

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**Perfil electroforético de globulinas y albúminas en
dos variedades de semilla de *Amaranthus caudatus*
(Oscar Blanco, INIA 414-Taray). Ayacucho 2021**

**Tesis para optar el título profesional de
Biólogo, Especialidad: Microbiología**

Presentado por:

Bach. Cesar Arturo Flores Huaraca

Asesora

Dra. Roberta Brita Anaya Gonzalez

AYACUCHO - PERÚ

2024

A mi familia, en especial a mi madre Sofía y hermana Haydee por el apoyo incondicional, fomentando en mí, el deseo de superación y éxito en la vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi Alma Máter, por darme la oportunidad de formarme como profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y la plana docente, que me inculcaron valores y conocimientos científicos creando en mí, un espíritu de superación.

Al Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga que me permitió sus instalaciones, equipos y reactivos del proyecto FOCAM, para poder llevar a cabo el presente trabajo de investigación.

A la Dra. Roberta Brita Anaya González, docente asesora de la presente tesis, por la contribución, dedicación y el apoyo incondicional en la ejecución del presente trabajo de tesis.

Al Mg. Reynan Cóndor Alarcón, por haber contribuido con sus conocimientos en análisis e interpretación de datos y por haber sido de gran ayuda en la investigación por su experiencia científica.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Bases teóricas	5
2.2.1. Amaranto	5
2.2.2. Origen y referencia histórica	6
2.2.3. Clasificación taxonómica	6
2.2.4. Descripción botánica	7
2.2.5. Valor nutricional	7
2.2.6. Variedad Oscar Blanco	8
2.2.7. Variedad INIA 414-Taray	8
2.2.8. Proteína	8
2.2.9. Aminoácido	9
2.2.10. Niveles estructurales	9
2.3.11. Propiedades	11
2.3.12. Funciones	13
2.3.13. Purificación de proteínas	13
2.3.14. Electroforesis	13
2.2.15. Tipos de electroforesis	14
2.2.16. Electroforesis SDS-PAGE Método Laemmli	14
2.3.17. Factores influyentes en la electroforesis	14
2.3.18. Determinación de peso molecular	15
2.3.19. Cuantificación de proteínas	16
2.3.20. Método de Bradford	16
III. MATERIALES Y METODOS	17
3.1. Ubicación	17

3.2.	Metodología	17
3.2.1.	Primera etapa: Preparación de la muestra	17
3.2.2.	Segunda etapa: Extracción de proteínas - Método Osborne	18
3.2.3.	Tercera etapa: Preparación de las muestras y ensamblaje de electroforesis	19
3.2.4.	Cuarta etapa: Preparación del gel de poliacrilamida y corrida de SDS-PAGE	20
3.2.5.	Quinta etapa: Tinción y revelado de proteínas	21
3.2.6.	Sexta etapa: Cuantificación de proteínas - Método Bradford	23
3.3.	Análisis estadístico	23
IV.	RESULTADOS	25
V.	DISCUSIÓN	37
VI.	CONCLUSIONES	41
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
	ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica del amaranto.	6
Tabla 2. Preparación de geles de poliacrilamida SDS-PAGE (Laemmli, 1970).	20
Tabla 3. Reactivos para solución de trabajo.	21
Tabla 4. Reactivos para solución de decoloración.	22
Tabla 5. Diluciones seriadas de albúmina sérica bovina (estándar).	23
Tabla 6. Estimación de pesos moleculares de albúminas en <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco), 2022.	29
Tabla 7. Estimación de pesos moleculares de globulinas 7S en <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414 Taray, var. Oscar Blanco) 2022	30
Tabla 8. Estimación de pesos moleculares de globulinas 11S en <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414 Taray, var. Oscar Blanco) 2022.	31
Tabla 9. Cuantificación de la fracción proteica en albúminas de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.	33
Tabla 10. Cuantificación de la fracción proteica en globulinas 7S de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.	34
Tabla 11. Cuantificación de la fracción proteica de globulinas 11S en <i>Amaranthus caudatus</i> (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Representación de los niveles estructurales de las proteínas.	11
Figura 2. Incubadora a 36°C en 48 h con muestras de <i>Amaranthus caudatus</i> .	18
Figura 3. Placa de vidrio en soporte y cámara de electroforesis vertical.	20
Figura 4. Placa de vidrio en soporte y cámara de electroforesis vertical.	20
Figura 5. Esquema de resultados obtenidos en la separación de proteínas	22
Figura 6. Señalización de bandas proteicas (globulinas 7S, globulinas 11S y albúminas) de <i>Amaranthus caudatus</i> var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco.	27
Figura 7. Linealización de los estándares de PM y su respectiva movilidad relativa.	28
Figura 8. Linealización de la absorbancia del estándar BSA frente a la concentración (mg/ml).	32
Figura 9. Comparación de las fracciones proteicas de albúminas, globulinas 7S, globulinas 11S de <i>Amaranthus caudatus</i> en var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray, Ayacucho 2022.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Clasificación taxonómica de <i>Amaranthus caudatus</i> var. Oscar Blanco.	51
Anexo 2. Clasificación taxonómica de <i>Amaranthus caudatus</i> var. INIA 414-Taray.	52
Anexo 3. Análisis de proteínas totales de <i>Amaranthus caudatus</i> var. Oscar Blanco emitido por el laboratorio “La Molina Calidad Total”.	53
Anexo 4. Análisis de proteínas totales de <i>Amaranthus caudatus</i> var. INIA 414- Taray emitido por el laboratorio “La Molina Calidad Total”.	54
Anexo 5. Flujograma para la extracción de proteínas de <i>Amaranthus caudatus</i> .	55
Anexo 6. Flujograma de electroforesis de proteínas de <i>Amaranthus caudatus</i> .	56
Anexo 7. Flujograma de tinción y decoloración de electroforesis de proteína de <i>Amaranthus caudatus</i> .	57
Anexo 8. Preparación de diluciones del estándar BSA para la curva de calibración. Laboratorio de Bioquímica – UNSCH. Ayacucho 2022.	58
Anexo 9. Equipos utilizados durante la investigación en el laboratorio de Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho 2022.	59
Anexo 10. Preparación de soluciones para la extracción de proteínas (Método Osborne).	60
Anexo 11. Preparación de soluciones de trabajo para preparar el gel de corrida (Método Laemmli).	61
Anexo 12. Preparación de geles de poliacrilamida SDS-PAGE (Método Laemmli).	62
Anexo 13. Preparación de reactivos para electroforesis SDS-Page (Método Laemmli).	63
Anexo 14. Preparación de reactivos para coloración de geles para electroforesis SDS-Page. (Método Laemmli).	64
Anexo 15. Fotografías de la investigación en el Laboratorio de Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho 2022.	65
Anexo 16. Matriz de consistencia.	73

RESUMEN

La semilla del *Amaranthus caudatus* forma parte de la dieta del poblador andino. El objetivo del estudio fue evaluar el perfil electroforético de proteínas solubles (albúminas y globulinas) en 2 variedades de amaranto provenientes del INIA - Ayacucho. El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, región de Ayacucho. Se usó la técnica de solubilización de Osborne y electroforesis según el método Laemmli. Se encontró una mínima diferencia en cuanto a la distribución de algunas bandas proteicas, en la var. Oscar Blanco en albúminas: 11 bandas, globulinas 7S: 8 bandas, globulinas 11S: 10 bandas; en la var. INIA Taray 414, en albúminas: 9 bandas proteicas, globulinas 7S: 9 bandas, globulinas 11S: 11 bandas. Los pesos moleculares de *Amaranthus caudatus* en la var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray; para albúminas: 27,4 - 55,0 kDa; globulinas 7S: 28,7 - 51,1; globulinas 11S: 27,70 - 60,0 kDa. La cuantificación de las fracciones proteicas, se realizó por el método de Bradford, utilizando como estándar albúmina sérica bovina en un espectrofotómetro UV-visible a 595 nm, los resultados describen para var. Oscar Blanco 8,3 mg/ml de albúminas; 8,1 mg/ml de globulinas 7S y 9,4 mg/ml de globulinas 11S; para la var. INIA 414 –Taray 8,3 mg/ml de albúminas; 7,8 mg/ml de globulinas 7S; 8,0 mg/ml de globulinas 11S respectivamente. Comparativamente se determinó el contenido de proteínas totales en los granos de ambas variedades, en Oscar Blanco 12,5% y en INIA 414-Taray 12,1%.

Palabras clave: Electroforesis, proteínas, *Amaranthus caudatus*, albúminas, globulinas.

I. INTRODUCCIÓN

La semilla del amaranto forma parte de la dieta del poblador andino. El componente con mayor interés es el contenido de proteínas compuesto por aminoácidos que cumplen diversas funciones reconocidas por su calidad proteica con alto valor biológico, de gran importancia en la alimentación. Según la OMS y la FAO es uno de los alimentos ideales para los humanos por contener un equilibrio de aminoácidos esenciales que el cuerpo humano no puede producir por sí solo. Esta semilla es un componente determinante en el desarrollo y mantenimiento de la respuesta inmune, y los déficits nutricionales se han relacionado con desequilibrios inmunitarios e incremento del riesgo de infecciones (Seguro et al., 2016). El ser humano obtiene la proteína que necesitamos tanto de alimentos vegetales y animales, además de cumplir una importante función de aportar los aminoácidos que el cuerpo necesita para producir sus propias proteínas, teniendo un efecto positivo en la salud y prevenir o reducir el riesgo de ciertas enfermedades (Fandiño, 2014).

Las proteínas hidrosolubles brindan una gran importancia bajo una perspectiva nutritiva, cumpliendo una variedad de funciones biológicas, siendo esta semilla importante en investigaciones biotecnológicas demostrando que las proteínas son capaces de revelar características específicas a través de perfiles electroforéticos. Nuestro país presenta múltiples pisos ecológicos, generando diferentes variedades de amaranto. Los cereales es la segunda fuente de proteínas más importante de origen vegetal (Hernández & Sartre, 1999).

Hoy en día ante el proceso de globalización, las proteínas vegetales cumplen un rol importante para contribuir a la productividad de alimentos ricos en proteínas como sustituto de las proteínas animales (López et al., 2018). Actualmente, una tendencia de alimentación es generar una mayor presencia de productos de origen vegetal en la dieta del ser humano. La importancia de la investigación radica en

una diversidad de usos ligados a una buena nutrición y salud, formulación de dietas terapéuticas, estudios epidemiológicos sobre la relación dieta/salud, educación alimentaria-nutricional, elaboración de metas alimentarias, regulaciones alimentarias, entre otros (Gómez, 2007).

Este trabajo nos proporciona una descripción de la caracterización de albúminas y globulinas de amaranto a través de la técnica de electroforesis y al mismo tiempo se convierte en una herramienta informativa ampliando el conocimiento de estas fracciones proteicas y revalorando el consumo de amaranto en la dieta diaria. En tal sentido se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar el perfil electroforético de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de *Amaranthus caudatus* (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray).

Objetivos específicos

1. Determinar el número de bandas proteicas de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de *Amaranthus caudatus* (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray), Ayacucho 2021.
2. Estimar el peso molecular de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de *Amaranthus caudatus* (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray), Ayacucho 2021.
3. Determinar la concentración proteica de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de *Amaranthus caudatus* (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray), Ayacucho 2021.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Vilcacundo (2017), en el trabajo sobre “Liberación de péptidos multifuncionales durante la digestión gastrointestinal simulada de proteínas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) y amaranto (*Amaranthus caudatus*)” se caracterizó el perfil proteico mediante la electroforesis (SDS-PAGE) revelando similitud con el perfil proteico de la quinua y amaranto, con una banda de peso molecular (PM) de 50 kDa, correspondiente a la globulina 7S y varias bandas comprendidas entre 36-38 kDa, que corresponden a las dos subunidades, ácida y básica de la globulina 11S. Las albúminas se visualizaron en aquellas bandas con PM inferiores a 14,4 kDa.

En el trabajo de Veneros & Chico (2017), sobre el efecto del agroplasma en el crecimiento y rendimiento de kiwicha, *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco encontraron un porcentaje relativamente alto en proteínas totales con el método colorimétrico de Biuret obteniendo un 14,6% en la variedad de Oscar Blanco por espectrofotometría a una longitud de onda de 540 nm en el equipo 20 Milton Roy- En la investigación realizada por Castel (2015), respecto al estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de *Amaranthus mantegazzianus* “amaranto” utilizó dos técnicas de extracción; como la precipitación isoeléctrica y ultrafiltración, obtuvo un 19,1% y 73,1% de proteínas respectivamente. Las muestras se distinguieron en cuanto a su contenido proteico y se estableció el rendimiento para cada etapa de separación. Además de realizar la composición aminoacídica en el amaranto se obtuvo la presencia de todos los aminoácidos con deficiencias en leucina y lisina.

Ruíz & Vásquez (2018), determinaron el valor biológico de las proteínas mediante el método biológico de Utilización Proteica Neta (NPU), Digestibilidad (D) y Valor Biológico (VB); para ello se utilizaron 5 kg de *Amaranthus caudatus* “kiwicha”, 10

especímenes de *Rattus rattus* var. *Norvegicus*, de 33 a 57 días de nacidos y 50 a 60 g de peso. A un grupo se le administró una dieta libre de proteínas y al otro se le proporcionó el alimento a base de kiwicha. Los valores obtenidos en promedio fueron los siguientes: 86,26% Digestibilidad; 70,58% Utilización Proteica Neta y 81,81% Valor Biológico, del análisis de los resultados se concluye que de cada 100 g de proteínas de *Amaranthus caudatus*, el organismo asimila 82 g.

En el “Estudio químico y nutricional de granos andinos germinados de quinua (*Chenopodium quinoa*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*)”, usaron quinua blanca de Junín y kiwicha var. Oscar Blanco procedentes de Huancayo. Los resultados obtenidos en los granos andinos germinados fueron: 13,09% de proteínas; 8,29% de grasa; 1,50% en ceniza y 2,68% de fibra total en base seca; vitaminas: 4,24 mg% de niacina y 6,20 mg % de ácido ascórbico; en minerales: 4,5 mg % de hierro; 405,44mg% de calcio y 39,86 mg% de fósforo para la quinua y 16,45% de proteínas, 8,29% de grasa, 3,18% en ceniza y 9,50% de fibra total en la segunda base seca. La kiwicha presentó en vitaminas: 4,24 mg% de niacina y 7,17 mg% de ácido ascórbico; en minerales: 7,74 mg% de hierro; 346,8 mg% de calcio y 49,0 mg% de fósforo. Estos análisis fueron realizados según los métodos de la AOAC (Bravo et al., 2013).

Según Chamorro en el 2018, en su trabajo de investigación “Valor nutricional y compuestos bioactivos de 30 accesiones de kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.) del INIA-Perú” se determinó y caracterizó distintas muestras proteicas de *Amaranthus caudatus*, la caracterización fisicoquímica de las muestras se llevó a cabo con distintos métodos y técnicas: electroforesis en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) y con tricina para la separación de proteínas de bajo peso molecular, cromatografía de exclusión molecular (HPLC-SEC), determinación de solubilidad de proteínas e hidrofobicidad superficial. Además, se cuantificó el contenido de aminoácidos de las muestras, el contenido de compuestos fenólicos en extractos acuosos y metanólicos y sus actividades antioxidantes. Se demostró en la harina de *Amaranthus mantegazzianus* que es deficiente en leucina y lisina de acuerdo a lo requerido por la FAO/WHO (1991), y presentó un mayor contenido de metionina, histidina y tirosina respecto a otras variedades comparadas. En el perfil electroforético y HPLC se observaron diferencias de bandas y picos entre las muestras (Chamorro, 2018).

En el trabajo realizado por Coila y Apaza (2020), sobre “Aporte de aminoácidos esenciales en mezclas alimenticias de origen vegetal por métodos

computacionales” indican el requerimiento aminoacídico de alimentos como la kiwicha con el objetivo de determinar, el aporte aminoacídico de combinaciones entre cereales, granos andinos y leguminosas. A su vez se logró optimizar las mejores mezclas proteicas de acuerdo con el patrón de referencia sugerido por la FAO. Los alimentos seleccionados fueron: arroz, avena, kiwicha, tarwi, cañihua, quinua, maíz, soya, garbanzo, lenteja y haba ; las cuales se combinaron en 67 mezclas, siendo 26 mezclas significativas, ya que cumplían con el patrón de referencia de adultos y escolares, luego se obtuvieron 95 mezclas óptimas en base a una referencia del grupo etario de 0-5 años, que presentaron alimentos predominantes como la quinua, kiwicha, soya y lenteja; en base a estos alimentos se realizó una segunda optimización obteniendo 94 mezclas constituidas principalmente por kiwicha 0 a 54%; quinua 32 a 64%; soya 3 a 44% y lenteja 0 a 33%, cumpliendo con el requerimiento en lisina 58 mg/g, aminoácidos azufrados 31 mg/g , treonina 34 mg/g y triptófano 10 mg/g.

Cayuqueo (2017), en su investigación “Evaluación y selección de líneas de Amarantho (*Amaranthus spp.*) de interés biológico”, realizó la electroforesis de proteínas de amaranto, esta semilla es un producto de un cruce entre *Amaranthus cruentus* y *Amaranthus caudatus*, y escogidas por sus características fenotípicas. Luego de la obtención de extractos proteicos sustraídos con DMSO al 50 % v/v bajo un estado desnaturalizante, exhibió un patrón de bandas similares para todas las líneas evaluadas de amaranto. El amaranto posee proteínas de reserva, la lectina (hemoaglutininas) con propiedades eficaces contra los tumores; investigación que aportó al conocimiento nutricional de amaranto.

En el trabajo de “Perfil nutricional de harinas de semilla de amaranto germinadas” se propuso evaluar si existen cambios de composición porcentual en semillas germinadas de amaranto con propósito de usar estas harinas proteicas sustituyendo la harina de trigo. Indicó que la germinación incrementó el contenido proteico, debido probablemente al incremento en una síntesis de proteínas ya que son capaces de activar la germinación del amaranto, esta investigación usó el método Kjeldahl para proteínas totales y se analizó las fracciones de proteínas mediante electroforesis SDS-PAGE (Guardianelli et al., 2020).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Amarantho

El amaranto pertenece a la familia Amaranthaceae y son especies que crecen en condiciones desfavorables, teniendo un alto contenido en proteínas, ácidos grasos insaturados, vitaminas y buenas propiedades funcionales, considerada como una

excelente opción para alcanzar niveles elevados en nutrición (Espitia et al., 2021). Este grano andino propio de América, es muy apreciado por que el consumo de amaranto se prefiere más que otros granos andinos, ya que le confiere un alto valor de fortificación. El amaranto se propone como una buena alternativa para su uso, puesto que cumple con varias ventajas como la preferencia del consumidor, costo del refuerzo, fácil disponibilidad a nivel nacional y ser más económico (González et al., 2015).

2.2.2. Origen y referencia histórica

El amaranto era conocido desde la época prehispánica por su alto valor nutricional y su asociación con rituales religiosos mágicos que involucraban sacrificios humanos que alborotaron a los conquistadores españoles, por lo que dejaron de cultivarlo, considerado pseudocereal bajo un punto de vista agronómico, por que provienen de distintas familias y presentan características morfológicas contrastantes, cultivadas para la obtención de sus granos en la nutrición humana y/o procesos agroindustriales (Domínguez, 2013).

El género *Amaranto* tiene alrededor de 70 especies distribuidas en regiones tropicales y subtropicales de nuestro planeta. Presenta alrededor de 40 especies en América, clasificada en los subgéneros *Acnida*, *Albersia* y *Amaranthus* (Carmona & Orsini , 2010). El amaranto presenta una importancia comercial a nivel mundial cuyas especies más conocidas son *Amaranthus caudatus*, *A. cruentus* y *A. hypochondriacus* (Aguilera et al., 2021).

2.2.3. Clasificación taxonómica

Para hacer el trabajo de tesis, la planta y las semillas fueron identificadas y clasificadas de acuerdo con el sistema de categorización de Cronquist (1988) en el laboratorio de Botánica, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1,2).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del amaranto.

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub Clase	: Caryophyllidae
Orden	: Caryophyllales
Familia	: Amaranthaceae
Género	: Amaranthus
Especie	: <i>Amaranthus caudatus</i>
Nombre vulgar	: “amaranto” , “kiwicha”

2.2.4. Descripción botánica

La familia Amaranthaceae incluye alrededor de 60 especies del género *Amaranthus*. Es una planta nativa perteneciente al orden Caryophyllales, que incluye plantas anuales o perennes. El camino de crecimiento va desde tallos verticales hasta ramificados, y las hojas son de color rojo o verde, con diferentes tonalidades según la combinación de los dos colores y, por tanto, también diferentes colores intermedios. El color de las semillas varía del negro al blanco, distinguiéndose el color crema por su brillo (Domínguez, 2013).

Esta especie *Amaranthus caudatus* L. posee variantes en la inflorescencia y diversidad de colores de la semilla con respecto a otras especies, de color marfil con tonos rojizos. Posee inflorescencia laxa, con panículas o espigas largas y colgantes con apariencia glomerular, con brácteas cortas presentando una nervadura central. Flor con cinco tépalos anchos sobreexpuestos y curvados. El estilo presenta ramificaciones esparcidas y unidas en la base, las semillas varían de tonos blancos con bordes rojos, rosas o negros (Espitia et al., 2021).

2.2.5. Valor nutricional

Considerado uno de los pseudocereales más nutritivos, el amaranto es utilizado principalmente por los seres humanos para el consumo de diversas formas, entre ellos se destaca la producción de bebidas de semillas o harinas, confitería sólida, hortalizas y piensos para animales, para la obtención de aceites y cosméticos. Es reconocido por la FAO como el cultivo con mayor potencial de desarrollo tecnológico para las regiones andinas y costeras de América debido a las propiedades nutricionales de la planta entera y su capacidad para soportar suelos y climas secos (Matías et al., 2018).

El amaranto contiene una gran cantidad de aminoácidos esenciales, los de mayor porcentaje son glicina, serina, leucina y lisina, contiene 15 % de proteína y ofrece muy buenas posibilidades para mejorar la alimentación humana, siendo recomendable consumirla mezclada con otros granos andinos (Chamorro, 2018).

El amaranto, como grano andino central por cada 100 g aporta 383,3 calorías, 14,5 g de proteínas, 7,5 g de grasa, 60,4 g de carbohidratos, 368,5 mg de calcio, 475,5 mg de fósforo, semejante al valor nutritivo de la avena desnuda, así como vitamina E y complejo B (Pérez, 2010).

El amaranto es un grano nativo americano, que además de sus altas propiedades nutricionales, posee un alto contenido en minerales. La disponibilidad de minerales se evaluó mediante el método de diálisis obteniendo Fe (64,0 - 84,0

mg/kg), Ca (1977,5-2348,8 mg/kg) y Zn (30,0-32,1 mg/kg) fueron altos en el amaranto, comparado al maíz (6,2, 19,1; 9,7 mg/kg). Los rangos de disponibilidad de minerales para Fe, Ca y Zn son (2,0-3,6%), (3,3-11,1%) y (1,6-11,4%)(Galán et al., 2013).

2.2.6. Variedad Oscar Blanco

La variedad Oscar Blanco proviene de la entrada CAC-038 mejorado mediante selección individual, de material genético recolectado de la región de San Lorenzo de Bolivia; morfológicamente tiene raíces en el centro por lo que queda bien anclado al suelo. El tallo cilíndrico no está ramificado y alcanza una altura media de 1,9 m. Las hojas son de color verde intenso en las primeras etapas, se vuelven de color amarillo verdoso al final de la temporada de crecimiento, presenta una forma romboidal con flores unisexuales, formadas por un dicasio, de inflorescencia amarantiforme, compacta y semidecumbente; por la cual sus ramificaciones son cortas, presenta una panoja de color rosado claro, grano de color blanco cremoso con aspecto opaco, con una adaptabilidad de 0 a 3 300 msnm y su periodo vegetativo es influenciado por la zona ecológica donde se cultiva (Álvarez et al., 2010).

2.2.7. Variedad INIA 414-Taray

Es una variedad desarrollada y mejorada por el INIA (Instituto Nacional de Agricultura) a través de la Estación Experimental Agrícola Andina en la región del Cusco, cultivada en el valle andino entre los 1 800 y 3 100 metros sobre el nivel del mar. El período nutricional es 20 días, más corto que el de otras variedades y el rendimiento promedio es de 2 500 a 3 500 kg/ha, lo que la hace ideal para el procesamiento industrial. Este grano amiláceo fue producto de un proceso de selección que se dio entre 1996-2005, a partir de colecciones de amaranto originarios de Bolivia (Tarija). Su forma de grano es redonda y con un color del grano amarillo claro, presentando una cubierta opaca (Estación Experimental Agraria, 2006).

2.2.8. Proteína

Esta macromolécula presenta componentes estructurales y funcionales más abundantes de las células cumpliendo funciones importantes en el cuerpo: catalíticas (enzimas), mecánicas (elastina), funciones motoras del cuerpo (actina, miosina), transporte y almacenamiento (hemoglobina, mioglobina, citocromo), protección (anticuerpos), regulación (hormonas), entre otros (Gil et al., 2017).

La proteína realiza funciones esenciales en todas las células y tejidos para mantener la vida y salud, y siempre ha sido reconocida como uno de los nutrientes esenciales que debe consumirse en cantidad y calidad suficiente (Fandiño, 2014).

2.2.9. Aminoácido

La unidad básica de una proteína es el aminoácido y llegan a estar unidos mediante enlaces peptídicos entre el grupo carboxilo y el grupo α -amino con pérdida de agua. La secuencia de aminoácidos que forman las proteínas es la estructura primaria. La segunda y tercera estructuras también son importantes desde el punto de vista nutricional. Se clasifican según varios aspectos, incluida la solubilidad, composición, forma, propiedades físicas, función y estructura tridimensional (Gil et al., 2017).

Una de las formas de clasificación es según la forma de síntesis (esenciales y no esenciales), según si el cuerpo puede sintetizarlos “*de novo*”. El esqueleto hidrocarbonado contiene aminoácidos esenciales que el cuerpo humano no puede sintetizar y, por tanto, deben ser aportados a través de la dieta para cubrir las necesidades del organismo (crecimiento y mantenimiento de estructuras). Los nueve aminoácidos esenciales son fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina (Reeds, 2000).

Los aminoácidos son importantes para las funciones corporales, las plantas superiores, pueden producir todos los aminoácidos necesarios para sintetizar proteínas, los humanos sólo pueden sintetizar los aminoácidos no esenciales que forman las proteínas. Se puede producir utilizando fuentes de nitrógeno y, para lograrlo, se requiere la ingesta de proteínas en la dieta a través de diferentes vías para cada individuo (Fandiño, 2014).

2.2.10. Niveles estructurales

Toda proteína está formada por un conjunto de aminoácidos, los cuales son componentes estructurales de la proteína, todos los aminoácidos poseen una estructura química constituida por un átomo central, enlazador a un grupo amino (NH_2) y grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) (Olivares & García, 2004).

a) Estructura primaria

La estructura primaria de una proteína es el orden, o disposición lineal, de los aminoácidos que la componen. Suelen estar representados por letras mayúsculas lineales que representan cada aminoácido formando una proteína. También describe la ubicación del puente disulfuro y aclara qué aminoácido es N-terminal y qué aminoácido es C-terminal. Termina asignando números a los aminoácidos

identificados. La secuencia de aminoácidos contiene información sobre la estructura tridimensional de la proteína. El nivel más simple de estructura proteica, la estructura primaria, es simplemente la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica. Cada cadena tiene su propio conjunto de aminoácidos ensamblados en un orden específico (Behe et al., 1991).

b) Estructura secundaria

La estructura secundaria se refiere a la disposición espacial de partes de la cadena polipeptídica. Fundamentalmente en términos de estructura secundaria, una secuencia de aminoácidos particular puede disponerse en una α hélice, una hoja β o un giro estas son las más frecuentes en la naturaleza proteica, aun así, no son las únicas que se encuentran en los polipéptidos. La principal fuerza estabilizadora de estas dos formas básicas es el enlace de hidrógeno que posee la α hélice como las láminas β . Esencialmente presentan cadenas principales C y N y pueden contener casi cualquier aminoácido natural por los sustituyentes o grupo radical (R). Espacialmente las cadenas laterales están "fuera" o en un plano diferente. Ambas formas acercan los aminoácidos no adyacentes, creando una mayor funcionalidad (Calderón, 2006). Los aminoácidos se unen entre sí durante la síntesis de proteínas y, debido a la capacidad de los enlaces para rotar, adquieren una estructura espacial estable, desde una estructura secundaria a más (Fenema, 2000).

c) Estructura terciaria

Estructura con disposición tridimensional de todos los átomos que componen la proteína, conformación a la que se debe por sus propiedades biológicas, ya que la disposición espacial de los distintos grupos funcionales determina su interacción con los diversos ligandos. Indica que la estructura terciaria de un polipéptido está plegada sobre sí misma creando una conformación esférica. La estructura secundaria va a determinar una estructura terciaria, cuya función es la de facilitar la solubilidad de agua y así realizar funciones regulares de transporte, enzimáticas, hormonales, etc. Su estabilidad proviene de enlaces entre los radicales de los aminoácidos que presenta su estructura química como los puentes disulfuro, puente de hidrógeno, puentes eléctricos, interacciones hidrófobas (Fenema, 2000).

d) Estructura cuaternaria

Es una proteína oligomérica, la cual consta más de una cadena polipeptídica, que representa a varias cadenas peptídicas y éstas poseen propiedades distintas al

de sus monómeros, Presentan subunidades asociadas con interacciones no covalentes, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, puentes salinos. Teniendo en cuenta la separación de estas subunidades conducirá a la pérdida de la funcionalidad de la proteína cuaternaria, en la figura 1 se resumen los niveles estructurales de las proteínas (Luque, 2015).

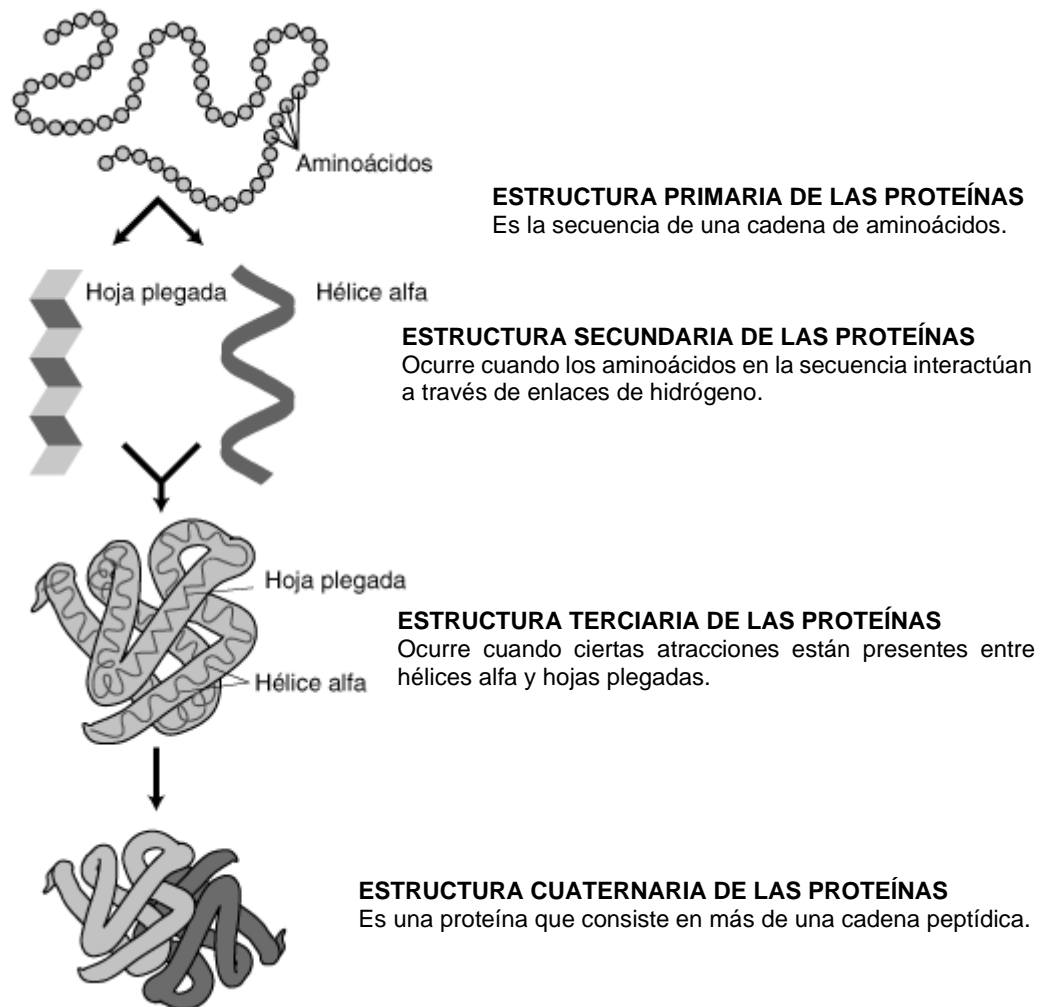


Figura 1. Representación de los niveles estructurales de las proteínas. (Fandiño, 2014)

2.2.11. Propiedades

a) Especificidad

Cada proteína cumple una función específica esto es debido a una estructura y función inicial específica, realizando y cumpliendo su función de compatibilidad con el espacio propio; es decir, un cambio en la estructura de la proteína va a generar una pérdida de función. No todas las proteínas son iguales en todos los organismos, cada individuo tiene proteínas específicas, que se manifiesta durante el proceso de rechazo de un órgano trasplantado. Las similitudes entre proteínas

son útiles en filogenia porque indican el grado de parentesco entre individuos. Esta es una de sus características más distintivas y significa que cada especie puede producir sus propias proteínas únicas, incluso con diferentes proteínas presentes en diversos individuos dentro de la misma especie (Luque, 2015).

b) Desnaturalización

Refiere al cambio de forma en su estructura nativa causado por una variedad de factores externos, como un incremento en la temperatura, modificación de pH, acción mecánica, entre otros factores; modificando así la estructura terciaria de la proteína al romperse sus puentes de plegamiento. Todas las proteínas desnaturalizadas tienen una conformación igual e interacción con un disolvente. La desnaturalización hace de la proteína sea insoluble al agua y tiende a precipitar (Fenema, 2000).

Habitualmente cuando una proteína se expone al calor, alta presión, pH extremo o a sustancias químicas, los enlaces entre diferentes elementos de la cadena o los puentes entre los átomos de azufre, la estructura de la proteína puede alterarse y dar lugar a una estructura desplegada (Fandiño, 2014).

c) Solubilidad

En base a su solubilidad, se representan en proteínas globulares y fibrosas. Requiere buenos métodos con agentes químicos para liberar una proteína en forma soluble de la célula sin provocar pérdidas funcionales. Las proteínas vegetales se pueden dividir en base a su solubilidad en albúminas, globulinas hidrosolubles, glutelinas solubles tanto en soluciones ácidas como básicas, y finalmente prolaminas en soluciones alcohólicas. El método de extracción involucra diversas condiciones como temperatura, tiempo, concentración de proteínas, pH y fuerza iónica, que afectarán tanto al rendimiento de cada fracción obtenida como la estructura de las proteínas que componen cada fracción (Gallegos et al., 2004).

d) Capacidad amortiguadora de pH

Para la realización de diversas reacciones químico-biológicas es importante mantener el pH. Los sistemas encargados de mantener el pH en las reacciones químicas son los llamados "tampón o buffer" y por lo general soluciones resistentes a ácidos y bases débiles. La proteína presenta un carácter anfótero, presentándose como ácidos o bases débiles, de esta forma neutralizan los cambios de pH que se produzcan en un medio líquido, si es muy básico se cargan negativamente, mientras que en medio ácido lo hacen positivamente para neutralizar (Túnez et al., 2015).

2.2.12. Funciones

Las proteínas son esenciales para la vida, Proporciona los aminoácidos esenciales necesarios para el crecimiento y mantenimiento de nuestras células y tejidos. Las necesidades de proteínas dependen del estilo de vida y la mayoría de los europeos comen lo suficiente para satisfacer sus necesidades. Dado que la mayoría de las personas consumen una variedad de alimentos, la calidad y digestibilidad de las proteínas usadas no deberían ser una preocupación siempre que la cantidad total de proteínas satisfaga sus necesidades diarias. Se debe elegir alimentos ricos en proteínas que no sólo proporcionen aminoácidos esenciales, sino que también respalden una dieta saludable y sostenible. Cumplen diversas funciones como estructural, enzimática, transporte, contráctil, homeostática, hormonal e inmunológica (Belliard, 2019).

2.2.13. Purificación de proteínas

a) Métodos cromatográficos

La cromatografía es desarrollada para la separación de proteínas de interés, del resto de proteínas o de otras sustancias que interaccionan fuertemente con la proteína como pueden ser polisacáridos u otras macromoléculas (Belliard, 2019).

Los principales métodos son:

- La filtración en gel
- Intercambio iónico
- Cromatografía hidrofóbica
- Cromatografía por afinidad

b) Métodos de electroforesis de proteínas

Son métodos útiles para el análisis y la separación de proteínas. El prototipo de los métodos actuales es la electroforesis libre o de frente móvil que son sustituidos por electroforesis de zona, por mayor capacidad de resolución, sencillo y requiere de muestras menores (Rincón, 2015).

2.2.14. Electroforesis

Representa un proceso que separa biomoléculas en solución bajo la influencia de un campo eléctrico. Se trata principalmente de un método analítico, pero también puede utilizarse con fines preparatorios. Cada biomolécula se desplaza bajo la influencia del campo y alcanza una cierta velocidad cuando la fuerza impulsora se equilibra con la resistencia impulsora del medio en movimiento. Las semillas como el amaranto con polímeros biológicos como las proteínas poseen carga eléctrica, por lo tanto, son capaces de migrar bajo la influencia de un campo eléctrico

teniendo en cuenta que es útil para determinar otros parámetros como peso molecular, punto isoeléctrico y número de cadenas polipeptídicas de las proteínas (Herráez, 2016).

2.2.15. Tipos de electroforesis

a) De frente móvil o libre

En este tipo el campo eléctrico se aplica en medios líquidos como disoluciones o suspensiones, las diferentes proteínas se moverán a diferentes velocidades dependiendo de la carga y coeficiente de fricción, formando nubes que se desplazan en un amortiguador, aunque tiene bajo poder de resolución (Rincón, 2015).

b) Electroforesis de zona

Este tipo de campo eléctrico se aplica en medios sólidos, incluye 3 partes: fuente de alimentación, cubeta, soporte electroforético; el revelado de proteínas separadas después del proceso de electroforesis, se trata con colorantes, por lo cual las bandas proteicas absorben el colorante del soporte, la medición es por densitometría integrando las áreas de cada fracción proteica, la sensibilidad analítica dependerá del colorante empleado (Rincón, 2015).

2.2.16. Electroforesis SDS-PAGE Método Laemmli

En la electroforesis en gel de poliacrilamida, las proteínas se desplazan a través de los poros de la matriz del gel de poliacrilamida en respuesta a un campo eléctrico. A medida que aumenta la concentración de acrilamida, el tamaño de los poros disminuye. La combinación del tamaño y la carga de los poros y el tamaño y la forma de las proteínas determina la velocidad de movimiento de las proteínas. Este protocolo describe el método estándar de Laemmli para electroforesis en gel discontinuo en condiciones desnaturizantes, en presencia de dodecilsulfato de sodio (SDS). Representa un método secuencial simplificado, que utiliza el mismo tampón para soluciones de gel y electrodo y omite el apilamiento de geles. Otros protocolos incluyen la preparación y uso de geles ultrafinos y geles de gradiente, así como la preparación simultánea de múltiples geles (Gallagher, 2006).

El proceso implica localizar la proteína de interés en el gel después de la técnica SDS-PAGE, al eluir la proteína del gel, eliminar el SDS de la muestra eluida y finalmente renaturalizar la proteína (p. ej., enzimas) para análisis posteriores (Kurien et al., 2019).

2.2.17. Factores influyentes en la electroforesis

La técnica de electroforesis es sumamente delicada y puede ser afectada por múltiples errores experimentales, siendo los más frecuentes:

a) Temperatura y voltaje de corrida

La polimerización depende de la temperatura para evitar el sobrecalentamiento ya que se genera una polimerización incompleta. La polimerización debe realizarse en atmósfera inerte. El persulfato de amonio (APS) desempeña un papel en la neutralización de los radicales libres generados por el oxígeno, en se debe utilizar una cámara vertical de dos placas para reducir la absorción de oxígeno por el gel de poliacrilamida. El oxígeno es un inhibidor de la polimerización, ya que desmasifica. En la polimerización se libera calor debido a los componentes químicos que entran en acción y estos pueden formar burbujas en su interior. La movilidad de las proteínas varía entre otras causas porque la viscosidad que tiene el agua se prolonga a bajas temperaturas. Se usa un tampón de electroforesis y tiene la finalidad de mantener la temperatura durante el proceso. En geles de poliacrilamida vertidos a 25°C ocurre mayor variabilidad de (Rf) si se compara a bajas temperaturas. La uniformidad de la temperatura en el proceso de electroforesis elimina el efecto de la deformación de las bandas curvadas (Zhang et al., 1998).

b) Velocidad de polimerización y cantidad de catalizador

Cuando la polimerización del gel de poliacrilamida es demasiado rápida, la tira puede deformarse debido al nivel de catalizador en el polímero y se presenta una contracción desigual del gel preparado en la cámara de electroforesis, en este caso se debe reducir el tetrametiletilendiamina (TEMED) y el APS. Aun así, el nivel del catalizador debe mantenerse ya que utilizar niveles bajos de catalizador hará que la superficie del gel se vuelve desigual y quebradiza, pero si se usa una alta concentración el gel tiende a romperse. Esta dificultad se puede solucionar reemplazando el agua bidestilada con alcohol isobutílico añadiendo una capa para lograr una correcta polimerización (García, 2001).

2.2.18. Determinación de peso molecular

Para comprobar el peso molecular (PM) de una proteína se determina mediante la electroforesis, comparando las diversas movilidades electroforéticas con un marcador molecular con peso conocido y se tiñen uniformemente, la que presenta varios rangos de peso molecular, se aplicará el que abarque el peso molecular esperado de aquella proteína que se requiere evaluar. Al realizar un ploteo de logaritmo del PM de la proteína patrón como función del valor de movilidad relativa (Rf), este logra un gráfico sigmoideo. El PM desconocido puede estimarse por el

análisis de regresión lineal o por interpolación en la curva del Log de PM contra Rf (García, 2001).

2.2.19. Cuantificación de proteínas

Para determinar la concentración de proteínas existen diferentes métodos como Biuret, Bradford, Lowry, Ácido bicinconínico (BCA), los cuales se diferencian mediante un rango de sensibilidad expresada en μg y en el cálculo de la concentración. Esta cuantificación de proteína soluble total proviene de las diversas fracciones proteicas obtenidas y se determina mediante el método de Bradford. Para ello, se usa una curva de calibración de proteínas utilizando albúmina sérica bovina (BSA) como estándar a una concentración de 0-16 $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$, y se mide la absorbancia a 595 nm utilizando un espectrofotómetro BioRad (EUA) (Rojas et al., 2009).

2.2.20. Método de Bradford

El método Bradford es un protocolo que utiliza el colorante Coomassie Brilliant Blue, cambiando la longitud de onda de absorción máxima del colorante combinándolo con una proteína en una solución ácida, y lectura en un espectrofotómetro a un rango de 465 nm y 595 nm. Determinando la concentración de proteínas en una muestra. Uno de los principales inconvenientes de este método es la presencia de interferencia con la lectura espectrofotométrica y el ensayo de proteínas, debido a los reactivos usados en el método como la úrea y los detergentes como el dodecilsulfato sódico (SDS), que se utilizan ampliamente en los tampones de extracción de muestras para este método proteómico (Echeverri et al., 2010).

La medición de la concentración de proteínas solubles es una prueba importante en la investigación bioquímica de laboratorio y sus aplicaciones van desde la investigación de enzimas hasta el desarrollo de fármacos. La cuantificación de proteínas mediante espectrofotometría usa luz UV, es un buen método para determinar rápidamente la concentración de proteínas (Fuller, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2. Metodología

3.2.1. Primera etapa: Preparación de la muestra

- La obtención de las muestras de semillas de *Amaranthus caudatus* fueron procedentes de la Estación Experimental Agraria Canaán- Ayacucho del Ministerio de Agricultura y Riego del Perú - Instituto Nacional de Innovación Agraria - INIA.
- Se realizó la limpieza de las semillas de ambas variedades, quitando las partículas extrañas, restos vegetales, etc. Seleccionando los granos sanos con integridad total y libre de humedad exterior.
- Se secó las muestras de amaranto para evitar la humedad y se comprobó la capacidad de difusividad térmica del grano. Esta característica marca la diferencia entre los granos molidos en cuanto a forma y tamaño.
- Se comprobó la relación directa con la temperatura y la relación inversa con la humedad en el rango de 20 a 35°C y 10 a 20% de humedad (Huamán et al., 2016).
- Se cuantificó proteínas totales en g/100g de muestra original, usando el factor de 6.25 con el método Kjeldahl (Anexo 3,4).



Figura 2. Incubadora a 36°C en 48 h con muestras de *Amaranthus caudatus*.

3.2.2. Segunda etapa: Extracción de proteínas - Método Osborne

- Una vez obtenidas las muestras se procedió a pesar y diluir con n-hexano en tubos Eppendorf, para luego ser llevadas a centrifugación a 17 000 RFC por 15 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante para un posterior análisis de grasas.

a) Extracción I (Albúminas)

- Se resuspendió el sedimento con 1,5 ml de CaCl_2 10 mM, MgCl_2 10 mM a un pH de 8,0. Posteriormente se procedió a homogenizar la muestra llevando al vórtex por 10 min a 4°C. Se colocó en el agitador orbital a 150 RPM durante 1 h a 4°C. Se centrifugó a 17 000 RCF por 30 min a 4°C (Anexo 6).
- Se retiró el sobrenadante conteniendo la fracción proteica en el agente químico.

b) Extracción II (Globulinas 7S)

- Se resuspendió el sedimento con 1,5 ml de NaCl 0,1 M, K_2HPO_4 10 mM, a un pH de 7,5. Posteriormente se procedió a homogenizar la muestra en vórtex por 10 min a 4°C. Se colocó en el agitador orbital a 150 RPM durante 1 h a 4°C. Se centrifugó a 17 000 RCF por 30 minutos a 4°C (Anexo 6).
- Se retiró el sobrenadante conteniendo la fracción proteica en el agente químico.

c) Extracción III (Globulinas 11S)

- Se resuspendió el sedimento con 1,5 ml de NaCl 1 M, K_2HPO_4 10 mM, a un pH de 7,5. Se procedió a homogenizar la muestra en vórtex por 10 min a 4°C. Posteriormente, se colocó en el agitador orbital a 150 RPM durante 1 h a 4°C. Se centrifugó a 17 000 RCF por 30 min a 4°C (Anexo 6).
- Se retiró el sobrenadante conteniendo la fracción proteica en el agente químico.

3.2.3. Tercera etapa: Preparación de las muestras y ensamblaje de electroforesis

- Se disolvió el pellet obtenido de cada fracción proteica, se añadió a las muestras 100 µl de H₂O para el lavado de proteínas.
- Se usó una proporción de (3:1), 30 µl de muestra proteica añadido a 10 µl de tampón de carga (4x) y se procedió a homogenizar.
- Se sometió las muestras a una temperatura de ebullición durante 5 min para su desnaturalización proteica.
- Se retiró las muestras a una temperatura ambiente para luego colocar en la centrífuga refrigerada por 45 s a 4°C a 12 000 RPM.
- Finalmente se refrigeró hasta el proceso de electroforesis (Anexo 14).
- Se realizó la electroforesis de proteínas en geles de poliacrilamida, en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) de acuerdo a (Laemmli, 1970) modificado.
- Se trabajó con dos placas de vidrio con esquinas curvadas, dos espaciadores de material flexible de cloruro de polivinilo con un grosor de 0,75 mm, un separador “peine” con 10 entradas que permitió la formación de 9 pocillos para la inyección de las muestras, incluyendo un tanque de electroforesis con una fuente poder.
- Previamente se lavó y se esterilizó todos los componentes de la cámara de electroforesis.
- Se cogió dos placas de vidrio y se colocó los espaciadores a los extremos.
- Se ajustó las placas de vidrio con un par de ganchos con resorte y se añadió el gel separador y el gel concentrador respectivamente en su estado líquido, el TEMED y el APS son componentes químicos que al entrar en contacto produce gelificación. En las figuras 3 y 4 se muestran los componentes de la cámara de electroforesis.



Figura 3,4. Placa de vidrio en soporte y cámara de electroforesis vertical.

3.2.4. Cuarta etapa: Preparación del gel de poliacrilamida y corrida de SDS-PAGE

- Se preparó los reactivos para la preparación de geles de electroforesis SDS-PAGE (Anexo 12).

Tabla 2. Preparación de geles de poliacrilamida SDS-PAGE (Laemmli, 1970).

Reactivos	Gel de empaquetamiento (5%)	Gel separador (10%)
Solución A	0,67 ml	3,33ml
Solución B	-	2,50ml
Solución C	1,00 ml	-
APS	30 μ l	30 μ l
TEMED	5 μ l	10 μ l
Agua destilada	2,30 ml	4,17 ml

- Se añadió el primer gel separador en líquido con una micropipeta de 1000 μ l Marca Boeco-Germany y abarcó casi las $\frac{3}{4}$ partes de la placa de vidrio durante 1 h a temperatura ambiente para su solidificación.
- Después de la polimerización del primer gel, se añadió el segundo gel de empaquetamiento (concentrador).
- Se colocó el peine entre ambas placas de vidrio cubriendo así el último gel; en seguida se dejó polimerizar durante 2 h a temperatura ambiente.
- Una vez gelificado la poliacrilamida, se retiró el peine y los elementos de fijación.
- Las placas de vidrio conteniendo el gel polimerizado se colocó en la cámara de electroforesis conteniendo el tampón de electroforesis. Se sumergió el sistema conteniendo el gel polimerizado en la cámara de electroforesis añadiendo y embebiendo con buffer de electroforesis de pH 7,5

- Se colocó en un pocillo del gel, con 10 µl el marcador estándar Broad Range Protein Molecular Weight Markers PROMEGA que presentó nueve bandas de proteínas con PM de 10, 15, 25, 35, 75, 100, 150 y 225 kDa que determinó el tamaño aproximado de las fracciones proteicas para la medición del peso molecular de las muestras.
- Se depositó las fracciones proteicas de las muestras cuidadosamente en cada pocillo.
- Se cubrió la cámara con su tapa y se conectó los cables que poseen dos electrodos (+) (-) siendo estos conectados a una fuente de poder.
- Se conectó la fuente de poder a la corriente eléctrica con 90 V durante 2 h y 30 min.
- Se procedió a desconectar la fuente de poder y a desmontar la cámara de electroforesis. Finalizado este procedimiento, se removió las placas de vidrio que contiene el gel de poliacrilamida, se realizó con mucho cuidado la separación de vidrios para evitar ruptura del gel de poliacrilamida (Anexo 15).

3.2.5. Quinta etapa: Tinción y revelado de proteínas

a) Tinción de fracciones proteicas

- Se realizó la tinción del gel de poliacrilamida sumergiéndola en un envase de plástico conteniendo la solución de trabajo (Tabla 3), (Anexo 11):

Tabla 3. Reactivos para solución de trabajo.

Componente	Cantidad
Azul de Coomassie R-250	0,625 g
Metanol	225 ml
Ácido acético Glacial	25 ml
Agua destilada	250 ml

- Se pesó 0.625 g de azul de coomasie R-250, se añadió metanol y ácido acético glacial en una proporción de (9:1) en una probeta con capacidad de 250 ml.
- Se enrazó la solución de trabajo con agua bidestilada a 500 ml.
- Se disolvió y se decantó la solución de trabajo a través de un papel filtro Whatman N°1.
- Se colocó el gel de poliacrilamida en el envase de plástico con la solución de trabajo y se colocó en el agitador con un movimiento rotatorio de 50 RPM durante 1 h (Anexo 15).
- Se evaluó la coloración de cada fracción proteica teniendo en cuenta la coloración más intensa de las bandas (Fig. 6), en el que las fracciones proteicas

de color azul intenso fueron consideradas como fracciones proteicas expresando un peso en kDa con la asistencia de un marcador molecular.

b) Decoloración del gel de poliacrilamida

- Se realizó la decoloración del gel de poliacrilamida sumergiéndola en un envase de plástico conteniendo la solución de decoloración (Tabla 4), (Anexo 14)
- Se añadió el ácido acético glacial y metanol en una proporción de (2:1) en una probeta con capacidad de 50 ml.
- Se enrazó la solución de decoloración con agua bidestilada a 250 ml
- Se colocó la solución de decoloración en el envase de plástico y se colocó el gel de poliacrilamida en la solución y se colocó en el agitador con un movimiento rotatorio de 80 RPM durante 30 min. Se repitió el proceso de decoloración hasta lograr ver claramente las bandas proteicas.

Tabla 4. Reactivos para solución de decoloración.

Componente	Cantidad
Ácido acético glacial	25 ml
Metanol	12,5 ml
Agua bidestilada	212,5 ml

- Las proteínas fijadas en geles de poliacrilamida y teñidos con la solución de coloración, permitieron visualizar bandas azules de diferentes pesos moleculares.
- Se determinó comparando las bandas con un patrón de proteínas estándar de peso conocido del marcador Broad PROMEGA (Figura 5).

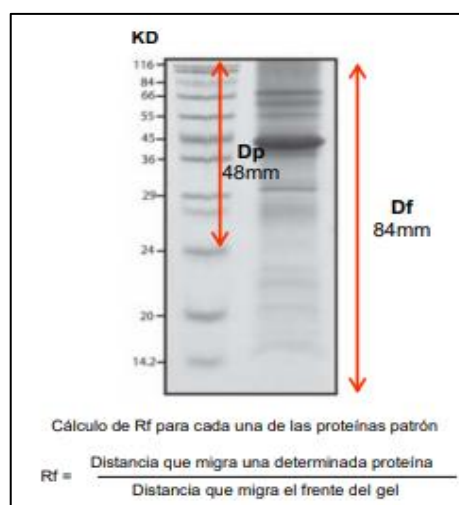


Figura 5. Esquema de resultados obtenidos en la separación de proteínas. (Fandiño, 2014)

3.2.6. Sexta etapa: Cuantificación de proteínas - Método Bradford

Se siguió el protocolo descrito por (Cerna et al., 2010; Búcaro & Bressani, 2002) con algunas modificaciones:

- Se utilizó el estándar de Albúmina Sérica Bovina (BSA) como proteína de referencia en 1mg/1ml de H₂O_(d) usando el agitador magnético para su homogenización total, como colorante se usó Azul Brillante de Comassie G-250, el buffer de fosfato a pH 7,2 como diluyente. Las lecturas de absorbancia se realizaron mediante un espectrofotómetro UV-visible a 595 nm, para la elaboración de una curva de absorción y determinar la concentración de proteínas.

Tabla 5. Diluciones seriadas de albúmina sérica bovina (estándar).

Tubos	Componentes
Tubo N°1	0 albúmina + 100 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°2	2 µl albúmina+ 98 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°3	4 µl albúmina+ 96 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°4	6 µl albúmina+ 94 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°5	8 µl albúmina+ 92 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°6	10 µl albúmina+ 90 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford
Tubo N°7	15 µl albúmina + 85 µl agua destilada + 900 µl reactivo de Bradford

- Se agitó los tubos y se colocó en oscuridad durante 20 min.
- Las diluciones se colocaron en las cubetas del espectrofotómetro y graduó a 595 nm y se procedió a la lectura de la absorbancia, para graficar la curva de absorción.
- Se realizó el mismo protocolo con 3 repeticiones para las muestras proteicas, y se calcularon las concentraciones en base a la ecuación de la recta (curva de absorción) o por interpolación.

3.3. Análisis estadístico

Para determinar la cuantificación y comparación de las concentraciones de las fracciones proteicas en las dos variedades de amaranto var. Oscar Blanco y var. INIA 414 - Taray, se realizó medidas de tendencia central y dispersión presentados en tablas y figuras que muestran los estadísticos descriptivos.

IV. RESULTADOS

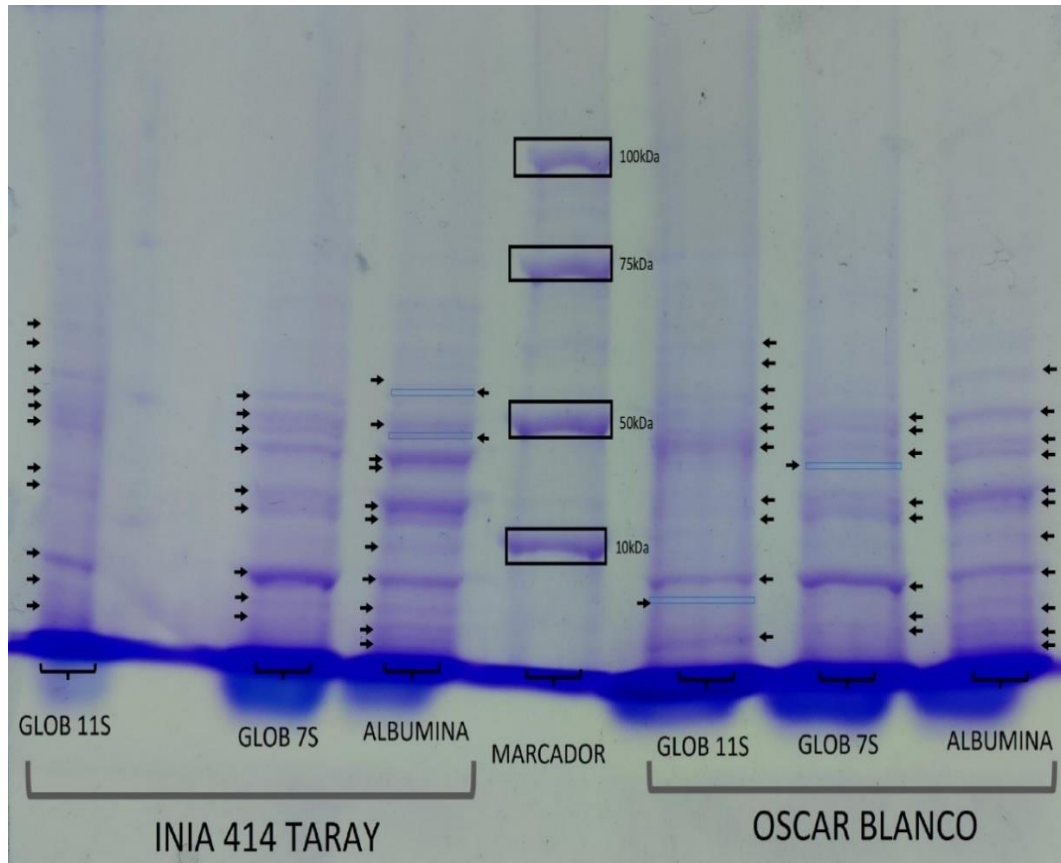


Figura 6. Señalización de bandas proteicas (globulinas 7S, globulinas 11S y albúminas) de *Amaranthus caudatus* var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco.

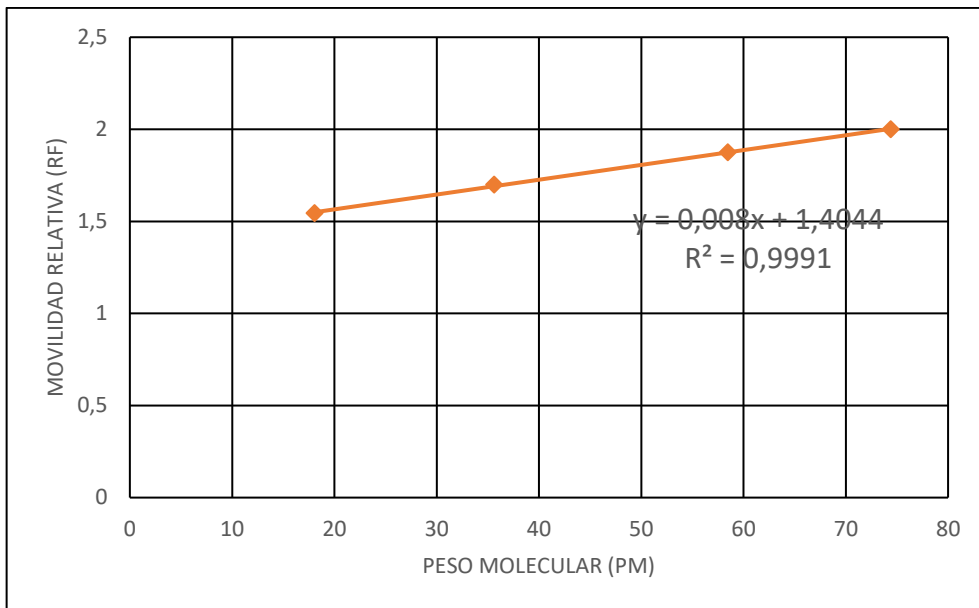


Figura 7. Linealización de los estándares de PM y su respectiva movilidad relativa.

Tabla 6. Estimación de pesos moleculares de albúminas en *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco), 2022.

Banda	Distancia de migración (mm)	Peso molecular (kDa)
1	42,02	55,02
	39,08	52,12
2	36,68	49,87
	35,22	48,55
3	32,45	46,13
4	30,65	44,63
5	24,9	40,14
6	22,36	38,31
7	18,48	35,66
8	13,33	32,44
9	8,46	29,65
10	5,99	28,33
11	4,21	27,42

Tabla 7. Estimación de pesos moleculares de globulinas 7S en *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414 Taray, var. Oscar Blanco) 2022.

Banda	Distancia de migración (mm)	Peso molecular (kDa)
1	37,98	51,08
2	36,16	49,39
3	34,27	47,70
4	31,31	45,17
	31,24	45,11
5	25,08	40,28
6	22,69	38,54
7	12,8	32,12
8	9,04	29,97
9	6,67	28,69

Tabla 8. Estimación de pesos moleculares de globulinas 11S en *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414 Taray, var. Oscar Blanco) 2022.

Banda	Distancia de migración (mm)	Peso molecular (kDa)
1	46,74	60,02
2	44,13	57,21
3	39,89	52,91
4	37,36	50,50
5	34,99	48,34
6	32,87	46,49
7	25,45	40,55
8	23	38,76
9	12,6	32,00
10	8,56	29,71
11	4,76	27,70

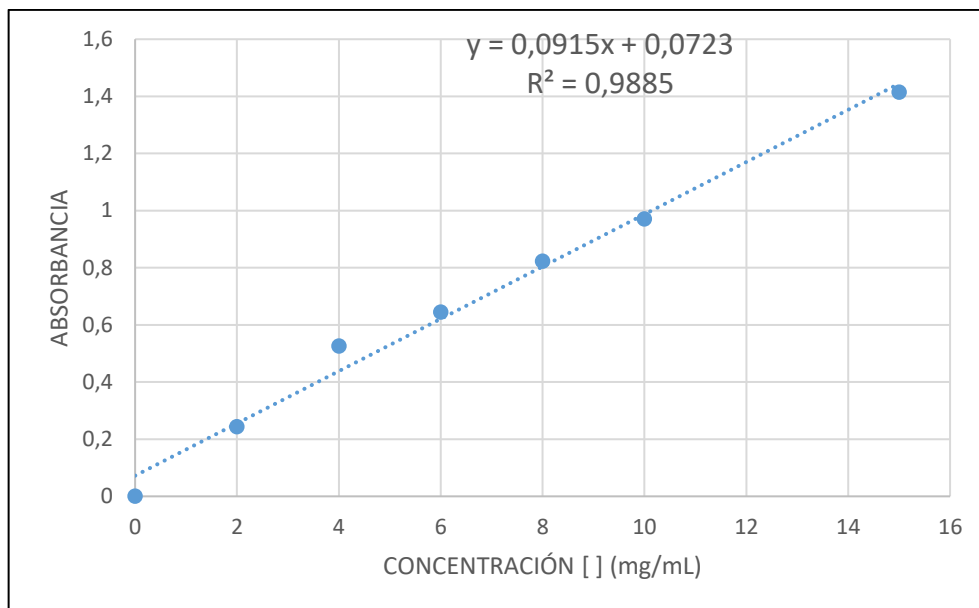


Figura 8. Linealización de la absorbancia del estándar BSA frente a la concentración (mg/ml).

Tabla 9. Cuantificación de la fracción proteica en albúminas de *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.

Variedad	Absorbancia	Repeticiones	Promedio (mg/ml)
Oscar Blanco	0,839	8,4	
Oscar Blanco	0,863	8,6	8,3
Oscar Blanco	0,808	8,0	
INIA 414 - Taray	0,825	8,2	
INIA 414 - Taray	0,856	8,5	8,3
INIA 414 - Taray	0,831	8,3	

Tabla 10. Cuantificación de la fracción proteica en globulinas 7S de *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.

Variedad	Absorbancia	Repeticiones	Promedio (mg/ml)
Oscar Blanco	0,763	7,5	
Oscar Blanco	0,821	8,2	8,1
Oscar Blanco	0,854	8,5	
INIA 414 - Taray	0,811	8,1	
INIA 414 - Taray	0,772	7,6	7,8
INIA 414 - Taray	0,789	7,8	

Tabla 11. Cuantificación de la fracción proteica de globulinas 11S en *Amaranthus caudatus* (var. INIA 414-Taray, var. Oscar Blanco), 2022.

Variedad	Absorbancia	Repeticiones	Promedio (mg/ml)
Oscar Blanco	0,905	9,1	
Oscar Blanco	0,974	9,8	9,4
Oscar Blanco	0,919	9,2	
INIA 414 - Taray	0,827	8,2	
INIA 414 - Taray	0,800	7,9	8,0
INIA 414 - Taray	0,791	7,8	

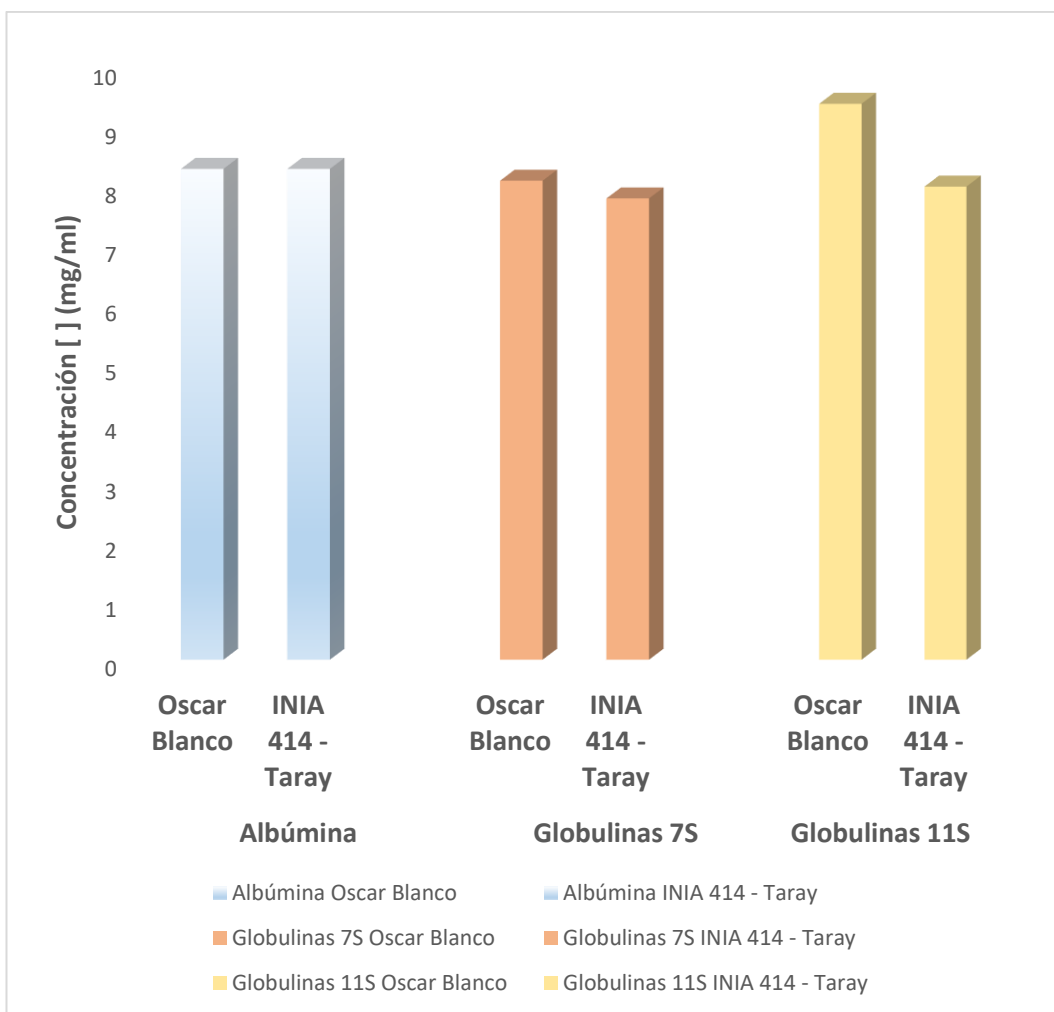


Figura 9. Comparación de las fracciones proteicas de albúminas, globulinas 7S, globulinas 11S de *Amaranthus caudatus* en var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray, Ayacucho 2022.

V. DISCUSIÓN

El sistema de electroforesis vertical es una estrategia molecular conocida que nos permitió la estimación de datos moleculares. No obstante, es necesario estandarizar la técnica con los granos andinos de nuestra región sur del Perú.

El fraccionamiento de las proteínas de algunas fuentes alimenticias tiene gran importancia porque nos permite explicar la cooperación de cada fracción a la calidad nutricional y las propiedades funcionales y de modo que las aplicaciones en la elaboración de ciertos productos alimenticios se vean favorecidos.

Existen diversos análisis sobre la composición química de amaranto y presentan una cierta variación, que está en función de la variabilidad genética de la muestra estudiada, y parámetros como edad de maduración, localización del cultivo y fertilidad del suelo. En esta investigación se determinó la concentración de proteínas totales de *Amaranthus caudatus* en la var. Oscar Blanco igual a 12,5% y en la var. INIA 414-Taray 12,1%; valores considerados dentro del rango para este género, comparando con lo reportado por Shingal & Kulkarni, (1988) de 12 a 17,9%; sin embargo, son superiores a otros cereales como el trigo. Así mismo, guarda similitud con el amaranto procedente de Monte cercado- Bolivia de 14,1% (Zamora, 1991) y 14,6% de proteínas (Lizárraga, 1981). La variedad Oscar Blanco presenta 12,5% de proteínas, cantidad ligeramente mayor que 12,1% encontrada en la variedad INIA 414-Taray.

La germinación de los granos íntegros fue más alta en la quinua, no así en la kiwicha, obteniéndose 98% y 70% respectivamente y los resultados fueron 13,09 % de proteínas en germinados de quinua y 16,45 % para la kiwicha (Bravo et al., 2013). De los perfiles obtenidos por la resolución electroforética en geles de poliacrilamida, bajo las condiciones a las que se han sometido los extractos proteicos, podemos apreciar que cada modelo presenta características cualitativas y cuantitativas propias. En la fracción proteica albúmina se muestran

11 bandas proteicas para la variedad Oscar Blanco y 9 bandas para la variedad INIA 414-Taray; en la fracción proteica de globulina 7S se muestran 8 bandas proteicas para la variedad Oscar Blanco y 9 bandas proteicas para la variedad INIA 414-Taray; en la fracción proteica de globulina 11S se muestran 10 bandas proteicas en ambas variedades de amaranto. La migración de las proteínas de *Amaranthus caudatus* L. en los geles de poliacrilamida es bastante clara y definida. Los resultados electroforéticos de los geles de poliacrilamida indican que las variedades Oscar Blanco e INIA 414-Taray de *Amaranthus caudatus*, presentan bandas de migración moderada. Esto probablemente se deba a factores como: peso molecular, estructura de la proteína, cantidad y calidad de aminoácidos que contienen en su cadena lateral radicales aminos (-NH₂) o carboxilos (-COOH), los cuales se ionizan durante el corrido electroforético y determinan la carga neta de la proteína. En este caso, probablemente, las proteínas tengan más radicales carboxilo, los cuales hacen que adquieran una carga neta negativa, permitiendo una mayor fuerza de atracción hacia el electrodo positivo (Devlin, 1991).

Las dos variedades de amaranto provienen de un mejoramiento de (INIA-Perú), las fracciones proteicas mezcladas en presencia de agentes reductores y estabilizantes estiman PM en ambas variedades con patrones similares en número de bandas. Los pesos moleculares de *Amaranthus caudatus* “amaranto” en la var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray; para albúminas: 27,4 a 55,0 kDa; globulinas 7S: 28,7 a 51,1; globulinas 11S: 27,70 a 60,0 kDa. En la fracción albúmina del grano de *Amaranthus caudatus*, se ha aislado y purificado una proteína de 35 kDa, rica en lisina (Villanueva & Arnao, 2007).

Según Silva (2007), mediante electroforesis determinó el peso molecular de 18,5 kDa, diferente al de la soya con un tamaño de 5,4 kDa (Silva, 2007). En el artículo de Villanueva & Arnao (2007) determinaron la masa molecular en *Amaranthus hypochondriacus* aproximada de la proteína contenida en las semillas obteniendo un tamaño de 65-70 kDa compuesta por dos subunidades de aproximadamente 35 kDa unidas por interacciones no covalentes, con actividad hemaglutinante característica de las lectinas. Comparativamente sobre la “Aplicación de la electroforesis para la obtención de perfiles proteicos en *Amaranthus caudatus* L. “kiwicha” determinó la cantidad de proteínas totales extraídas obteniendo un 16,17% para la variedad Kunt y 14,34% para la variedad Oscar Blanco.

La electroforesis SDS-PAGE unidimensional de las bandas de faseolina generalmente determinadas con un peso molecular de 45-51 kD (Bliss & Brown, 1983). En la investigación de Barba de la Rosa et al., (2009), mencionaron la importancia de la deslipidización de la harina total para estudios cualitativos de fracciones proteicas, esto mejoró significativamente la calidad de los patrones electroforéticos. En el presente estudio el perfil electroforético de las fracciones proteicas en ambas variedades mostró patrones similares en número de bandas, perfil similar, al observado en el arroz, trigo.

Ambas variedades de *Amaranthus caudatus* presentan similar número de bandas proteicas, aunque para la var. INIA 414-Taray, en la fracción proteica de albúmina se encuentra ausente 2 bandas proteicas con 52,12 y 48,55 kDa, y para la var. Oscar Blanco, en la proteína globulina 7S se encuentra ausente 1 banda proteica con su peso de 45,11 kDa, en la fracción proteica globulina 11S está ausente 1 banda proteica con un peso de 29,71 kDa. Esta técnica de perfil electroforético, además de ser muy usada para el análisis de proteínas alimentarias, últimamente se está empleando para realizar genotipado y detección de organismos modificados genéticamente (OMG) (Villanueva & Arnao, 2007).

Martínez y Añón (1996) para *Amaranthus hypochondriacus* obtuvo proteínas similares, aunque en nuestro estudio no se observó la banda de 78 kDa de PM correspondiente a una subunidad de la globulina 7S. El perfil muestra una banda de 10 kDa correspondiente a la albúmina, seguida de la fracción proteica de globulina 11S básico con dos bandas de 17,3 kDa y 20,8 kDa, dos bandas correspondientes a la fracción proteica de globulina ácida 11S con un peso molecular de 27,7 kDa y 33,2 kDa, y finalmente una banda de 45,9 kDa correspondiente a la fracción proteica de globulina 7S. Las bandas con PM entre 45 kDa y 25 kDa corresponderían a los péptidos α y β de la globulina 11S (amarantina), las subunidades ácidas y básicas de esta proteína fueron visibles a 34 kDa y 20 kDa, respectivamente.

Los perfiles proteicos de *Amaranthus caudatus* en la tabla (6) se puede observar en la var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco para albúminas expresa bandas proteicas 3, 4, 5, 8 que son más visibles indicando una mayor concentración que otras diferenciándose por su nitidez cuyos PM 46,13; 44,63; 40,14; 32,44 kDa respectivamente. Se observa también en la var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco para globulinas 7S expresa bandas proteicas de 7,8 que son más visibles indicando una mayor concentración que otras diferenciándose por su nitidez del

peso molecular. En la var. INIA 414-Taray y var. Oscar Blanco para globulinas 11S expresa bandas proteicas de 6 y 9 que son más visibles, se encuentran en mayor concentración que otras, diferenciando la nitidez cuyos PM con 46,49, 32 kDa respectivamente.

La cuantificación de proteínas se determinó en cada fracción estudiada, se analizó por espectrofotometría aplicando la metodología de Bradford, utilizando una curva estándar de BSA (Figura 8); la concentración de la solución patrón fue de 1 mg/ml, y lectura de absorbancia a 595 nm. Los resultados para la var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray fueron: en albúminas, ambas variedades presentaron 8,3 mg/ml; globulinas 7S: 8,1; 7,8 mg/ml; globulinas 11S: 9,4; 8,0 mg/ml de proteínas respectivamente. Comparativamente con la semilla de quinua en albúminas presenta 8,1; globulinas 9,6 mg /ml, mayor porcentaje de proteínas, respecto a las globulinas (Taco, 2016); en tanto, que las semillas de linaza presentan valores menores, en albúminas 5,10 y en globulinas 6,4 mg/ml (Delgado, 2015).

El método de Bradford es un método poco sensible y con varias perances causando precipitados de color azul, lo que ocasionan errores de lectura al momento de realizar una medición de la absorbancia en el espectrofotómetro; sin embargo, este método es más ventajoso que el resto y los resultados mostrados se puede decir que son los más óptimos respecto a cuantificación proteica ya que al trabajar con el método de Biuret presentaron interferencias e inconvenientes (Delgado & Pinto, 2015).

VI. CONCLUSIONES

1. Se evaluó el perfil electroforético de albúminas, globulinas en la var. Oscar Blanco y var. INIA 414 –Taray de *Amaranthus caudatus*, con número de bandas proteicas en albúminas: 11 y 9; en globulinas 7S: 8 y 9 bandas proteicas respectivamente; en las globulinas 11S coincidieron el número de bandas proteicas igual a 10 en las dos variedades.
2. Los pesos moleculares estimados de *Amaranthus caudatus* fueron: en la var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray; para albúminas: 27,4 a 55,0 kDa; globulinas 7S: 28,7 a 51,1; globulinas 11S: 27,70 a 60,0 kDa respectivamente.
3. Las concentraciones proteicas de albúminas y globulinas en la var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray fueron; en albúminas con el mismo valor promedio de 8,3 mg/ml; en las globulinas 7S: 8,1 y 7,8 mg/ml; y en las globulinas 11S: 9,4 y 8,0 mg/ml de proteínas respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- La técnica de electroforesis requiere de mucha precisión, en donde un exceso en la carga de la muestra en el pocillo del gel concentrador podría causar resultados erróneos.
- Optimizar la estandarización de los protocolos para la caracterización molecular.
- Tomar medidas preventivas, uso de guantes de nitrilo, mascarillas, envases estériles, recambio de puntas de las micropipetas en cada uso para evitar resultados erróneos en la electroforesis y posibles problemas de neurotoxicidad de algunos reactivos.
- A los futuros investigadores, se recomienda realizar estudios de caracterización molecular de otras variedades específicas para poder implementar una data sobre granos andinos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilera Cauich, E. A., Solís Fernández, K. Z., Ibarra Morales, A., Cifuentes Velásquez, R., & Sánchez Del pino, I. (2021). Amaranto: Distribución y diversidad morfológica del recurso genético en partes de la región Maya (sureste de México, Guatemala y Honduras). *Acta botánica mexicana*, 128. <https://doi.org/10.21829/abm128.2021.1738>
- Álvarez, A., Céspedes, E., & Sumar, L. (2010). *Conservación y mejoramiento genético de la kiwicha (Amaranthus caudatus L.) en la Región Cusco " Programa de Kiwicha del Centro de Investigación de Cultivos Andinos (CICA)*. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
- Barba de la Rosa, A. P., Fomsgaard, I. S., Laursen, B., Mortensen, A. G., Olvera-Martínez, L., Silva-Sánchez, C., Mendoza-Herrera, A., González-Castañeda, J., & De León-Rodríguez, A. (2009). Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as an alternative crop for sustainable food production: Phenolic acids and flavonoids with potential impact on its nutraceutical quality. *Journal of Cereal Science*, 49(1), 117-121. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.07.012>
- Behe, M. J., Lattman, E. E., & Rose, G. D. (1991). The protein-folding problem: The native fold determines packing, but does packing determine the native fold? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(10), 4195-4199.
- Belliard, R. (2019, diciembre 16). ¿Qué son las proteínas y cuál es su función en el cuerpo? *Food Facts fo Healthy Choices*. <https://www.eufic.org/es/que-contienen-los-alimentos/articulo/que-son-las-proteinas-y-cual-es-su-funcion-en-el-cuerpo>
- Bliss, F. A., & Brown, J. W. (1983). Breeding common bean for improved quantity and quality of seed protein. *Plant Breeding Review: Volume 1*, 59-102.
- Bravo A., M., Reyna R., J., Gómez Sánchez, I G., & Huapaya H., M. (2013). Estudio químico y nutricional de granos andinos germinados de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 16(1), Article 1.
- Búcaro Segura, M. E., & Bressani, R. (2002). Distribución de la proteína en fracciones físicas de la molienda y tamizado del grano de amaranto. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(2), 167-171.
- Calderón Vélez, J. C. (2006). Proteínas: redefiniendo algunos conceptos. *Revista de la Facultad de Medicina*, 54(2), 143-147.
- Carmona Pinto, W., & Orsini Velásquez, G. (2010). Sinopsis del subgénero *Amaranthus* (*Amaranthus*, *Amaranthaceae*) en Venezuela. *Acta botánica Venozolánica*, 33(2), 329-356.
- Castel, M. V. (2010). *Estudio de las propiedades funcionales, tecnológicas y fisiológicas de las proteínas de amaranto*. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/handle/11185/212>
- Cayuqueo, V. E. (2017). *Evaluación y selección de líneas de Amaranto (Amaranthus spp.) de interés biológico*. <http://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/787>

- Cerna, E., Ochoa, Y., Mendoza, R., Badii, M. H., Gallegos, G., & Landeros, J. (2010). *Evaluación de métodos de cuantificación de proteínas en Tetranychus urticae para su uso potencial en la detección de resistencia a plaguicidas*. 79(2), 147-152.
- Chamorro Gómez, R. E. (2018). *Valor nutricional y compues bioactivos de 30 accesiones de Kiwicha (Amaranthus caudatus L.) del INIA-Perú*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Coila Enriquez, G. S., & Apaza Humerez, C. R. (2020). *Aporte de aminoácidos esenciales en mezclas alimenticias de origen vegetal por métodos computacionales* [Universidad Peruana Unión]. <http://200.121.226.32:8080/handle/UPEU/3387>
- Delgado, A. G., & Pinto, M. M. (2015). *'Fraccionamiento, caracterización y cuantificación de proteínas de reserva presentes en semillas de Salvia hispánica L. (chía) en comparación con Linum usitatissimum (linaza) y Chenopodium quinoa (quinua)*. [Universidad Católica de Santa María]. <https://core.ac.uk/download/pdf/198126424.pdf>
- Devlin, T. (1991). *Bioquímica*. (2da ed., Vol. 1). Rodale Press. EUA.
- Domínguez, J. S. B. (2013). *Amaranto: Recomendaciones para su producción*. <https://elibro.net/es/ereader/unsch/39014>
- Echeverri, N. P., Ortiz, B. L., & Caminos, J. E. (2010). Análisis proteómico de cultivos primarios de tiroides. *Rev Colombiana de Química*, 39(3), 343-358.
- Espitia Rangel, E., Sesma Hernández, L. F., Valverde Ramos, M. G., Gonzáles Molina, L., & Escobedo López, D. (2021). Tiene el amaranto el potencial agronómico para ser un fenómeno mundial como la quinua. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(8), 1459-1471. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i8.2897>
- Estación Experimental Agraria, A.-C. (2006). *Kiwicha INIA 414 - Taray: Variedad de grano amiláceo*.
- Fandiño, R. L. (2014). *Las proteínas de los alimentos*. Edit. CSIC Consejo Superior de Investigaciones Científicas. <https://elibro.net/es/ereader/unsch/41772>
- Fenema, O. R. (2000). *Química de los alimentos* (2da Ed.). Acriba S.A. https://www.editorialacribia.com/libro/quimica-de-los-alimentos_53689/,
- Fuller, D. (2020). Cuantificación de proteínas con Espectrofotometría UV-VIS. *Cromtek*. <https://www.cromtek.cl/2020/09/22/cuantificacion-de-proteinas-con-espectrofotometria-uv-vis/>
- Galan, M. G., Drago, S. R., Armada, M., & José, R. G. (2013). Iron, zinc and calcium dialyzability from extruded product based on whole grain amaranth (*Amaranthus caudatus* and *Amaranthus cruentus*) and amaranth/*Zea mays* blends. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(4), 502-507. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.753038>
- Gallagher, S. R. (2006). One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins. *Current Protocols in Immunology*, Chapter 8, Unit 8.4. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im0804s75>
- Gallegos Tintoré, S., Pacheco Aguirre, J., Betancur Ancona, D., & Chel Guerrero, L. (2004). Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas

- solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 81-88.
- García Pérez, H. M. (2001). Electroforesis en geles de poliacrilamida: Fundamentos, actualidad e importancia. *Universo diagn*, 1(2), 31-41.
- Gil Hernández, A., Fontana Gallego, L., & Sánchez de Medina Contreras, F. (2017). *Tratado de nutrición* (3era ed.). Médica Panamericana. <https://www.medicapanamericana.com/co/libro/tratado-de-nutricion-tomo-1>
- Gómez Ayala, A. E. (2007). Nutrigenómica y nutrigenética. *Offarm*, 26(4), 78-85.
- González Rivera, I., Paz Trejo, D. B., Fuentes Saavedra, N. S., De Lucio Padrón, E. L., Rodríguez Silva, D., Torres Carrillo, P., Zamora Arévalo, O., Casasola Castro, C., & Sánchez Castillo, H. (2015). El Amaranto como Fuente de Reforzamiento: Un estudio con roedores. *Acta de investigación psicológica*, 5(2), 1960-1971. [https://doi.org/10.1016/s2007-4719\(15\)30016-8](https://doi.org/10.1016/s2007-4719(15)30016-8)
- Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2020). *Perfil nutricional de harinas de semillas de amaranto germinadas*. XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos y XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos - CyTAL@ALACCTA. (Buenos Aires). <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/121712>
- Hernández Rodríguez, M., & Sartre Gallego, A. (1999). *Tratado de nutrición* (3era ed.). Ediciones Díaz de Santos.
- Herráez, Á. (2016). *Electroforesis de proteínas y de ácidos nucleicos*. <http://biomodel.uah.es/tecnicas/elfo/inicio.htm>
- Huamán Castilla, N. L., Yupanqui, G., Allcca, E., & Allcca, G. (2016). Efecto del contenido de humedad y temperatura sobre la difusividad térmica en granos andinos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(3), 259-271.
- Kurien, B. T., Aggarwal, R., & Scofield, R. H. (2019). Protein Extraction from Gels: A Brief Review. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1855, 479-482. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8793-1_40
- Lizárraga, V. (1981). *Evaluación del contenido de proteínas y fibras de 64 muestras de la Colección Amaranthus caudatus "Kiwicha"*. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco.
- López, D. N., Galante, M., Robson, M., Boeris, V., & Spelzini, D. (2018). Amaranth, quinoa and chia protein isolates: Physicochemical and structural properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 152-159. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.080>
- Luque Guillén, M. V. (2015). *Estructura y propiedades de las proteínas*. 34.
- Matías Luis, G., Hernández Hernández, B. R., Peña Caballero, V., Torres López, N. G., Espinoza, V., & Ramírez Pacheco, L. (2018). Usos actuales y potenciales del Amaranto (*Amaranthus spp.*). *Journal of Negative and No Positive Results: JONNPR*, 3(6), 423-436.
- Olivares-Quiroz, L., & García-Colín Scherer, L. (2004). Plegamiento de las proteínas: Un problema interdisciplinario. *Revista de la Sociedad Química de México*, 48(1), 95-105.
- Pérez Avila, A. (2010). *Cultivo de kiwicha en la sierra central*. 01(01), 24.

- Reeds, P. J. (2000). Dispensable and Indispensable Amino Acids for Humans. *The Journal of Nutrition*, 130(7), 1835S-1840S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.7.1835S>
- Rincón de Pablo, L. (2015). *Técnicas de separación y cuantificación de proteínas* [Informativo]. F.E.A. de Análisis Clínicos, Castilla - España. http://www.hgucr.es/wp-content/uploads/2011/12/tecnicas_de_separaci%C3%B3n_prote%C3%A1Dca.pdf
- Rojas, E., Valbuena C., E., Torres F., G., García de H., A., Piñero G., M., & Galindo A., L. M. (2009). Aislamiento y rendimiento del GMP mediante precipitación de lactosuero con ácido tricloroacético. *Rev. Científica*, 19(3), 295-302.
- Shingal, R.S. & Kulkarni, P.R. (1988). *Amaranths—an underutilized resource*. 23(2), 125-139.
- Ruíz Rodríguez, J. J., & Vásquez Reyes, G. del P. (2018). Valor biológico de las proteínas de *Amaranthus caudatus* “kiwicha” de la Región La Libertad. *Universidad Nacional de Trujillo*. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10654>
- Seguro Gurrutxaga, H., Cárdenas Lagranja, G., & Burgos Peláez, R. (2016). Nutrientes e inmunidad. *Nutrición Clínica en Medicina*, X(1), 1-19. <https://doi.org/10.7400/NCM.2016.10.1.5034>
- Silva Sánchez, C. (2007). *Caracterización fisicoquímica y nutracéutica de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) cultivado en San Luis Potosí* [Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica]. <https://repositorio.ipicyt.edu.mx//handle/11627/3052>
- Túnez Fiñana, I., Galván Cejudo, A., & Fernández Reyes, E. (2015). pH y Amortiguadores: Tampones fisiológicos. 5, 1, 11.
- Veneros, R., & Chico, J. (2017). Efecto del agroplasma en el crecimiento y rendimiento de la kiwicha, *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco. *REBIOL*, 37(1), Article 1.
- Vilcacundo Chamorro, R. D. (2017). *Liberación de péptidos multifuncionales durante la digestión gastrointestinal simulada de proteínas de quinua (Chenopodium quinua Willd) y amaranto (Amaranthus Caudatus)* [Universidad Autónoma de Madrid]. <https://digital.csic.es/handle/10261/196093>
- Villanueva, O., & Arnao, I. (2007). Purificación de una proteína de 35 kDa rica en lisina, de la fracción albúmina de *Amaranthus caudatus* (kiwicha). *Anales de la Facultad de Medicina*, 68(4), 344-350.
- Zamora, J. (1991). *Industrialización del amaranto*. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.
- Zhang, J., Zhang, L., Zhao, S., & C.Lee, E. Y. (1998). *Identification and Characterization of the Human HCG V Gene Product as a Novel Inhibitor of Protein Phosphatase-1 α* (world) [Research-article]. ACS Publications; American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bi981169g>

ANEXOS

Anexo 1. Clasificación taxonómica de *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco.

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el Bach. en Ciencias Biológicas, Sr. Cesar Arturo, FLORES HUARACA ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	AMARANTHACEAE
GENERO	:	Amaranthus
ESPECIE	:	<i>Amaranthus caudatus</i> L.
VARIEDAD	:	Oscar Blanco
N.V.	:	"amaranto", "kiwicha"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Abril del 2022


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 2. Clasificación taxonómica de *Amaranthus caudatus* var. INIA 414-Taray.

CONSTANCIA

LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:


Que, el Bach. en Ciencias Biológicas Sr. Cesar Arturo, FLORES HUARACA ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	CARYOPHYLLIDAE
ORDEN	:	CARYOPHYLLALES
FAMILIA	:	AMARANTHACEAE
GENERO	:	Amaranthus
ESPECIE	:	<i>Amaranthus caudatus</i> L.
VARIEDAD	:	INIA 414 Taray
N.V.	:	"amaranto", "kiwicha"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 20 de Abril del 2 022


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 3. Análisis de proteínas totales de *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco emitido por el laboratorio “La Molina Calidad Total “.



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos



INFORME DE ENSAYOS

N° 003624 -2022

SOLICITANTE : CESAR ARTURO FLORES HUARACA
DIRECCIÓN LEGAL : AVENIDA NESTOR GAMBETA 13 MZ J LT 26 CALLAO - CALLAO
RUC : 73518992 Teléfono : ---
PRODUCTO : AMARANTO SP – VAR. OSCAR BLANCO
NUMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA : S.I
CANTIDAD RECIBIDA : 746,6 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M.
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, la muestra ingresa sellada.
SOLICITUD DE SERVICIOS : S/S N°EN- 002268 -2022
REFERENCIA : PERSONAL
FECHA DE RECEPCIÓN : 22/07/2022
ENSAYOS SOLICITADOS : FÍSICO / QUÍMICO
PERÍODO DE CUSTODIA : No aplica

RESULTADOS:

ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1 - Proteína (g/100 g. de muestra original) (Factor: 6,25)	12,5	12,49	12,50

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

1 - AOAC 920.152 Cap. 37, Pág. 10, 21st Edition 2019

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 22/07/2022 Al 02/08/2022.

ADVERTENCIA:

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Válido sólo para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.

La Molina, 02 de Agosto de 2022



LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS - UNALM

Lourdes Barco Saldaña
Biol. Lourdes Margarita Barco Saldaña
Directora Técnica (e)
CBP - N° 01232

Pág. 1/1

Av. La Molina S/N (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú
Telf.: (511) 3495640 - 3492507 Fax: (511) 3495794
E-mail: mktg@lamolina.edu.pe - Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal - la molina calidad total

Anexo 4. Análisis de proteínas totales de *Amaranthus caudatus* var. INIA 414- Taray emitido por el laboratorio “La Molina Calidad Total”.



**LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos



INFORME DE ENSAYOS

N° 003623-2022

SOLICITANTE : CESAR ARTURO FLORES HUARACA
DIRECCIÓN LEGAL : AVENIDA NESTOR GAMBETA 13 MZ J LT 26 CALLAO - CALLAO
 RUC : 73518992 Teléfono : ---
PRODUCTO : AMARANTO SP – VAR. INIA 414 - TARAY
NÚMERO DE MUESTRAS : Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA : S.I.
CANTIDAD RECIBIDA : 739,7 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S) : S.M.
FORMA DE PRESENTACIÓN : Envasado, muestra ingresa sellada.
SOLICITUD DE SERVICIOS : S/S N°EN- 002269 -2022
REFERENCIA : ACEPTACION TELEFONICA
FECHA DE RECEPCIÓN : 22/07/2022
ENSAYOS SOLICITADOS : **FÍSICO/QUÍMICO**
PERIODO DE CUSTODIA : 1 Mes, a partir de la fecha de recepción.
RESULTADOS:

ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1 -Proteína (g/100 g de muestra original) (Factor : 6.25)	12,1	12,14	12,15

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:
 1 - AOAC 920.152 Cap.37, Pág. 10, 21st Edition 2019

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 25/07/2022 Al 02/08/2022.

ADVERTENCIA:

- 1.- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
- 2.- Se prohíbe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
- 3.- Valido sólo para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.

La Molina, 2 de Agosto de 2022



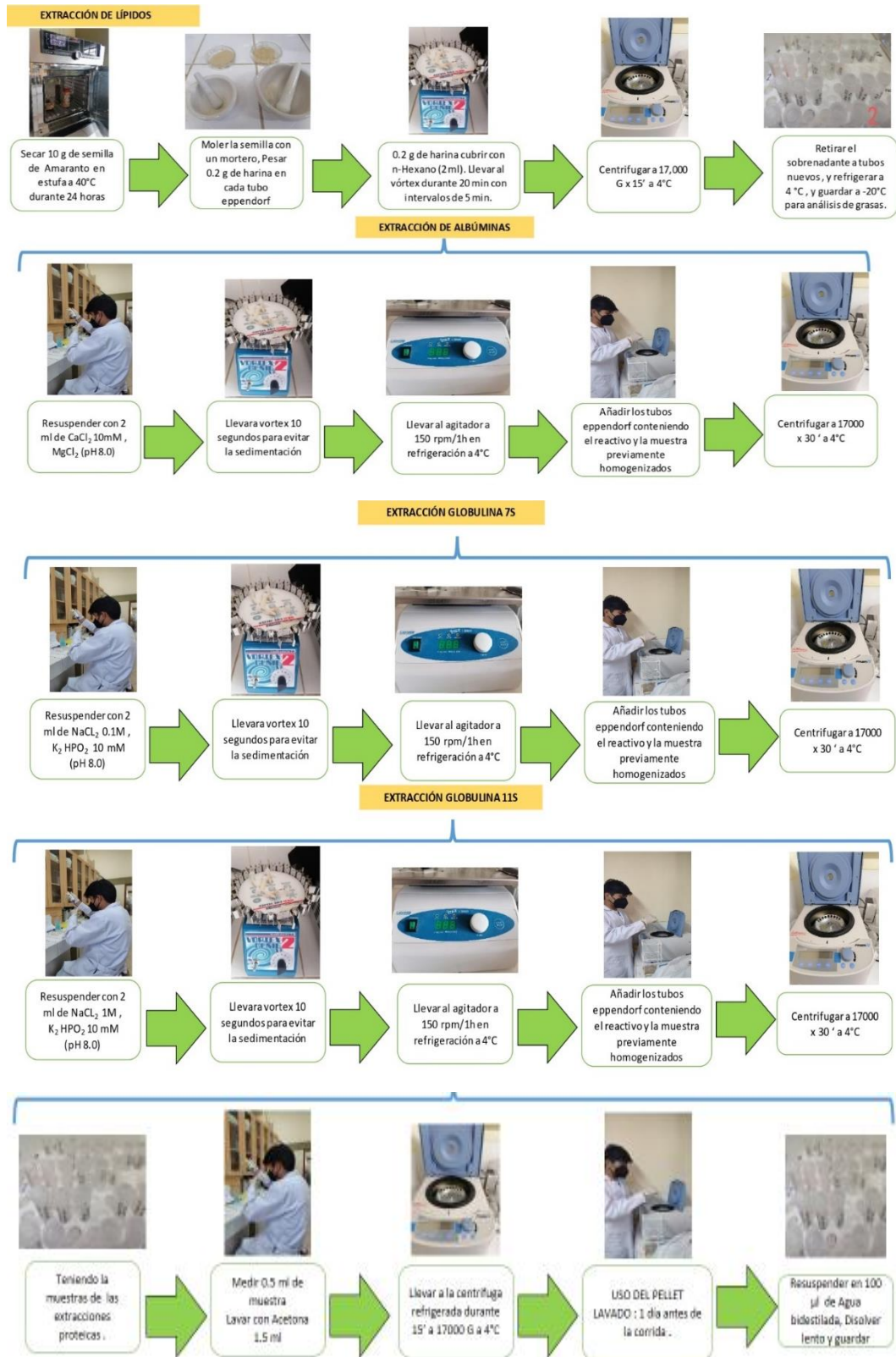
LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS - UNALM

Lourdes Barco Saldaña
 Biol. Lourdes Margarita Barco Saldaña
 Directora Técnica (e)
 CBP - N° 01232

Pág. 1/1

Av. La Molina S/N (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú
 Telf.: (511) 3495640 - 3492507 Fax: (511) 3495794
 E-mail: mktg@lamolina.edu.pe - Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal - la molina calidad total

Anexo 5. Flujograma para la extracción de proteínas de *Amaranthus caudatus*.



Anexo 6. Flujoograma de electroforesis de proteínas de *Amaranthus caudatus*.

CORRIDA DE ELECTROFORESIS



1) Rotulado de nuevos tubos eppendorf para añadir 10 uL de muestra proteica.



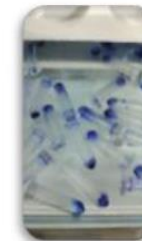
2) Mezcla de 10 uL de cada muestra proteica con 30 uL de tampón de carga 4x.



3) Se colocó las muestras en un soporte a 100°C x 5'.



4) Se llevó los tubos eppendorf conteniendo las muestras a la centrifuga 30' a 4°C a 12 000 rpm



5) Se puso a refrigerar hasta el proceso de electroforesis.



6) Se añadió las placas de vidrio conteniendo el gel de poliacrílida a la cámara de electroforesis



6) Se añade el gel de poliacrílida entre dentro de las placas de vidrio.



7) Se gelificó el gel y se procede a retirar los componentes de compresión .



8) Se añadió la placa de vidrio conteniendo el gel a la cámara de electroforesis.



9) Se distribuyó el Tampón de electroforesis (6.8 pH) en la cámara de electroforesis hasta embeber los extremos de la placa de electroforesis.



10) Se procedió a lavar los pocillos con una jeringa añadiendo el tampón de electroforesis



11) Se añadió las muestras y el marcador molecular a los pocillos y se encendió la fuente de poder 90 Voltios (V) x 2'30'

Anexo 7. Flujograma de tinción y decoloración de electroforesis de proteína de *Amaranthus caudatus*.

CORRIDA DE ELECTROFORESIS



1) Se extrajo el gel y se colocó en una bandeja con Azul de Coomassie (G-250).



2) Se dejó incubando por 1° con un suave movimiento en el Agitador rotatorio.



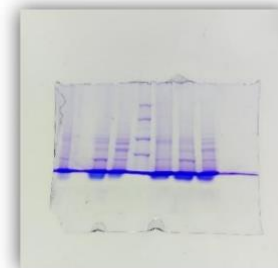
3) Teniendo los geles teñidos, procedemos a decolorar e incubar nuevamente durante 30', se cambió la solución decolorante hasta ver las bandas.



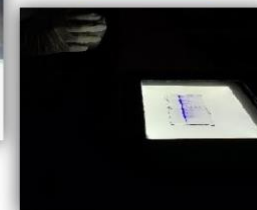
4) Se descartó el decolorante usado y se lavó el gel con agua destilada.



5) Se agitó manualmente el gel para obtener un mejor resultado.

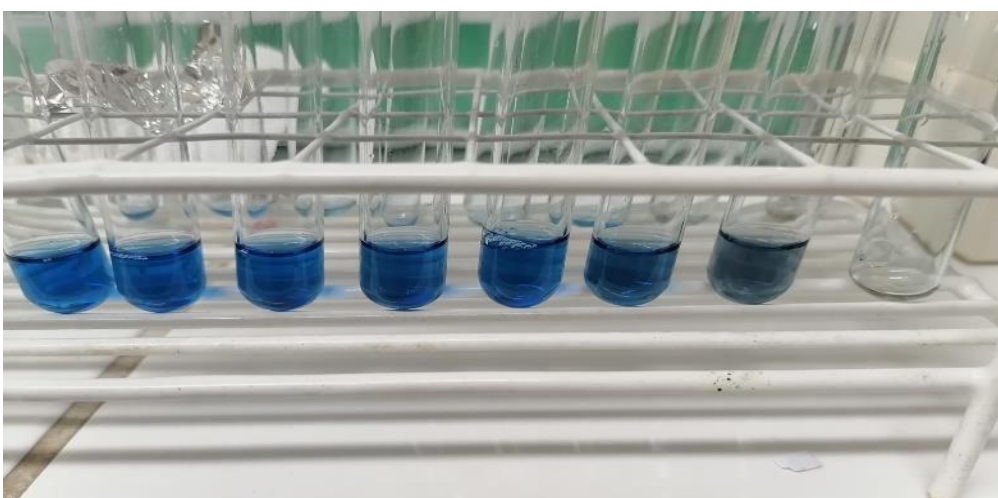


7) Gel presentando las bandas proteicas.



6) Se procedió a colocar en una zona oscura para facilitar la visión de bandas proteicas.

Anexo 8. Preparación de diluciones del estándar BSA para la curva de calibración.
Laboratorio de Bioquímica – UNSCH. Ayacucho 2022.



Anexo 9. Equipos utilizados durante la investigación en el laboratorio de Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho 2022.



Anexo 10. Preparación de soluciones para la extracción de proteínas (Método Osborne).

A) Preparación de reactivo para extracción de Albúminas

COMPONENTE	CANTIDAD
Cloruro de Calcio	0,111 g
Cloruro de Magnesio	0,203 g
pH	8

Mezclar ambos reactivos en 20 ml y enrasar a 100 ml

B) Preparación de reactivo para extracción de Globulinas 7S

COMPONENTE	CANTIDAD
Cloruro de Sodio	0,584 g
Fosfato dipotásico	0,174 g
pH	7,5

Mezclar ambos reactivos en 20 ml con H₂O_(d) y enrasar a 100 ml

C) Preparación de reactivo para extracción de Globulinas 11S

COMPONENTE	CANTIDAD
Cloruro de Sodio	5,844 g
Fosfato dipotásico	0,203 g
pH	7,5

Mezclar ambos reactivos en 20 ml con H₂O_(d) y enrasar a 100 ml

Anexo 11. Preparación de soluciones de trabajo para preparar el gel de corrida (Método Laemmli).

A) Solución A

COMPONENTE	CANTIDAD
Acrilamida	30 g
Bisacrilamida	0,8 g

Disolver con H₂O_(d) en 100 ml y conservar

B) Solución B

COMPONENTE	CANTIDAD
Tris-HCL 1,5 M	18,17 g
SDS	0,4 g
pH	8

Disolver con H₂O_(d) en 100 ml y conservar

C) Solución C

COMPONENTE	CANTIDAD
Tris-HCL 0,5 M	3,028 g
SDS	0,2 g
pH	6,8

Disolver con H₂O_(d) 50 ml y conservar

D) Solución D

COMPONENTE	CANTIDAD
Persulfato de Amonio 10%	1 g

Disolver con H₂O_(d) en 10 ml y conservar

Anexo 12. Preparación de geles de poliacrilamida SDS-PAGE (Método Laemmli).

A) Gel de empaquetamiento

COMPONENTE	CANTIDAD
Solución A	0,67 ml
Solución C	1,00 ml
Agua destilada	2,3 ml
APS	30 μ l
TEMED	5 μ l

Disolver cada componente, al final añadir el H₂O_(d)

B) Gel de separación

COMPONENTE	CANTIDAD
Solución A	3,33 ml
Solución B	2,50 ml
Agua destilada	4,17 ml
APS	30 μ l
TEMED	10 μ l

Disolver cada componente, al final añadir el H₂O_(d)

Anexo 13. Preparación de reactivos para electroforesis SDS-Page (Método Laemmli).

A) Tampón de electroforesis

COMPONENTE	CANTIDAD
Tris HCL 60 mM (PM:121,14)	7,268 g
Glicina	14,413 g
SDS	1 g
pH	8,3

Disolver con H₂O_(d) 1000 ml y conservar

B) Buffer de muestra 4X para proteínas

COMPONENTE	CANTIDAD
Tris HCL 0,5 M	0,3025 g
SDS	0,5 g
2-Mercaptoetanol	2,5 ml
Glicerol	2,5 ml
Azul de Bromofenol 0.1%	0,01 g

Disolver el Tris HCL 0,5 M con 5 ml de H₂O_(d) a un pH (6,8) Disolver el SDS al 10 % en 5 ml de H₂O_(d)

En un vaso precipitado mezclar 2,5 ml de a: 2,5 ml b:2,5ml de glicerol, 2,5 ml

Anexo 14. Preparación de reactivos para coloración de geles para electroforesis SDS-Page. (Método Laemmli).

A) Solución de trabajo de Azul Brillante de Coomasie

COMPONENTE	CANTIDAD
Azul de Coomasie R-250	0,625 g
Metanol	225 ml
Ácido acético glacial	25 ml
Agua destilada	250 ml

Disolver filtrar la solución a través de un papel filtro Whatman N°1

B) Solución de decoloración

COMPONENTE	CANTIDAD
Ácido acético glacial	25 ml
Metanol	12,5 ml
Agua bidestilada	212,5 ml

Disolver previamente los reactivos y enrazar a 250 ml de H₂O_(d)

Anexo 15. Fotografías de la investigación en el Laboratorio de Bioquímica de la UNSCH. Ayacucho 2022.



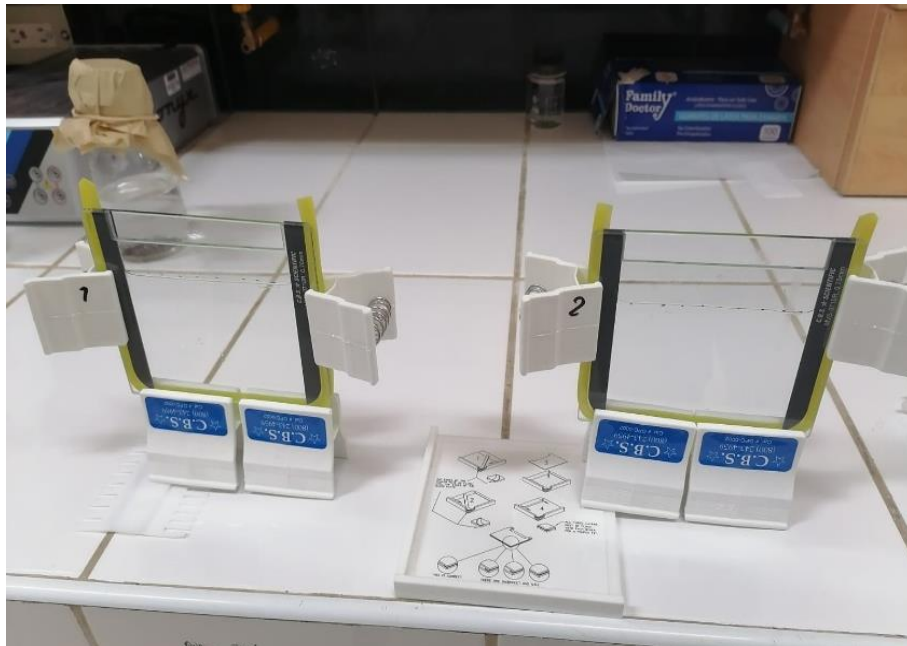
Fotografía 1. Preparación de reactivos para extracción de proteínas de *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray.



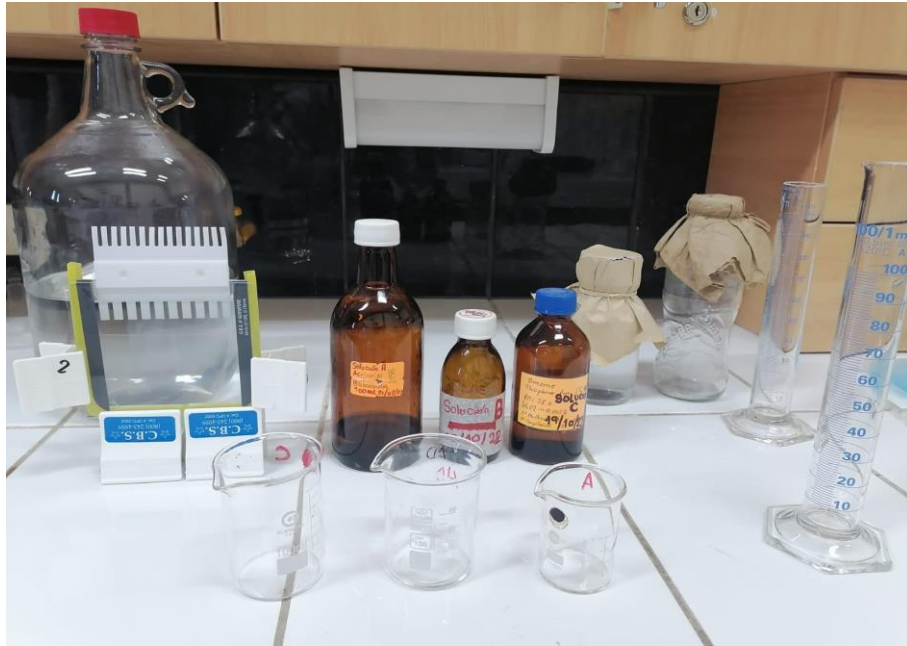
Fotografía 2. Secado y molido de muestras de *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco y var. INIA 414 Taray. 2021.



Fotografía 3. Pesaje de la muestra de *Amaranthus caudatus* var. Oscar Blanco y var. INIA 414 -Taray



Fotografía 4. Armado de las placas de vidrio y el añadido del gel de poliacrilamida SDS-PAGE.



Fotografía 5. Preparación de los geles de poliacrilamida a la placa de vidrio de electroforesis.



Fotografía 6. Añadido de muestras proteicas junto al tampón de carga (4x).



Fotografía 7. Añadido de muestras en los pocillos dentro de la placa de vidrio de la cámara de Electroforesis.



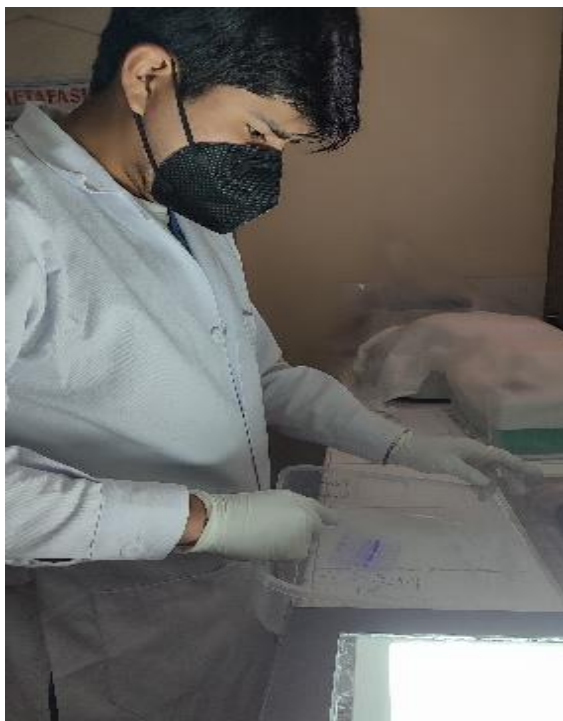
Fotografía 8. Preparación de coloración Azul de Coomasie G-250 para la tinción del gel de poliacrilamida SDS -PAGE.



Fotografía 9. Proceso de coloración del gel de poliacrilamida con azul brillante de Coomassie durante 1 h a 50 RPM.



Fotografía 10. Decoloración del gel y visualización de las bandas proteicas teñidas con azul brillante de Coomasie.



Fotografía 11. Lectura de gel de poliacrilamida conteniendo bandas proteicas teñidas con azul de Coomasie frente a un cámara LED.

Anexo 16. Matriz de consistencia.

TÍTULO: Perfil electroforético de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de *Amaranthus caudatus* (Oscar Blanco, INIA 414-Taray). Ayacucho 2021.

AUTOR: Bach. César Arturo FLORES HUARACA

ASESOR: Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ





PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES/ INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>PROBLEMA GENERAL ¿Habrá diferencias en el perfil electroforético de globulinas y albúminas de semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> (var Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray) en la ciudad de Ayacucho 2021?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL -Evaluar el perfil electroforético de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray). Ayacucho 2021.</p> <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</p> <ol style="list-style-type: none"> Determinar el número de bandas proteicas de globulinas y albúminas de dos variedades de semilla de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray). Ayacucho 2021. Estimar el peso molecular de globulinas y albúminas de dos variedades de semilla de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray). Ayacucho 2021. Determinar la concentración proteica de globulinas y albúminas de dos variedades de semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray). Ayacucho 2021. 	<p>MARCO CONCEPTUAL:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Electroforesis -Cuantificación de polímeros -Amaranto -Albuminas -Globulinas <p>MARCO TEÓRICO El amaranto contiene de 15 a 18% de proteínas con un alto valor de aminoácidos esenciales como la lisina. Este grano de Amaranto tiene un contenido de calcio, fósforo, hierro, potasio, zinc, vitamina E y complejo de vitamina B.</p>	<p>HIPOTESIS GENERAL: El perfil electroforético de globulinas y albúminas de las variedades Oscar Blanco e INIA 414-Taray de las semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> es diferente.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTES: -Semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> "kiwicha" o amaranto, o achita</p> <p>INDICADOR: Variedad (var. Oscar Blanco y var. INIA 414-Taray)</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE: -Perfil electroforético de globulina y albúmina.</p> <p>INDICADOR: -Peso molecular (kDa) -Cuantificación de proteínas (mg/ml).</p>	<p>TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACIÓN: Descriptivo</p> <p>POBLACIÓN: Semillas de <i>Amaranthus caudatus</i> "Amaranto"</p> <p>MUESTRA: 3 Kg Semilla de <i>Amaranthus caudatus</i> "Amaranto" de cada var. Oscar Blanco y var. INIA414 Taray</p> <p>MUESTREO: Conveniencia</p> <p>METODOLOGÍA</p> <ul style="list-style-type: none"> - Procesamiento de la semilla - Extracción de las fracciones proteicas: - Diferencia de solubilidad de proteínas según Osborne - Electroforesis de proteínas (Método Laemmli) - Cuantificación de proteínas (Método Bradford) <p>ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Los datos obtenidos fueron ingresados a una base de datos en Microsoft Excel, presentados en tablas y figuras y que se mostrarán estadísticos descriptivos de tendencia central y de dispersión.</p>

**UNSCH**FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Bach. Cesar Arturo FLORES HUARACA
R.D.061-2023-UNSCH-FCB-D**

En la ciudad de Ayacucho, siendo las diez de la mañana del uno de marzo del año dos mil veintitrés; se reunieron los miembros del Jurado Evaluador en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presidido por el Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ; Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO (Miembro-Jurado), Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI (Miembro – Jurado); Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH (Miembro-4to Jurado); Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ (Miembro Asesor), actuando como secretario docente el Mg. Percy COLOS GALINDO; para presenciar la sustentación de tesis titulada: **“Perfil electroforético de globulinas y albúminas de dos variedades de semilla de *Amaranthus caudatus* (Oscar Blanco, INIA 414-Taray). Ayacucho 2021”**; presentado por el Bach. **Cesar Arturo FLORES HUARACA**; el Presidente luego de verificar la documentación presentada, indicó al secretario docente dar lectura a la documentación generada que refrenda el presente acto académico, luego de ello dispuso el inicio al acto de sustentación, indicando al sustentante que dispone de cuarenta y cinco minutos para exponer su trabajo de investigación tal como establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela Profesional de Biología. Culminada la exposición, el Presidente invitó a cada uno de los Miembros Jurado, a participar con sus observaciones, sugerencias y preguntas al sustentante. Culminada esta etapa, el presidente invitó al sustentante y al público asistente a abandonar momentáneamente el Auditorio para que los miembros del jurado evaluador puedan realizar las deliberaciones y calificaciones; cuyos resultados son los que se consignan a continuación:

Miembros del Jurado Evaluador	Exposición	Respuesta a preguntas	Promedio
Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO	15	15	15
Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI	16	15	16
Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH	17	16	17
		PROMEDIO	16

El sustentante alcanzó el promedio de 16 aprobatorio. Acto seguido, el presidente autorizó el ingreso del sustentante y el público al Auditorio dando a conocer los resultados, e indicando que de este modo se da por finalizado el presente acto académico, siendo las doce y cinco del mediodía; firmando al pie del presente en señal de conformidad.


Dr. Saúl Alonso CHUCHÓN MARTÍNEZ
Presidente
Dr. Jesús DE LA CRUZ ARANGO
Miembro – Jurado
Dr. Raúl Antonio MAMANI AYCACHI
Miembro – Jurado
Blgo. Tomás Yuret MIRANDA TOMASEVICH
Miembro – Jurado
Dra. Roberta Brita ANAYA GONZÁLEZ
Miembro – Asesor
Mg. Percy COLOS GALINDO
Secretario – Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

DECANATURA - ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS

N° 04-2024-FCB-D

Yo, VÍCTOR LUIS CÁRDENAS LÓPEZ, Director de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **Perfil electroforético de globulinas y albúminas en dos variedades de semilla de Amaranthus caudatus (Oscar Blanco, INIA 414-Taray). Ayacucho 2021** por **CESAR ARTURO FLORES HUARACA**; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 19%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 11 de enero de 2024.


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA


Dr. Víctor Luis Cárdenas López
DIRECTOR

Perfil electroforético de
globulinas y albúminas en dos
variedades de semilla de
Amaranthus caudatus (Oscar
Blanco, INIA 414-Taray).

Ayacucho 2021

por CESAR ARTURO FLORES HUARACA

Fecha de entrega: 11-ene-2024 08:42a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2269367478

Nombre del archivo: ORES_-_HUARACA-_Cesar-pregrado_Tesis-_2023_TURNITIN_word_2.docx (669.91K)

Total de palabras: 9181

Total de caracteres: 49881

Perfil electroforético de globulinas y albúminas en dos variedades de semilla de *Amaranthus caudatus* (Oscar Blanco, INIA 414-Taray). Ayacucho 2021

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%	17%	1%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	www.upao.edu.pe Fuente de Internet	2%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	2%
4	bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8180 Fuente de Internet	1%
5	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.undac.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	www.revistas.unitru.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	1%

9	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	1 %
10	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1 %
11	tjmbb.org Fuente de Internet	1 %
12	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1 %
13	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	Submitted to Universidad Anahuac México Sur Trabajo del estudiante	<1 %
15	www.scielo.cl Fuente de Internet	<1 %
16	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1 %
17	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1 %
18	www.mysciencework.com Fuente de Internet	<1 %

19

Submitted to Universidad San Francisco de Quito

Trabajo del estudiante

<1 %

20

cybertesis.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

21

pdfcoffee.com

Fuente de Internet

<1 %

22

Escuela Izquierdo, Niza Mar. "Nepeta teydea Webb & Berthel. Caracterización estructural y cinética de la respuesta estrés lumínico.

Desarrollo de un modelo biológico de detección de cambio climático.", Universidad de La Laguna (Canary Islands, Spain), 2022

Publicación

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo