos II



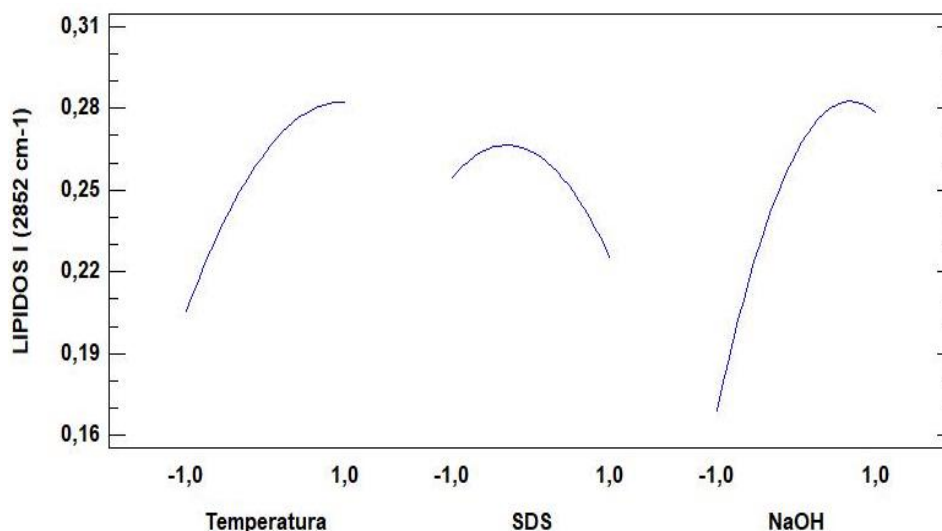
a)



b)

En las Figuras 37 se presentan los efectos principales de las bandas asociadas a los lípidos donde observa más detalladamente que al aumentar la concentración de hidróxido de sodio las intensidades aumentan, de manera similar ocurre cuando se presenta un aumento de la temperatura, sin embargo se observa que cuando estas variables son cercanas a niveles de 1 muestran una tendencia a disminuir la intensidades lo que se traduce en un descenso de la fracción lipídica presente en el subproducto, en cuanto al SDS no resulta ser significativo estadísticamente como tampoco el efecto de las interacciones.

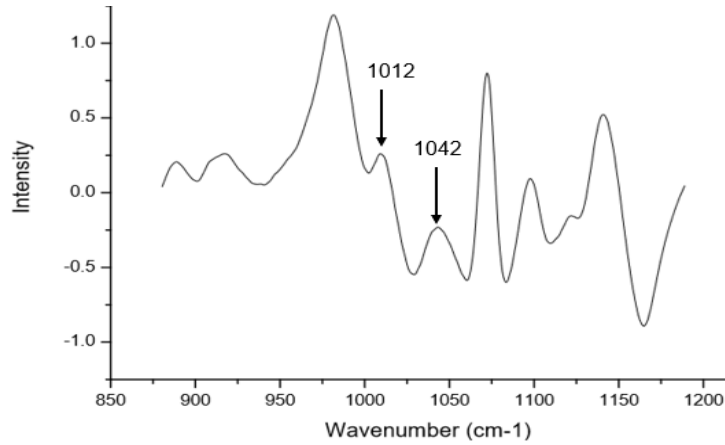
Figura 37. efectos principales para las bandas asociadas a lípidos



3.6 ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE LA REGION CRISTALINO/AMORFA DE LA FRACCIÓN AMILÁCEA MEDIANTE DECONVOLUCIONES

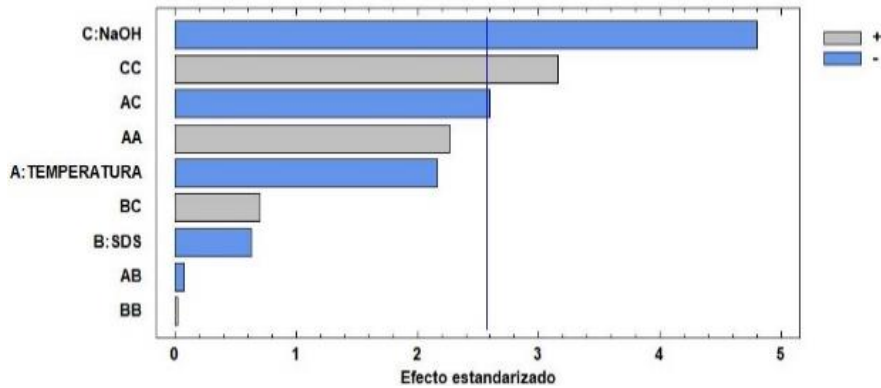
Para estudiar la región cristalina/amorfa de la fracción amilácea se realizó deconvoluciones al pico del almidón, el cual se identificó con espectroscopía FTIR en cada uno de los tratamientos. La deconvolución presenta dos bandas características identificadas a 1012 cm^{-1} asociada al estiramiento C-O-C y C-O y 1042 cm^{-1} con enlace de flexión C-O, las anteriores bandas se encuentran identificadas en la Figura 38 (Capron et al., 2007), en literatura generalmente están identificadas las bandas 1022 y 1047 cm^{-1} , en este caso hay un corrimiento para las bandas de almidón encontradas en las muestras, donde la primera banda se asocia a la región amorfa que se encuentra relacionada a la estructura de amilosa del almidón, por otro lado, la segunda banda se asocia a la región cristalina relacionada a el contenido de amilopectina presente en el almidón (Van Soest *et al.*, 1995), cambios en esta región influyen en el índice de cristalinidad, el cual resulta importante en la aplicación y diseño de productos. Por lo tanto, para cada uno de los tratamientos se calculo el área bajo la curva para cada pico utilizando el programa statgraphics, y se encontró que, debido a los diferentes tratamientos manejados en el proceso de molienda húmeda, dicha región resulta afectada generando cambios de orden conformacional del almidón del amaranto.

Figura 38. Bandas asociadas a región cristalino y amorfa del almidón



El diagrama de Pareto presentado en la Figura 39 de las bandas asociadas a las regiones cristalino y amorfa del almidón indican que el hidróxido de sodio (C) es el principal factor que afecta negativamente a los tratamientos disminuyendo el área de la región cristalina a media que aumenta concentraciones del reactivo, sin embargo se presenta una relación positiva cuando el efecto del hidróxido de sodio se encuentra de manera cuadrática (CC) y un efecto negativo para interacción entre la temperatura e hidróxido de sodio (AC).

Figura 39. Diagrama de Pareto para la región cristalino y amorfa del almidón (1042/1012)



Como se observa en la Figura 40 las variables principales que afectan los enlaces asociados al almidón son la temperatura y el hidróxido de sodio, modificando las regiones amorfa y cristalina, dichas variables presentan tres zonas, la primera zona se presenta a temperaturas y concentración de NaOH bajas condiciones en las cuales el índice de cristalinidad es alto, la segunda zona se da a condiciones intermedias las cuales registran los valores más bajos para el índice de cristalinidad, en la última zona la temperatura y NaOH con valores cercanos a 1 se muestra una tendencia de aumento del índice cristalino, para el caso del tensoactivo no tiene influencia significativa en los cambios en la estructura.

Figura 40. Efectos principales de la banda relacionada a la región cristalino/amorfa (1042/1012)

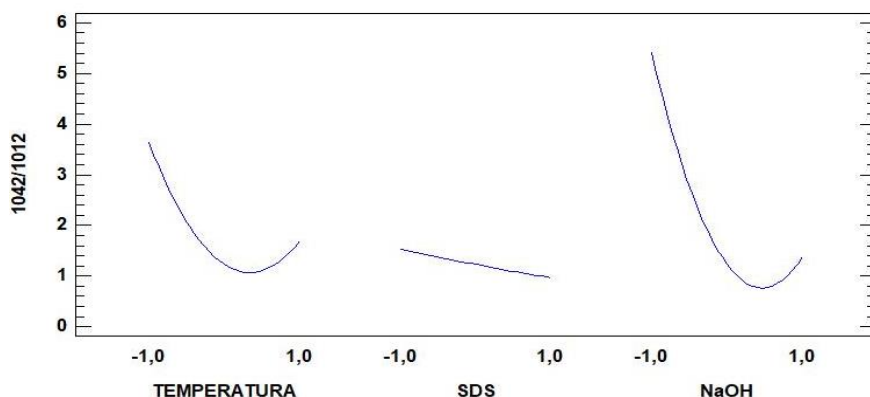
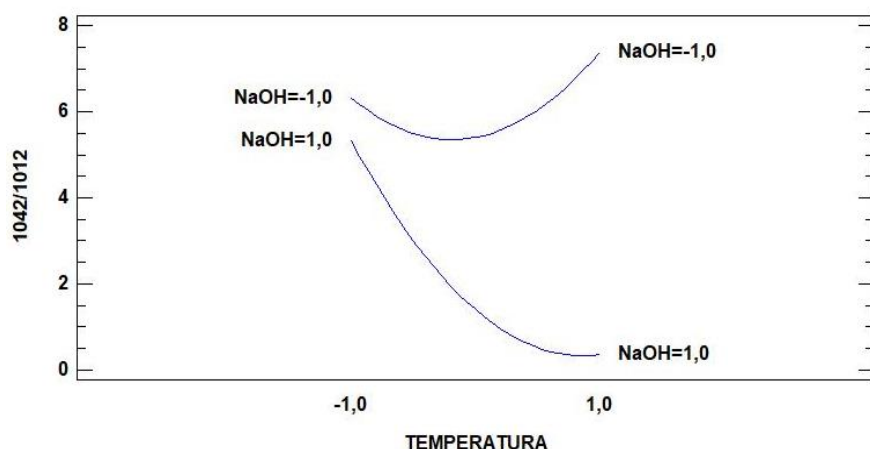


Figura 41. Interacciones de la banda relacionada a la región cristalino/amorfa (1042/1012)

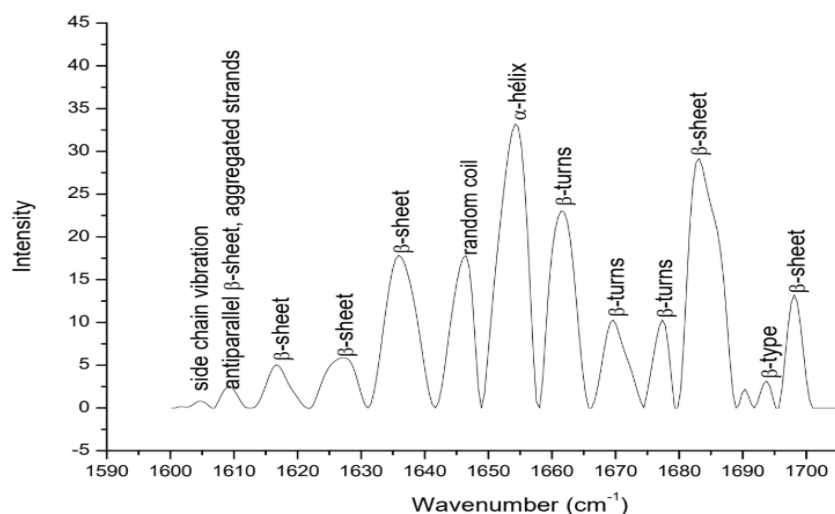


En la Figura 41 se muestra la interacción entre la temperatura e hidróxido de sodio para la región cristalino/amorfa (1042/1012) en donde a temperaturas bajas y concentraciones de NaOH altas el índice de cristalinidad es alto, es decir, que la estructura interna del granulo de almidón del amaranto no es modificada, sin embargo esta relación va disminuyendo a medida que se incrementa la temperatura, esto podría ser debido a que con el aumento, hay una mayor difusión y capacidad de absorción del NaOH presente en la solución, lo cual concuerda con lo encontrado por Moreno, (2018) quien para la molienda húmeda del grano de Amaranto reporta valores de K_2 bajos a una Temperatura de 51 °C es decir que la capacidad de absorción es más alta que a temperaturas de 24 °C y 37 °C, por otro lado, la energía térmica entregada al sistema provoca principalmente modificaciones en la zona amorfa con tendencia a desestabilizar el sistema durante el calentamiento ocasionando una fusión de los cristales a temperaturas por debajo de la descrita por Calzetta (1999), lo cual provoca modificación en la estructura de almidón, y así mismo un cambio en el potencial y aplicación de este componente en productos.

3.7 ANÁLISIS DE LAS ESTRUCTURAS SECUNDARIAS DE LA AMIDA I MEDIANTE DECONVOLUCIONES.

La banda amida I tiene su fundamento en la vibración de estiramiento del enlace C=O (80 % aproximadamente) en los grupos de amidas y en menor proporción con una flexión de enlace N=H en plano (<20 %), las proteínas están asociadas a diferentes estructuras, para el caso de la amida I, generalmente corresponde a esqueletos tipo α -hélice, β -sheet. La Banda amida I de las proteínas o polipéptidos consisten en bandas de componentes superpuestas, giros y estructuras aleatorias por eso la importancia de saber a qué bandas corresponde ese tipo de estructuras (Kong y YU, 2007). En la Figura 42 se muestran las bandas encontradas al realizar deconvolución a la banda amida I que se encuentra en la región de 1600 a 1700 cm^{-1} , siendo sensible a los cambios de pequeñas variaciones en la geometría molecular, composición y cambios conformacionales de las estructuras secundarias de proteínas, (H y Byler, 1986; Dong *et al.*, 1990). La banda amida I se origina principalmente a partir de la vibración de estiramiento C=O y está compuesta por varias bandas de componentes superpuestos de los cuales se identifican a diferente número de onda. (Wang *et al.*, 2014); las bandas ubicadas a 1612, 1625 y 1682 cm^{-1} se deben a estructuras β -sheet al igual que la banda ubicada a 1638 y 1698 cm^{-1} , las bandas 1645 y 1691 cm^{-1} son asignadas a estructuras random coil y a estructuras β -type respectivamente, por otro lado se encuentran las estructuras 1667 , 1678 cm^{-1} y la 1661 cm^{-1} las cuales son generalmente estructuras β -turns y la banda 1654 cm^{-1} corresponde a estructuras α -helix (Shen *et al.*, 2014).

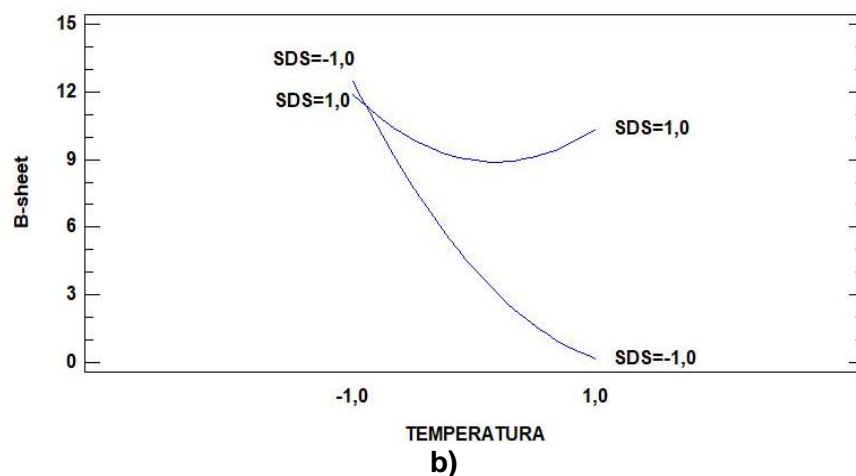
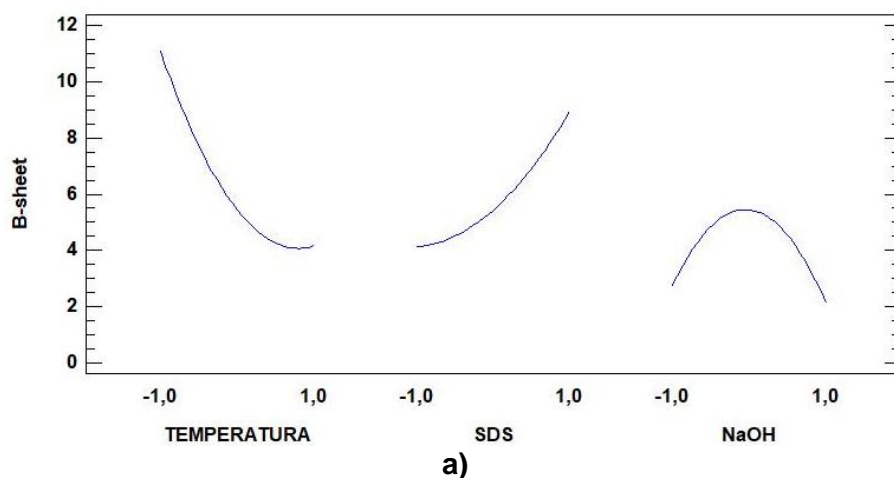
Figura 42. Picos identificados utilizando deconvoluciones en la Amida I (1633 cm^{-1})



Utilizando el área bajo la curva de cada una de las bandas encontradas se realizó un análisis de comparación múltiple con el que se determinó que las bandas que presentan diferencias significativas son: β -sheet a 1628 cm^{-1} , dos bandas β -turns a 1661 y 1669 cm^{-1} , antiparallel β -sheet a 1683 cm^{-1} y α -hélice a 1653 cm^{-1} , las anteriores bandas identificadas son objeto de estudio a continuación.

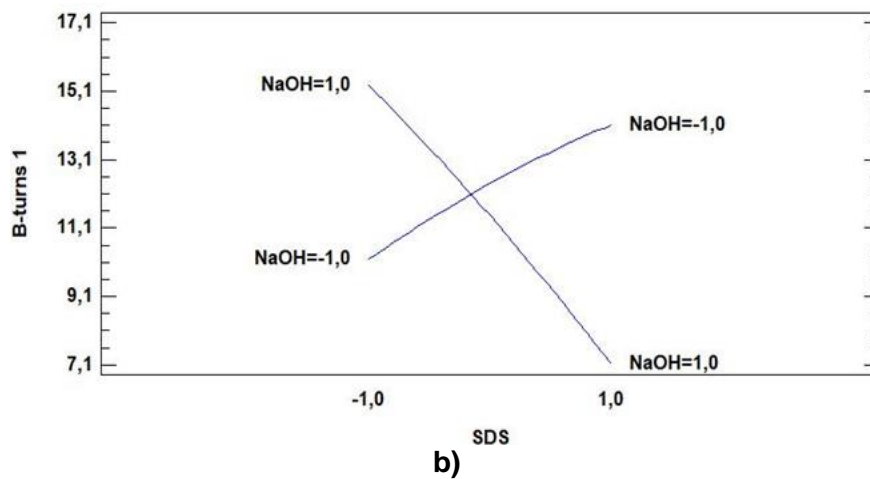
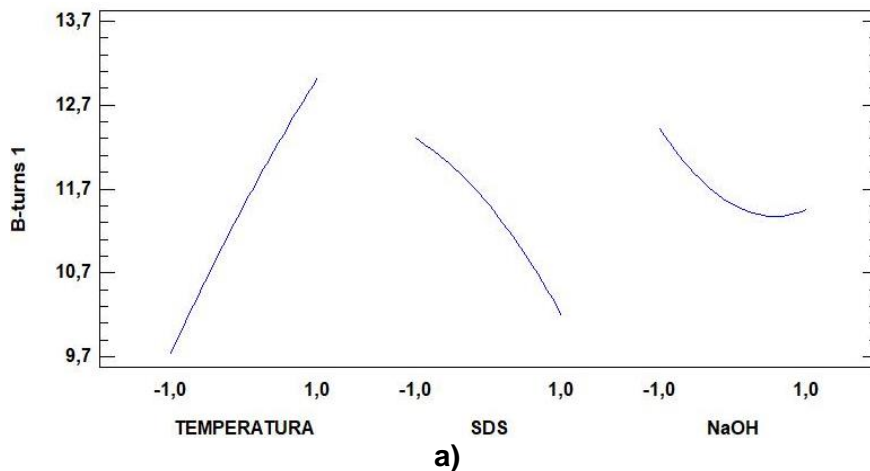
En las Figuras 43 a) y b) se observan las variables principales por las cuales resulta afectada la banda β -sheet, son la temperatura (A) y el SDS (B), por lo tanto a temperaturas bajas se obtienen áreas mayores y cuando esta aumenta el comportamiento del área disminuye, lo cual indica que manteniendo temperaturas altas en el reactor se presenta un reordenamiento de la estructura haciendo que disminuya la vibración de este tipo de enlaces, también se muestra que a concentraciones bajas de SDS (B) el área es menor que cuando se manejan concentraciones altas, este comportamiento se muestra mejor con la figura de interacción entre temperatura (A) y SDS (B) donde manteniendo concentraciones bajas de SDS y aumentando la temperatura hay un reordenamiento representativo de las estructuras β -sheet (1628 cm^{-1}) en la proteína globular, por otro lado manteniendo concentraciones altas del tensoactivo (B) combinado con un aumento de la temperatura disminuye el área, sin embargo se presenta un efecto cuadrático de la temperatura haciendo que bajo estas condiciones este tipo de estructuras queden expuestas captando una mayor señal con el método de espectroscopia FTIR-ATR reflejando un aumento del área.

Figura 43. a) efectos principales para la estructura β -sheet. b) efecto de interacción temperatura y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -sheet (1628 cm^{-1})



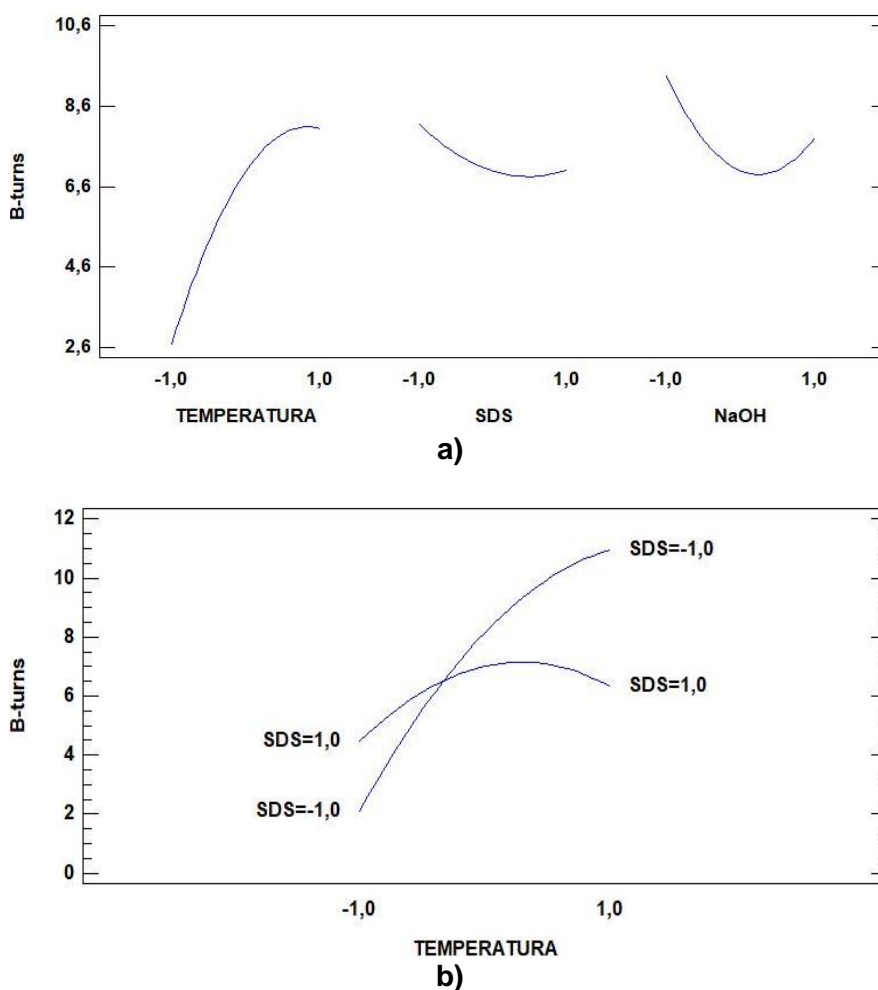
El comportamiento de la banda a 1661 cm^{-1} se presenta en las Figuras 44 a) y b) donde se observa que a temperaturas bajas el ordenamiento de la estructura globular de la proteína no permite mayor vibración de este tipo de estructuras lo cual se refleja en menores áreas, sin embargo con el aumento de la temperatura se presenta una mayor vibración y con esto un aumento del área; para el caso del SDS a concentraciones bajas hay un aumento en la vibración de la estructura, disminuyendo cuando en el proceso se incluyen concentraciones altas del tensoactivo, con el efecto del NaOH el área de la banda tiende a disminuir a medida que se eleva la concentración además presenta un efecto positivo cuando el efecto es cuadrático, no obstante las condiciones del diseño experimental solo permiten predecir este comportamiento hasta la máxima concentración trabajada siendo esta de 3 % (NaOH). Para el caso de las interacciones se tiene que manteniendo concentraciones altas de hidróxido de sodio con concentraciones bajas de SDS se obtiene mayor área de esta estructura disminuyendo a medida que se aumenta la concentración de tensoactivo, caso contrario ocurre cuando se mantienen concentraciones bajas de hidróxido combinado con un aumento de la concentración de SDS.

Figura 44. a) efectos principales para la estructura β -turns. b) efecto de interacción hidróxido de sodio y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -turns



En cuanto a la β -turns localizada a longitud de onda a 1669 cm^{-1} , se observa en las Figuras 45 a) y b) que la temperatura y el hidróxido de sodio tiene un comportamiento similar al presentado por la banda 1661 cm^{-1} donde a temperaturas mayores hay un incremento del área, para el caso del NaOH se muestra que disminuye el área cuando aumenta la concentración, sin embargo con valores cercanos a 1 se presenta una tendencia de aumento del área, en cuanto al tensoactivo hay un efecto negativo al aumentar la concentración, la β -turns es afectada significativamente por la interacción temperatura-SDS en la cual al aumentar la temperatura y manteniendo concentraciones bajas del tensoactivo el área es mayor que al trabajar con concentraciones altas de SDS.

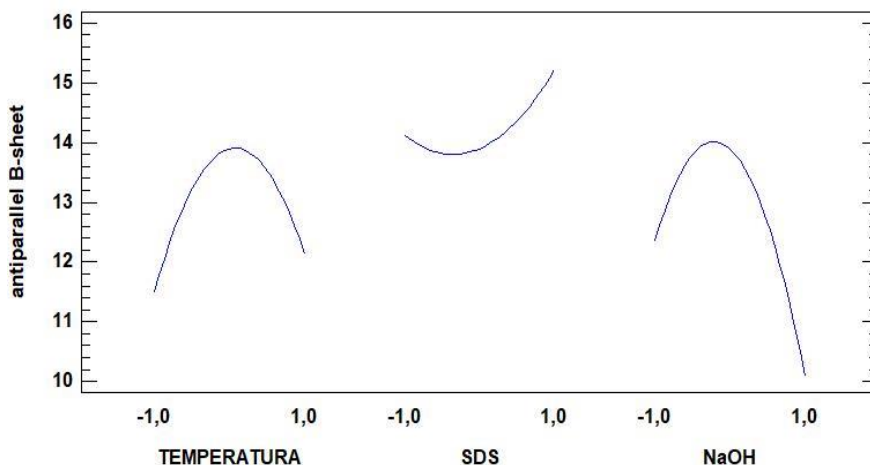
Figura 45. a) efectos principales para la estructura β -turns. b) efecto de interacción temperatura y dodecilsulfato de sodio sobre la estructura β -turns (1669 cm^{-1})



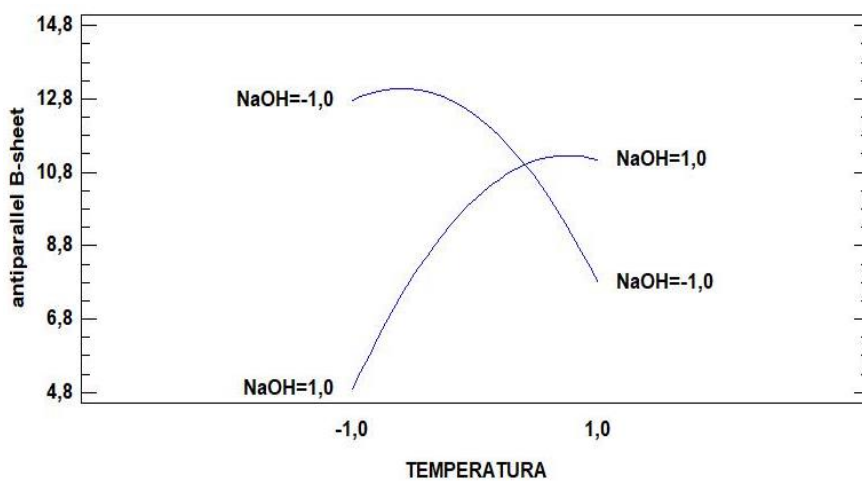
Otra de las bandas asociada a estructuras secundarias es la β -sheet-antiparalela, estructura que se encuentra afectada por la temperatura y el hidróxido de sodio, como se puede observar en las Figuras 46 a) y b) en donde a temperaturas y concentraciones de NaOH intermedias se tienen mayores áreas en comparación con valores cercanos a -1 y 1,

en el efecto de interacción de estas dos variable se observa que a concentraciones altas de hidróxido de sodio y temperaturas altas el área de las estructuras es amplio, pero va disminuyendo cuando se tiene temperaturas bajas, también se observa que manteniendo concentraciones bajas de hidróxido de sodio con un aumento de la temperatura el área disminuye.

Figura 46. a) efectos principales para la estructura antiparalel B-sheet. b) efecto de interacción temperatura e hidróxido de sodio sobre la estructura antiparalel B-sheet (1683 cm^{-1})



a)

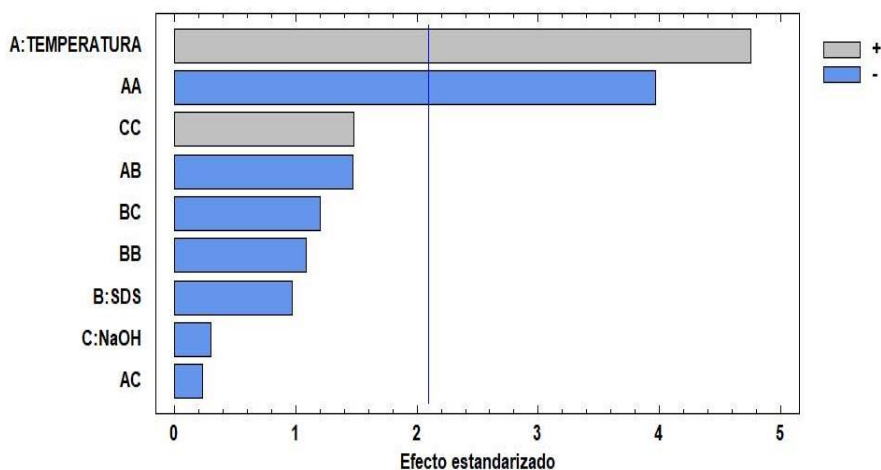


b)

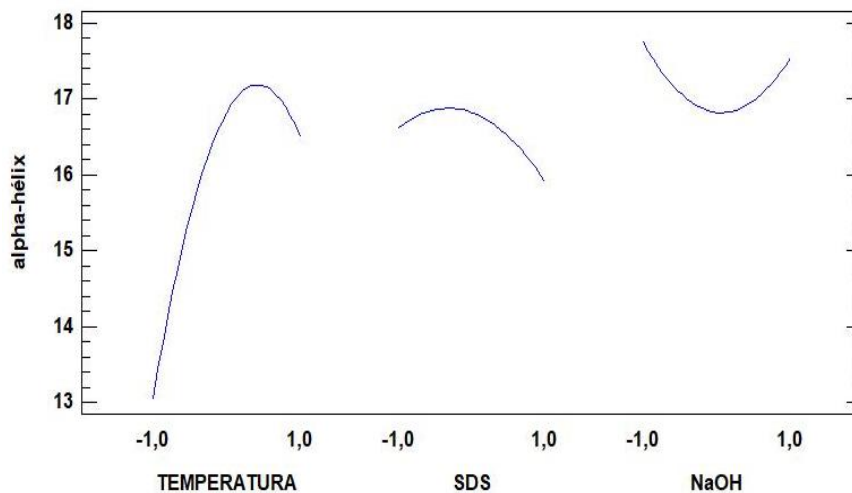
La estructura secundaria α -helix la es afectada por la temperatura en forma lineal y cuadratica como se presenta en las Figuras 47 a) y b), sin embargo en el primer caso con el aumento de la temperatura se incrementa el área para esta estructura, caso contrario ocurre en su estado cuadratico en donde es afectada negativamente con una disminución de la estructura, en la figura de efectos principales se observa con más detalle este

comportamiento presentandose para la temperatura con valores cercanos a -1 la menor área para la α -helix, la cual aumenta hasta su punto más alto en temperaturas intermedias, seguido de una tendencia a disminuir cuando se alcanzan valores cercanos a 1.

Figura 47. a) diagrama de Pareto para la estructura α -helix. b) efectos principales para la estructura α -helix (1653 cm^{-1})



a)



b)

Con las deconvoluciones realizadas a la banda amida I se encontró modificaciones en las proteínas del *Amaranthus cruentus*, lo cual indica que la estructura cambia su forma nativa probablemente por un reordenamiento de la estructura secundaria, provocado posiblemente por el efecto de la temperatura. En el caso de la estructura secundaria β -sheet, se podría decir que este tipo de estructuras son sensibles al aumento de la temperatura provocando la disminución de la presencia de estas estructuras en el

subproducto. En este trabajo las temperaturas trabajadas normalmente no producen una completa desnaturalización; generalmente este proceso inicia a temperaturas de 60 y 70 °C, para las proteínas globulares (Badui, 2006). Se resalta que del grupo de estructuras secundarias estudiadas en el trabajo las β -sheet son las únicas que sufren un reordenamiento a las temperaturas manejadas, donde se disminuye el área que está relacionada con la presencia de este tipo de estructuras en la proteína del amaranto presente en la muestra, por otro lado, se evidencia que el resto de estructuras secundarias como son β -turns I, β -turns II, β -sheet-antiparalela y α -helix presentan un favorecimiento con el aumento de las temperaturas manejadas en el diseño experimental logrando una incidencia en la lectura del FTIR aplicando la técnica de deconvoluciones se evidencia en el aumento de la presencia de estas estructuras dentro de la proteína, sin embargo con el efecto cuadrático de la temperatura se evidencia que estas estructuras secundarias comienzan a presentar cambios en el ordenamiento globular., se podría relacionar que a temperaturas altas la disminución de estructuras β -sheet conlleva a un aumento del resto de estructuras secundarias analizadas, también se resalta que aunque las β -sheet-antiparalela y α -helix siguen el mismo comportamiento que las β -turns I y β -turns II, estas presentan un efecto cuadrático lo que significa que hay una temperatura máxima donde se incrementa la pérdida de estas estructuras dentro de la proteína. Por otro lado, la presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS) en las muestras analizadas tiene influencia dependiendo de la concentración micelar crítica del sistema donde a concentraciones por debajo solo logra penetrar a la molécula globular de la proteína de forma superficial con el acomodo de sus cadenas no polares hacia el interior de esta, por lo cual las cabezas polares afectan las interacciones electrostáticas del exterior, lo contrario ocurre cuando el SDS sobrepasa la concentración crítica, donde las micelas logran inducir el desplegamiento de la molécula porque logran estabilizar la forma desplegada del polipeptido, mediante la formación de micelas mezcladas alrededor de las zonas hidrofóbicas que logran mantenerse expuestas al ambiente acuoso donde dichas micelas estabilizan de forma similar a las proteínas con los lípidos, otro posible cambio de estas estructuras pudo producirse por un cambio en el pH natural de la proteínas debido a cambios en la ionización de las cadenas laterales cargadas donde afecta el número de puentes salinos que estabilizan la estructura nativa, en este caso la desnaturalización alcalina implica la neutralización de la carga positiva de las cadenas laterales de Lys, His y Arg. Otro factor responsable de cambios en la estructura secundaria es la inactivación mecánica cuando son sometidas a fuerzas cortantes o de agitación, como por ejemplo la trituración, etapa que se realiza durante el proceso de molienda húmeda, ya que las cuchillas pueden causar el rompimiento de algunos enlaces, por otro lado la velocidad a la que giran las cuchillas pueden causar un efecto de espumado provocando la formación de interfases líquido-aire causando que la proteína se desdoble y se absorba estabilizando las burbujas de aire formadas, haciéndose necesario utilizar antiespumantes para impedir este tipo de desnaturalización (Badui, 2006).

3.8 PROPIEDADES REOLÓGICAS

En la Cuadro 6 se presentan los resultados del índice de gel (n) para los módulos elásticos (G') y viscoso (G'') para los 15 tratamientos, en donde se observa que el (G') tiene valores desde 0.1735 hasta 0.5364 y para el módulo (G'') se tienen valores desde 0.2151 hasta 0.5821.

Cuadro 6. Índice gel (n) de los módulos (G') y (G'') para cada uno de los tratamientos

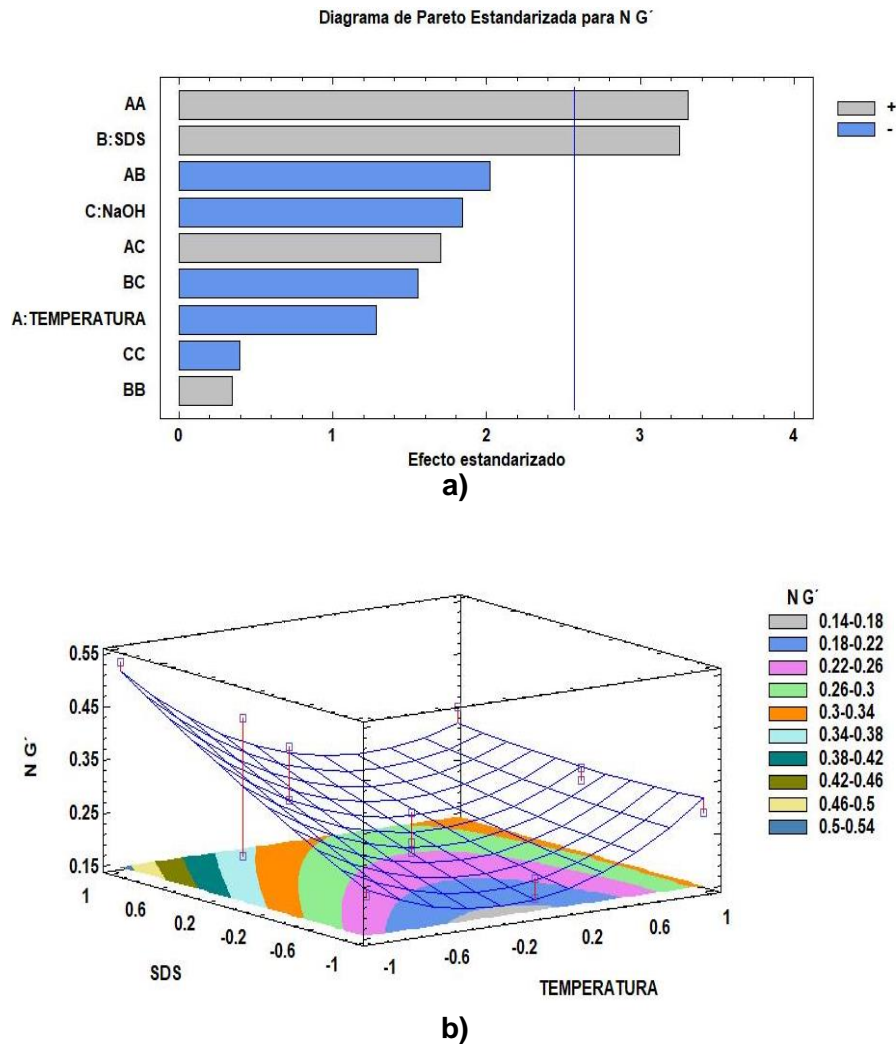
Tratamiento	n G'	n G''
1	0.2143±0.026 ^{e,f,g}	0.2577±0.018 ^{f,g}
2	0.4972±0.061 ^a	0.5042±0.034 ^b
3	0.3578±0.040 ^b	0.5525±0.040 ^{a,b}
4	0.2290±0.030 ^{d,e,f,g}	0.2573±0.016 ^{f,g}
5	0.2263±0.025 ^{d,e,f,g}	0.3143±0.020 ^{c,d,e,f}
6	0.2702±0.031 ^{b,d,e,f,g}	0.2957±0.023 ^{d,e,f}
7	0.5364±0.062 ^a	0.5821±0.040 ^a
8	0.5364±0.029 ^c	0.2418±0.015 ^{f,g}
9	0.3303±0.034 ^{b,d}	0.3611±0.023 ^{c,d}
10	0.2117±0.023 ^{e,f,g}	0.2151±0.014 ^g
11	0.3070±0.038 ^{b,d,e}	0.3778±0.028 ^c
12	0.1956±0.023 ^{f,g}	0.2810±0.021 ^{e,f,g}
13	0.2878±0.038 ^{b,d,e,f}	0.3744±0.024 ^c
14	0.2831±0.029 ^{b,d,e,f}	0.3348±0.022 ^{c,d,e}
15	0.1735±0.019 ^g	0.2634±0.018 ^{e,f,g}

Los valores representan el promedio y desviación de los duplicados. Las diferentes letras (a-g) muestran la diferencia significativa existentes entre los tratamientos ($p < 0.05$), evaluando comportamientos paramétricos y no paramétricos con la finalidad de realizar un análisis más profundo. *Tratamientos centrales del diseño.

En el diagrama de Pareto presentado en las Figuras 48 a) y b) se observa el efecto del SDS y el efecto cuadrático de la temperatura (A) sobre el módulo (G') (elástico), para ambos casos se evidencia un aumento del índice del gel (n), indicando una pérdida de la firmeza, lo cual radica en geles débiles cuyas características tienden a ser de tipo viscoso. Este modelamiento presentó un R^2 de 88,41 %. Los demás efectos no resultan ser representativos para este módulo. En la superficie de respuesta se presenta de manera más detallada el comportamiento de SDS y temperatura, dicho comportamiento se puede atribuir a la etapa de maceración debido al proceso difusivo, en donde la temperatura tiene un papel importante sobre el efecto del SDS al contacto con el grano y sus componentes, por otro lado, un aumento drástico de la temperatura (efecto cuadrático, AA) puede inducir a la desnaturalización de estructuras secundarias y a un desenrollamiento de las β -sheet que resultan ser más sensibles a temperaturas por debajo de temperaturas de desnaturalización., lo cual podría indicar que cambios en el tipo de gel podría deberse o estar asociados a este tipo de estructuras secundarias que resultan más afectadas al aumento de la temperatura en el proceso de molienda húmeda.

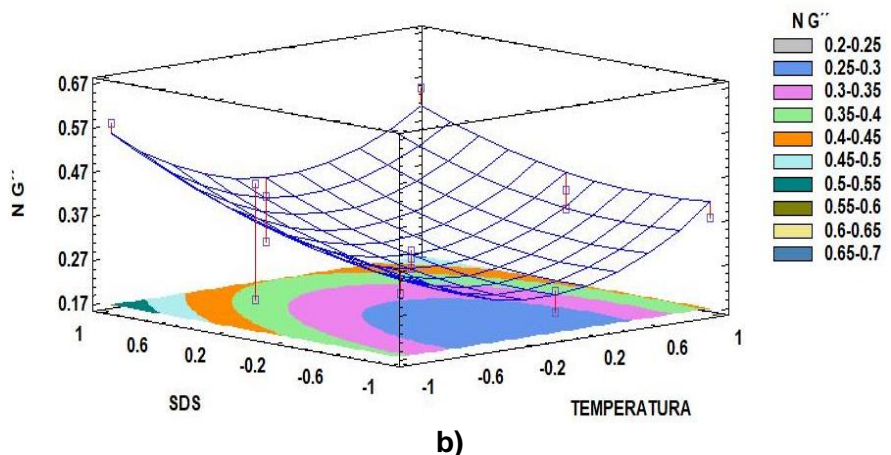
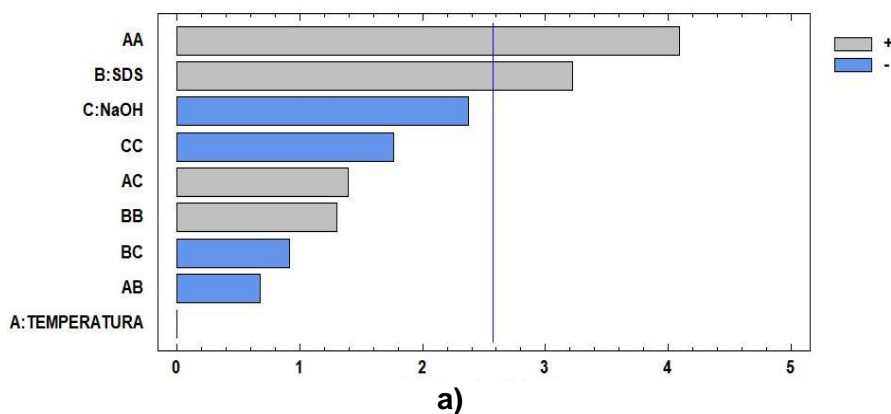
Para estimar la superficie de respuesta del módulo de almacenamiento o también llamado módulo elástico (G'), se utilizó la siguiente ecuación polinomial de segundo grado: $N(G') = 0.2336 - (0.0287 * T) + (0.0729 * SDS) - (0.0386 * NaOH) - (0.1053 * T^2) - (0.0673 * T * SDS) + (0.0494 * T * NaOH) + (0.0110 * SDS^2) - (0.0452 * SDS * NaOH) - (0.0136 * NaOH^2)$ con un R^2 de 88.4120.

Figura 48. a) diagrama de Pareto para el índice gel del módulo (G'). b) superficie de respuesta para el índice gel del módulo (G')



Para el caso de módulo viscoso (G'') se observa el mismo comportamiento que en el módulo elástico (G'), que resulta afectado significativamente por el efecto cuadrático de la temperatura (AA) y el efecto del SDS (C) como se muestra en el diagrama de Pareto de la Figura 49a,b donde se puede observar como el SDS y la temperatura afectan el índice gel (n) para el módulo viscoso, cuando se trabajan a concentraciones altas de tensoactivo (SDS); el índice gel (n) tiende a aumentar, obteniendo geles débiles, es decir, geles cuyas características son viscosas sin embargo no llega a tener un alto grado de viscosidad según los resultados obtenidos. El comportamiento de estos geles se puede evidenciar de mejor manera en la superficie de respuesta evidenciando que con el incremento de la temperatura y la concentración de SDS, aumentan el componente viscoso de los geles en la mezcla, además se resalta que cambios en las variables operativas en el proceso de molienda húmeda afectan de manera significativa las características del gel y por lo tanto las posibles aplicaciones

Figura 49. a) diagrama de Pareto para el índice gel del módulo (G''). b) superficie de respuesta para el índice gel del módulo (G'')



La ecuación utilizada para estimar la superficie de respuesta correspondiente al módulo de pérdida es $N G'' = 0.2871 + (2.9605E-7 * T) + (0.0736 * SDS) - (0.0505 * NaOH) + (0.1326 * T^2) - (0.0232 * T * SDS) + (0.0414 * T * NaOH) + (0.0422 * SDS^2) - (0.0273 * SDS * NaOH) - (0.0617 * NaOH^2)$, con una correlación $R^2 = 89.8046$.

Teniendo en cuenta que las propiedades funcionales de las proteínas las cuales varían si se encuentran en su estado nativo o desnaturalizadas, se evalúa cambios de los factores intrínsecos de la molécula como lo son: conformación, relación y disposición de los aminoácidos, hidrofobicidad, carga eléctrica, forma, peso molecular entre otros, ocasionados por factores extrínsecos como el medio que los rodea y que se pueden modificar como por ejemplo temperatura y SDS.

Cuando las proteínas están en presencia del detergente aniónico (SDS), este se une a las proteínas rompiendo interacciones hidrofóbicas, donde la proteína globular sufre un reordenamiento con una serie de molécula de SDS cargadas negativamente a lo largo de

la cadena polipeptídica, en promedio se une una molécula de SDS por cada dos residuos de aminoácidos haciendo que la carga nativa de la proteína este enmascarado completamente por la carga negativa del tensoactivo (Johnson, 2013). Según Avanza *et al.*, (2004) los cambios en los módulos elásticos reflejan directamente los cambios estructurales de las proteínas durante el proceso de gelificación, basándose en el análisis espectroscópico IR de varios geles de proteínas globulares, donde sugiere que la estructura β -sheet podría ser esencial en las interacciones proteína-proteína y la formación de redes en los geles. Por otro lado los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre las β -sheet orientadas en configuraciones paralelas o antiparalelas pueden actuar como zonas de unión y estabilizar la red del gel.

En el Cuadro 7 se muestran los valores de correlaciones del análisis multivariado en el cual se muestra que las características reológicas asociadas al índice gel n' tanto del módulo (G') como del módulo (G'') los cuales presentan los valores más altos presentados en color rojo siendo para la relación entre el n' y β -sheet de 0,0422 y para n'' y β -sheet 0,0353, corroborando lo obtenido por Avanza *et al.* 2005, donde los cambios en los módulos se asocia a las estructuras β -sheet, además de los resultados obtenidos mediante el análisis de las estructuras secundarias de las proteínas, se muestra que las estructuras β -sheet son afectadas por la concentración de SDS y la temperatura, como se observa en la Figura 43a,b, la cual presenta que manejando condiciones altas de temperaturas y SDS el área de dicha estructura (β -sheet) tiende a disminuir, evitando la formación de enlaces cruzados con la estructura β -sheet, las cuales tienen un carácter directamente proporcional con el módulo G' .

Cuadro 7. Correlaciones del análisis multivariado

	n'	n''	Amida I	Amida II	Glucosídico	1042/1012	B-sheet	B-turns
n'		0.9043	-0.4403	-0.5037	-0.1765	0.1736	0.5299	0.0225
		(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
		0.0000	0.1004	0.0556	0.5291	0.5362	0.0422	0.9365
n''	0.9043		-0.4418	-0.4651	-0.2393	0.1551	0.5458	-0.0111
	(15)		(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
	0.0556	0.0807	0.0000		0.0004	0.0002	0.2864	0.5743
Glucosídico	-0.1765	-0.2393	0.6950	0.7936		-0.8243	-0.2558	0.4379
	(15)	(15)	(15)	(15)		(15)	(15)	(15)
	0.5291	0.3903	0.0040	0.0004		0.0002	0.3575	0.1025
1042/1012	0.1736	0.1551	-0.7101	-0.8158	-0.8243		0.0327	-0.3328
	n'	n''	Amida I	Amida II	Glucosídico	1042/1012	B-sheet	B-turns
	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)		(15)	(15)
	0.5362	0.5809	0.0030	0.0002	0.0002		0.9079	0.2255

CONTINUACIÓN CUADRO 7

	n´	n´´	Amida I	Amida II	Glucosídico	1042/1012	B-sheet	B-turns
B-sheet	0.5299	0.5458	-0.2398	-0.2946	-0.2558	0.0327		-0.3935
	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)		(15)
	0.0422	0.0353	0.3894	0.2864	0.3575	0.9079		0.1468
B-turns	0.0225	-0.0111	0.0581	0.1578	0.4379	-0.3328	-0.3935	
	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	
	0.9365	0.9686	0.8371	0.5743	0.1025	0.2255	0.1468	
a-hélix	-0.3127	-0.3212	0.4096	0.4382	0.4579	-0.5006	-0.4291	0.7354
	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
	0.2564	0.2431	0.1295	0.1023	0.0861	0.0573	0.1104	0.0018
	0.0000		0.0992	0.0807	0.3903	0.5809	0.0353	0.9686
Amida I	-0.4403	-0.4418		0.8550	0.6950	-0.7101	-0.2398	0.0581
	(15)	(15)		(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
	0.1004	0.0992		0.0000	0.0040	0.0030	0.3894	0.8371
Amida II	-0.5037	-0.4651	0.8550		0.7936	-0.8158	-0.2946	0.1578
	(15)	(15)	(15)		(15)	(15)	(15)	(15)

4. CONCLUSIONES

El análisis por espectroscopía FTIR con ATR es una técnica útil y versátil, con el cual se identificaron los grupos funcionales presentes en el subproducto del grano de amaranto, observándose cambios en las intensidades debido a las condiciones de extracción manejadas durante el proceso de molienda húmeda alcalina.

Mediante el análisis de superficie de respuesta se encontró que las bandas de almidón y enlaces glucosídicos se ven afectados por la concentración de hidróxido de sodio (NaOH), al igual que la región cristalino-amorfa. Mientras que las bandas asociadas a la proteína (amida I y amida II) se ven afectadas por la combinación de temperatura e hidróxido de sodio (NaOH), al igual que las bandas 2852 cm^{-1} y 2921 cm^{-1} , relacionadas con la fracción lipídica.

El estudio de la estructura secundaria asociado a la región de amida I mediante las deconvoluciones permitió identificar vibraciones asociadas a estructuras β -sheet paralelas y antiparalelas, β -turns y α -hélix.

Con los resultados obtenidos de la molienda húmeda se puede concluir que las condiciones de temperatura y concentración de SDS durante la maceración del grano afectaron significativamente el comportamiento reológico de los subproductos, atribuyéndose a diferentes grados de desnaturalización de los componentes proteicos especialmente de las estructuras β -sheet.

La caracterización de los geles se realizó mediante el modelo de Ross-Murphy, con el cual se estableció que los geles de mayor firmeza estuvieron relacionados con condiciones bajas de SDS y temperatura, teniendo en cuenta eso se concluye que la modificación de las condiciones de remojado durante la maceración son una herramienta eficaz con la que se puede modificar las estructuras de los componentes en los subproductos y obtener geles funcionales para la industria.

Teniendo en cuenta que el índice gel de la mayoría de los 15 tratamiento tiende a 0,3 se concluye que forman geles de débil firmeza, pudiéndose utilizar para enriquecer mezclas de sopas instantáneas, en bebidas como néctares de frutas disminuyendo la dependencia de agentes espesantes como pectinas, también en bebidas lácteas, es decir, en productos que no requieran viscosidades elevadas.

5. RECOMENDACIONES

Realizar cuantificación de los componentes presentes en las aguas de proceso utilizando técnicas como espectroscopia infrarroja y análisis proximal.

Realizar análisis proximal al subproducto de la molienda húmeda del amaranto con el fin de complementar el estudio de propiedades estructurales realizado por espectroscopía FTIR-ATR.

Realizar la formulación de productos en base al subproducto y efectuar el respectivo estudio de vida útil en condiciones refrigeración y ambientales.

Realizar análisis de FTIR-ATR a los geles que fueron sometidas a las pruebas reológicas con el fin de obtener y analizar los cambios del subproducto al ser sometidas a la gelatinización.

Evaluar la interacción de diferentes grupos funcionales presentes en el subproducto obtenido por molienda húmeda usando técnicas de microscopía electrónica de barrido.

Realizar pruebas de calorimetría diferencial de barrido con el fin de estudiar cambios térmicos del orden y desorden del almidón presente en el subproducto; así como también la pérdida del orden cristalino relacionado a los procesos de gelatinización y retrogradación.

BIBLIOGRAFÍA

ACOSTA, A. y BLANCO C. Obtención y caracterización de almidones nativos colombianos para su evaluación como posibles alternativas en la industria alimentaria. Trabajo de investigación desarrollado por el grupo de investigación en Tecnología Farmacéutica, Cosmética y de Alimentos (GITFCA). Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia: 2013.

ALEIXANDRE, A. y MIGUEL, M. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome. En: Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008, vol. 48, no. 10, pág. 905-912.

ALGARA,P.; GALLEGOS, J. y REYES, J. Amaranto: Efectos en la nutrición y salud. En: Revista Académica de Investigación, 2013, vol.12, no.4, pág 7.

ALVARADO, D. y RAMIREZ, J. Diseño de un equipo de separación de una mezcla de PET/PVC por medio de flotación.Trabajo para optar al título de Ingeniero Químico. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo,Perú: 2013.

ARIZA, J.; CANO, M.; RESENDIZ, M.; RONCES, R.; BETANZOS, G.; SUÁREZ, T. y HERNÁNDEZ, J. Cuantificación de escualeno en el aceite de amaranto crudo y refinado. En: revista educación y salud boletín científico de ciencias de la salud y del ICESA, 2016, vol. 4, no. 8, pág 125-127.

ARVANITOYANNIS, Ioannis. y VAN HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, María. Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current. Legislation. En: Critical Reviews in Science and Nutrition, 2005, vol. 45, no. 4, pág. 385- 404.

AVANZA, M.; PUPPO, M.A. y AÑÓN, M.C. Propiedades reológicas de los geles de amaranto. Universidad Nacional de Nordeste, Propiedades reológicas de los geles de amaranto. Universidad Nacional de Nordeste, comunicaciones Científicas y tecnológicas. Argentina: 2004.

BADUI, S. Proteínas. Química de los alimentos. 4ª ed. Pearson Educación. México: 2006, pág. 119-236.

BAKER, L.A. y DUARTE, P. Retrogradation of Amaranth starch at different storage temperature and the effects of salts and sugars. En: Cereal chemical, 1998, vol. 75, no. 3, pág 308.

BARRAGAN, P. Potencial Saludable de sustancias bioactivas de algunas verduras. Trabajo de grado en Nutrición y Dietética. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá, Colombia: 2011.

BARRAZA, G.; DE LA ROSA, L.; MARTÍNEZ, A.; CASTILLO, H.; COTTE, M y ALVAREZ, E. La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. En: Revista Latinoamericana Química, 2013, vol. 41, no. 3, pág 125-148.

BONDA, M.; PERRIN, V.; VILENO, B.; RUNNE, H.; KRETLOW, A.; FORRÓ, L.; LUTHI-CARTER, R.; MILLER, LM y JENEY, S. Synchrotron infrared micro-spectroscopy detects the evolution of Huntington's disease neuropathology and suggests unique correlates of dysfunction in white versus grey brain matter. En: Analytical Chemistry, 2011, vol. 83, no. 20. pág 188-193.

BRESSANI, R. y RODAS, B. Estudios sobre la Industrialización del grano de amaranto, caracterización química y nutricional de variedades de amaranto y algunas aplicaciones. En: Revista de la Universidad del Valle de Guatemala, 1989, vol. 37, no. 4, pág 44.

CALZETTA, A. y TOLABA, M. Correlations between wet-milling characteristics of amaranth grain. En: Journal of Food Engineering, 2009, vol. 92, no. 3, pág. 275-279.

CALZETTA, A. Almidón de amaranto. Obtención y evaluación de sus características fisicoquímicas. Tesis Magister de la Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y Tecnología de la Industrialización de Alimentos. Buenos Aires, Argentina:1999.

CALZETTA, A.; TOLABA, M. y SUÁREZ, C. Effects of steeping conditions on wet-Milling attributes of Amaranth. En: International Journal of Food Science and Technology, 2006, vol. 41, no. 2, pág. 70–76.

CARREÑO, J; MARTÍNEZ, L. y FERNANDEZ, J. Proposal of an index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. En: Food Research International, 1995, vol. 28, no. 4, pág 373-311.

CARVAJAL, J.; ARISTIZÁBAL, I.; OLIVEROS, C. y MEJÍA, J. Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración. En: Revista Nacional Agropecuarias Medellín, 2011, vol. 64, no. 2, pág 6229-6240.

CASTEL, M. Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto. Tesis Magíster en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina: 2010.

CERVANTES, E. Análisis proteínico del grano de amaranto (*A. hypochondriacus* y *A. cruentus*) y obtención del mapa proteómico de *Amaranthus Cruentus*. Trabajo para optar al título de Doctor en Ciencias en Biología Molecular. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. San Luis Potosí, México: 2014.

CHANG, R. y COLLEGE, W. Orgánica. Química. 7ª ed. Mc Graw-Hill. España: 2007, pág. 946-947.

CHOI, Hunjai; KIM, W. y SHIN, M. Properties of korean amaranth starch compared to waxy millet and waxy sorghum starches. En: starch Journal, 2004, vol. 56, no. 10, pág. 469– 477.

CONDÉS, M. Películas compuestas y nano compuestas, biodegradables y/o comestibles, en base a proteínas de amaranto y almidones de distinto origen botánico. Tesis presentada para optar al grado de doctor de la Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina: 2012.

CREMER, D. y KALETUNÇ, G. Fourier transform infrared microspectroscopy study of the chemical microstructure of corn and oat flour-based extrudates. En: Carbohydrate Polymers, 2013, vol. 52, no. pag. 53–65.

CUETO, M. Transformaciones físico-químicas de granos de maíz en la elaboración de laminados y extruidos para el desayuno. Tesis presentada para optar al grado de doctor de la Facultad de Ciencias Exactas. Buenos Aires, Argentina: 2016.

DEGREVE, L.; FUZO, C. y CALIRI, A. Extended secondary structures in proteins: Biochimica et Biophysica Acta (BBA)– Proteins and Proteomics. En: Extended secondary structures in proteins, 2014, vol.1844, no. 2, pág. 384-388.

DIDONNA, A.; VACCARI, L.; BEK, A. y LEGNAME, G. Infrared microspectroscopy: a multiple-screening platform for investigating single-cell biochemical perturbations upon prion infection. En: ACS chemical neuroscience, 2011, vol.2, no. 3, pag. 160–174.

DONG A.; HUANG, P. y CAUGHEY, WS. Protein secondary structure in water from second-derivative amide I infrared spectra. En: Biochemistry, 1990, vol. 29, no. 4, pág. 3303–3308

FAIRCHILD, M. Colorimetry. Color Appearance Models. 3a ed. John Wiley y Sons, Ltd. Estados Unidos: 2013, pág. 56-84.

GARCÍA, J. Viscoelasticidad lineal. Reología. Universidad de Alicante. Alicante, España: 2018, pág. 20.

GARIP, S. Use of Fourier transform infrared spectroscopy for rapid comparative analysis of Bacillus and Micrococcus isolates. En: Food Chem, 2009; vol. 113, no. 4, pág. 1301-1307.

GAZI, E.; DWYER, J.; LOCKYER, NP.; MIYAN, J.; GARDNER, P.; BROWN, G. y CLARKE, NW. Fixation protocols for subcellular imaging by synchrotron-based Fourier transform infrared microspectroscopy. En: Biopolymers, 2005, vol. 77, no.1, pág 18–30

GROBELNIK MLAKAR, S.; TURINEK, M.; BAVEC, M. y BAVEC, F. Nutrition value and use of grain amaranth: potential future application in bread making. En: Journal Agricultura (Slovenia), 2009, vol. 6, no. 2, pág. 43- 53.

GUERRERO, D. y LLERENA C. Efecto del tiempo de germinación en las características reológicas de la masa de pan con harina de arroz variedad INIAP XV. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniería de Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador: 2015.

H, Susi. y D.M, Byler. Resolution-enhanced fourier transform infrared spectroscopy of enzymes. En: Journal Methods Enzymol, 1986, vol. 130, pág. 290–311.

HERRERO, A.; CARMONA, P.; PINTADO, T.; JIMÉNEZ, F. y RUIZ, C. Infrared spectroscopy used to determine effects of chia and olive oil incorporation strategies on lipid structure of reduced-fat frankfurters. En: Food Chemistry, 2017, vol. 221. pág. 1333-1339.

HERRERO, A.; CARMONA, P.; PINTADO, T.; JIMÉNEZ, F. y RUIZ, C. Infrared spectroscopic analysis of structural features and interactions in olive oil-in-water emulsions stabilized with soy protein. En: Food Research International, 2011, vol. 44, no. 1, pág. 360-366.

HUNT, R.W.G. y Pointer, M.R. Colour Vision. Measuring Colour. 4a ed. John Wiley y Sons. Reino Unido: 2011, pág. 1-17.

INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA IICA. El mercado y la producción de quinua en el Perú. MGS Comercial Gráfica S.R.L. Lima, Perú: 2015, pág. 178. ISBN 978-92-9248-602-0.

IRVING, DM; BETSCHAT. y SAUDERS R.M. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. En: Journal of Food Science, 1981, vol. 46, no.4, pág. 1170 -1174.

JIMENEZ, M. Influencia de la cizalla en el comportamiento reológico, estructural y estabilidad física de emulsiones formuladas con aerosil 200, pluronic pe9400 y aceite esencial de romero. Trabajo de grado en física e ingeniería de materiales. Universidad de Sevilla. Sevilla, España: 2017.

JOHNSON, M. Detergente. New Jersey, United States, 2018. The world of laboratories. [citado: 27, agosto, 2019]. Disponible en: <http://www.labome.es/method/Detergents-Triton-X-100-Tween-20-and More.html>

KAWALJIT SINGH Sandhu. y KUMAR, N Singh. Some Properties of Corn Starches II: physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. En: Food Chemistry, 2007, vol. 101, no. 4, pág. 1499–1507.

KNUTZON, C. y GROVE, M. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. En:Cereal Chemical, 1994, vol. 71. no 5, pág. 469-470.

KONG, J. y YU, S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. En: Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2007, vol. 39, no. 8, pág. 549-559.

KOWALSKA, J. y GAJDAB, M. Chemical Composition of Atherosclerotic Plaques of apoE/ LDLR-Double Knockout Mice by Synchrotron Radiation FTIR Microspectroscopy. En: Acta Physica Polonica, 2012, vol. 121, no. 2. pág. 555–560.

KOWALSKI, Ryan.; MEDINA, ILCE, G.; THAPA, B.; MURPHY, K. y GANJYAL, G. Extrusion processing characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) var. Cherry Vanilla. En: Journal Cereal Science, 2016, vol. 70, pág. 91-98.

KUMAR, Narender.; CHANDRA, Dharmesh y SINGH, Sukhcharn. Physico-chemical, pasting and morphological characterization of grain amaranth starch. En: Asian Journal of Chemistry, 2016, vol. 28, no. 11, pág. 2458-2459.

LARRAHOND, J.E; PALAU, F.J. y RAMÍREZ, C. Espectroscopía de infrarrojo cercano – NIR. Serie procesos industriales (Cenicaña), 2001; Centro de investigación de la caña de azúcar de Colombia. [citado: 25 septiembre, 2019]. Disponible en internet en: http://www.cenicana.org/publicaciones/serie_pro_indus/serie_pro_indus.php?opcion=2

León, K; Mery, D., Pedreschi, F., y León, J. Color measurement in Lab units from RGB digital images. En: Food Research International, 2006, vol. 39, no.5, pág. 1084–1091.

MAPES, E. El amaranto. En: Revista Ciencia, Academian Mexicana de Ciencias, 2015, vol. 66, no. 3, pág. 66.

MARCONE, M. Starch properties of *Amaranthus pumilus* (seabeach amaranth): a threatener plant species with potential benefits for the breeding/amelioration of present *Amaranthus cultivars*. En: Revista food chemistry, 2001, vol. 73, no. 1, pág. 61- 66.

MARK, J. Physical Properties of Polymers, 3 edition. Cambridge University Press, 2004, pág. 132

MATÍAS, G.; HERNÁNDEZ, B.; PEÑA, V.; TORRES, N.; ESPINOZA, V. y RAMÍREZ, L. Current and potential uses of Amaranth (*Amaranthus spp.*). En: Revista Journal, 2018, vol. 3, no.6, pág. 375-464.

McCABE L, W.; SMITH J. y HARRIOTT, Peter. Operaciones unitarias en Ingeniería Química. 4ª ed. McGraw Hill, 1991, pág. 890-893. ISBN 0-07-044828

MEJÍA, J.; BOLAÑOS, J. y RODRIGUEZ, J. Uso de la espectroscopía IR para estudiar la transformación térmica que experimenta una arcilla caolinítica. En: Revista EIA, 2012, vol. 2, no.18, pág 91-103

MENDOZA, F; DEJMEK, P. y AGUILERA J. 2006. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. En: Postharvest Biology and Technology, 2006, vol. 41, no.3, pág. 285-295.

MENESES, J.; CORRALES, MC, y VALENCIA, M. Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. En: Revista EIA, 2007, vol. 4, no. 8, pág.59-60.

MILLER, L. M y DUMAS, P. From structure to cellular mechanism with infrared microspectroscopy. En: Current opinion in structural biology, 2010, vol. 20, no.5, pág. 649–656.

MISTRY, A. H. y ECKHOFF, S. R. Characteristics of alkaliextracted starch obtained from corn flour. En: Cereal Chem, 1992, vol. 69, no.3, pág. 296-303.

MORENO, V. Optimización de la maceración del grano de amaranto para obtener compuestos con potencial industrial. Trabajo de investigación de Ingeniería Agroindustrial. Universidad del Cauca. Cauca, Colombia: 2018.

NIETO, C. El cultivo de Amarantho una alternativa agronómica para Ecuador. Instituto Nacional de Investigación agropecuarias Ecuador. Publicación Miscelánea No.52. Estación Experimental "Santa Catalina". Septiembre, 1989.

NOVOA, D y RAMÍREZ, J. Caracterización colorimétrica del manjar blanco del Valle. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 2012, vol. 10. no 2, pág 54–61.

ORONA, D y PAREDES, O. Amaranth Part1: Sustainable Crop for the 21st Century: Food Properties and Nutraceuticals for Improving Human Health. Paris, France: 2017.

OTLES, S. Handbook of food analysis instruments. (CRC Press, Ed.), 2008, [citado: 10, agosto, 2019]. Disponible en internet en: <http://books.google.com.co/books?id=RIguE0HBDawC&pg=PA238&lpg=PA238&dq=digital+color+in+food&source=bl&ots=Aio36CbN8&sig=Z1T8JxaXczRtm6XU00NyivDBA8g&hl=es&sa=X&ei=9njiU86dHYzksASJ94DICA&ved=0CFAQ6AEwBg#v=onepage&q&f=false>

PAREDES, O.; GUZMÁN, S y ORDORICA, Falomir. Food proteins from emerging seed sources. New and developing sources of food proteins. B.J.F. Hudson, Reino Unido: 1994; pág. 241- 279.

PARKER, R y RING, S. Aspects of the physical chemistry of starch. En: Journal of Cereal Science, 2001, vol. 34, no. 1, pág. 1–17.

PEMBLE M.E. y GARDNER P. Vibrational Spectroscopy from surfaces. Surface Analysis – The Principal Techniques. Vickerman J.C., Gilmore I.S. (Eds.), 2ª ed. John Wiley & Sons Ltd., U.K., 2009, pág. 333-390.

PEÑARANDA, I.; PERILLA, J y ALGECIRA, A. Review of using organic acids to chemically modify starch. En: Revista Ingeniería e Investigación, 2008, vol. 28, no. 3, pág. 48.

PEREZ, E. y EMALDI, U. Evaluation of the chemical characteristics and physical and rheological properties of the starch isolated from 2 amaranth species (*Amaranthus cruentus* y *Amaranthus hypochondriacus*). En: biblioteca virtual de Saude, 1998, vol. 49, no.1, pág. 57–61.

PETRAS, R. y KRAUJALIS, P. Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: A Review on Composition, Properties, and Uses. En: Reviews in Food Science and Food Safety, 2013, vol. 12, no. 4, pág. 381-412.

PETRAS, R. The proteins of grain amaranth. Instituto de Nutrición de América central y Panamá (INCAP). En: Food Reviews International, 1989, vol. 5, pág.15-18.

PONCE, N. Tecnología de cereales y oleaginosas. Licenciatura de Ingeniero Agrónomo Industrial. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México: 2015.

RADOSAVLJEVIC M.; JANE J. y Johnson L. A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. En: Cereal Chem, 1998, vol. 75, no.2, pág 212-216.

RAMOS, P.; SANZ, J y OLIVEROS, C. Algorithm to identify maturation stages of coffee fruits. En: World Congress on Engineering and Computer Science (ed.). Advances in electrical and electronics engineering-IAENG, Special Edition, California, 2008, pág. 631-636.

RECALDE, F y FIERRO E. El amaranto como alternativa alimentaria para el mejoramiento nutricional del adulto/a mayor de la asociación de jubilados/ del IESS de la ciudad de Otavalvo-Provincia de Imbabura, Ecuador. Trabajo de grado para optar al título de Licenciados en Nutrición y Salud Comunitaria. Provincia de Imbabura, Ecuador: 2013.

REES OLIVER, J. Fourier transform infrared spectroscopy: Developments, techniques, and applications. New York Nova Science Publishers, Inc. ,2010.

ROA, D. Métodos de molienda seca y húmeda en molino planetario para la obtención y caracterización de fracciones de amaranto y su aplicación como agente encapsulante. Tesis doctoral en Química Industrial. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina: 2015.

ROA, D.; ORTIZ, V. y TOLABA.M. Comportamiento reológico de la fracción proteica del grano de amaranto extraída mediante molienda húmedo-ácida. En: Revista de Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 2017, vol.15, no. 1, pág. 128-134.

ROA, Diego.; SANTAGAPITA, P.; BUERA, P. y TOLABA, M. Amaranth milling strategies and Fraction Characterization by FT-IR. En: Food Bioprocess Technol, marzo, 2014, vol. 7, no. 3, pág. 711-718.

RUBIO, F.; LÓPEZ, A.; MUÑOZ, A.; RUÍZ, D.; GÓMEZ, A.; PÁEZ, N.; DELGADO, R. y HOYOS, L. Estudio Reológico del sistema anatasalátex de poliestireno. En: Revista Mexicana de Ingeniería Química, 2015, vol.15, no. 2, pág. 660-662.

SANCHEZ, E. Estudio de las propiedades reológicas de sangre con diabetes. Málaga, España, vol. 2, no 4, 2017, pág. 29-30.

SANTOS, P. (2009). Medición del color (p. 4). Zaragoza. [citado: 7, Junio, 2019] Disponible en internet [en: http://www.centrozaragoza.com:8080/web/sala_prensa/revista_tecnica/hemeroteca/articulos/R42_A3.pdf](http://www.centrozaragoza.com:8080/web/sala_prensa/revista_tecnica/hemeroteca/articulos/R42_A3.pdf)

SAPUTRA, R.; YAYUK, A. y DARMAWAN, Adi. Hydrophobicity of silica thin films: The deconvolution and interpretation by Fourier-transform infrared spectroscopy. Spectrochimica Acta Parte A: Espectroscopia Acta Parte A, 2018, vol.199, no. 4, pág.12-20.

SEPÚLVEDA, T. Diseño de un proceso enzimático de elaboración de leche de avena con características funcionales. Trabajo optar al título de Ingeniera Civil en Biotecnología. Universidad de Chile. Santiago de Chile, Chile: 2016.

SHEN, F.; NIU, F.; SU, Y.; LIU, Y. y YANG, Y. Interactions between tea polyphenol and two kinds of typical egg white proteins—ovalbumin and lysozyme: Effect on the gastrointestinal digestion of both proteins in vitro. En: Food Research International, 2014, vol. 59, pág. 100-107.

SHRESTHA, A.; NG, C.; LOPEZ, A.; BLAZEK, J.; GILBERT, E. y GIDLEY, M. Enzyme resistance and structural organization in extruded high amylose. En: Carbohydrate Polymers, 2010, vol. 80, no. 3, pág. 699–710.

SPANHEIMER, J; FREEMAN, J. E., HEADY, R. E. y HEADLEY, V. E. Air classification of corn grits. I. Softening with enzymes and chemi-cals. En: Cereal Chem, 1972, vol. 49, no. 4, pág. 131-141.

SPOTTI, M. Estudio de propiedades y estructura de geles mixtos proteína-polisacárido. Influencia de la Reacción de Glicosilación. Trabajo de grado académico de Doctorado en Química. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fé, Argentina: 2013.

STONE, L.A; LORENZ, K. y FORT, COLLINS. The starch of amaranthus physico – chemical properties and funtional characteristics.1984

STUART, B. Infrared spectroscopy: Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons, Ltd. Inglaterra: 2005, pág. 1-2.

SUÁREZ, C.; TOLABA, M.; ZANARO, N. y ROA, A. Características visco elásticas de aislados proteicos de amaranto obtenidos por molienda húmeda en medio ácido. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Buenos Aires, Argentina: 2017, pág. 22-23.

SZCZERBOWSKA-BORUCHOWSKA, M.; DUMAS, P.; KASTYAK, MZ.; LANKOSZ, M.; ADAMEK, D. y KRYGOWSKA-WAJS, A. Biomolecular investigation of human substantia nigra in Parkinson's disease by synchrotron radiation Fourier transform infrared microspectroscopy. Archives of biochemistry and biophysics, 2007, vol. 459, no. 2. pág. 241-248.

TAPIA-BLÁCIDO, D R.; SOBRAL, P. y Menegalli, F. Potential of Amaranthus cruentus BRS alegría in the production of flour, starch and protein concentrate: chemical, thermal and rheological characterization. En: Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, vol. 90, no. 7, pág. 1185-1193.

TEJERINA, L. y ARENAS, R. Guía para el cultivo y aprovechamiento del coime o amaranto amaranthus caudatus. Convenio Andres Bello (SECAB), Ciencia y Tecnología Área de Cultura No. 86. Bogotá, 2001. 7p.

TIRADO; ACEVEDO. y MONTERO. Rheological properties of sweetened tamarind pulp. En: Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica, 2014, vol.17, no. 2, pág. 495-501.

TORRES, O.; GARCÍA, A. y ARIZA, H. Caracterización fisicoquímica y estructural de harinas y semillas de quinua. En: Portal de Revistas UN (bdigital),2018, vol. 67, no.2, pág. 124-128.

TOVAR, T. "Caracterización morfológica y térmica de almidón de maíz (*Zea mays L*) obtenido por diferentes métodos de aislamiento". Tesis para obtener el título de licenciado en química de alimentos. Instituto de ciencias básicas e ingeniería. Hidalgo, México: 2008.

VAN SOEST, P.; ROBERTSON, J. y LEWIS, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. En: Journal Dairy Sci, 1991, vol. 74, pág. 3583-3597.

VENTUREIRA, J. Propiedades estructurales y funcionales de preparados proteicos de amaranto modificados y soja-amaranto. Trabajo de tesis doctoral. Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina: 2010.

VILLAREAL, M; RIBOTTA, P. y ITURIAGA, L. Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. En: Revista Food Science and Technology, 2013, vol. 51, no. 2, pág. 441-447.

WANG, P.; CHEN, H.; MOHANAD, B.; XU, L.; NING, Y.; XU, J.; WU, F.; YANG, N.; JIN, Z y XU, X. Effect of frozen storage on physico-chemistry of wheat gluten proteins: Studies on gluten-, glutenin- and gliadin-rich fractions. En: Food Hydrocolloids, 2014, vol. 39, pág. 187-194.

XIONG, J.; LI, Q.; SHI, Z. y YE, J. Interactions between wheat starch and cellulose derivatives in shortterm retrogradation: Rheology and FTIR study. En: Food Research International, 2017, vol.10, no. 1, pág. 858-863.

ANEXOS

ANEXO A. Análisis estructural del subproducto del grano de amaranto obtenido mediante molienda húmeda alcalina por medio de espectroscopía FTIR por ATR.

Figura 1. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T1-1 y T1-2)

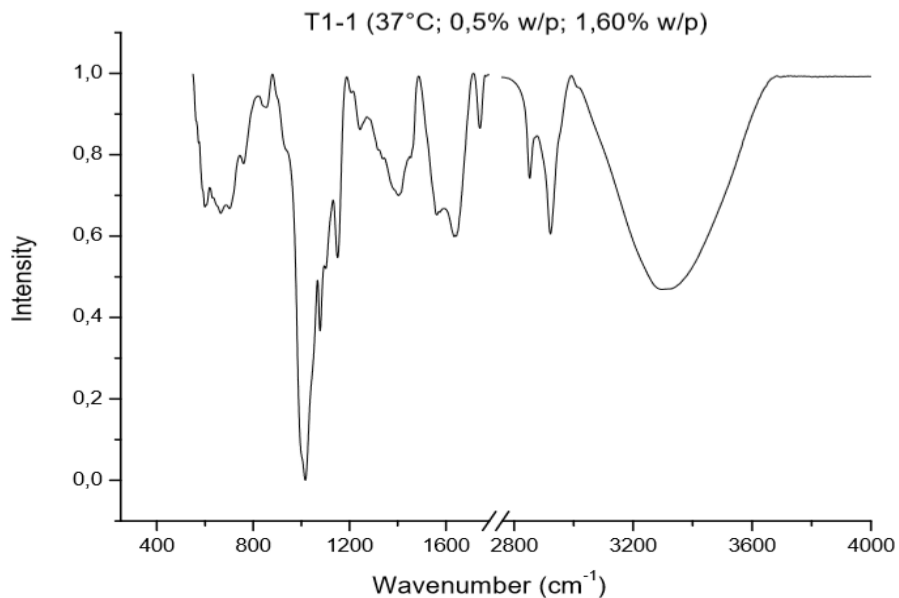


Figura 2. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T1-2)

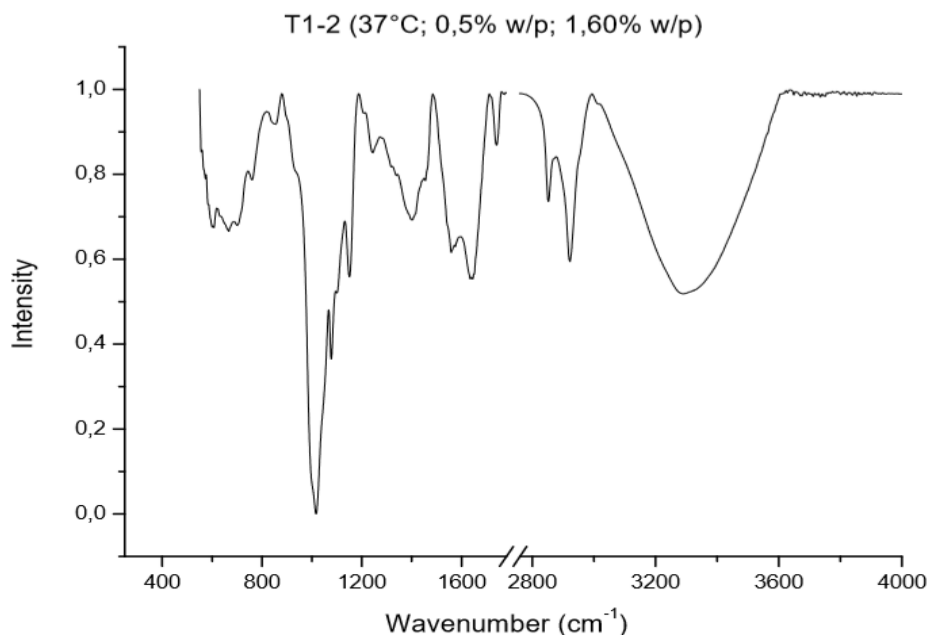


Figura 3. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T2-1)

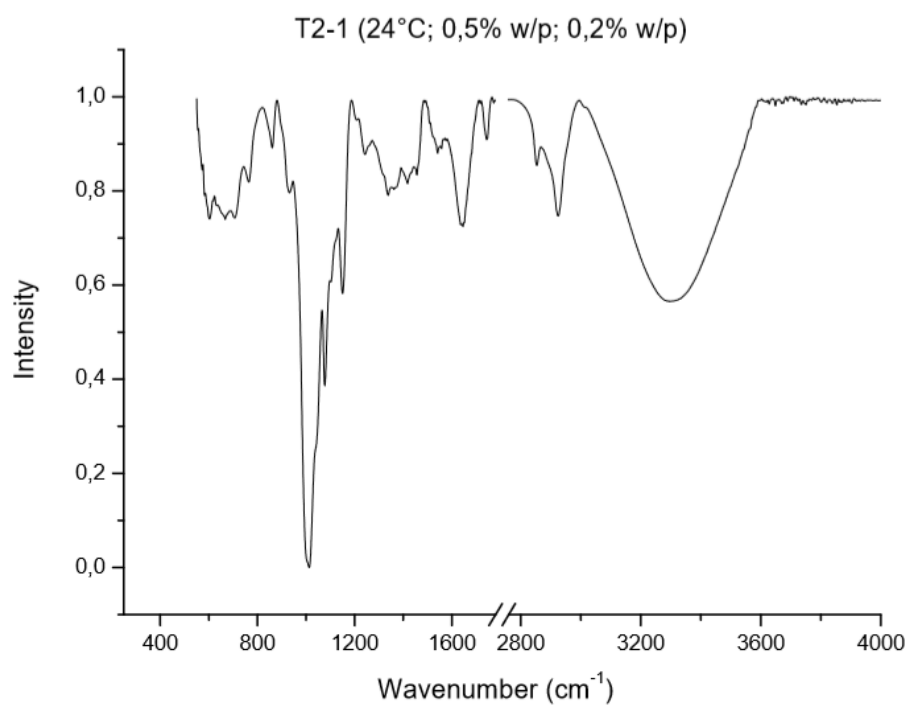


Figura 4. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T2-2)

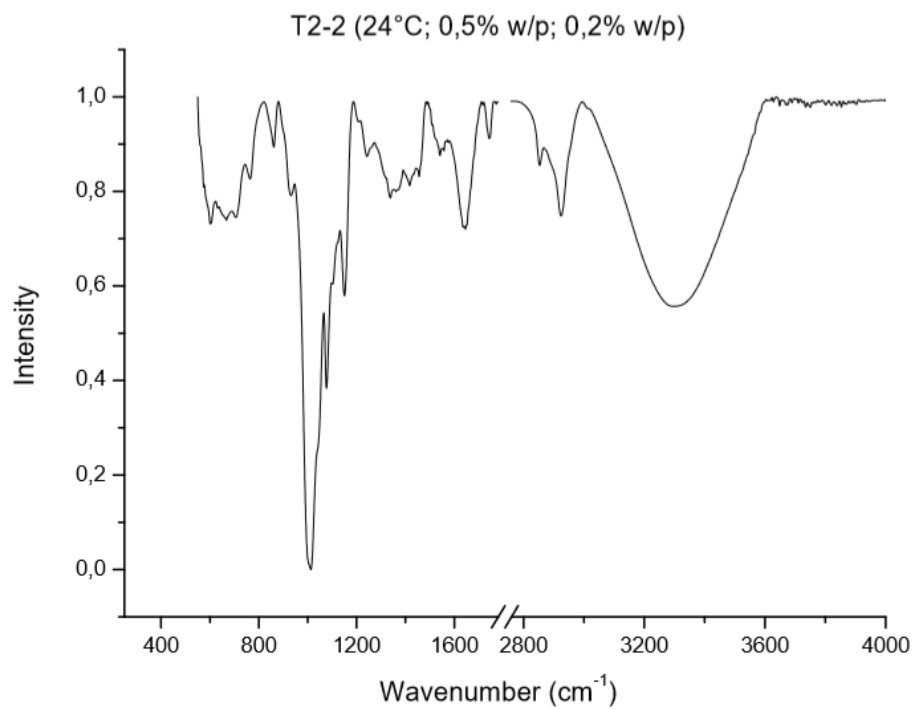


Figura 5. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T3-1)

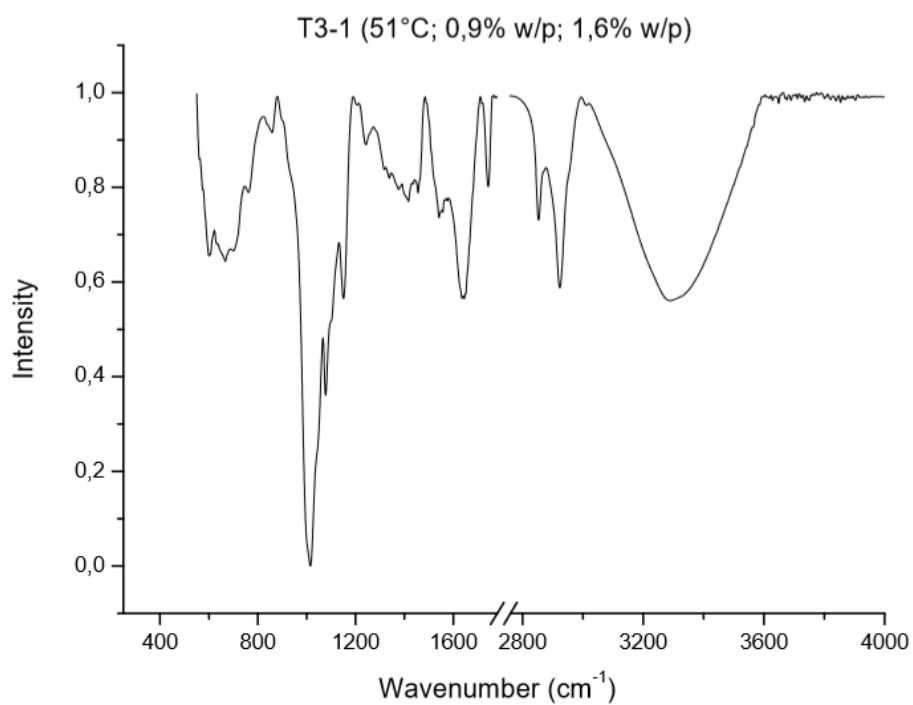


Figura 6. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T3-2)

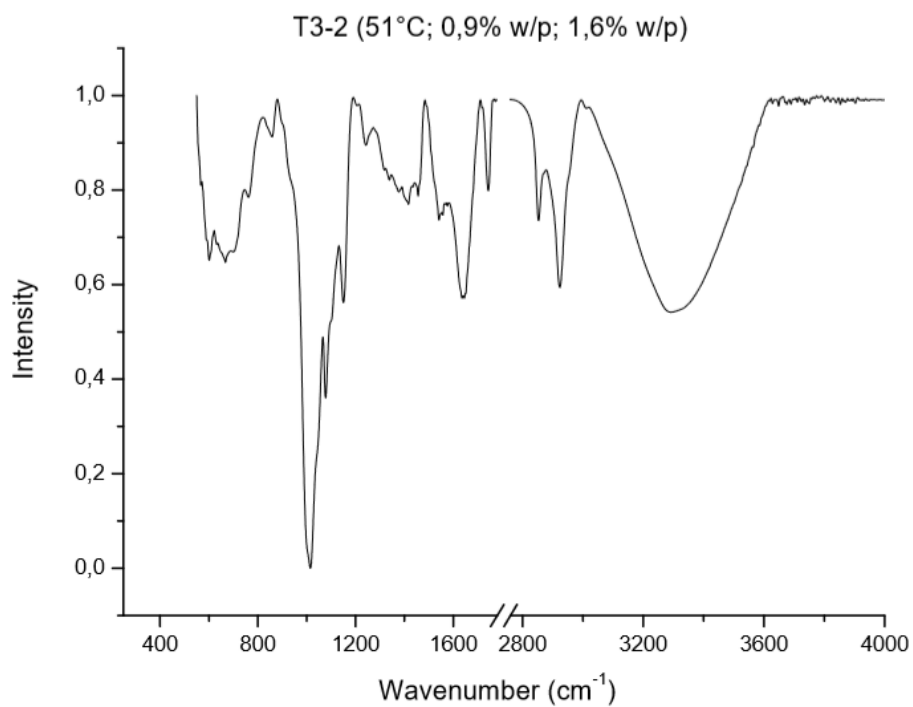


Figura 7. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T4-1)

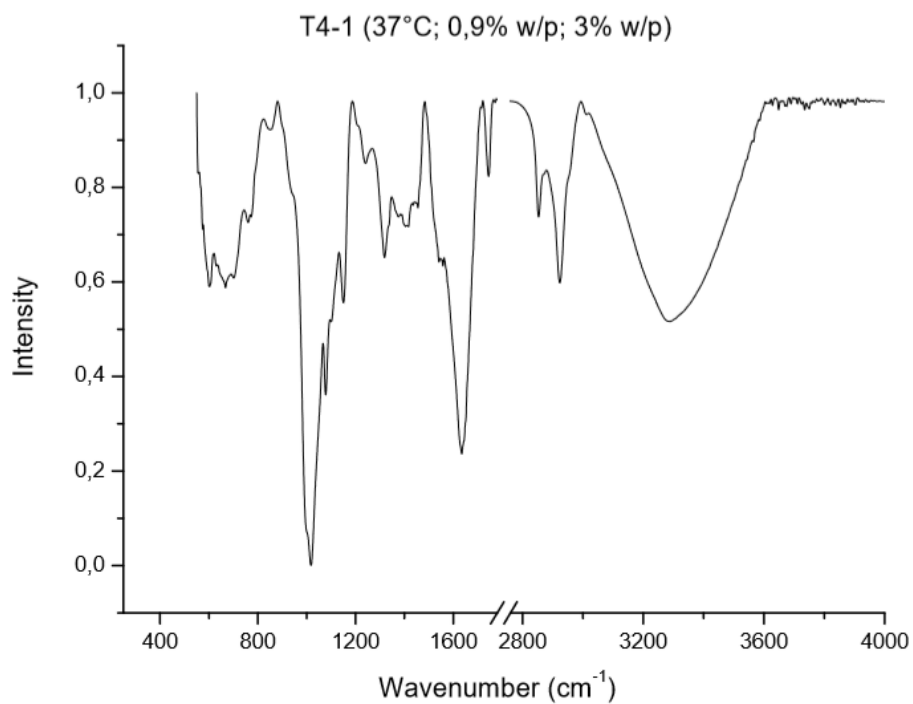


Figura 8. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T4-2)

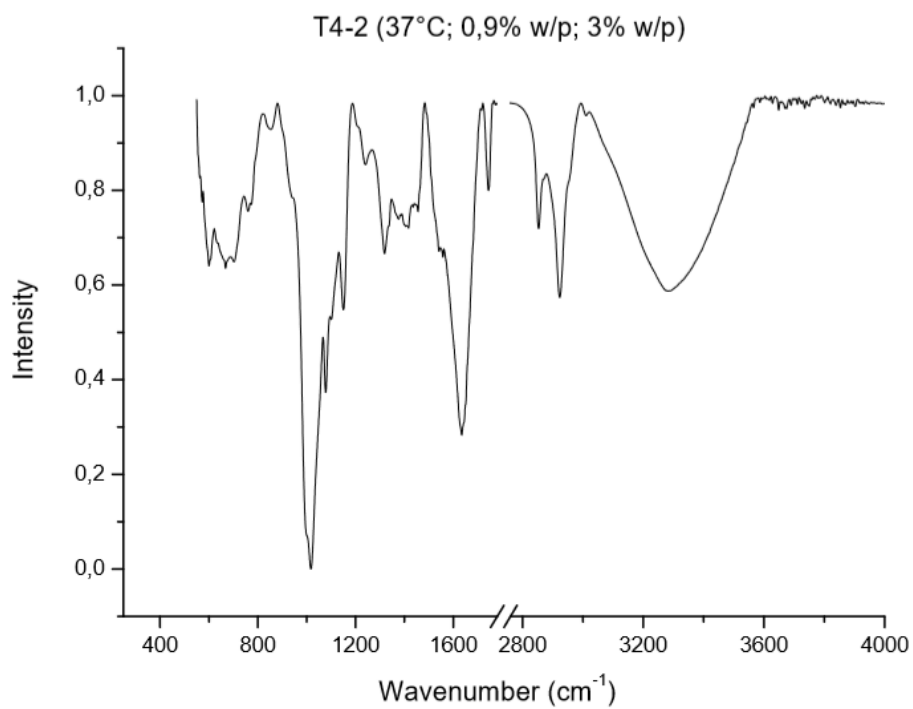


Figura 9. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T5-1)

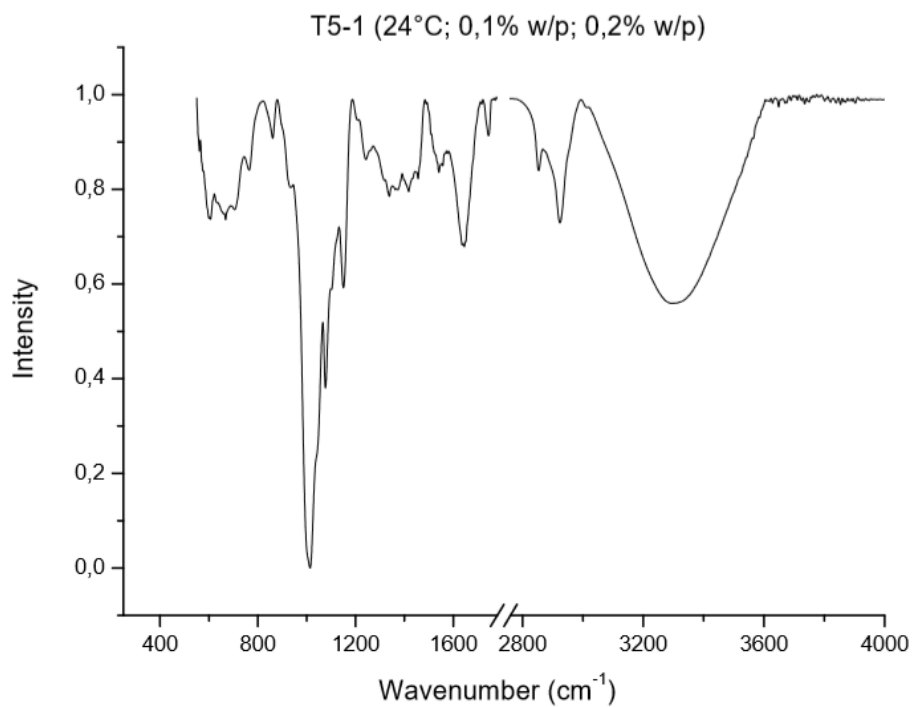


Figura 10. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T5-2)

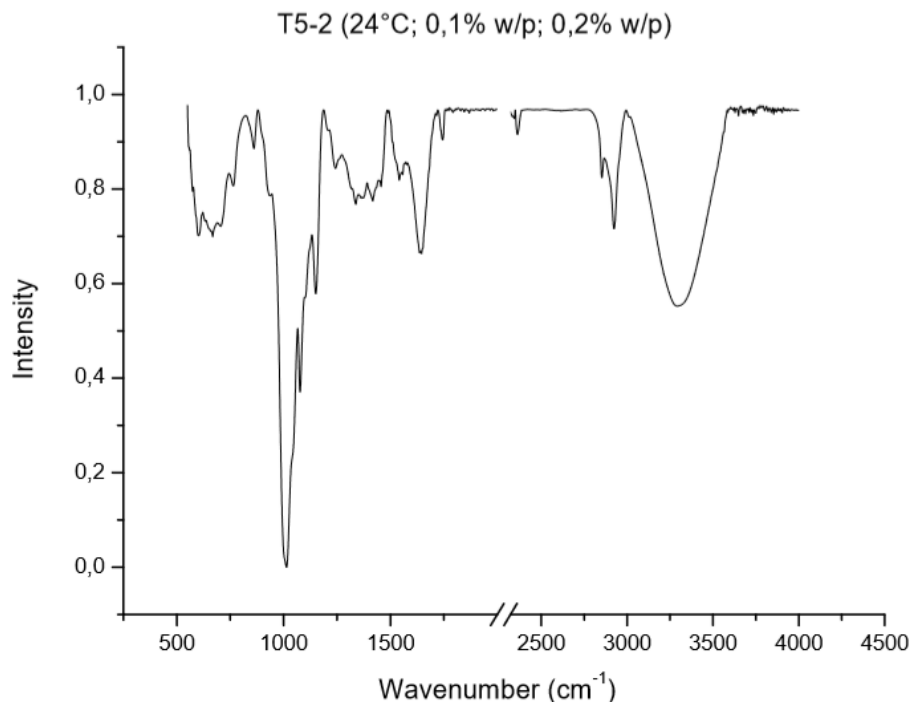


Figura 11. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T6-1)

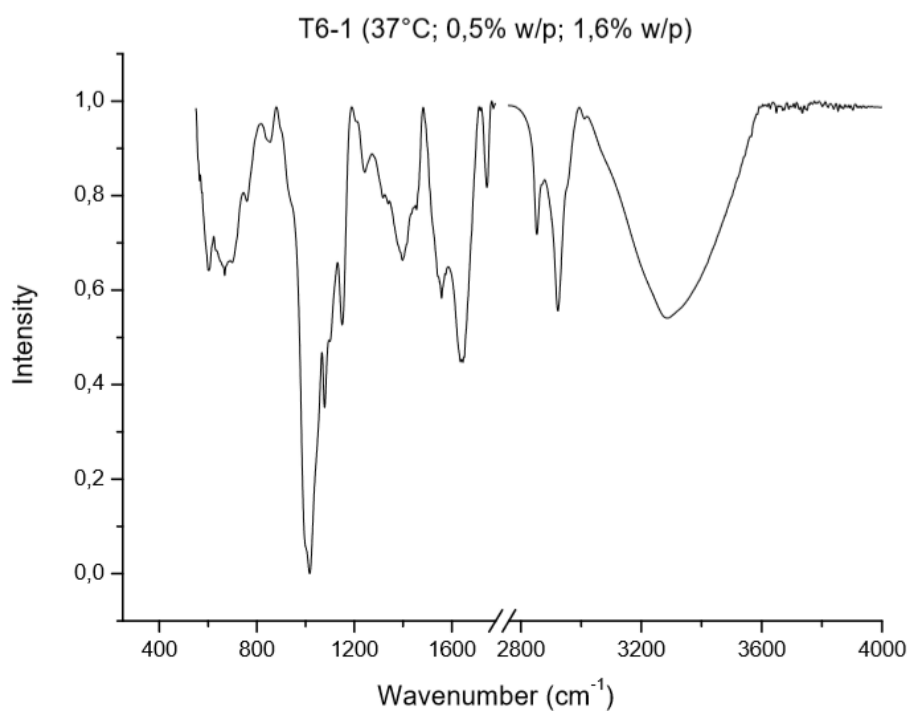


Figura 12. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T6-2)

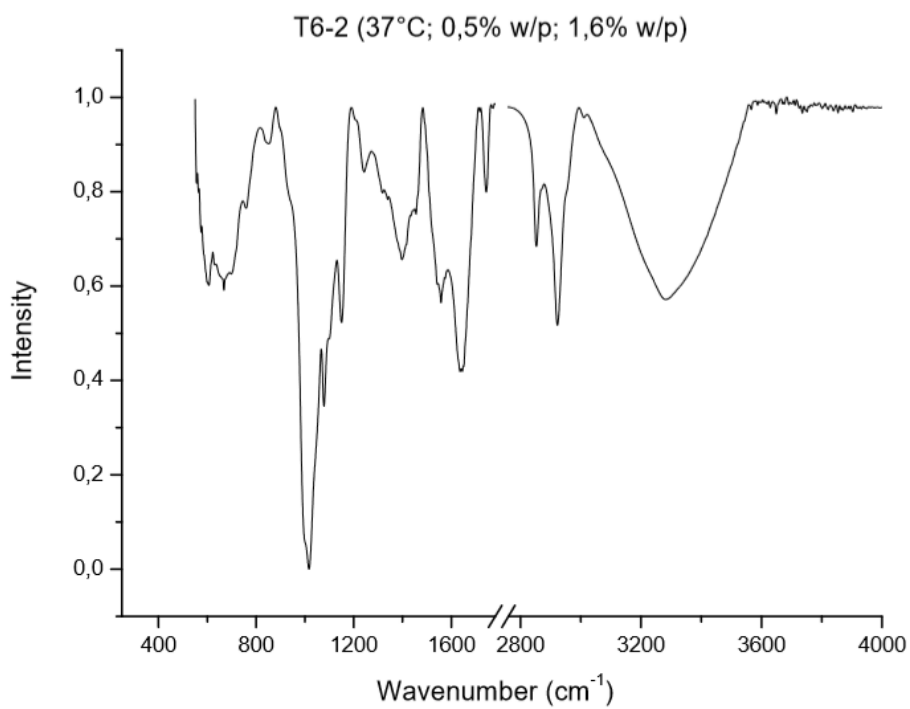


Figura 13. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T7-1)

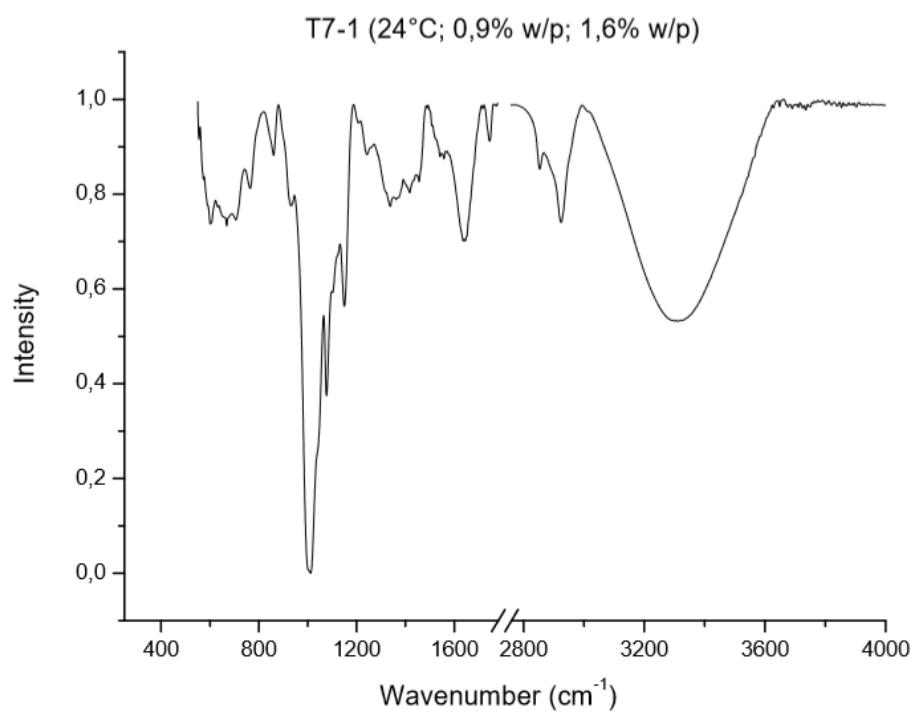


Figura 14. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T7-2)

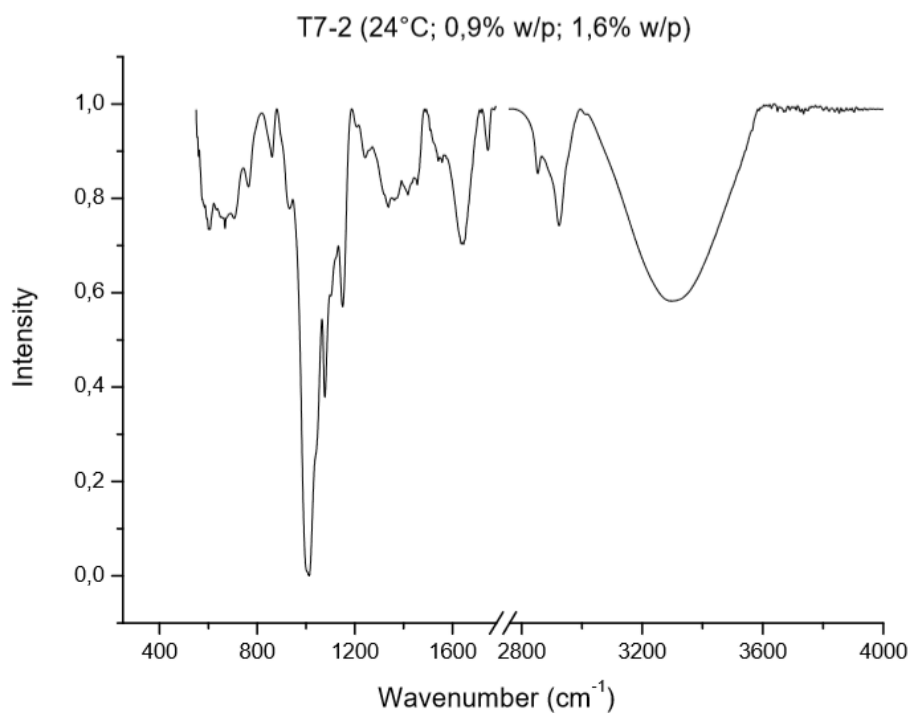


Figura 15. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T8-1)

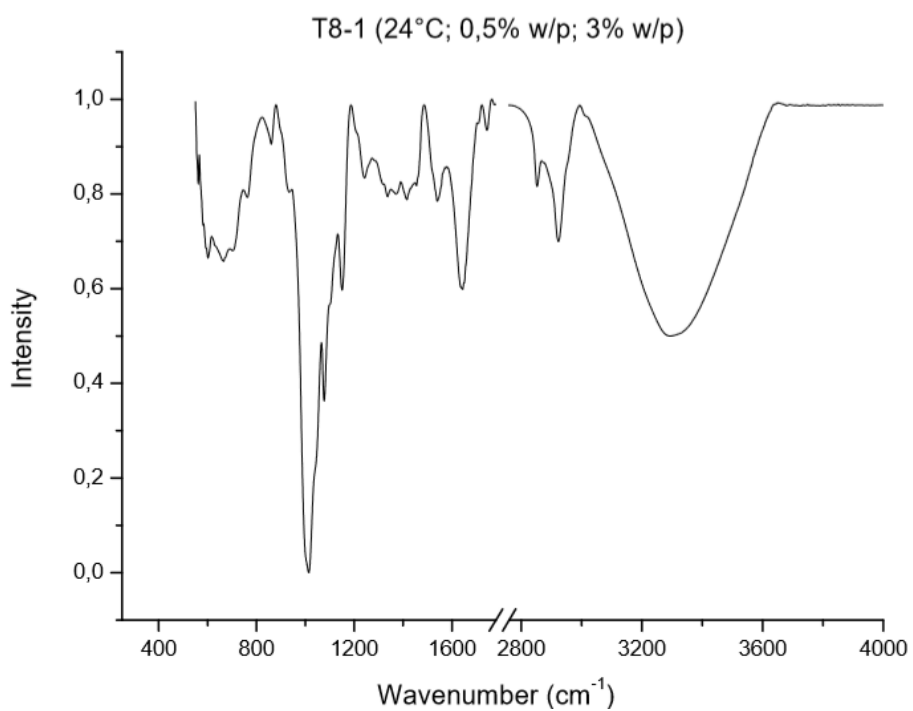


Figura 16. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T8-2)

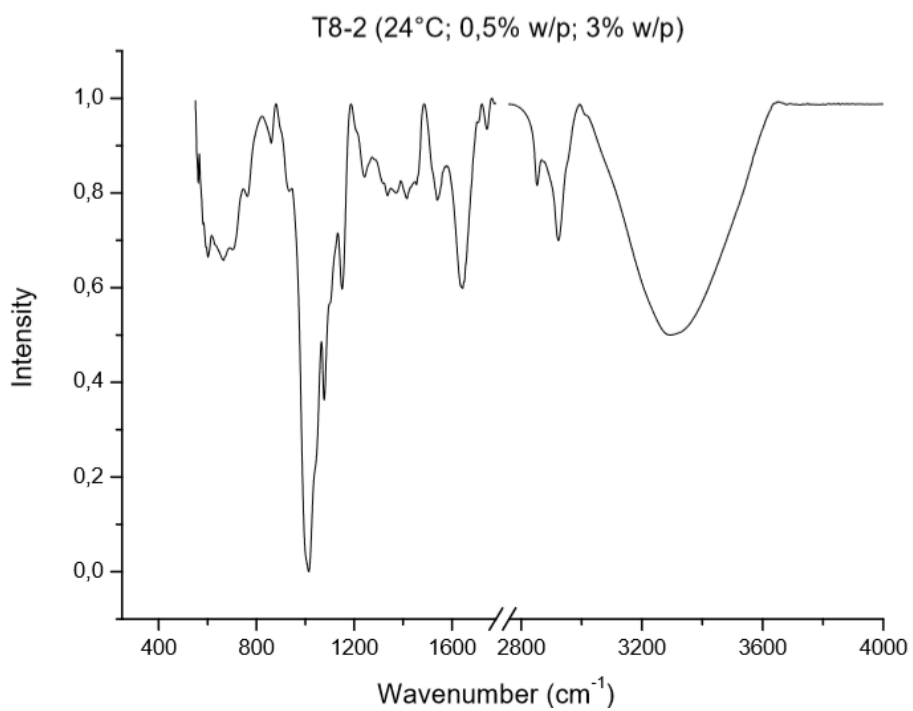


Figura 17. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T9-1)

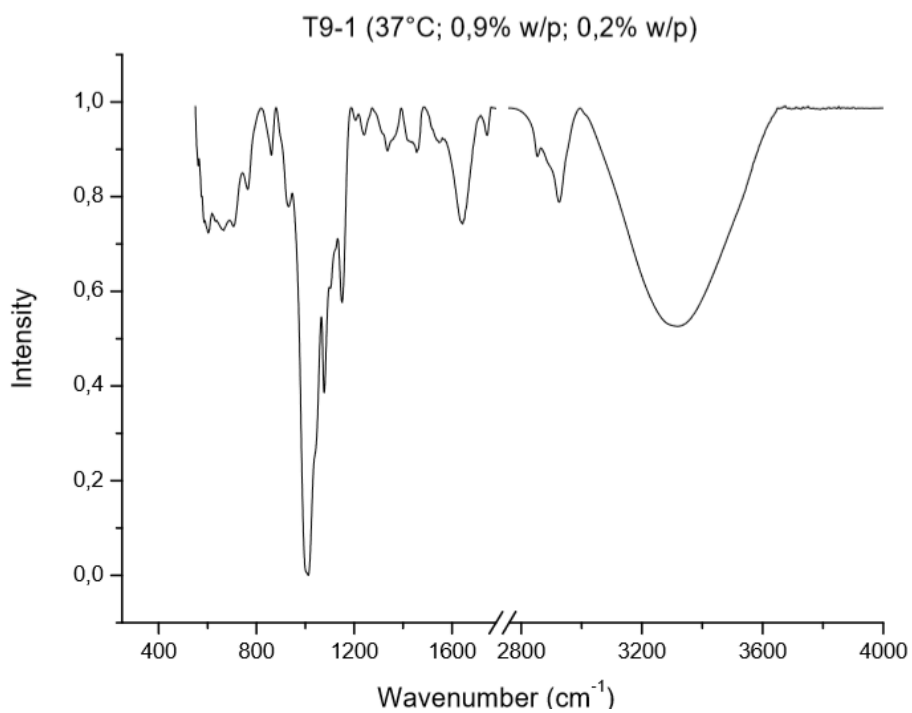


Figura 18. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T9-2)

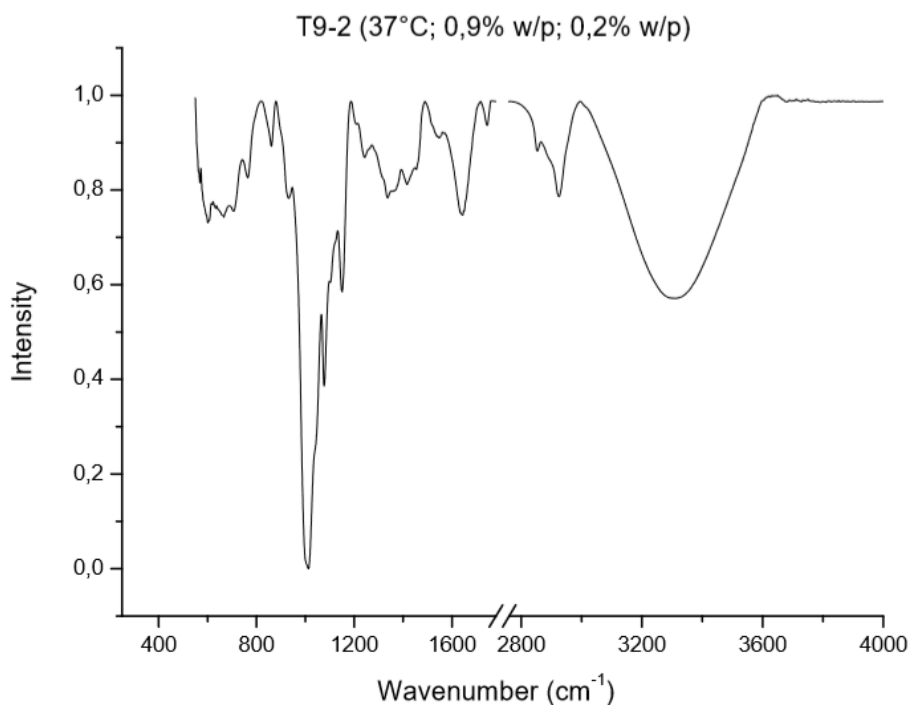


Figura 19. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T10-1)

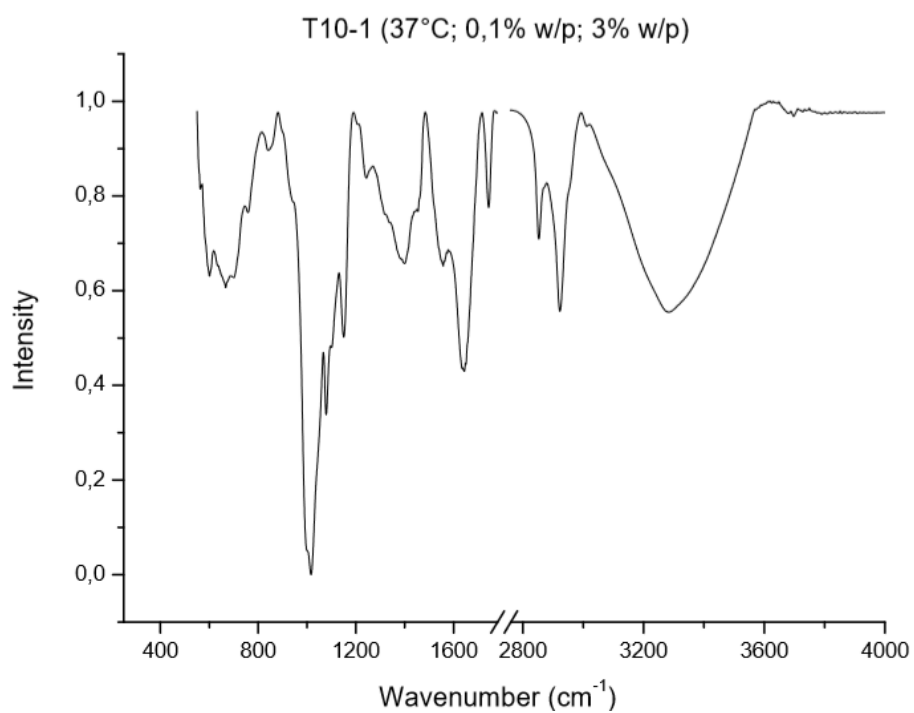


Figura 20. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T10-2)

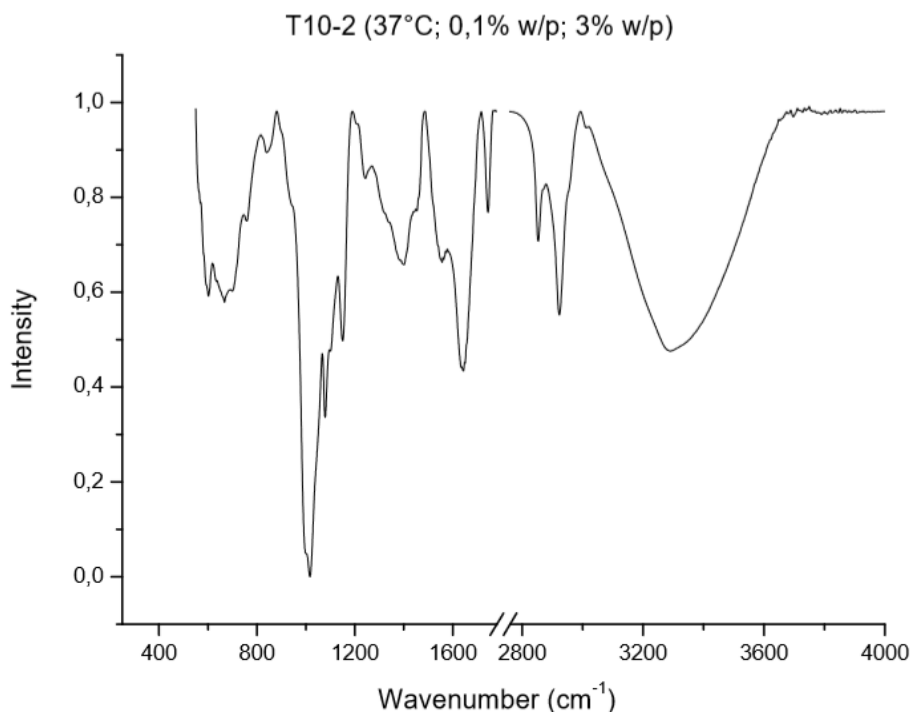


Figura 21. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T11-1)

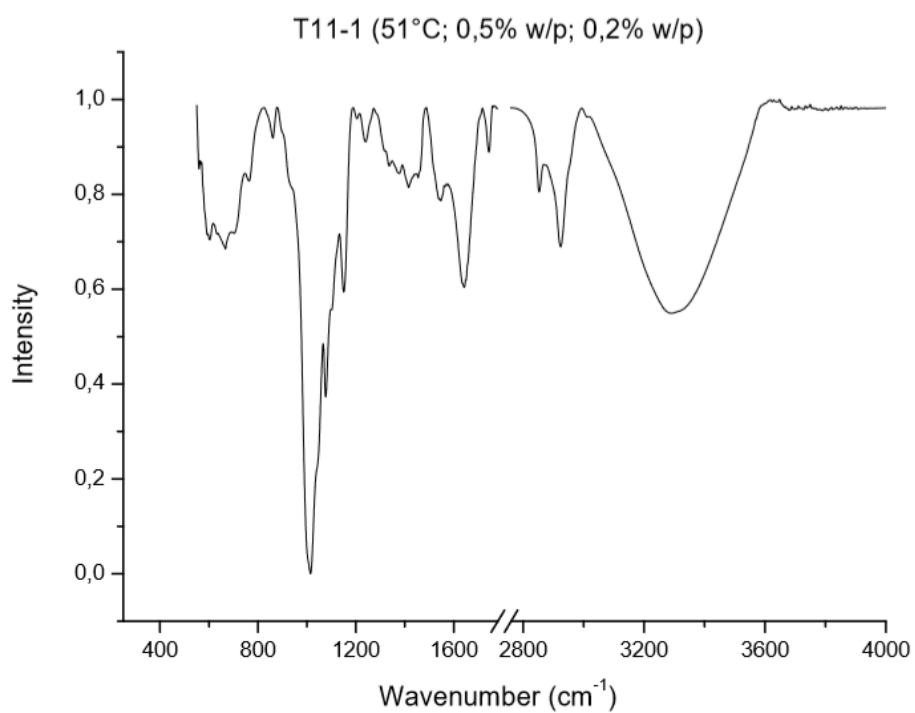


Figura 22. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T11-2)

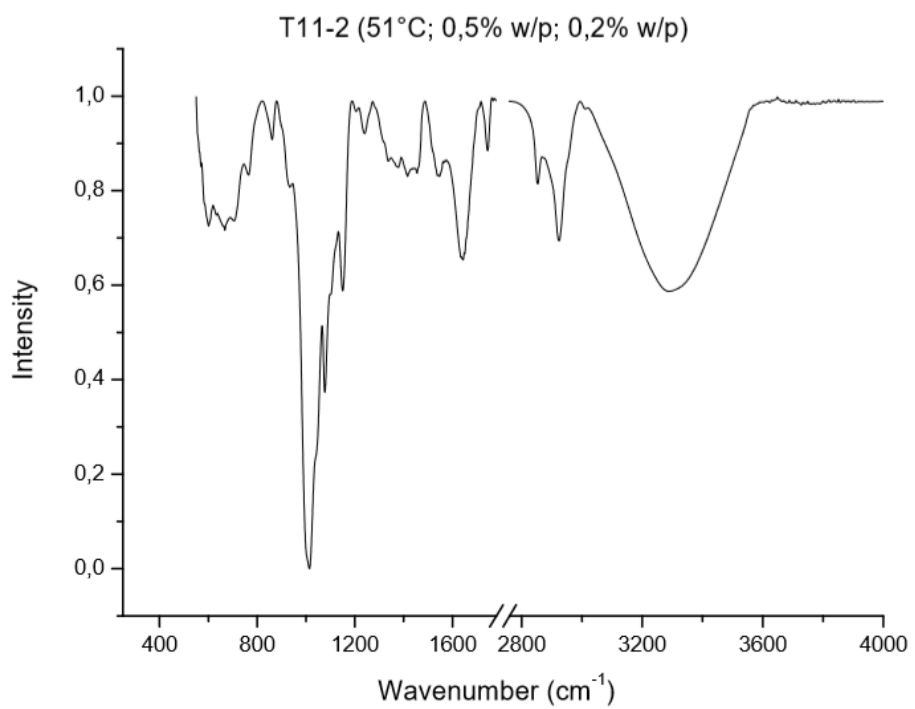


Figura 23. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T12-1)

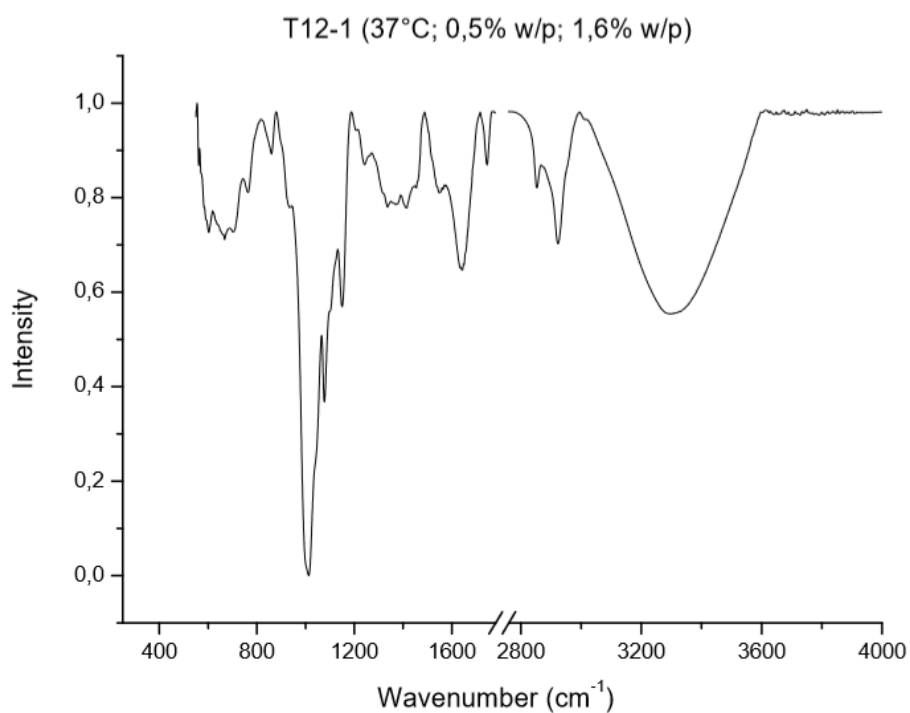


Figura 24. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T12-2)

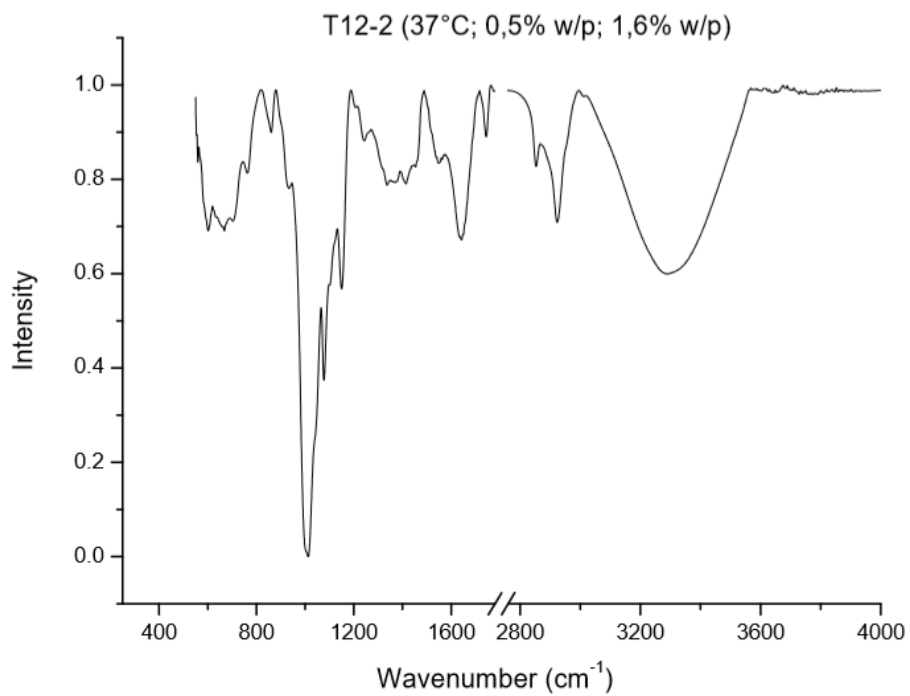


Figura 25. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T13-1)

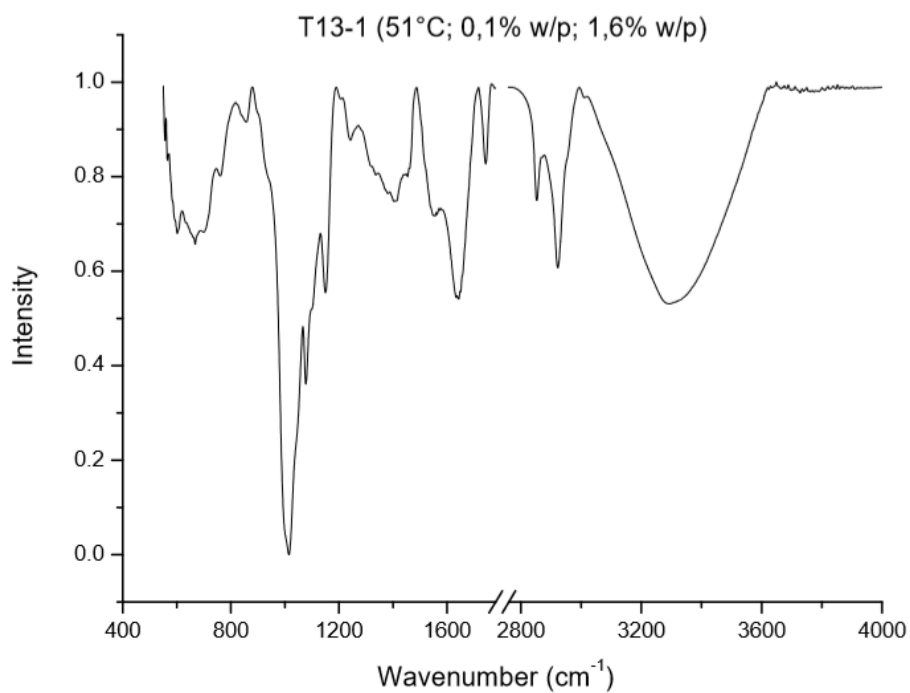


Figura 26. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T13-2)

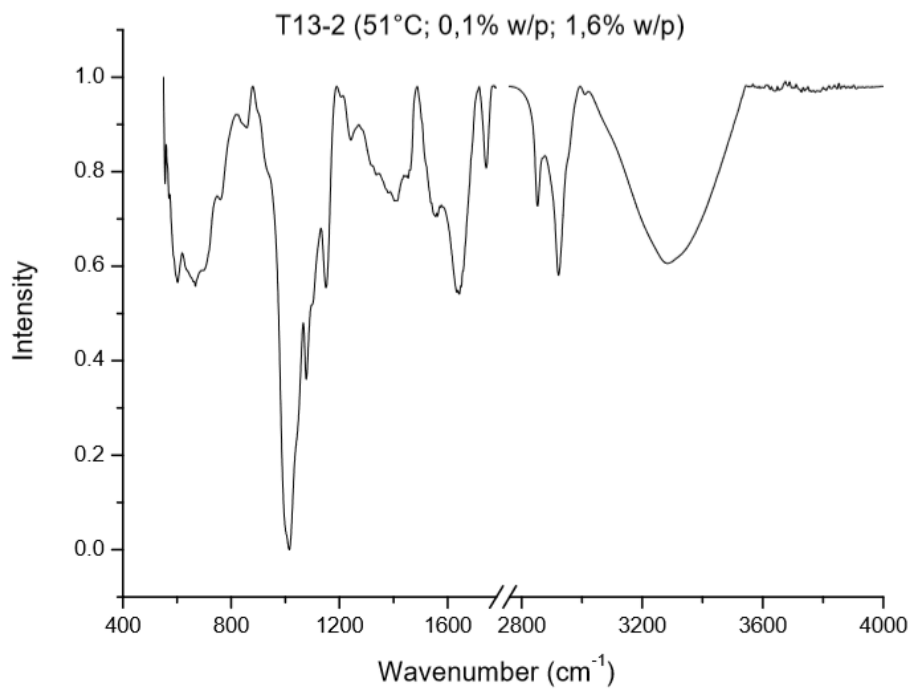


Figura 27. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T14-1)

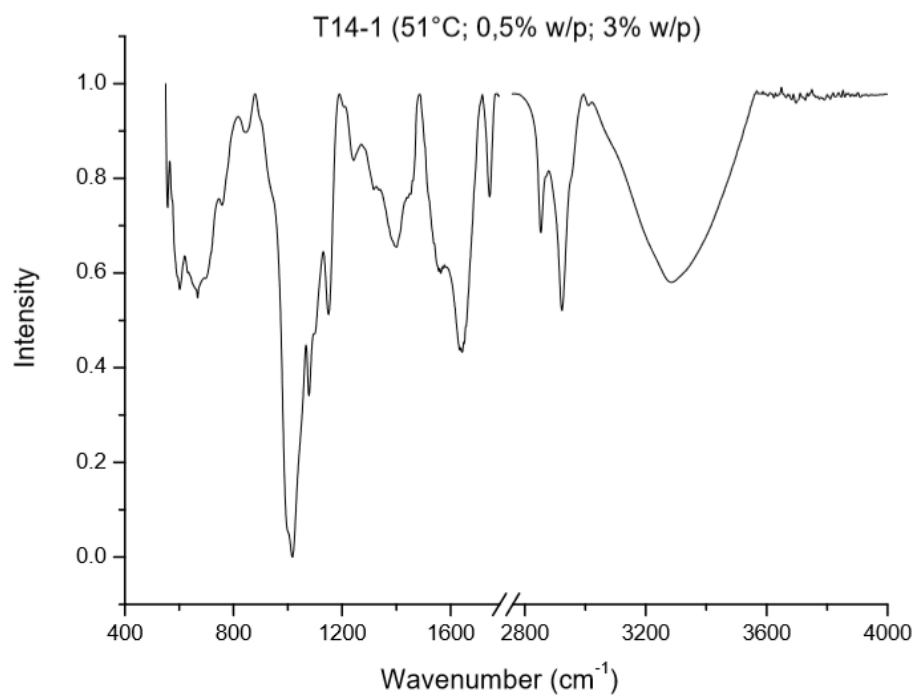


Figura 28. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T14-2)

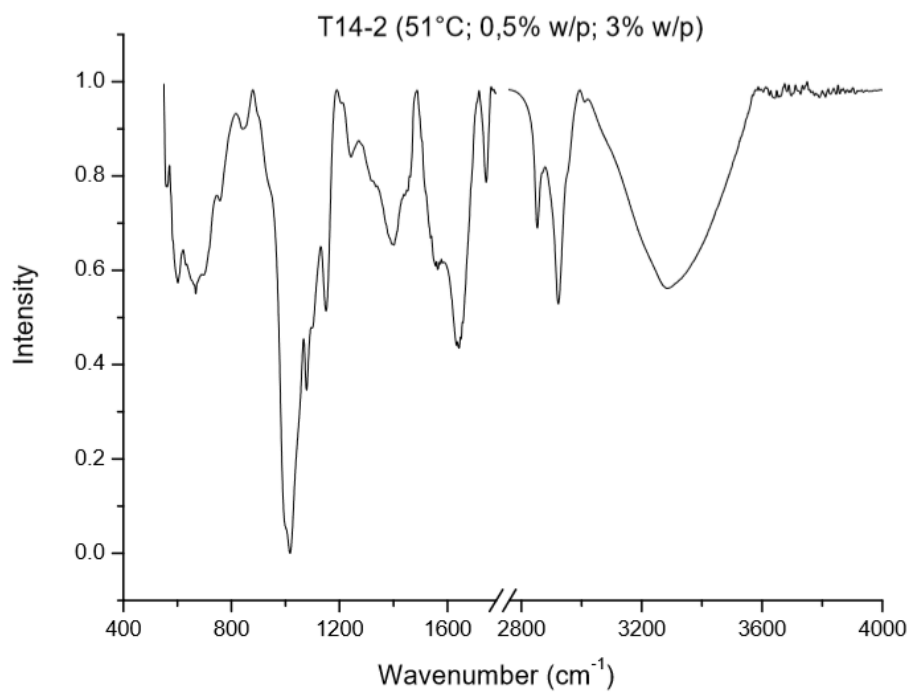


Figura 29. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T15-1)

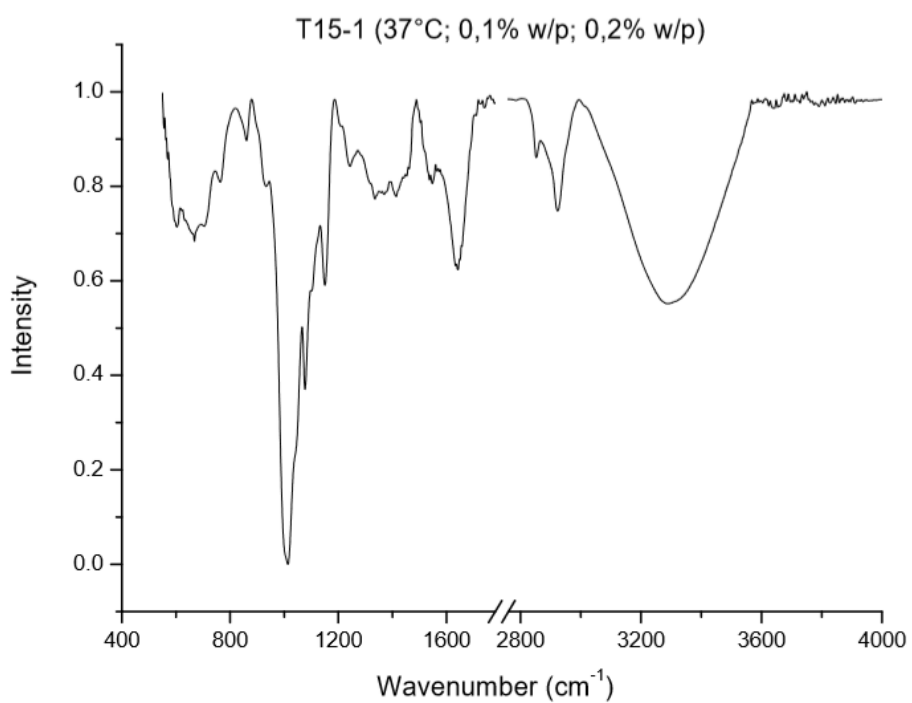
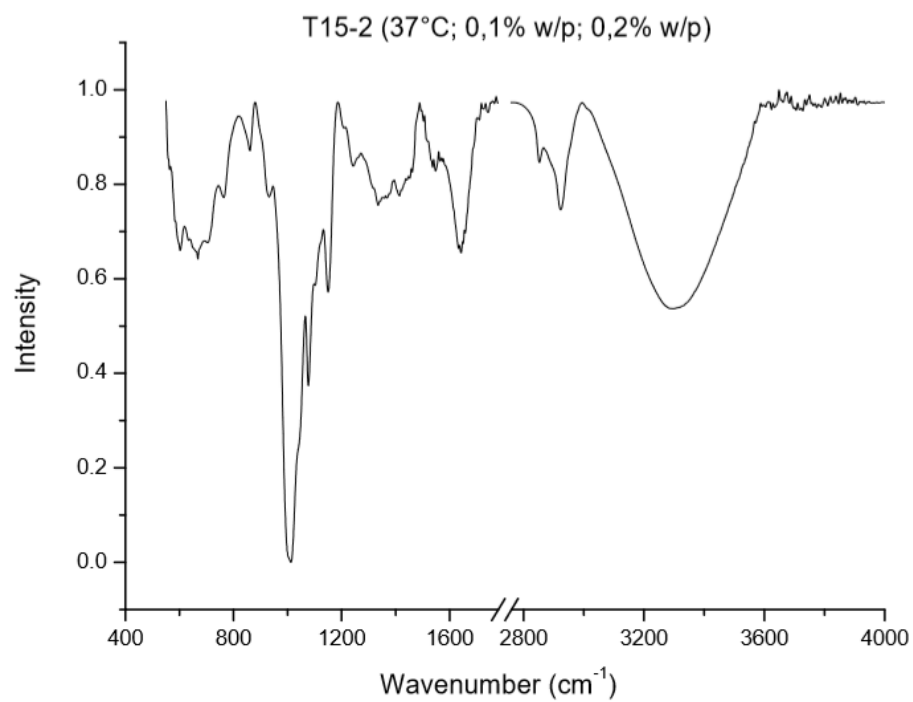


Figura 30. Espectro FTIR-ATR subproducto amaranto (T15-2)



ANEXO B. Análisis de estructuras secundarias para la región Amida I de 1600 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹.

Figura 31. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹ (T1-1)

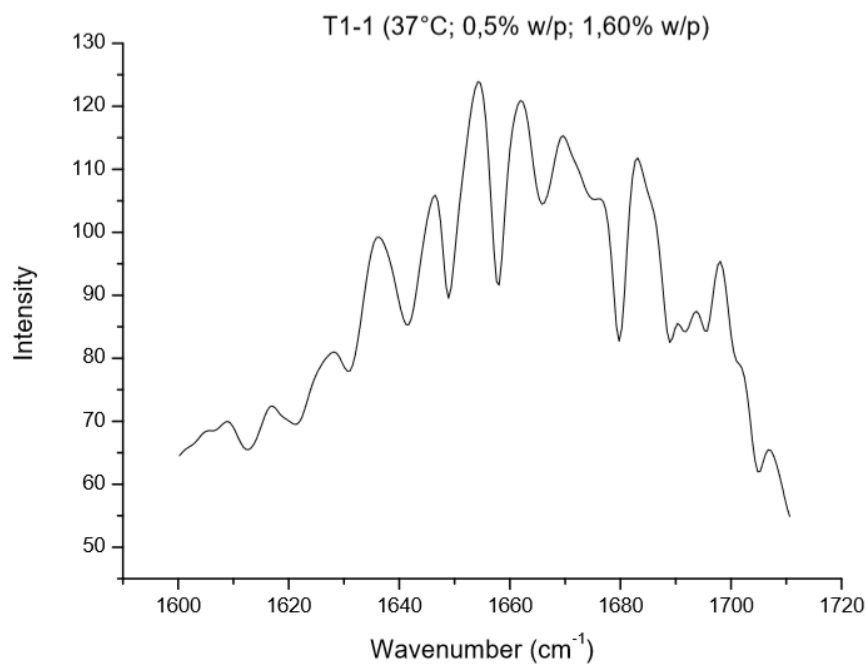


Figura 32. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm⁻¹ a 1700 cm⁻¹ (T1-2)

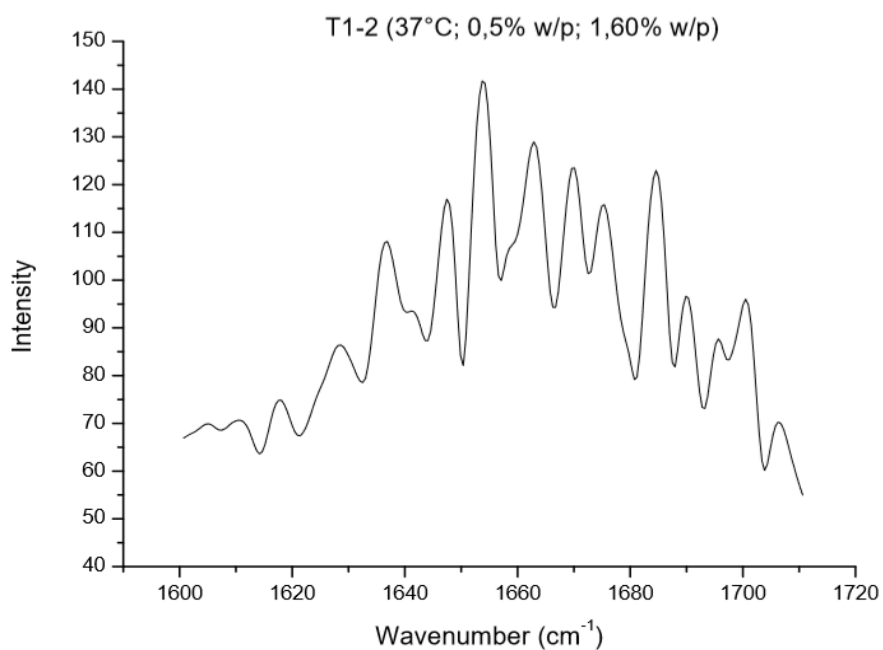


Figura 33. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T2-1)

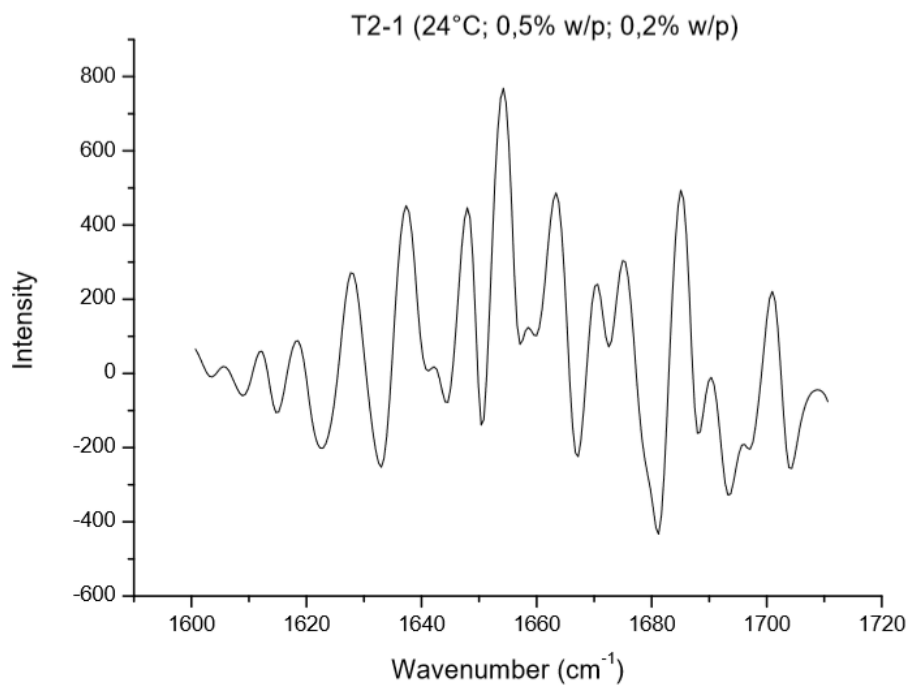


Figura 34. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T2-2)

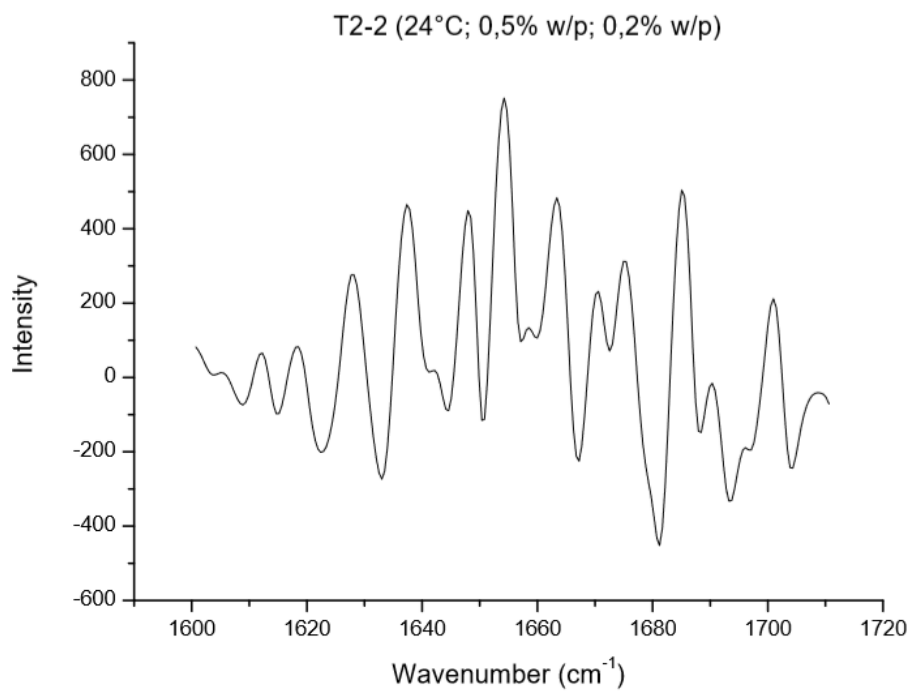


Figura 35. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T3-1)

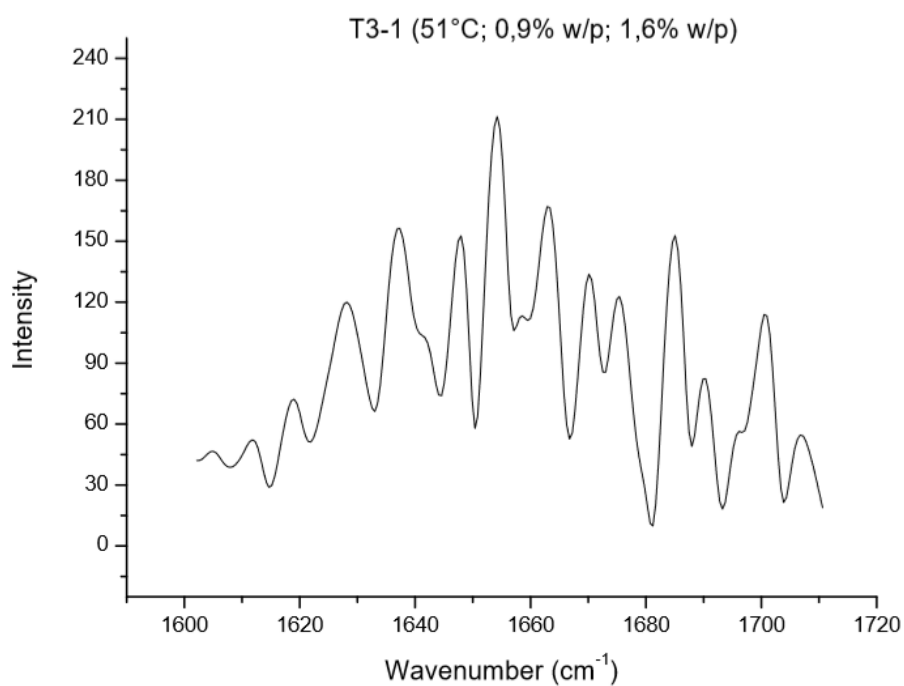


Figura 36. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T3-2)

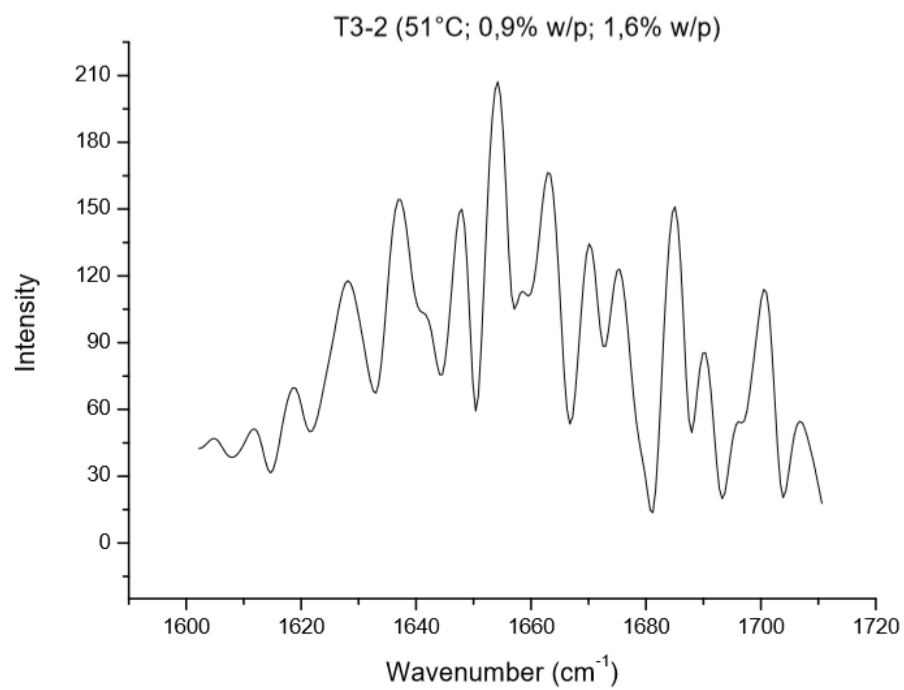


Figura 37. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T4-1)

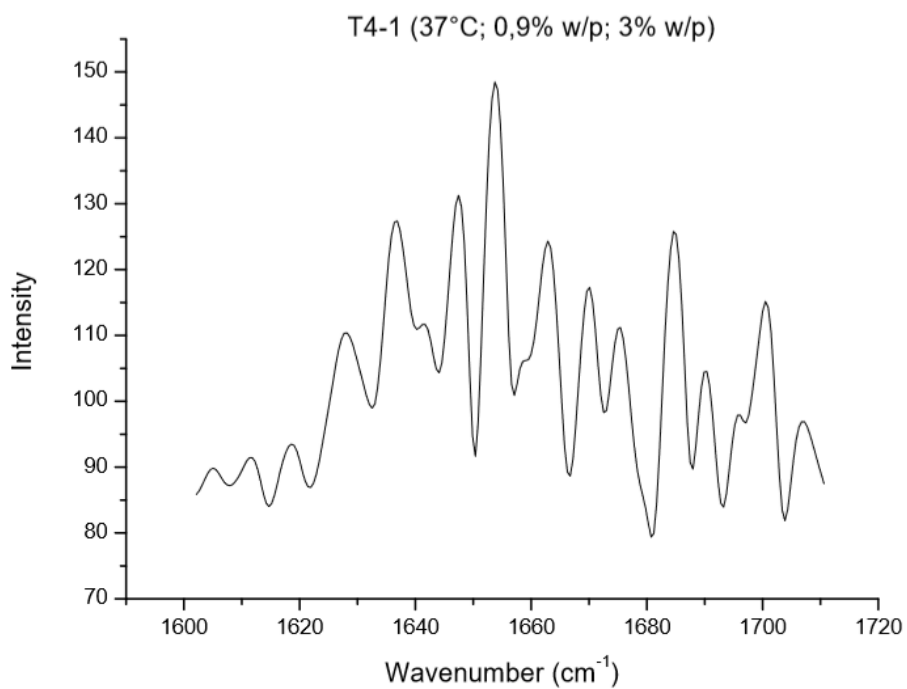


Figura 38. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T4-2)

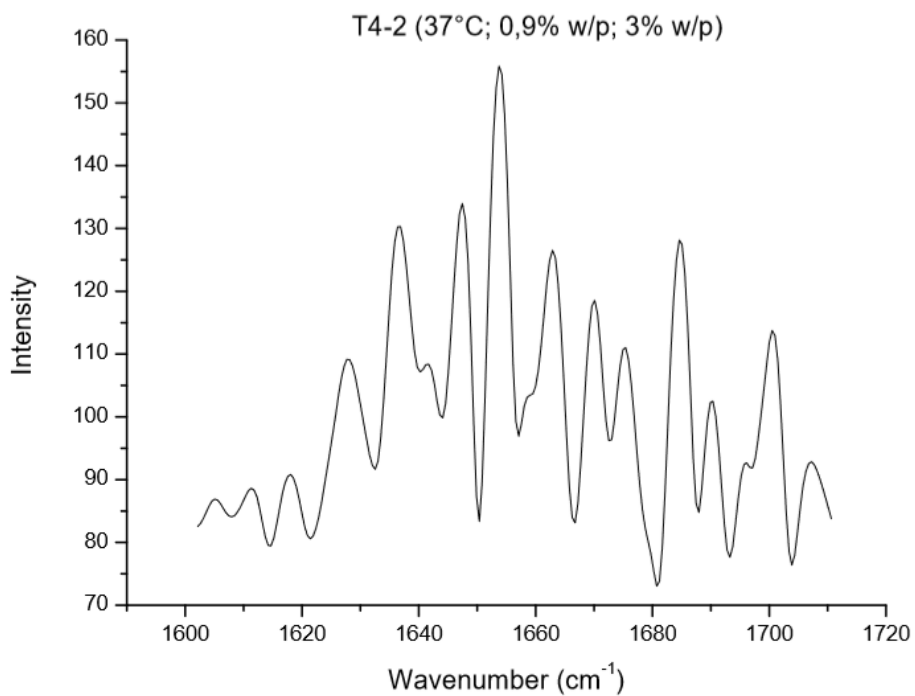


Figura 39. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T5-1)

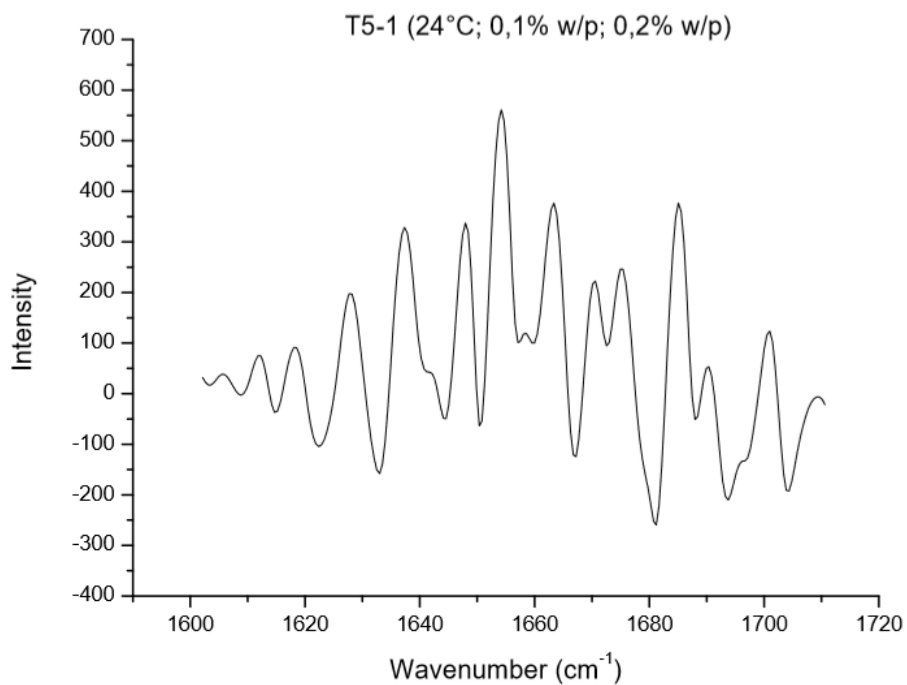


Figura 40. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T5-2)

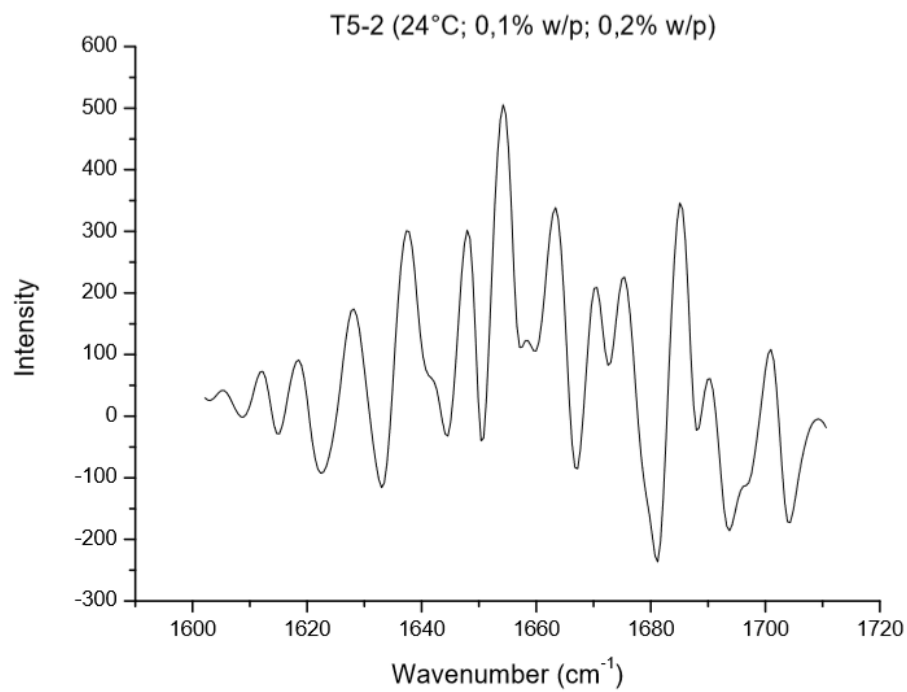


Figura 41. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T6-1)

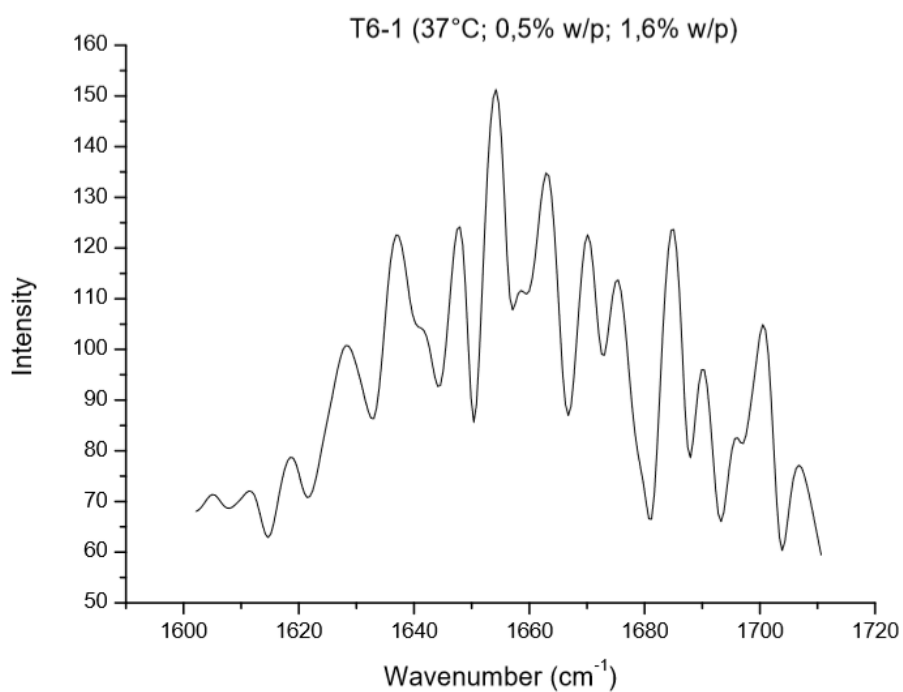


Figura 42. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T6-2)

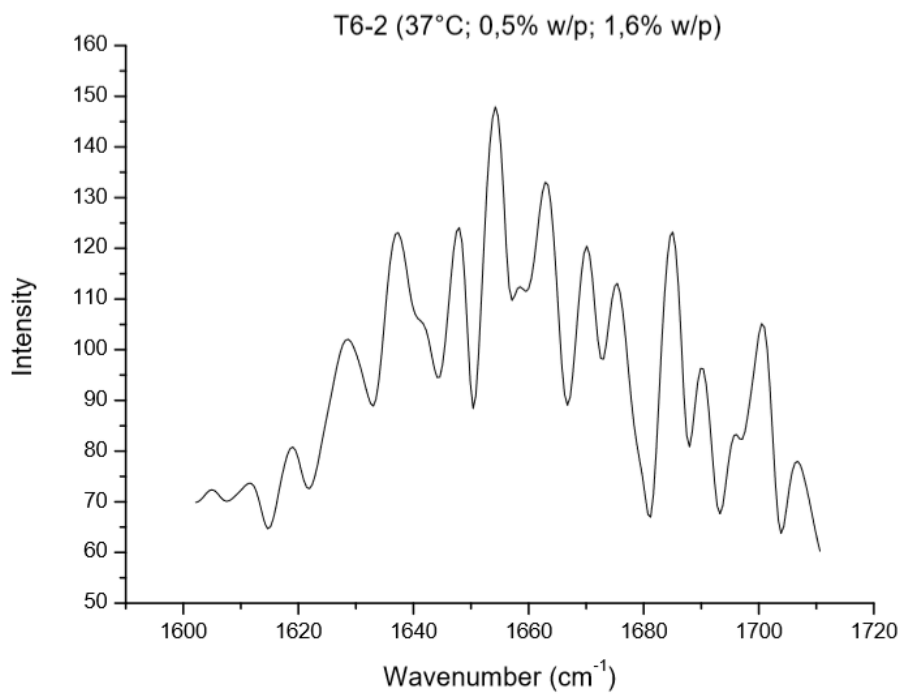


Figura 43. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T7-1)

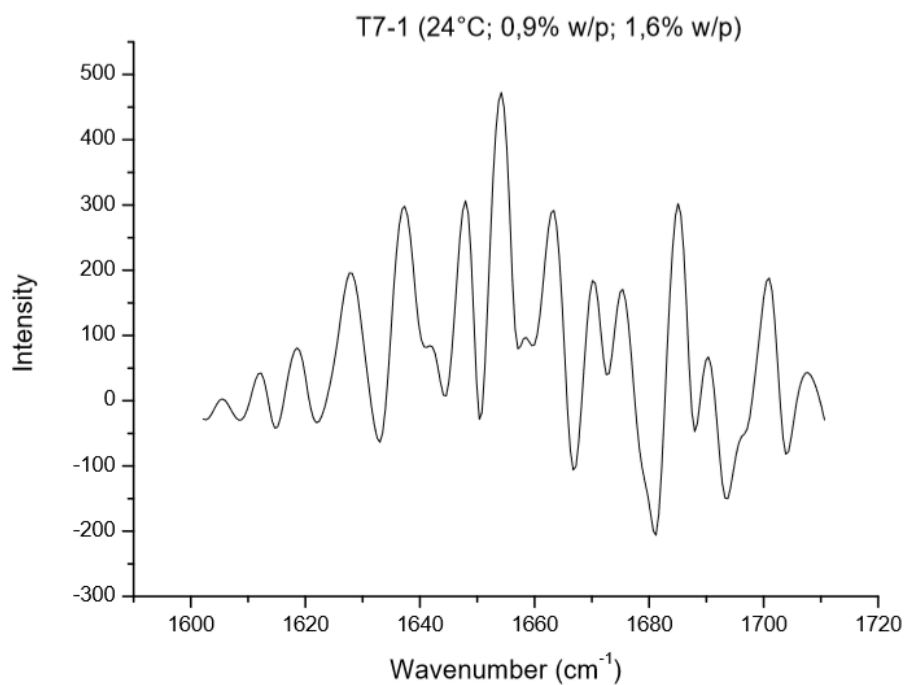


Figura 44. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T7-2)

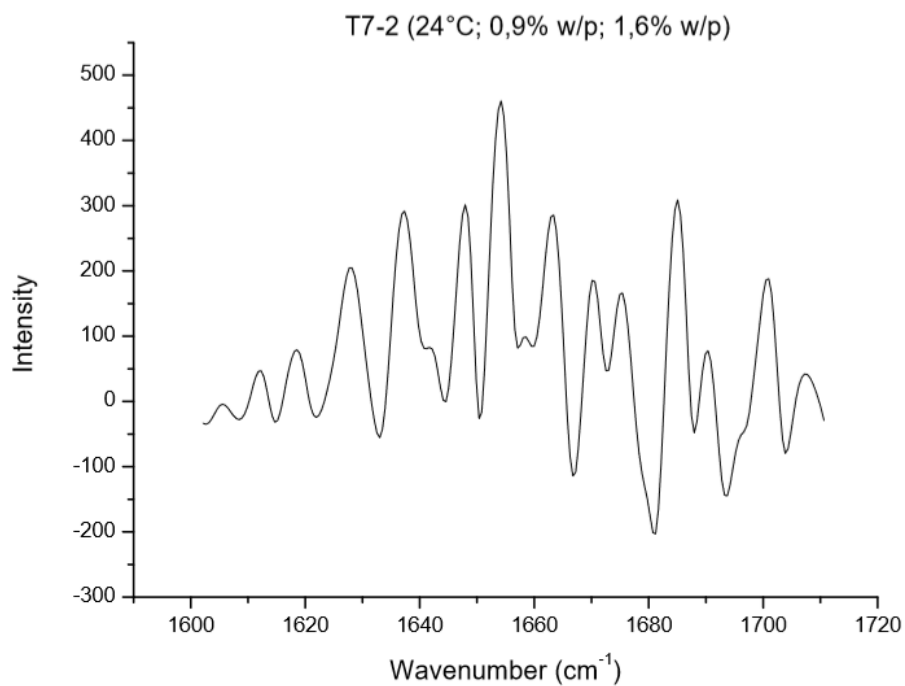


Figura 45. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T8-1)

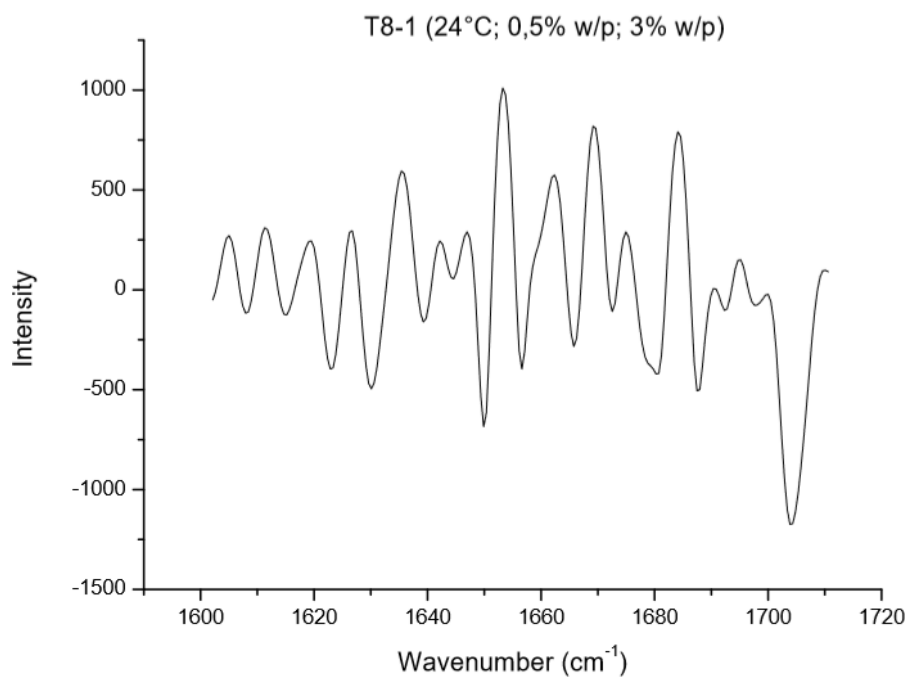


Figura 46. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T8-2)

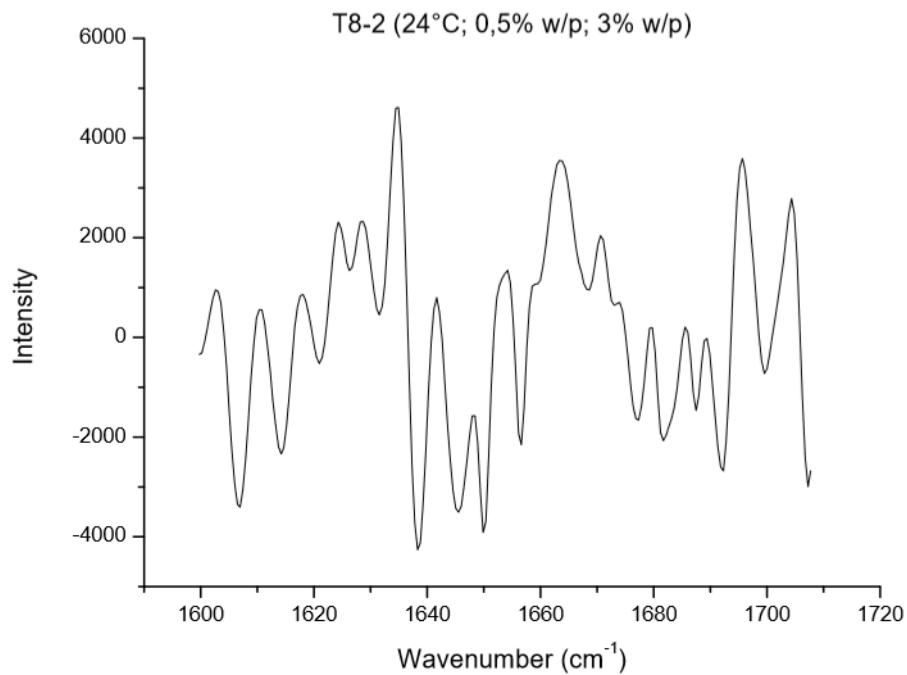


Figura 47. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T9-1)

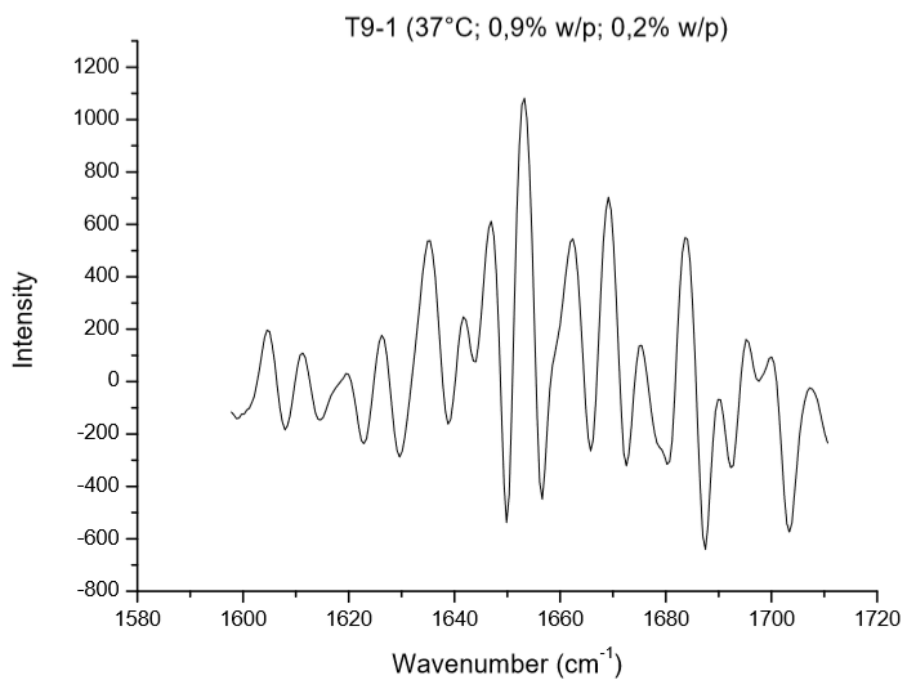


Figura 48. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T9-2)

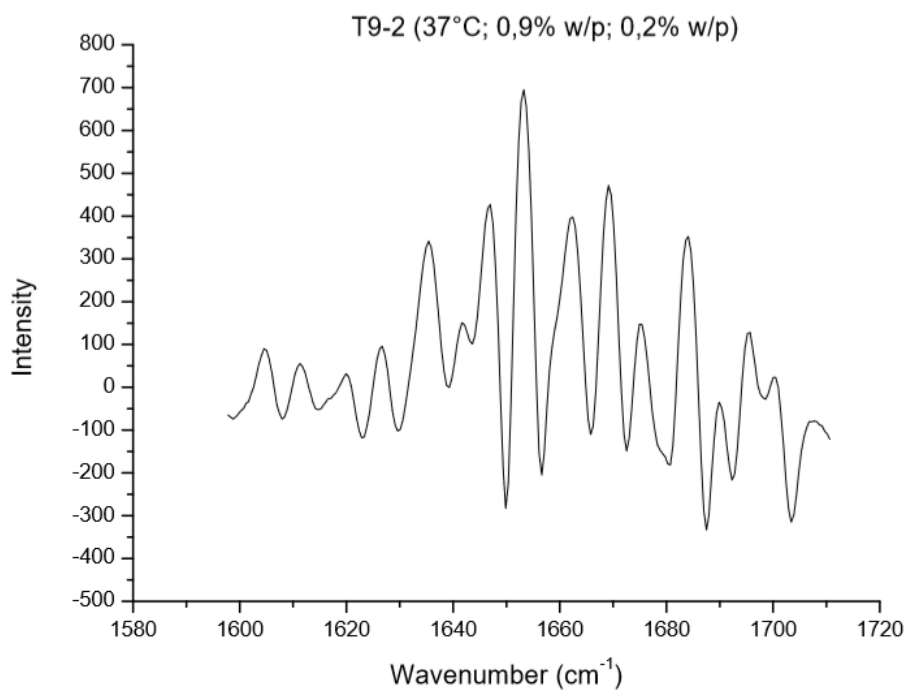


Figura 49. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T10-1)

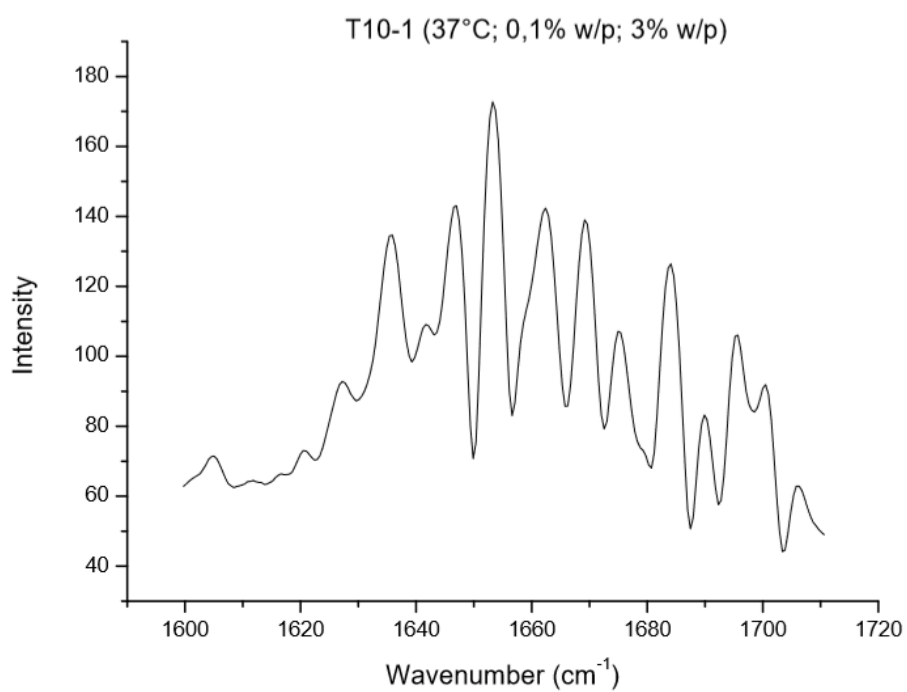


Figura 50. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T10-2)

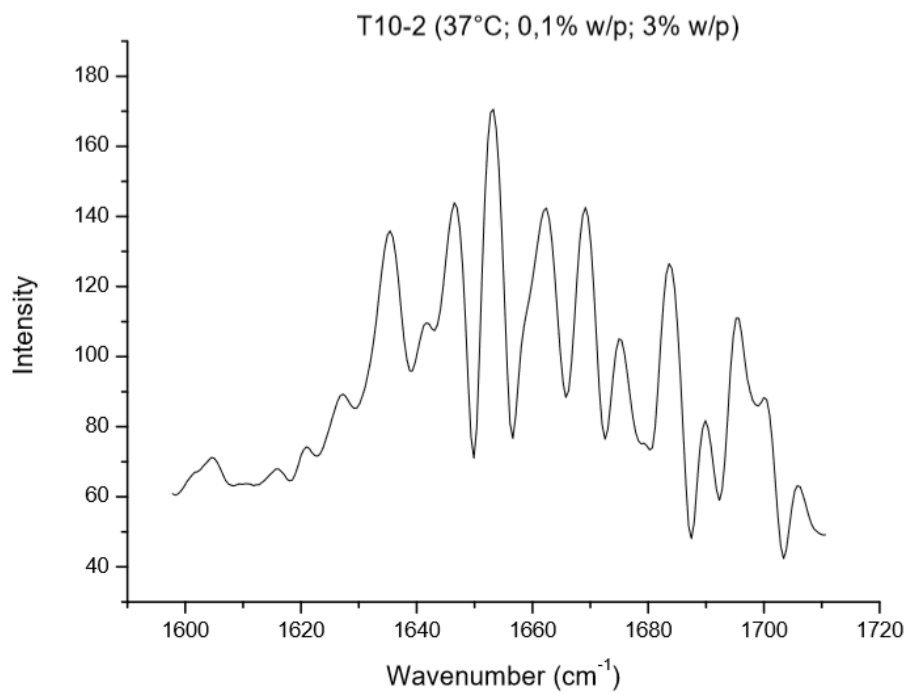


Figura 51. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T11-1)

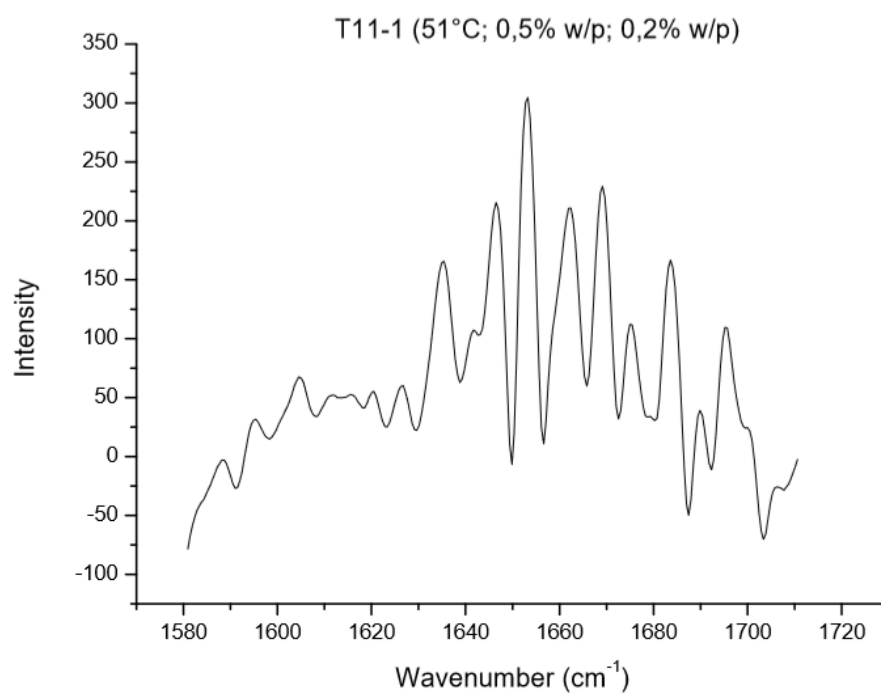


Figura 52. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T11-2)

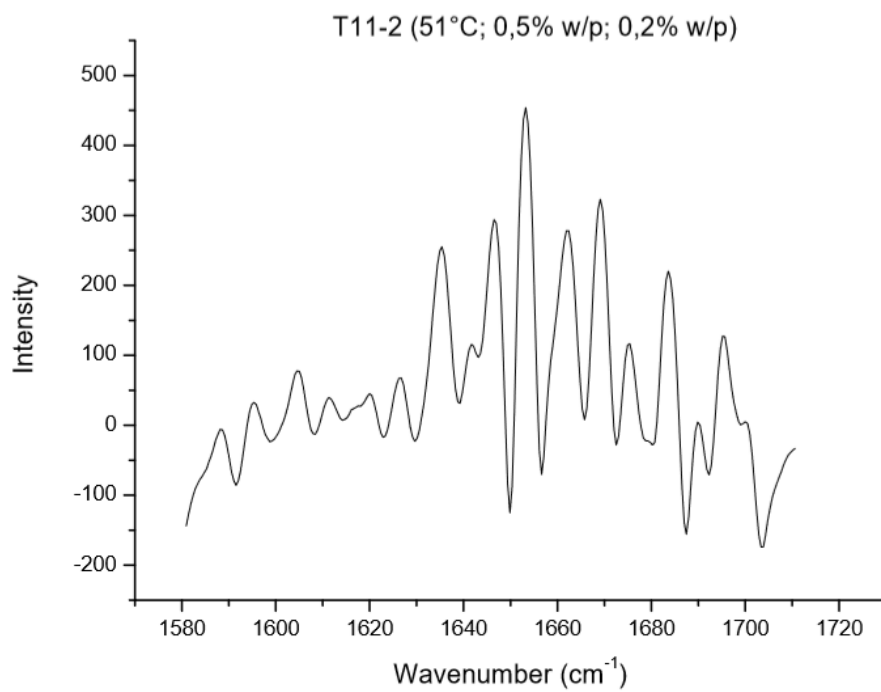


Figura 53. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T12-1)

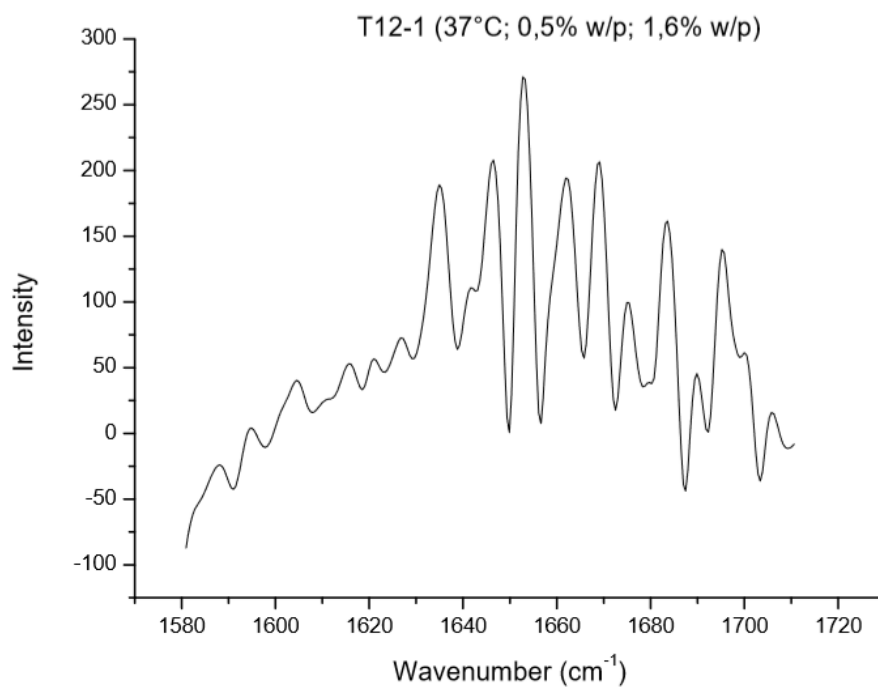


Figura 54. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T12-2)

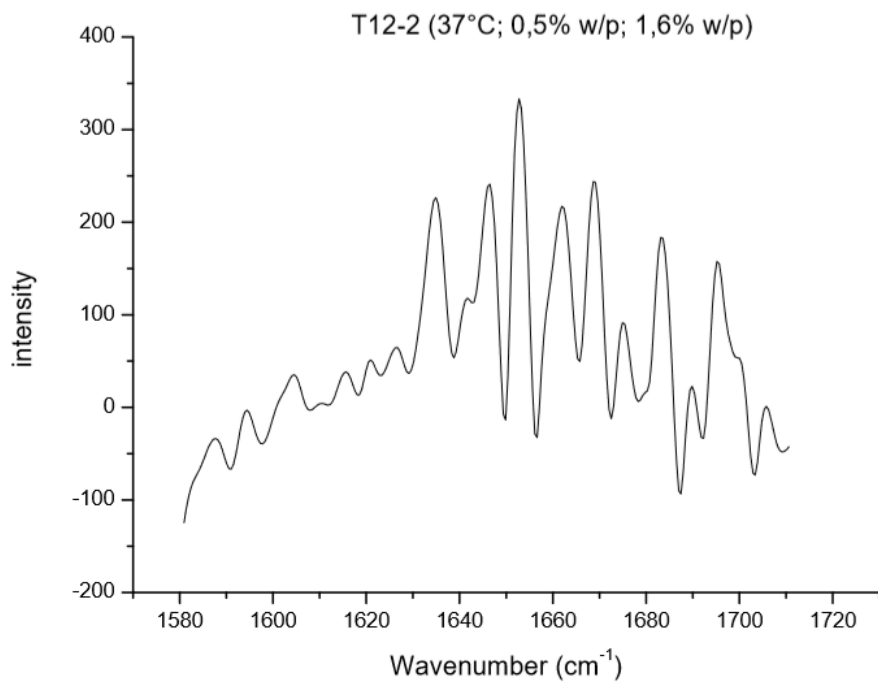


Figura 55. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T13-1)

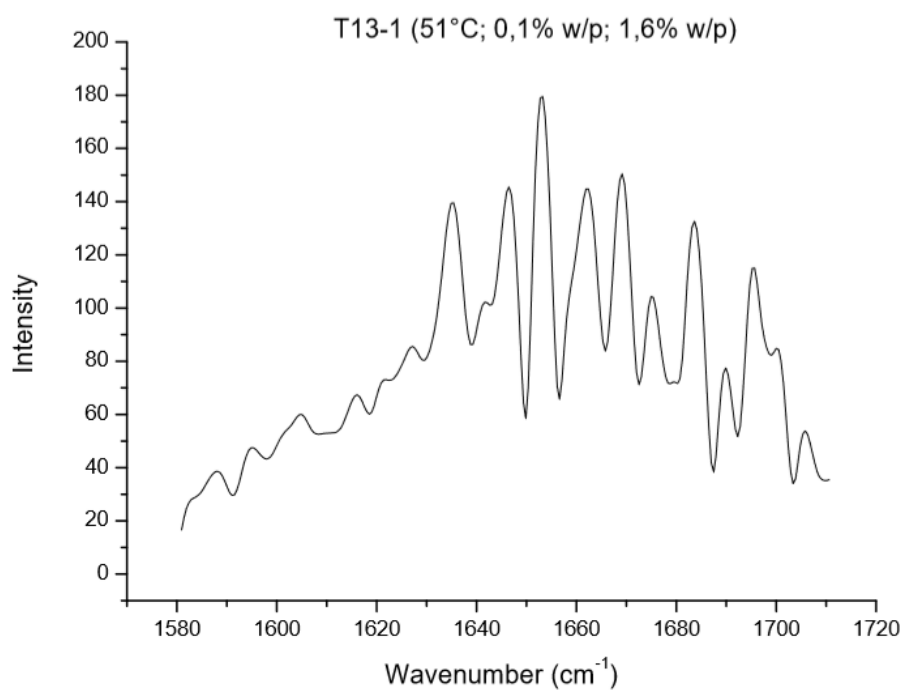


Figura 56. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T13-2)

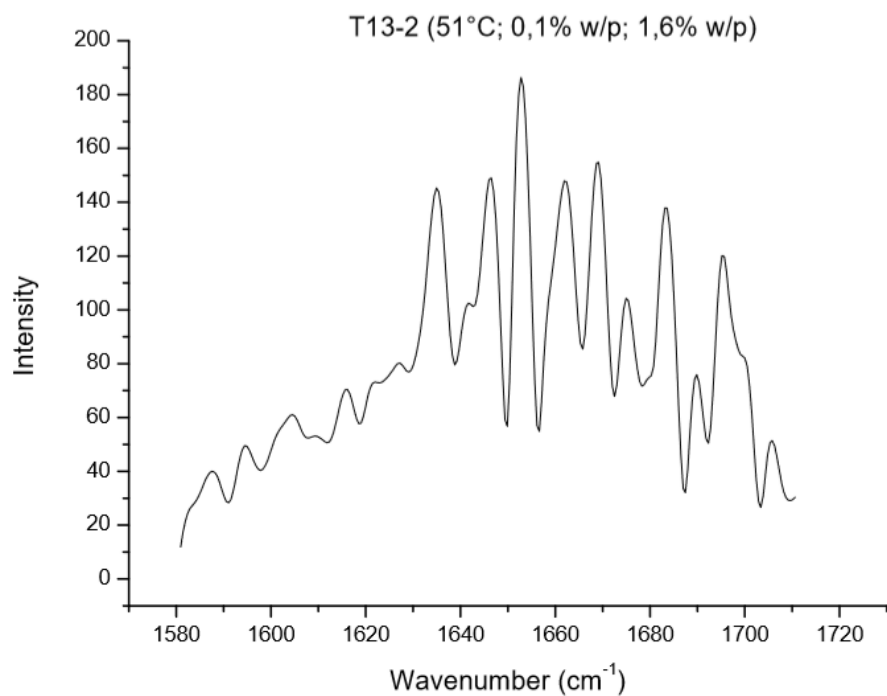


Figura 57. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T14-1)

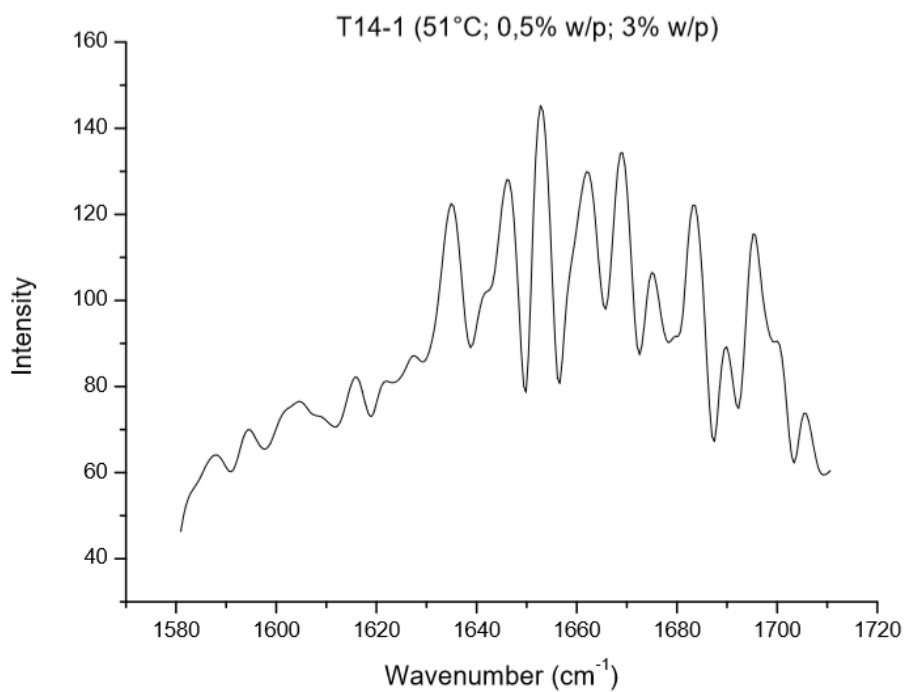


Figura 58. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T14-2)

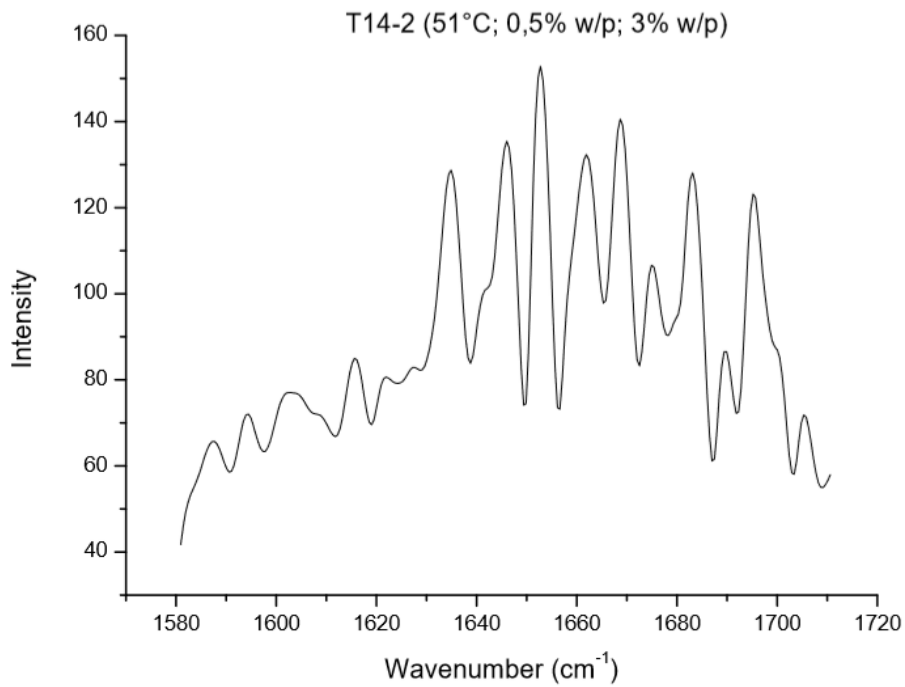


Figura 59. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T15-1)

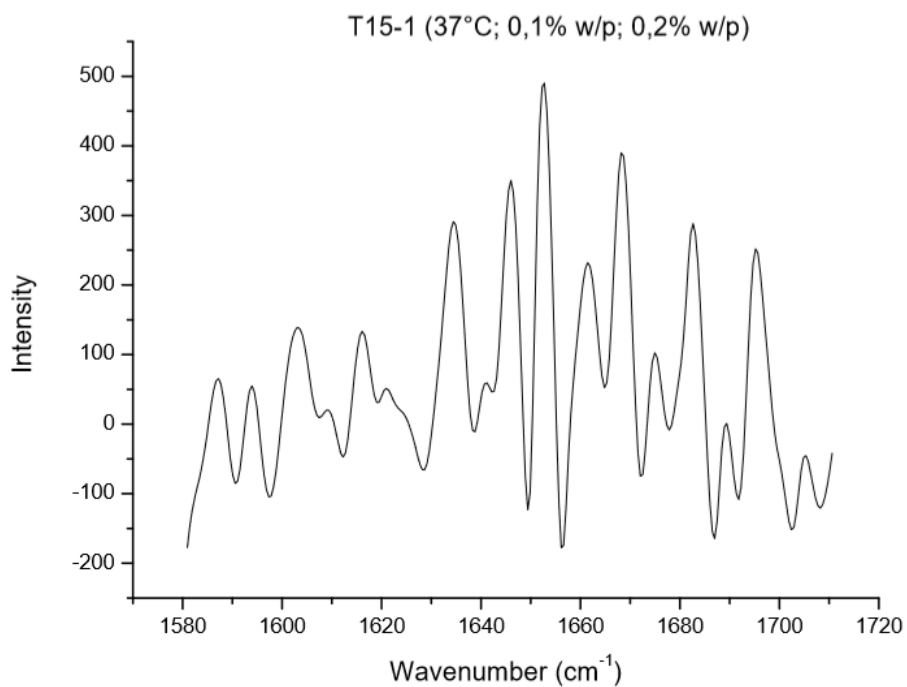
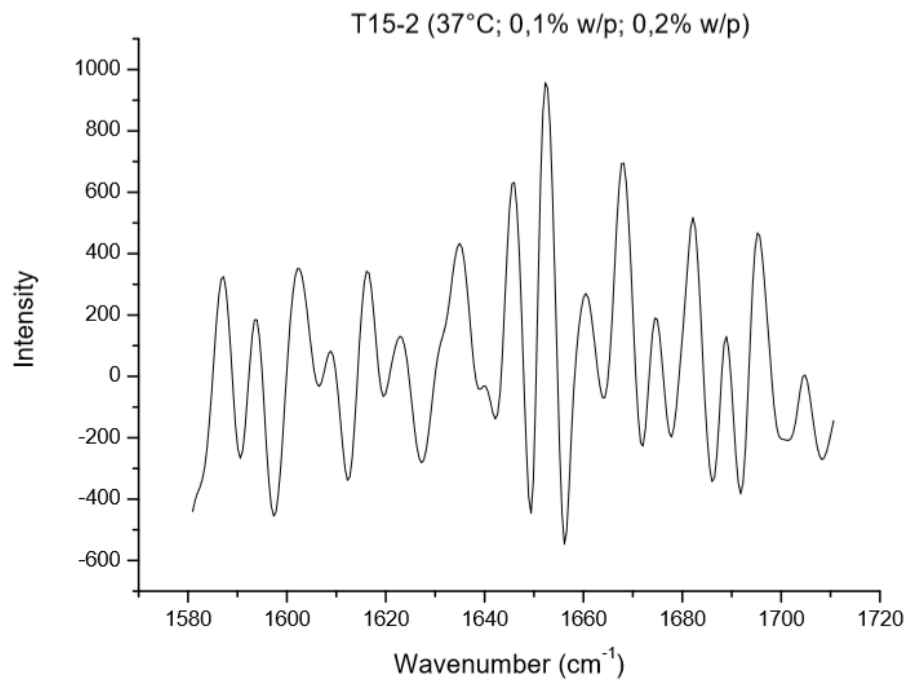


Figura 60. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 1600 cm^{-1} a 1700 cm^{-1} (T15-2)



ANEXO C. Análisis de la región cristalino-amorfa del almidón mediante espectros deconvolucionados entre 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} .

Figura 61. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T1-1)

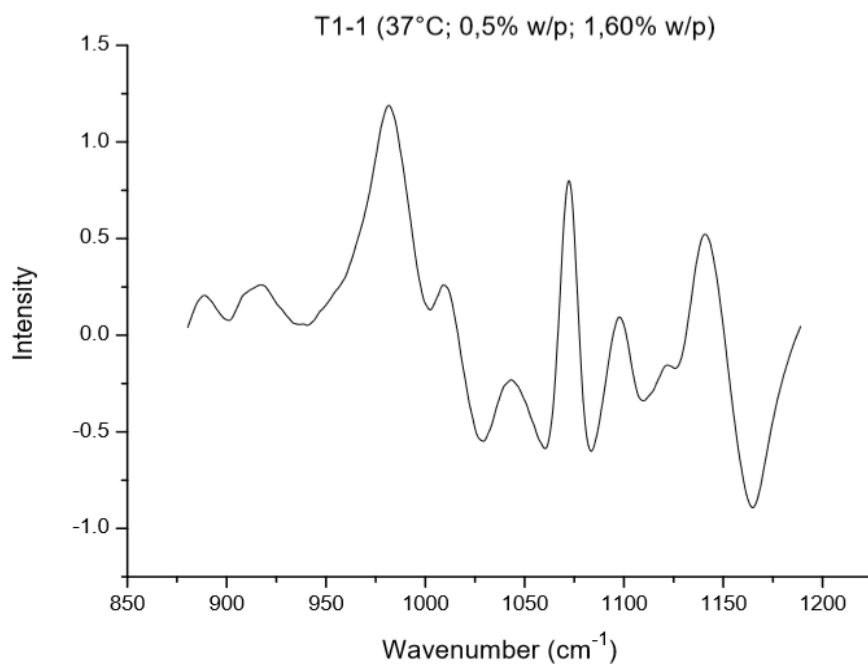


Figura 62. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T1-2)

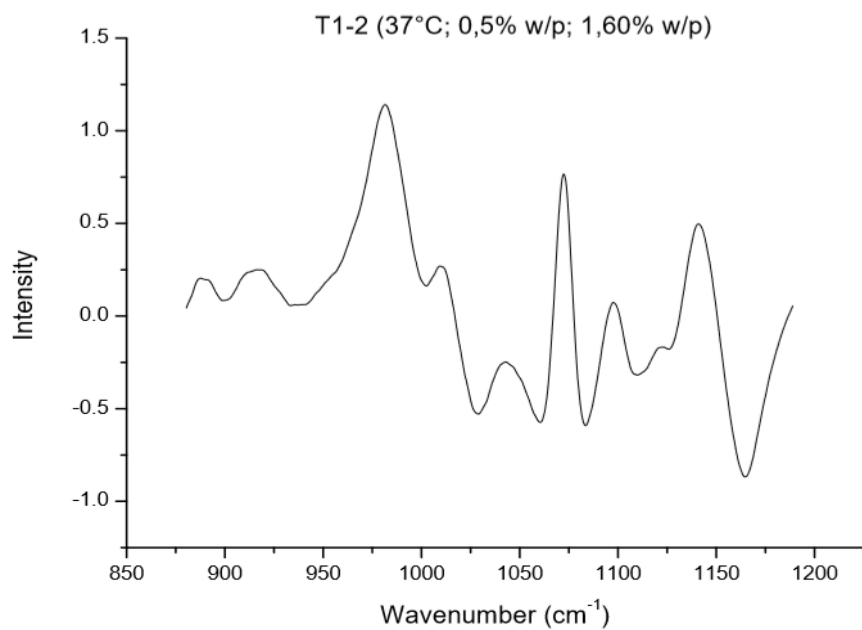


Figura 63. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T2-1)

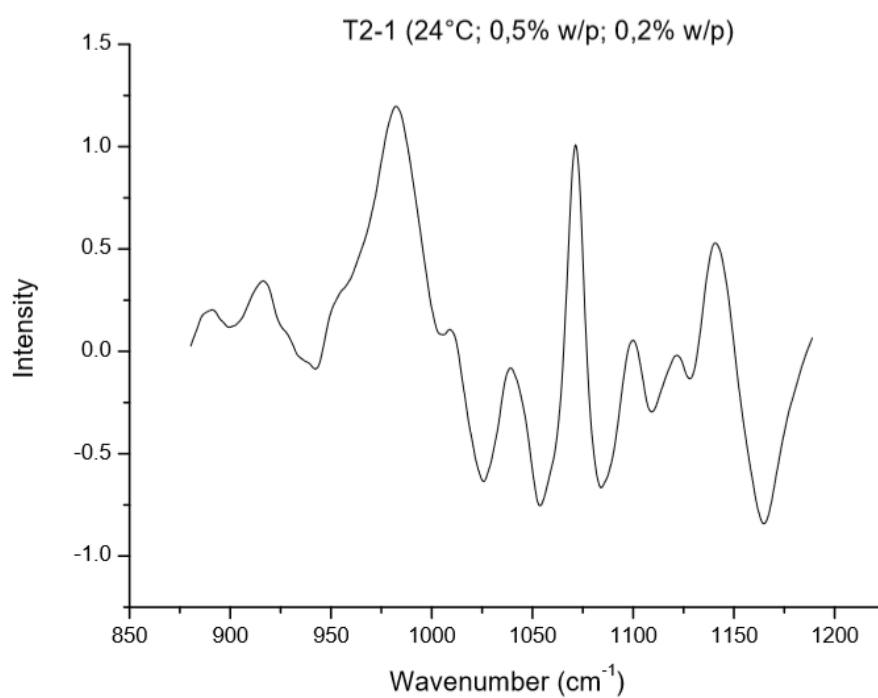


Figura 64. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T2-2)

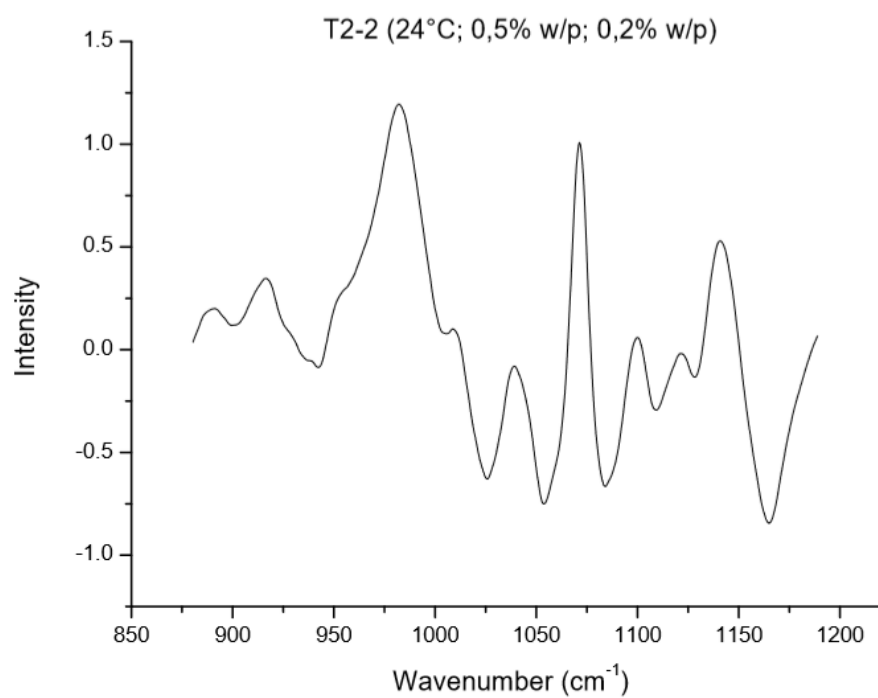


Figura 65. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T3-1)

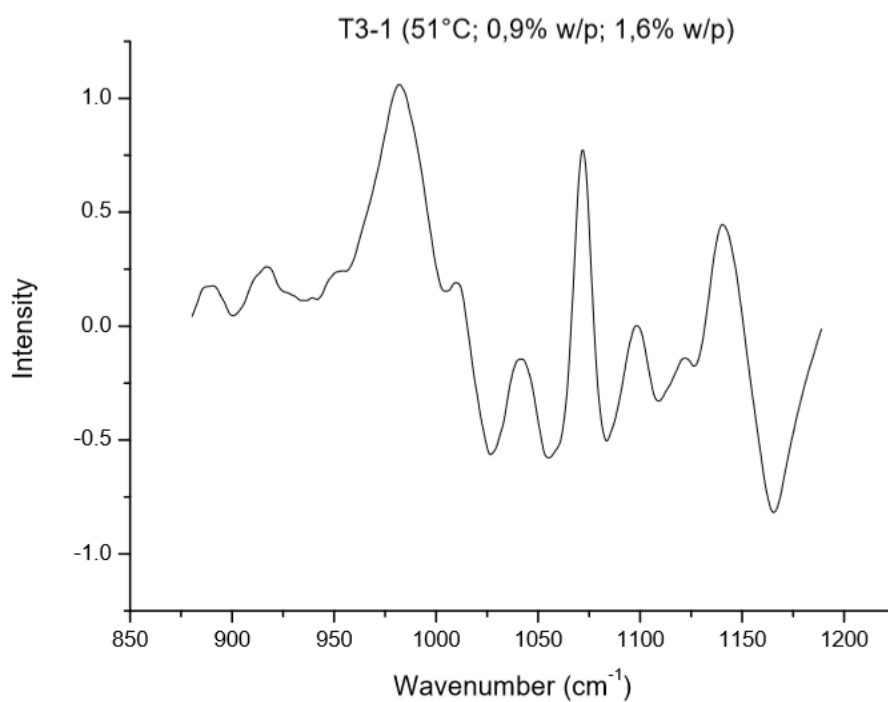


Figura 66. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T3-2)

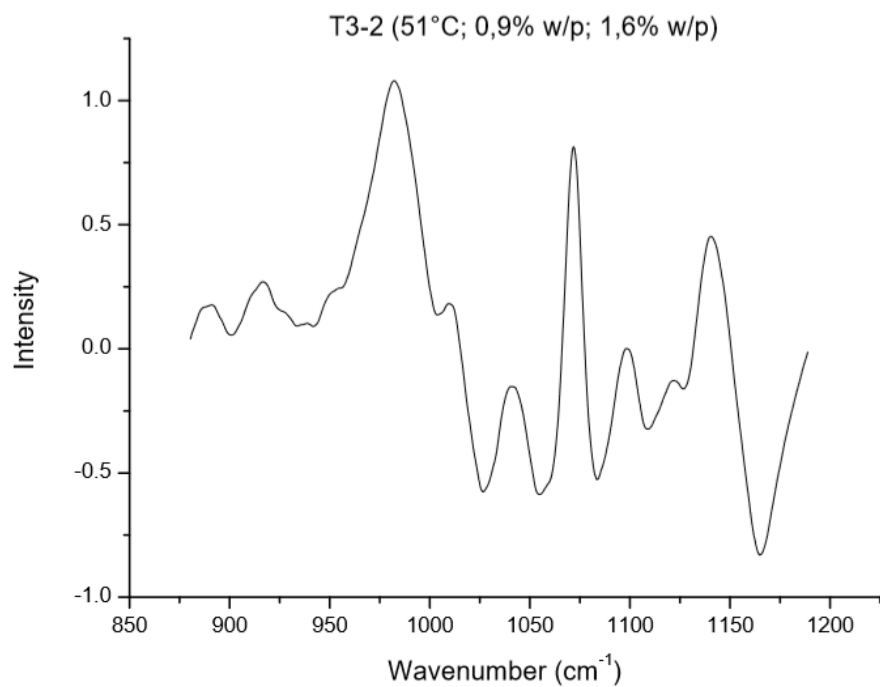


Figura 67. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T4-1)

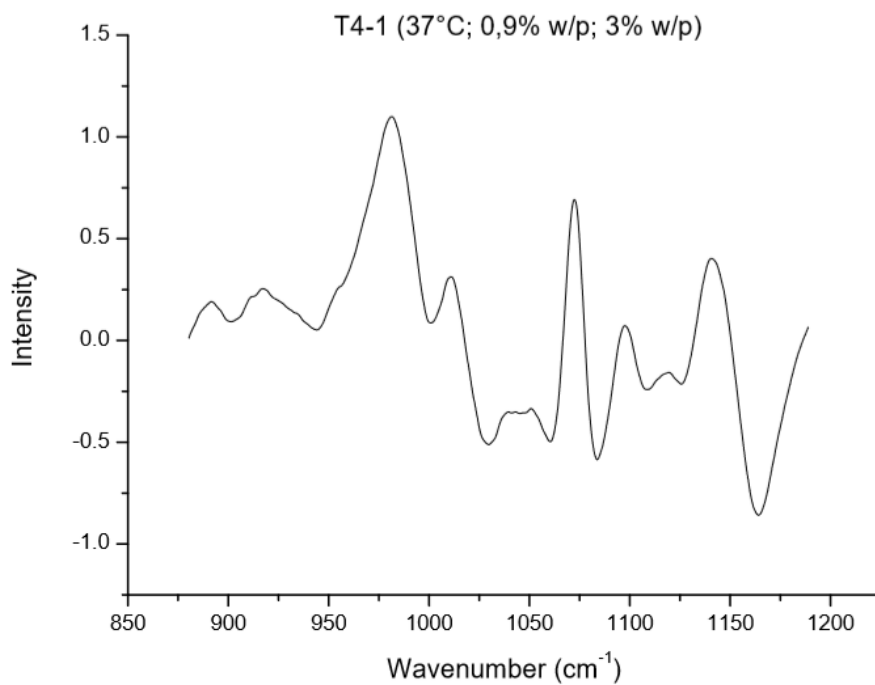


Figura 68. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T4-2)

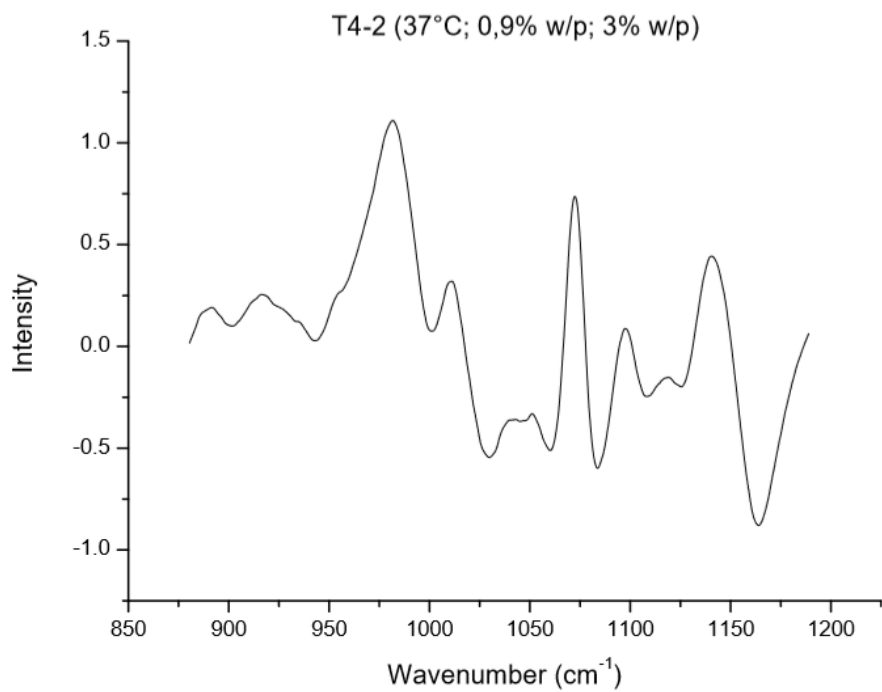


Figura 69. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T5-1)

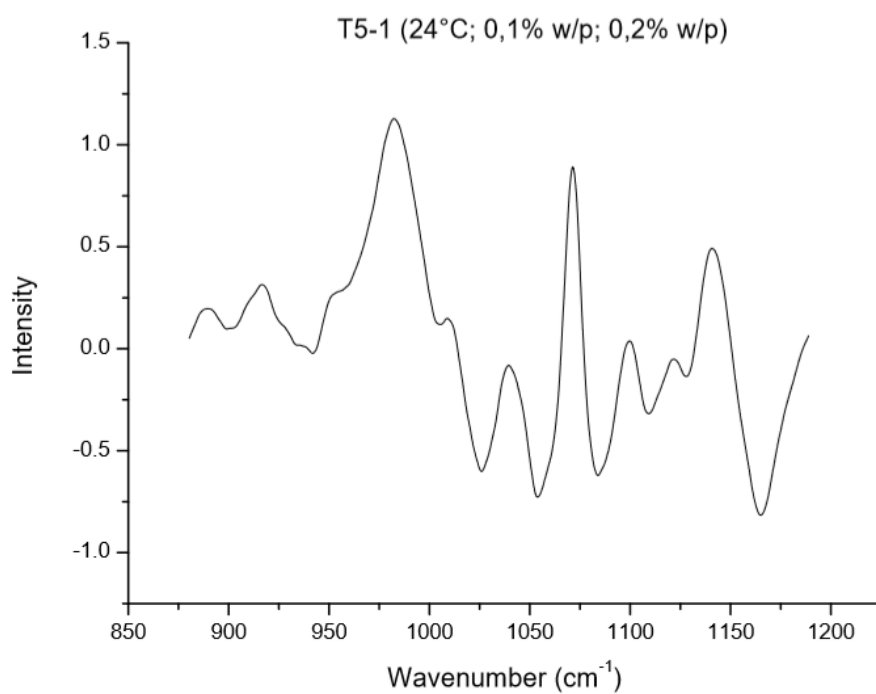


Figura 70. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T5-2)

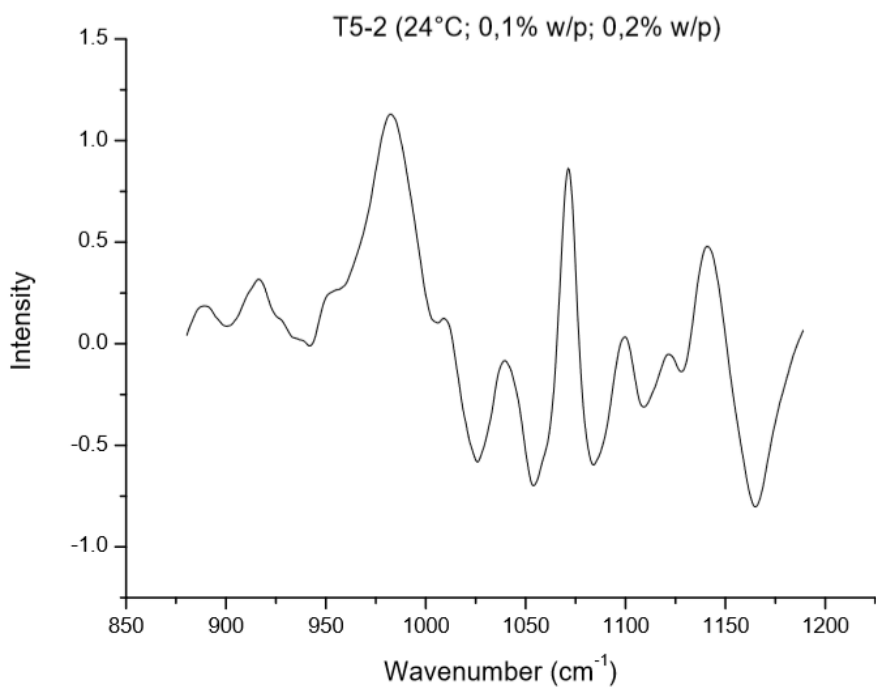


Figura 71. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T6-1)

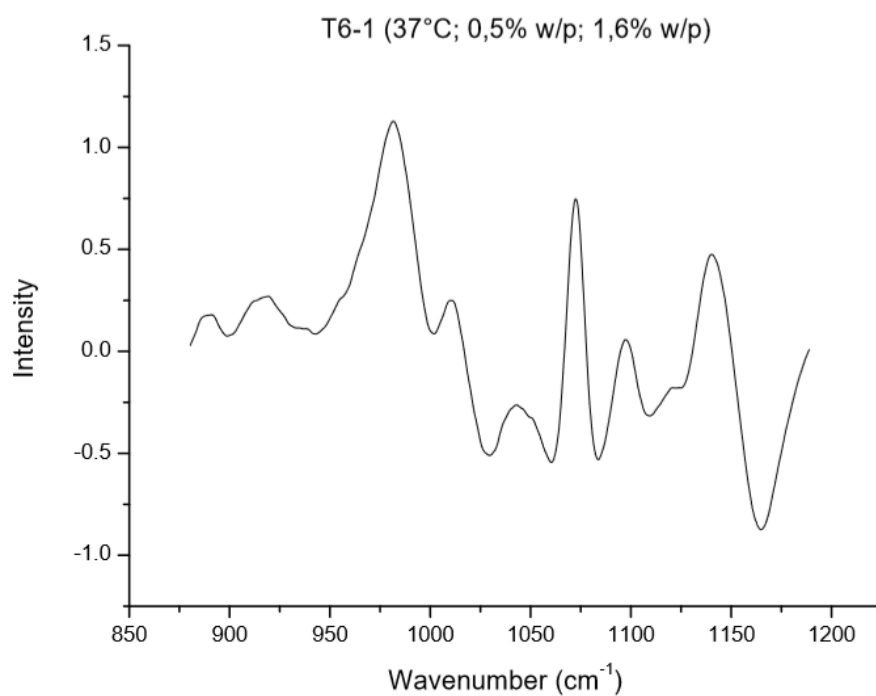


Figura 72. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T6-2)

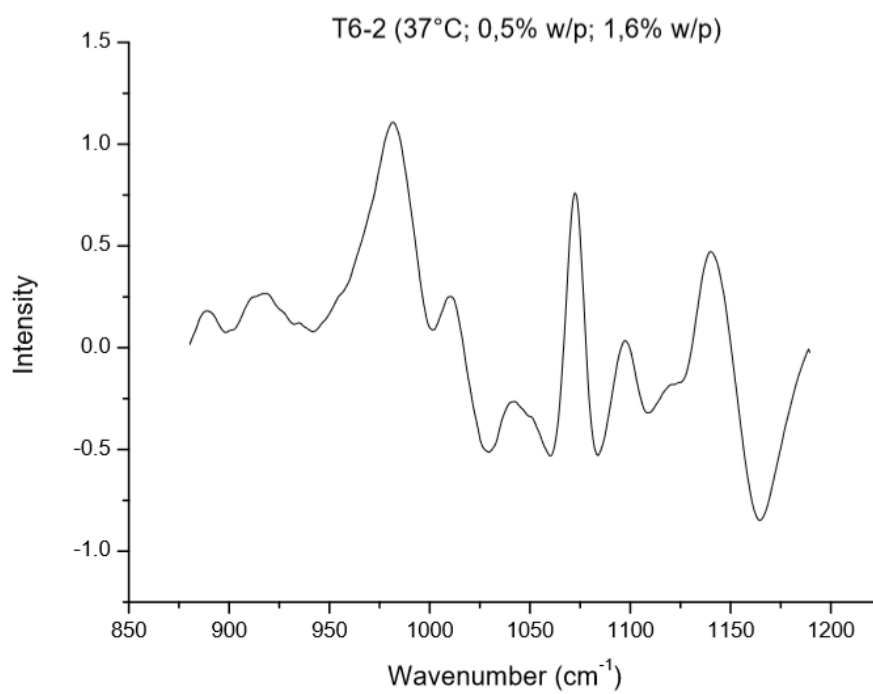


Figura 73. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T7-1)

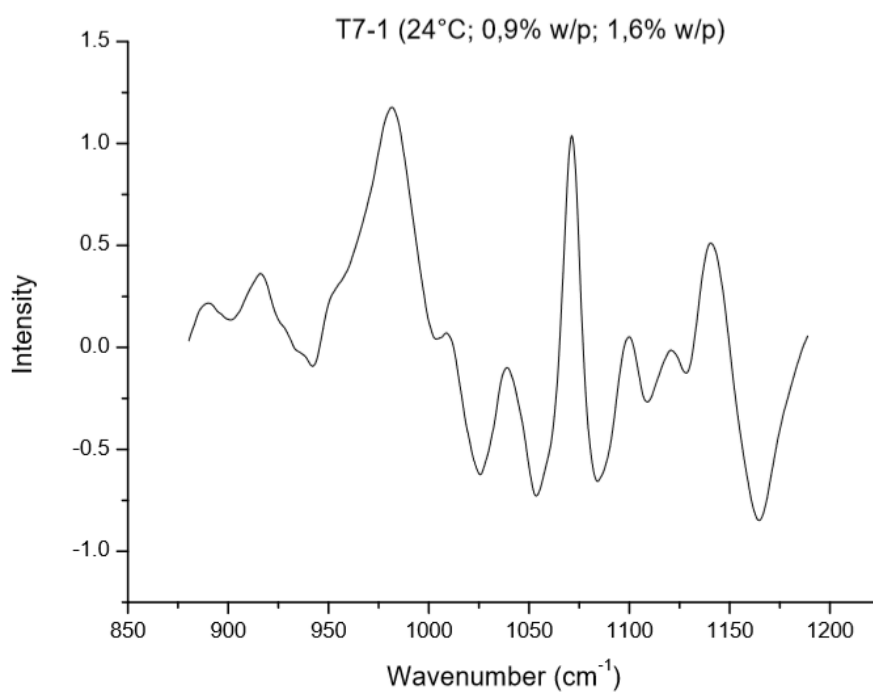


Figura 74. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T7-2)

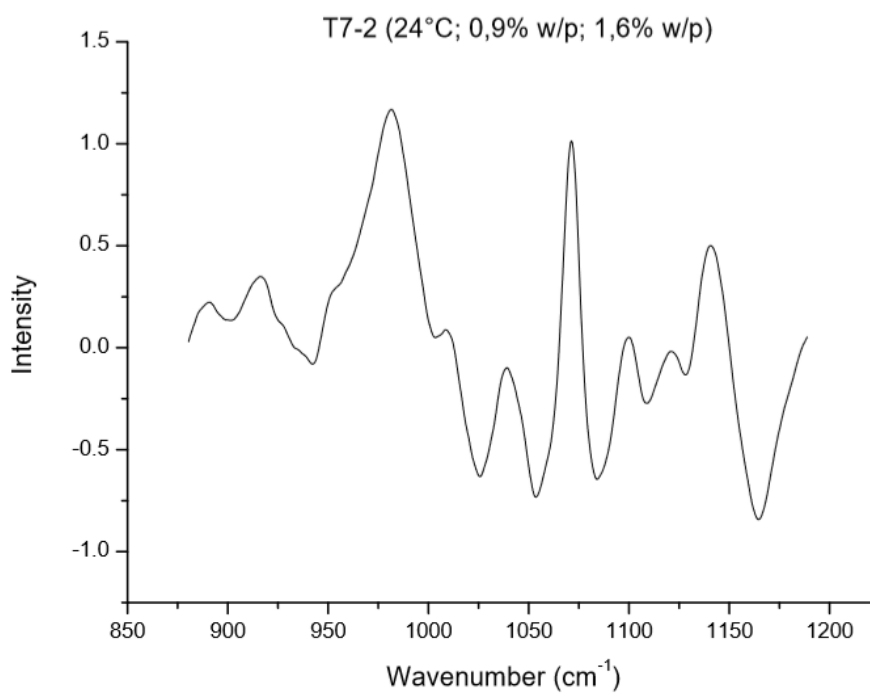


Figura 75. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T8-1)

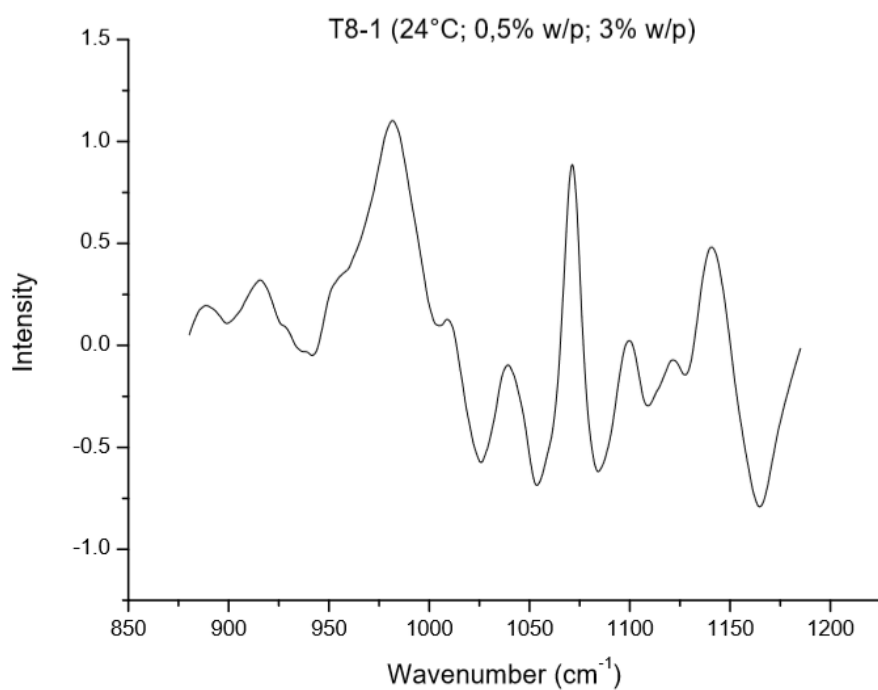


Figura 76. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T8-2)

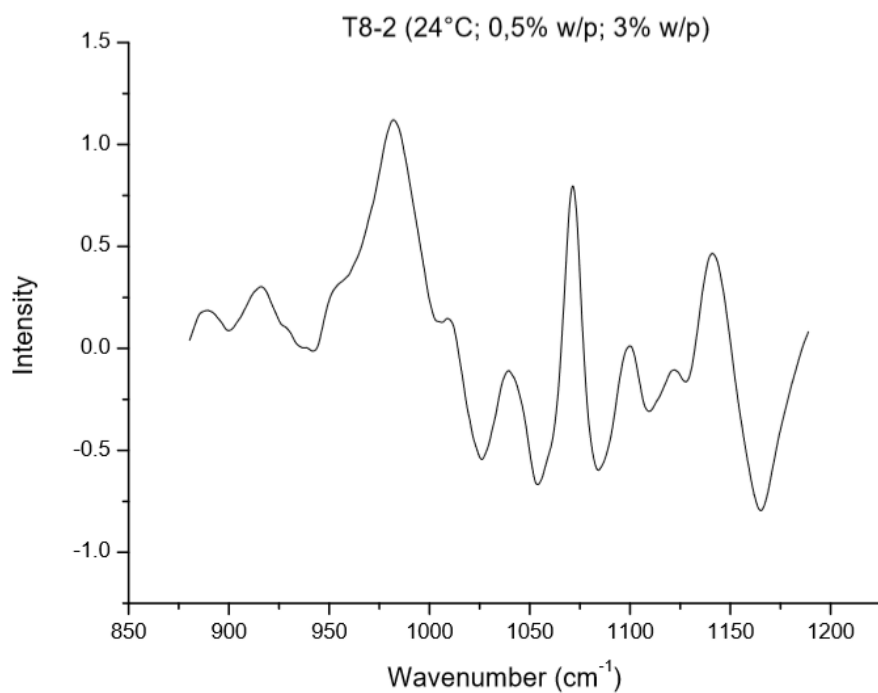


Figura 77. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T9-1)

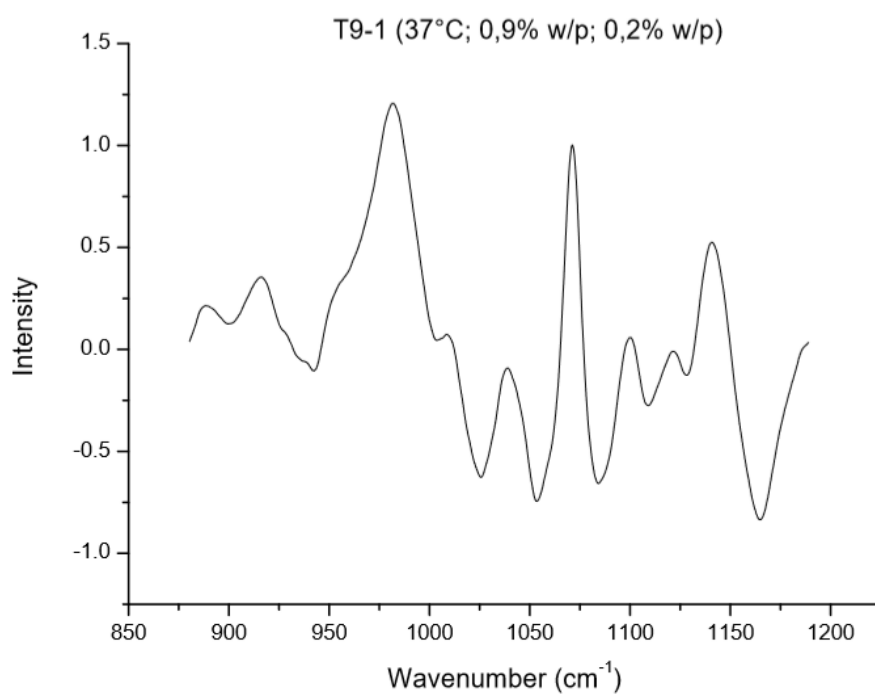


Figura 78. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T9-2)

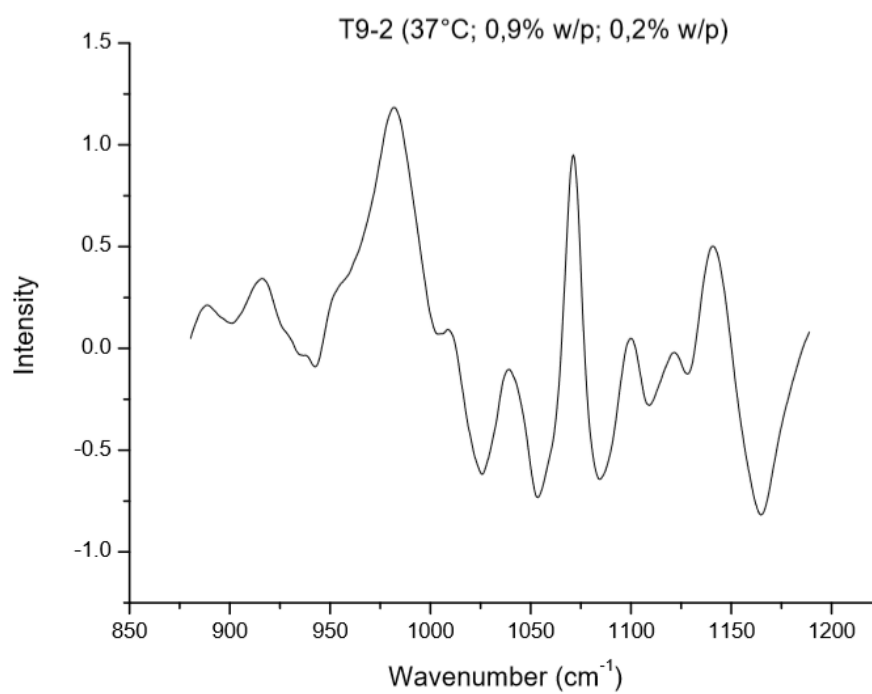


Figura 79. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T10-1)

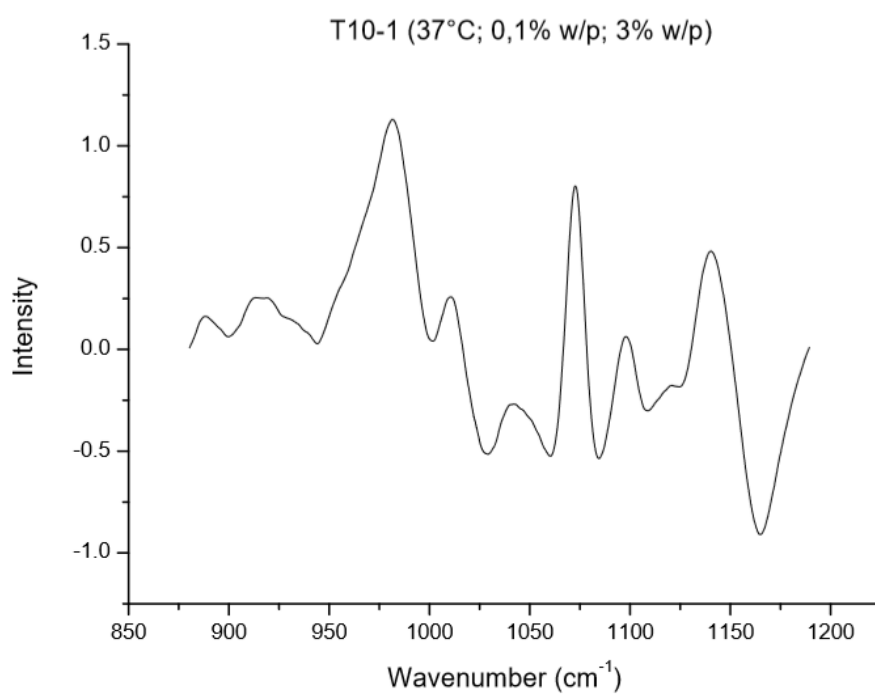


Figura 80. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T10-2)

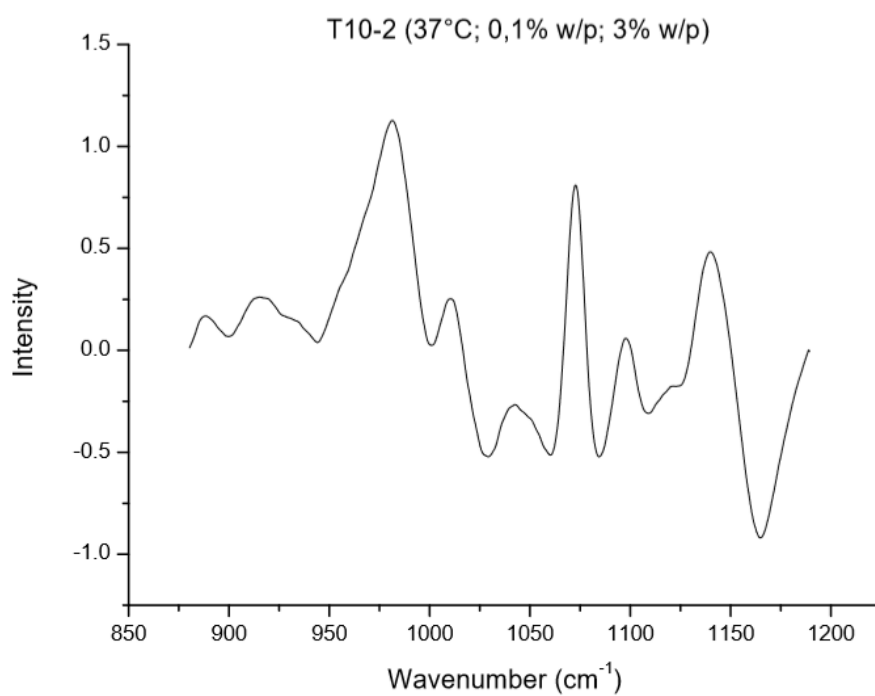


Figura 81. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T11-1)

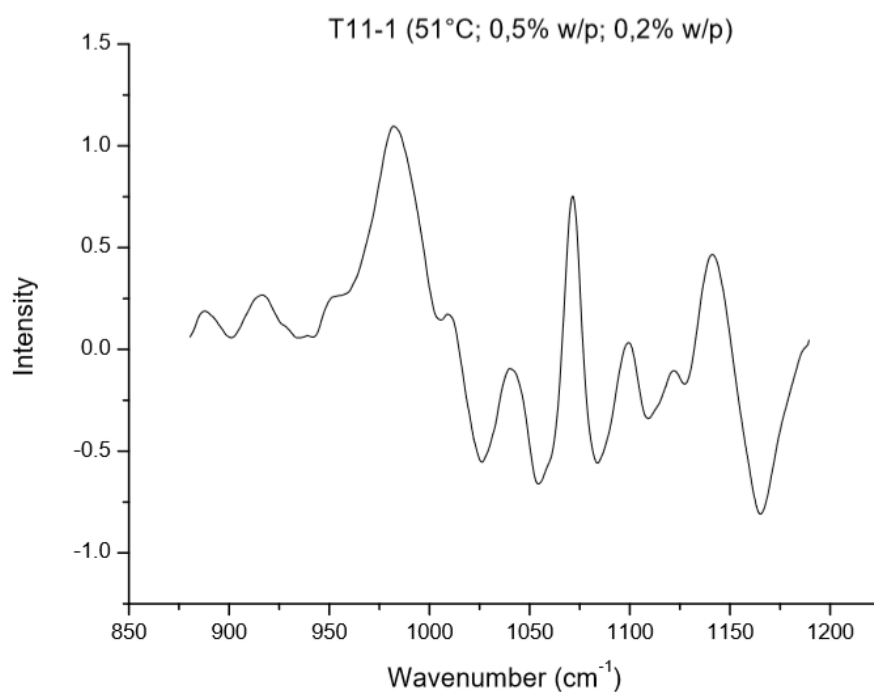


Figura 82. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T11-2)

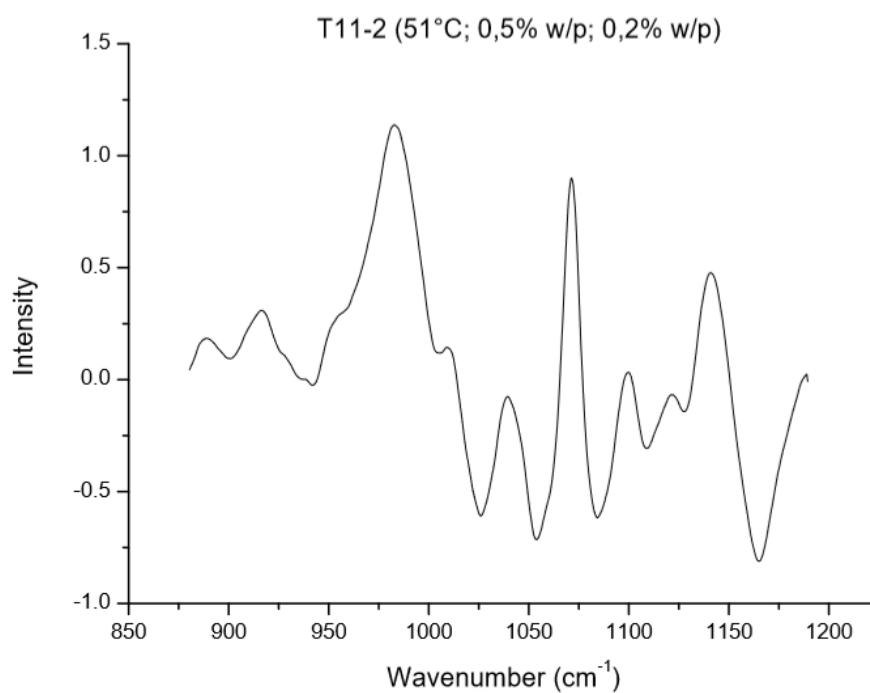


Figura 83. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T12-1)

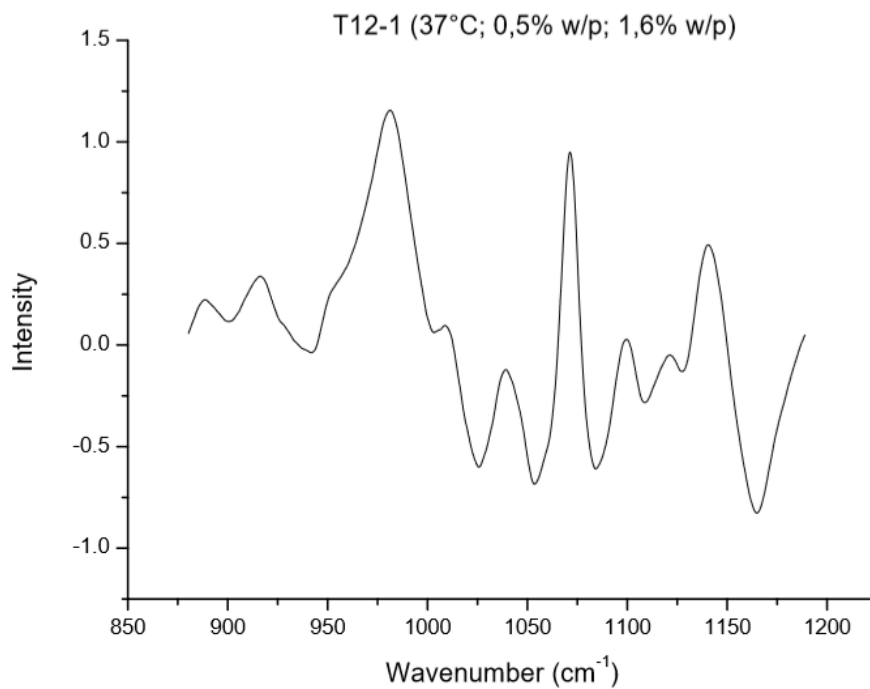


Figura 84. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T12-2)

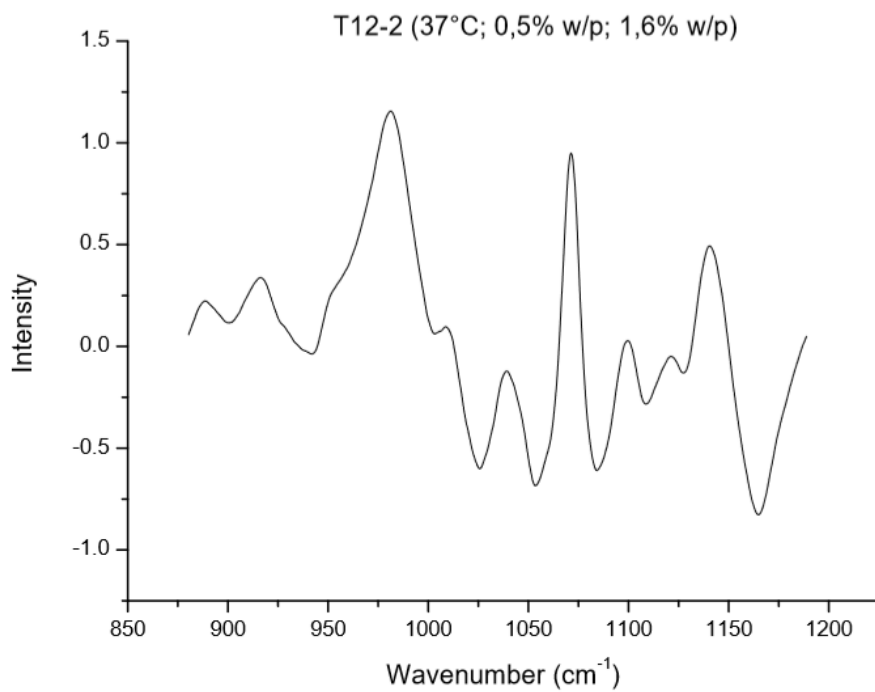


Figura 85. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T13-1)

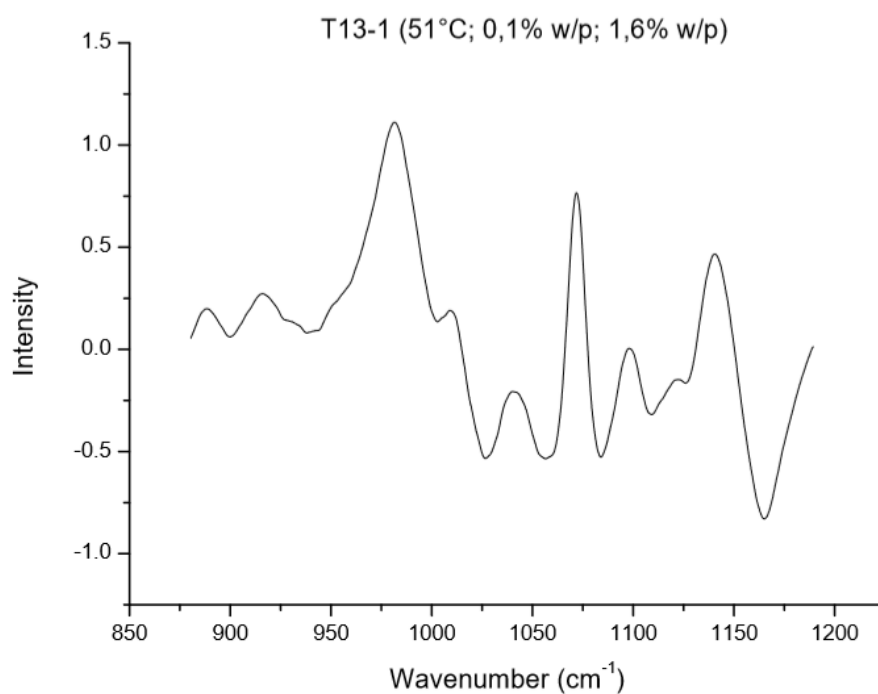


Figura 86. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T13-2)

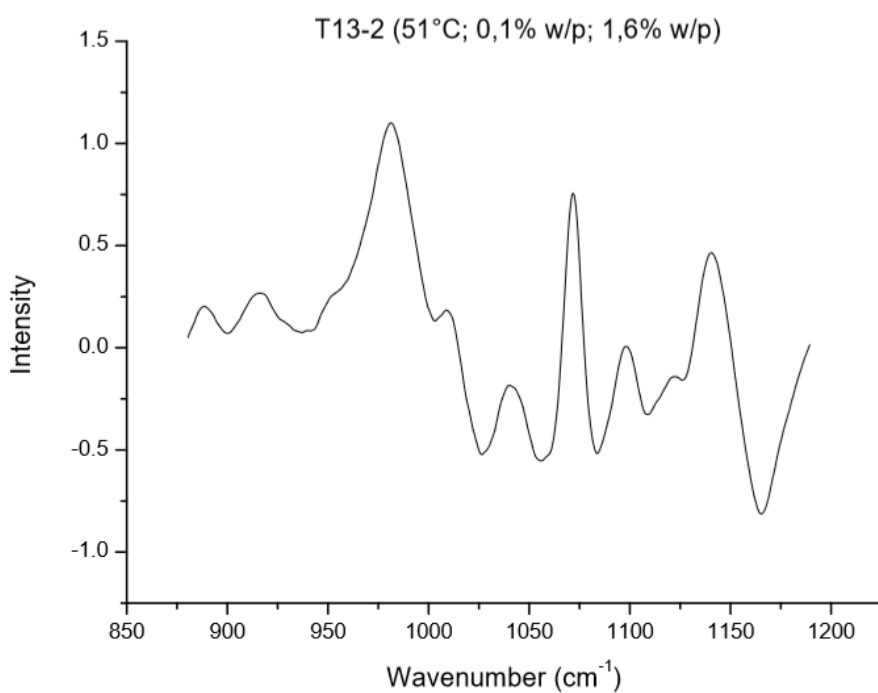


Figura 87. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T14-1)

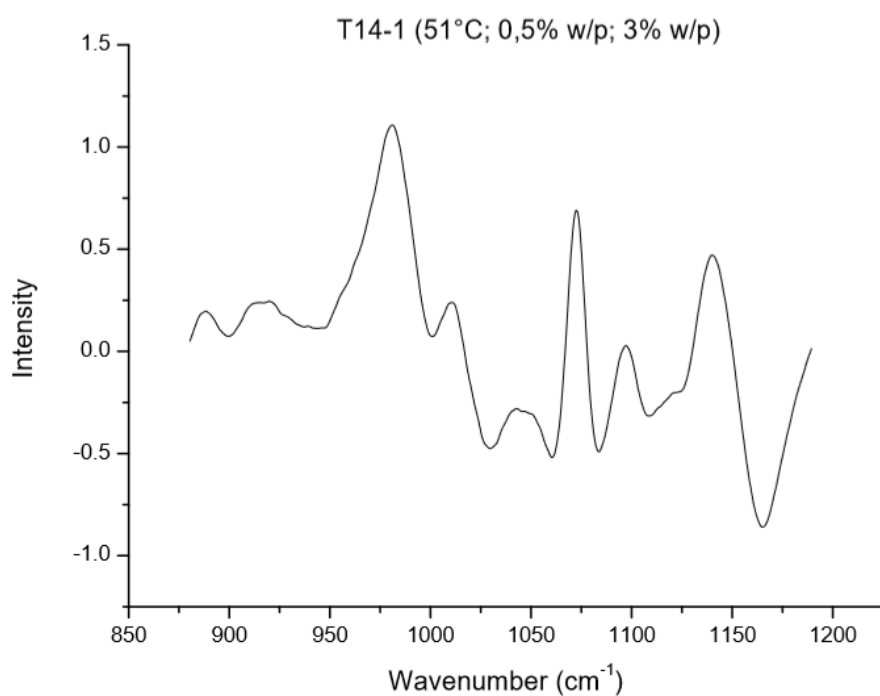


Figura 88. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T14-2)

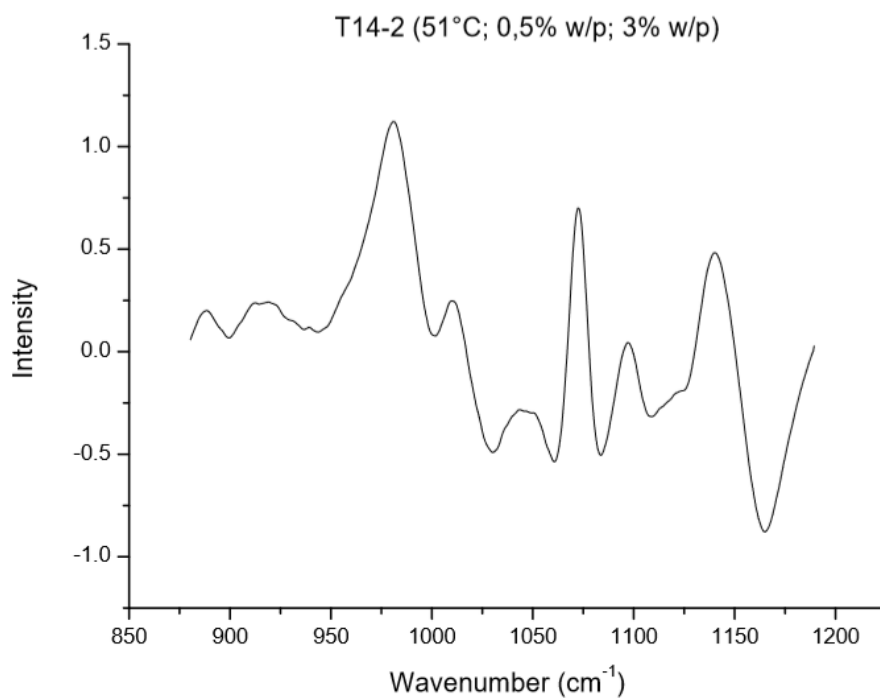


Figura 89. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T15-1)

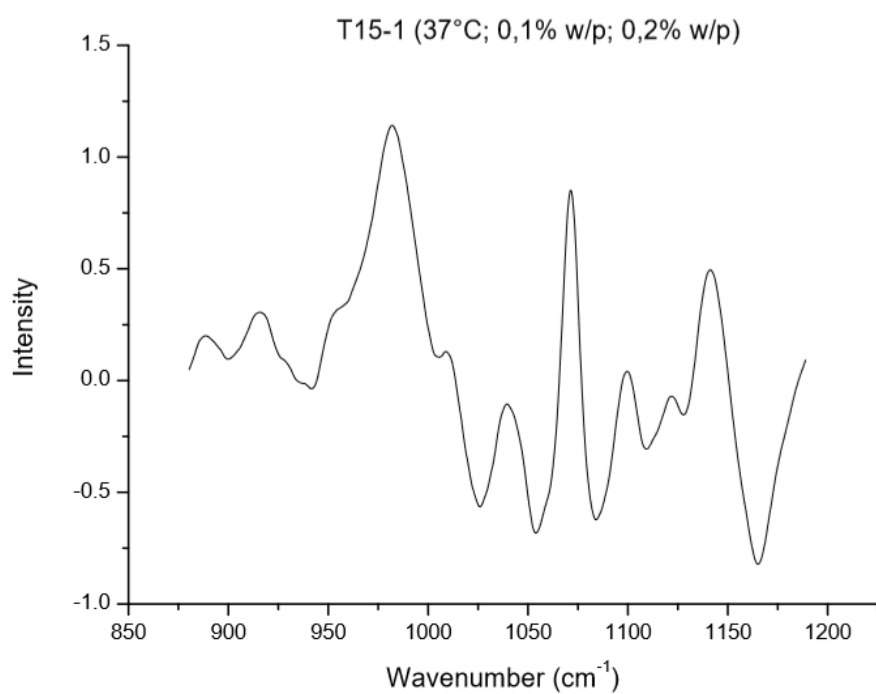
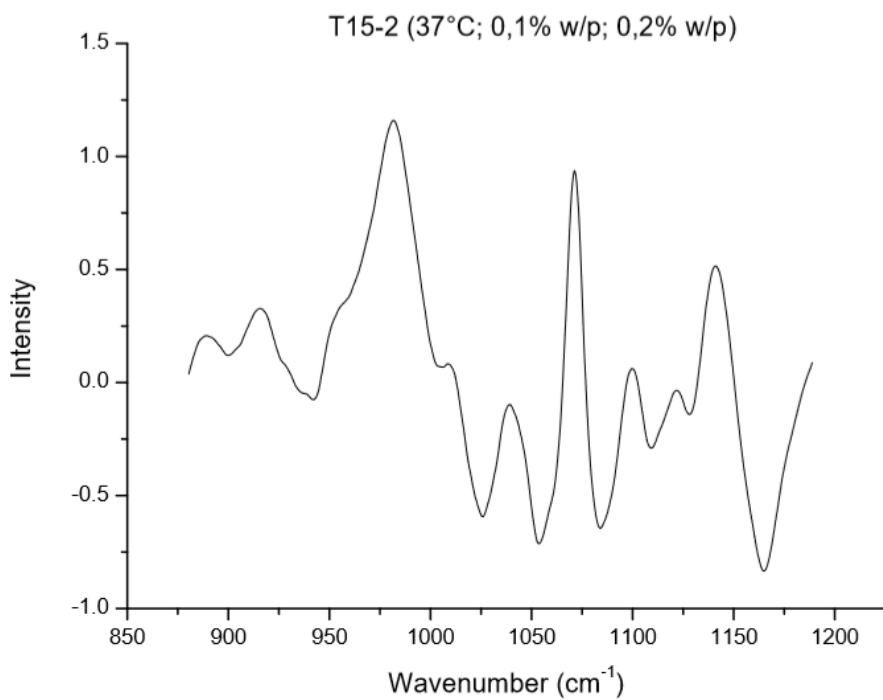


Figura 90. Espectros FTIR-ATR deconvolucionados de 880 cm^{-1} y 1189 cm^{-1} (T15-2)



ANEXO D. Análisis reológico de geles realizados con el subproducto del grano de amaranto.

Figura 91. Barrido de frecuencia (G' y G'') T1

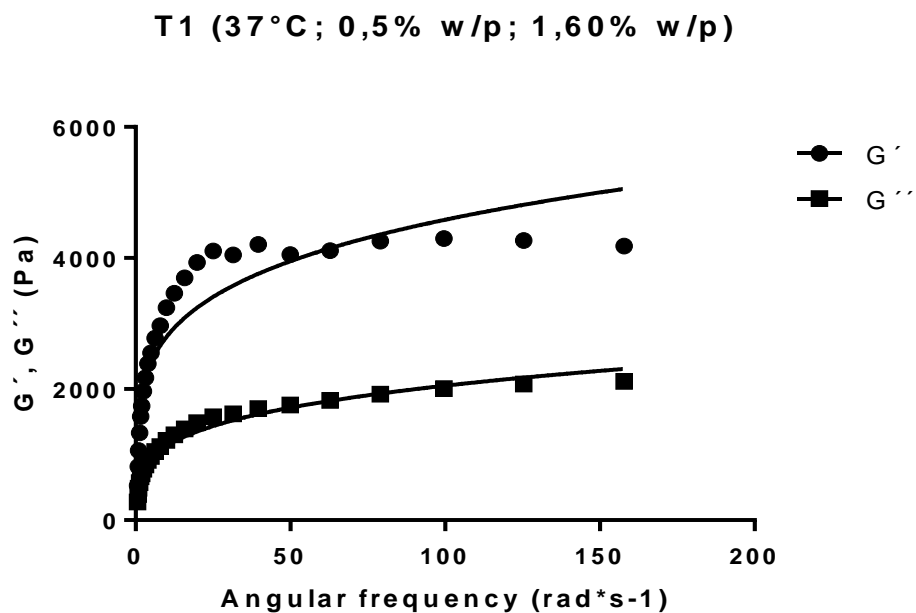


Figura 92. Barrido de frecuencia (G' y G'') T2

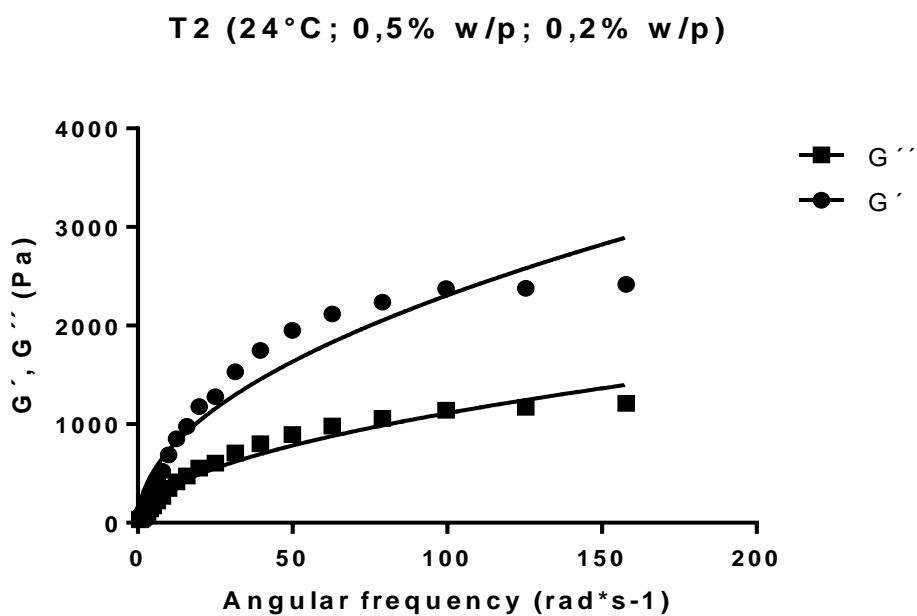


Figura 93. Barrido de frecuencia (G' y G'') T3

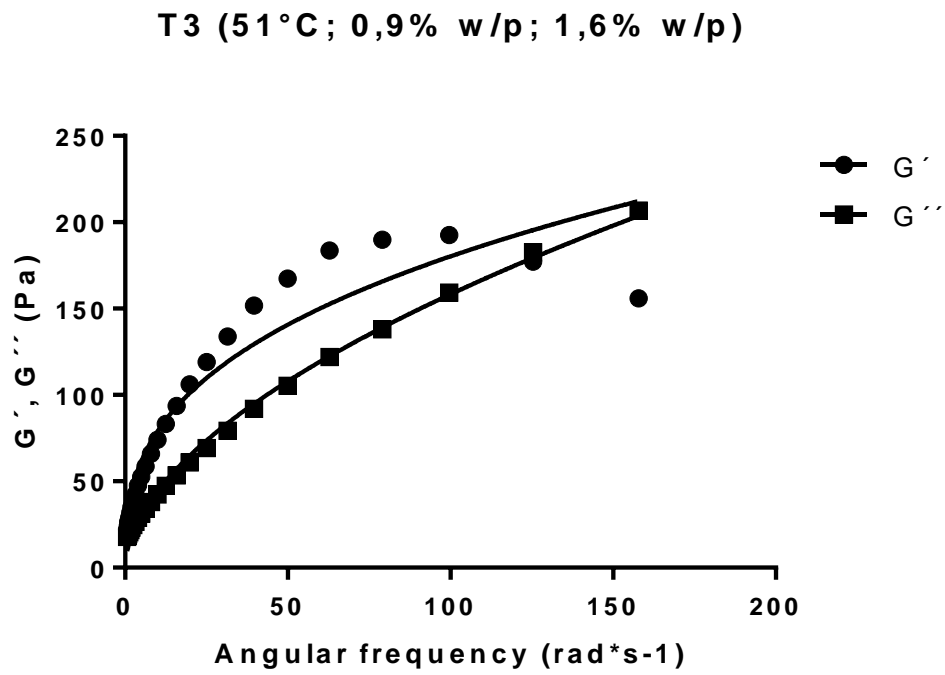


Figura 94. Barrido de frecuencia (G' y G'') T4

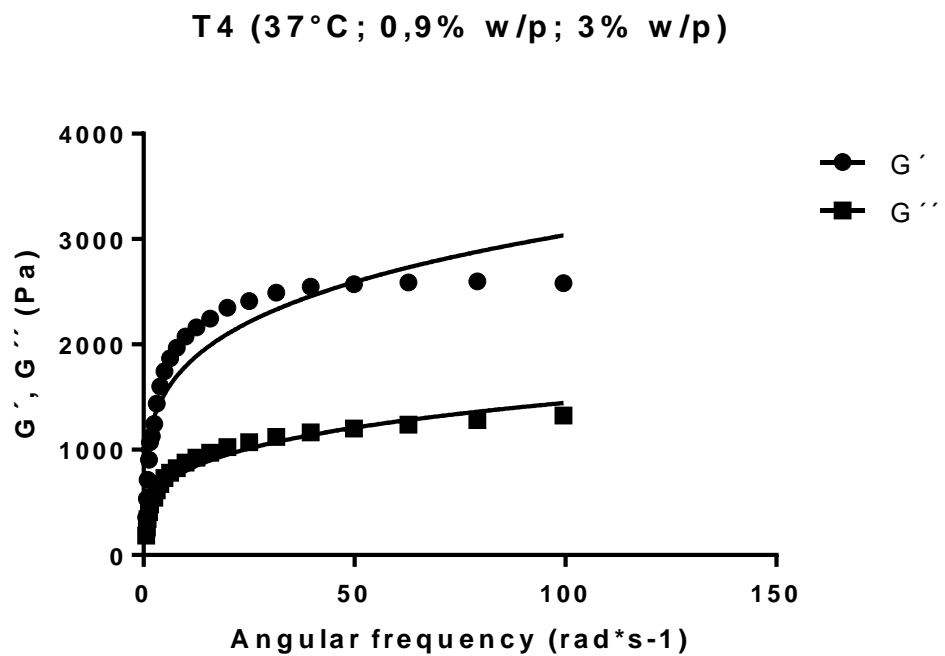


Figura 95. Barrido de frecuencia (G' y G'') T5

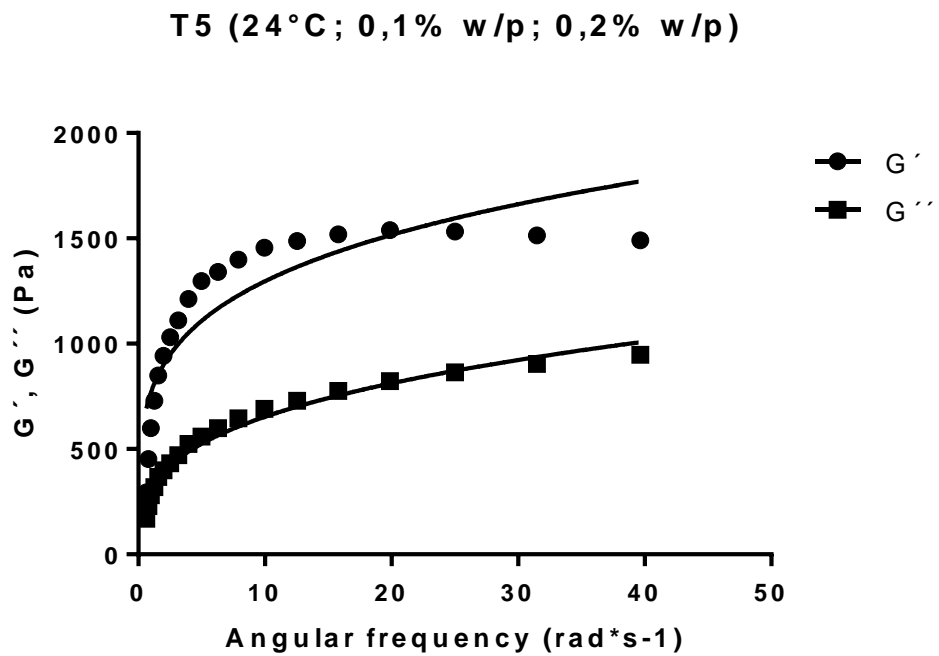


Figura 96. Barrido de frecuencia (G' y G'') T6

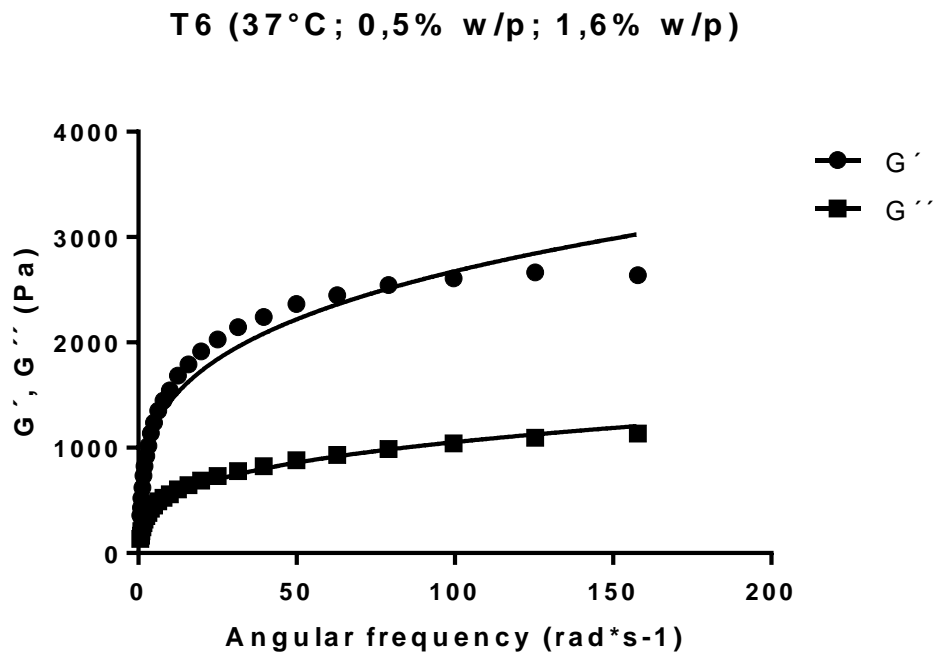


Figura 97. Barrido de frecuencia (G' y G'') T7

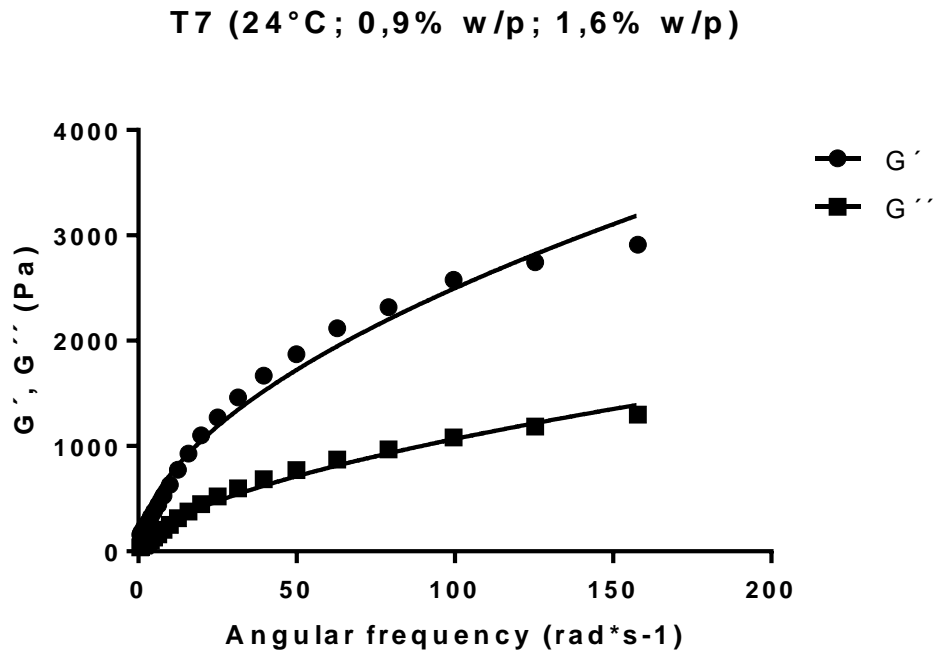


Figura 98. Barrido de frecuencia (G' y G'') T8

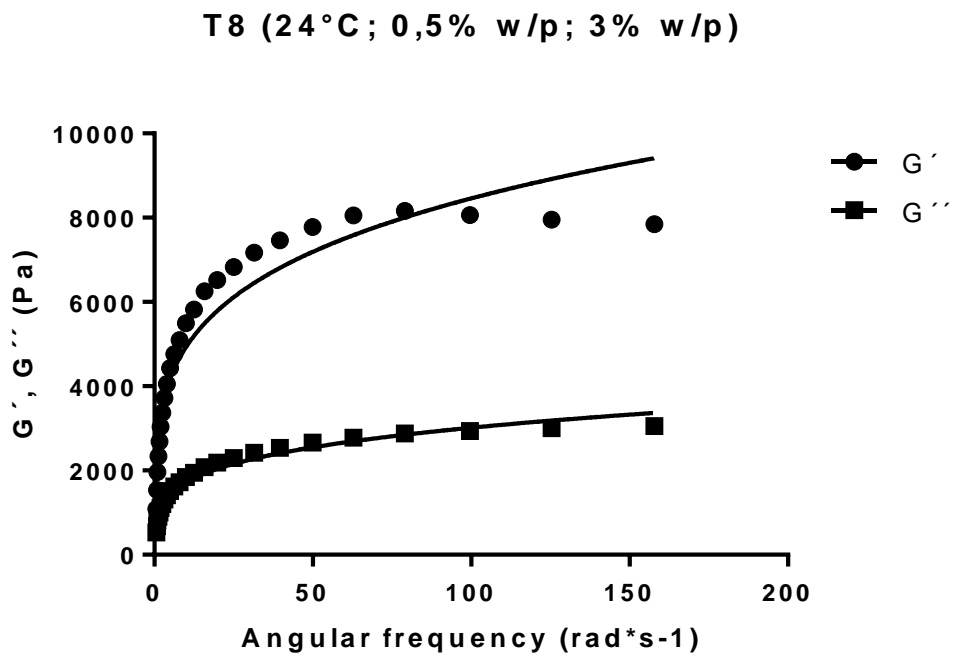


Figura 99. Barrido de frecuencia (G' y G'') T9

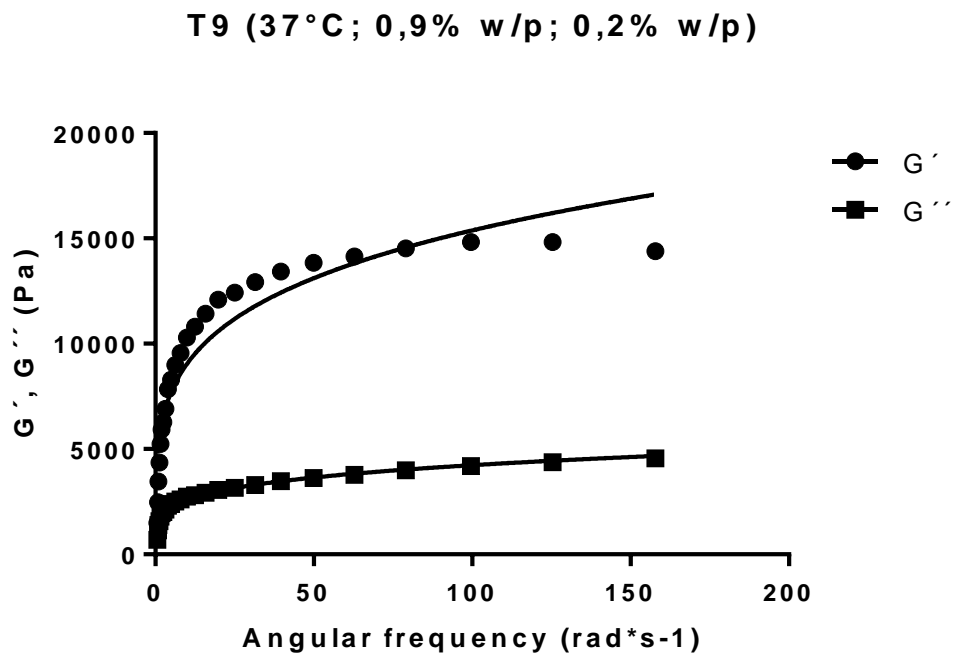


Figura 100. Barrido de frecuencia (G' y G'') T10

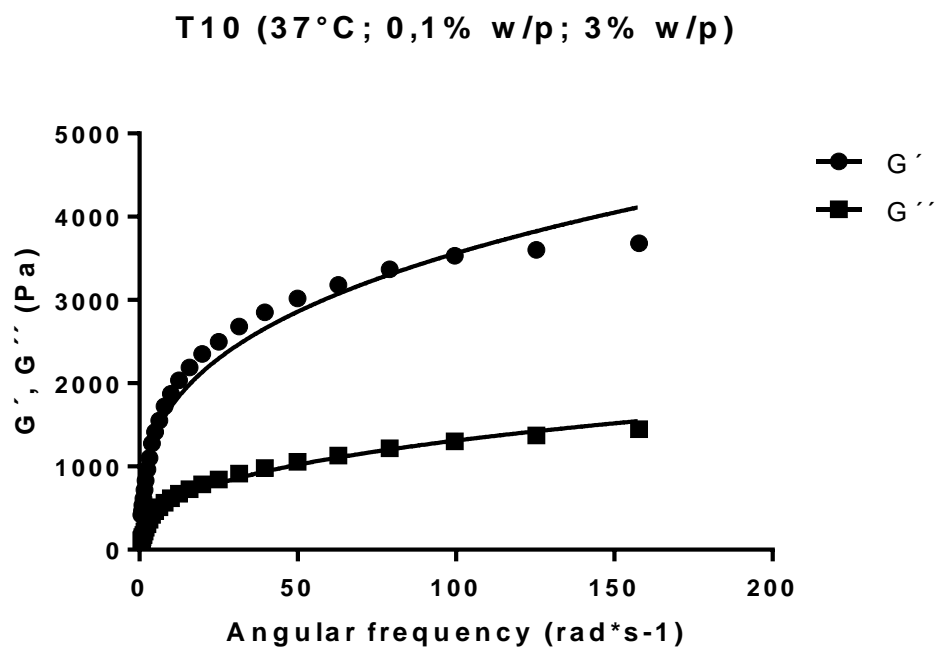


Figura 101. Barrido de frecuencia (G' y G'') T11

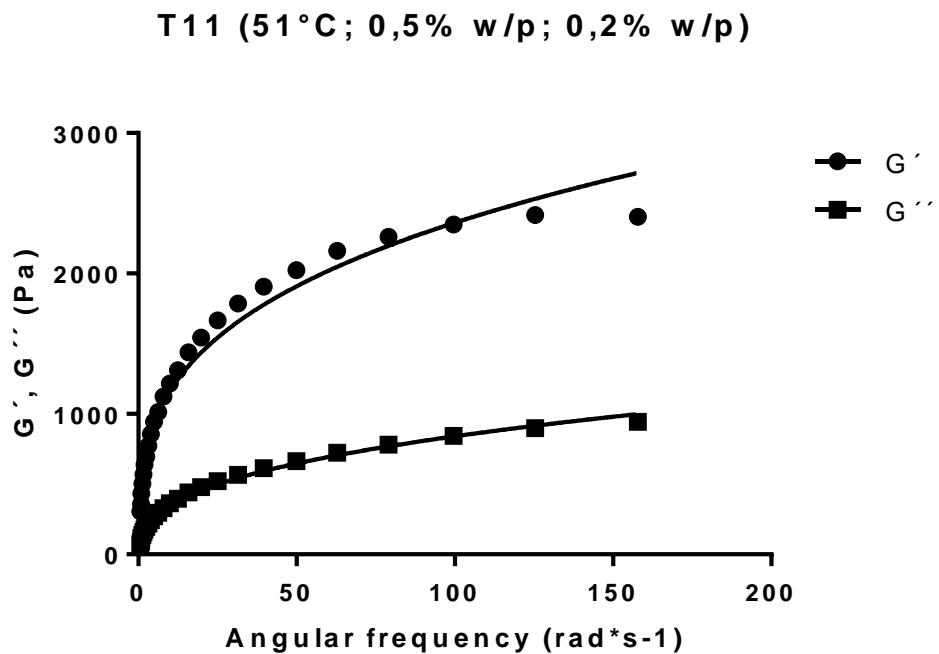


Figura 102. Barrido de frecuencia (G' y G'') T12

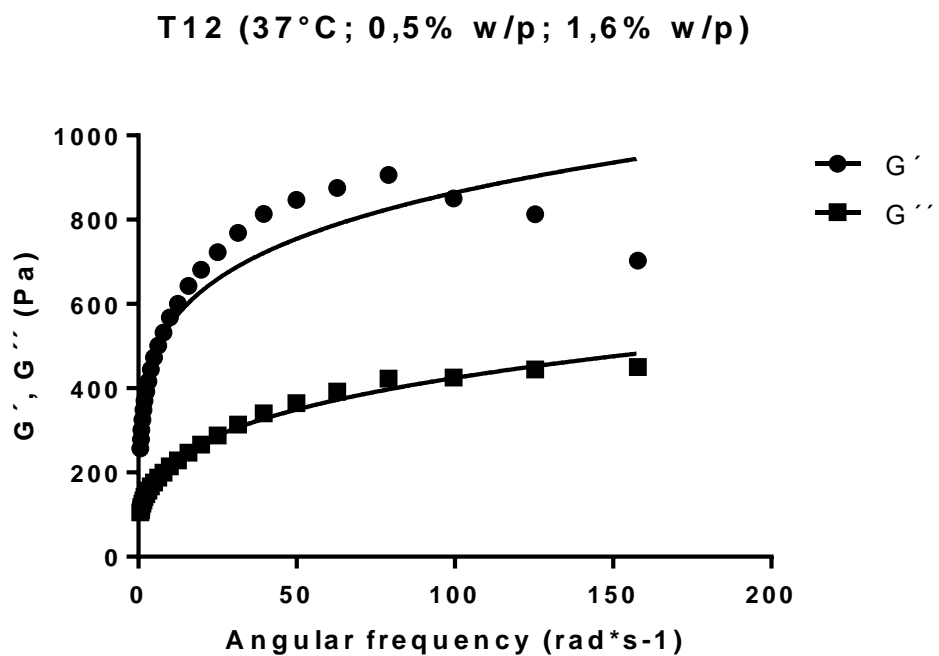


Figura 103. Barrido de frecuencia (G' y G'') T13

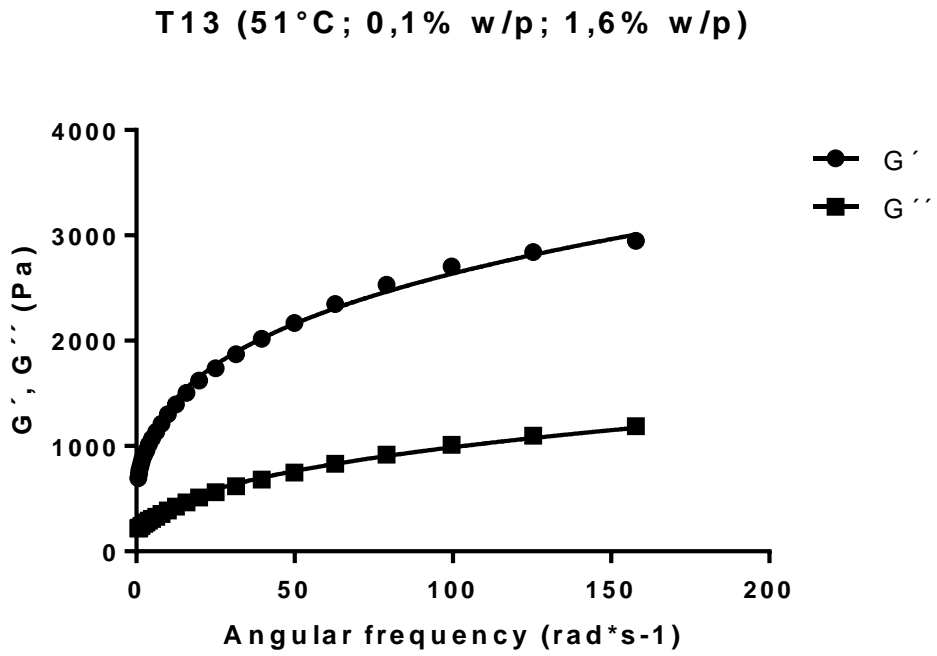


Figura 104. Barrido de frecuencia (G' y G'') T14

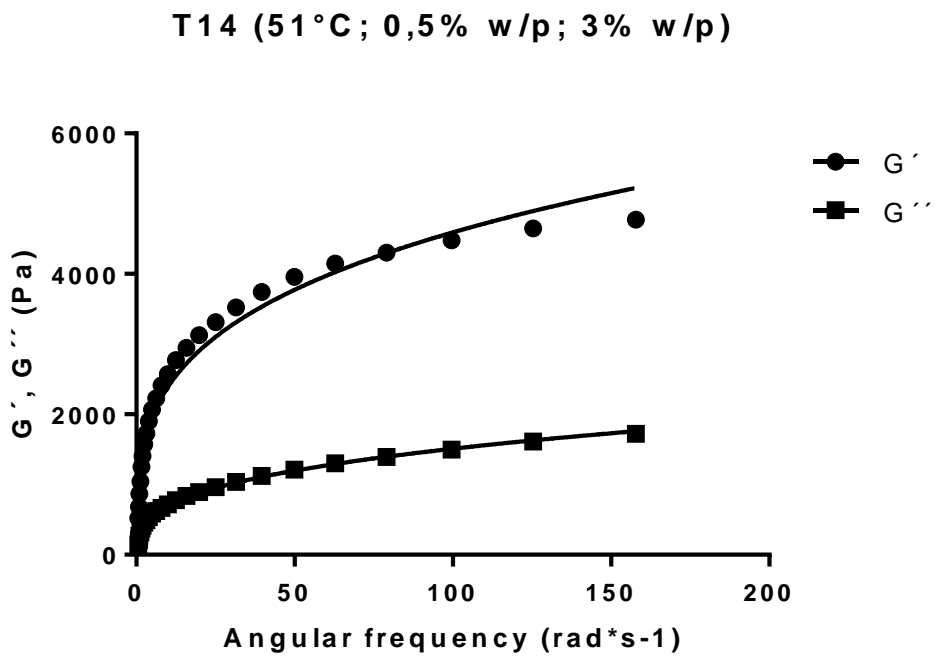


Figura 105. Barrido de frecuencia (G' y G'') T15

T15 (37°C; 0,1% w/p; 0,2% w/p)

