

Contenido de aceite, ácidos grasos y escualeno en variedades crudas y procesadas de grano de amaranto

Brenda Rodas, Ricardo Bressani

Centro de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Instituto de Investigaciones. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala

RESUMEN. Seis variedades de Amaranto fueron procesadas para dar una harina cruda, una nixtamalizada, una cocida en agua, otra expandida, una malteada y una laminada después de un tratamiento térmico. Los valores analíticos en estas muestras se compararon con los valores en una muestra cruda. Los granos crudos contenían de 14.5% a 15.1% de proteína, 5.9 a 6.7 de grasa, y 2.3% a 3.2% de cenizas. Las harinas de las variedades de diferentes procesos dieron un contenido de grasa que varía entre 6.4% - 7.0%. Las harinas de procesos en seco contenían mas aceite que las de procesos en húmedo (cocida en agua). El aceite de tres variedades y de 4 procesos fue analizado por su contenido de ácidos grasos, dando en promedio 17.85% de C16:0, 68.1% de oleico + linoléico, 3.86% C18:3, 5.1% de C20:0 y cantidades menores de C20:1 y C22:0. El contenido de escualeno en el aceite de las harinas de los diferentes procesos fue de 7.0-9.6 g/100 g para la harina cruda, de 8.1-12.6 g/100 g para la de cocción húmeda, 9.0-12.7 g/100 g para la nixtamalizada, 10.1-12.8 g/100 g para la expandida, 9.0-11.2 g/100 g para la malteada y 6.0-9.5 g/100 g para la harina laminada.

Palabras clave: Aceite, ácidos grasos, escualeno, amaranto en grano crudo y procesado.

SUMMARY. The oil, fatty acid and squalene content of varieties of raw and processed grain amaranth. Six amaranth grain varieties were processed to yield a nixtamalized flour, one cooked in water, one expanded, a malted one and a laminate samples after a thermic treatment. The chemical values of the raw samples contained from 14.5% to 15.1% protein, 5.9 to 6.7% ether extract and from 2.3% to 3.2% ash on a dry weight basis. The flours from the different processes yield products with a fat content which varied from 6.4% to 7.0% for the 6 varieties. The flours coming from dry heat processing contained higher oil levels than those flours coming from wet processes. The oil from only 3 varieties and from 4 processes were analyzed from its fatty acid composition. The oil contained on the average 17.85% of C16:0, 68.1% of stearic, olic and linoleic acids, 3.86% of C18:3, 5.1% of C20:0 and small amounts of C20:1 and C22:0. The squalene content in the oil of the processed flours varied from 7.0 to 9.6 g/100 g for the raw flour, 8.1 - 12.6 g/100 g for the flour from wet cooking in water, 9.0 -12.7g/100 g for the flour from the nixtamalization process, 10.1-12.8g/100 g for the expanded grain flour, 9.0 to 11.2 g/100 g for the malted flour and 6.0 -9.5 g/100 g for the laminated grain flour. The squalene averages per process showed statistical significant differences.

Key words: Oil, fatty acids, squalene, amaranth grain, raw and processed.

INTRODUCCION

Históricamente, el grano de amaranto, es probablemente junto al maíz, el grano que tiene su presencia en América cuatro mil años antes de Cristo. Los primeros en utilizarlo fueron los Mayas y los Aztecas en sus ceremonias religiosas que fueron abolidas por los conquistadores, logrando con eso una caída sustancial de la producción y disponibilidad a pesar de sus grandes bondades nutricionales (1-3).

La familia Amaranthacea comprende más de 60 géneros y 800 especies. El *Amaranthus hypochondriacus* y el *Amaranthus cruentus* cultivados en Mesoamérica (México y Guatemala) y el *Amaranthus caudatus* cultivado en el Perú, se producen en panojas llenas de una pequeña semilla. Además de las especies que producen granos, existen otras especies que ofrecen sus hojas como verdura de alto valor nutritivo tanto por su contenido de proteína como de vitaminas y minerales (4,5).

Por su tolerancia a condiciones ambientales adversas, el grano de amaranto ofrece gran potencial para ser cultivado en varias regiones de Guatemala reportando buenos rendimientos (6,7). La composición química y el valor nutritivo de las variedades de amaranto cultivadas en Guatemala, han sido ampliamente estudiadas (6,8,9) y su contenido proteico (14%-18%) es de alta calidad biológica por su contenido en aminoácidos esenciales en particular lisina. Además es un excelente complemento a la proteína del maíz, sorgo, arroz y trigo y de otro tipo de alimentos como el frijol, leche, soya y avena (9-11).

El aceite procedente del grano de amaranto (5%-8%) presenta un atractivo balance de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (12-16). No se han publicado muchos estudios que indiquen si las diferencias en el contenido de grasa y de ácidos grasos sea debido a efectos genéticos o a efectos ambientales. Saunders y Becker (4) indican que variables agronómicas son responsables por las

diferencias en el contenido de ácidos grasos. Estos resultados han sido respaldados por Ayorinde y col (15) y Berganza y col (16). El procesamiento al cual se somete la semilla para su consumo también puede afectar el contenido de ácidos grasos. Singhal y Kulkarni (14) informaron de una reducción significativa, entre 75.5% y 62.3% en el porcentaje de insaturación en el aceite, siendo el ácido linoléico el más afectado con una disminución de 27.0% a 40.8%.

El aceite de amaranto es considerado como una fuente rica en escualeno (16-18) que se aproxima a los contenidos informados para el aceite de tiburón (19). Aunque los valores en el amaranto son muy variables, esta variabilidad depende de los genotipos estudiados y de la cantidad de insaponificables aislados del aceite, pues la molécula del escualeno presenta alta estabilidad (16,17). Lyon y Becker (12) informan valores de 7.4% en el aceite de amaranto de especie *Amaranthus Cruentus*, mientras que Ayorinde y col. (15) informan valores de $3.01\% \pm 0.81\%$ de escualeno en el aceite de 13 variedades, con una variación de 1.88% a 4.66% del aceite.

La aplicación de procesos de cocción al grano de amaranto, hace que se tenga un control en la elaboración de productos de amaranto, particularmente si se utiliza harina de amaranto expandido. Durante el proceso de expansión, el grano de amaranto es expuesto a temperaturas muy elevadas aunque por corto tiempo, y en algunas ocasiones se expone a aire a contracorriente, para obtener un máximo rendimiento en volumen, lo que provoca la aparición de productos de oxidación proveniente de los ácidos grasos. Este proceso según Singhal y Kulkarni (14) indujo un aumento del 15.5% en el contenido de escualeno. Lyon y Becker (12) indicaron que el refinamiento alcalino del aceite de amaranto es responsable del aumento en escualeno observado por esos autores, en donde el escualeno aumento de 6.96% a 8.01% del aceite. El efecto de otros procesos sobre el contenido de escualeno del amaranto no ha sido informado. El escualeno es un compuesto isoprenoide similar en su estructura al beta-caroteno y es un metabolito intermedio en la síntesis de colesterol. El escualeno consumido se distribuye en el tejido animal con una concentración alta en la piel. No es muy susceptible a la peroxidación siendo protector a la exposición de radiación UV y radiación ionizante (20,21). El principal uso terapéutico hoy día del escualeno, es como de terapia adjunta para una variedad de cáncer (24).

MATERIALES Y METODOS

Materiales

Variedades de Amaranto

La semilla de seis variedades de *Amaranthus Cruentus*, fueron cultivadas en el área subtropical de Guatemala a una altura de 100 m sobre el nivel del mar en parcelas de 3 metros

de ancho y 50 metros de largo. Después de 120 días se cosechó el grano y se trasladó al laboratorio en donde fue limpiado de residuos de cosecha. Muestras de cada variedad fueron tomadas para producir harina de amaranto crudo, harinas de amaranto cocido en agua, cocido por nixtamalización (cocción alcalina), expandido, malteado y laminado. Las harinas se produjeron moliendo el grano procesado ya seco en un Cyclone Sample Mill de la UDI Corporation.

Métodos

Tratamiento de los granos de las variedades de amaranto

Una muestra de 1.5 kg de grano entero de cada variedad fue lavada con una solución al 0.5% de bicarbonato de sodio y luego con agua destilada. Después de eliminar el agua superficial se puso en un horno de convección a 50°C para secar el grano.

Cocción en agua

Una muestra de 300 g de grano limpio se cocinó en agua por 35 minutos a ebullición. El agua se descartó y el grano cocido fue secado a 65°C a peso constante y se molió a 80 mesh.

Nixtamalización

Una muestra de 300 g fue cocida en agua con 0.6% de cal del peso de grano por 10 minutos. Luego se lavó y se secó a peso constante (22) para finalmente molerlo a 80 mesh.

Expansión

El grano limpio (300 g) se expandió poniéndolo sobre una superficie a 180° – 200°C por 20 – 30 segundos. Como en los casos anteriores se molió a 80 mesh.

Laminado

El método consistió en moler el amaranto cocido y hacer una masa con la cantidad suficiente de agua para después pasarlo por un laminador y obtener hojas de 0.1 mm de espesor.

Malteado

Luego de dejar el grano limpio en remojo por 12 horas se puso a germinar por 24 – 48 horas a 36°C manteniéndolo húmedo. Al aparecer el brote de germinación el grano se maltea poniéndolo a 60°, 75° y 95°C por 1 hora en cada temperatura. Luego se molió a 80 mesh.

Extracción de aceite

Una muestra de 5 ± 0.001 g de harina de amaranto crudo o procesado se colocó en una unidad extractora tipo Soxhlet, por un espacio de 8 horas según lo recomendado por el método oficial de la AOAC (23). Se utilizó como disolvente, éter de

petróleo (bp 40 – 60°). El aceite extraído fue almacenado en frío a 4°C hasta su posterior análisis.

Extracción y aislamiento de escualeno

La extracción, aislamiento y cuantificación de escualeno del aceite de amaranto ha sido realizada por los métodos de la AOAC (25) y del método utilizado por He y col (17). Todas las muestras fueron analizadas en duplicado.

Obtención de los insaponificables

5.0 ± 0.001 g de aceite de amaranto crudo y procesado fueron pesados en una balanza analítica para disolverlos en una mezcla de 20 ml de etanol 95% y 3 ml de solución concentrada de KOH, manteniendo la mezcla en ebullición por 30 minutos, agitando constantemente. Después se enfrió rápidamente y se transfirió la mezcla a un separador donde se lavó con 20 ml de etanol 95% y 40 ml de agua. Los insaponificables obtenidos fueron extraídos 5 veces con 50 ml de éter de petróleo cada vez para eliminar la solución jabonosa (17,25). Los resultados de los 5 extractos fueron lavados con fracciones de 25 ml de agua cada vez, agitando vigorosamente, hasta que el agua de lavado quedó libre de álcali, es decir hasta que el agua de lavado no dio coloración rosa al contacto con indicador de fenolftaleína a 1% en etanol.

La solución etérea fue secada por filtración con sulfato de sodio anhidro y el éter de petróleo fue removido completamente de la muestra por evaporación. Finalmente se pesaron los insaponificables.

Purificación de los insaponificables en columna cromatográfica de adsorción

Los insaponificables obtenidos en la etapa anterior, fueron purificados y aislados por adsorción en una columna cromatográfica de 8 mm i.d. y 30 cm de longitud, con tope de teflón y 25 ml de capacidad.

Se adicionó alúmina adsorbente a la columna hasta aproximadamente 10 ml de altura, aplicando suficiente presión para compactarla. En los extremos superior e inferior se ha usado algodón como filtro (17,23).

Se acondicionó la columna lavándola con 15 ml de éter de petróleo y manteniéndola húmeda hasta su utilización.

Para cargar la columna con la muestra, se disuelven los insaponificables en 5 ml de éter de petróleo y se transfieren a la columna de adsorción con una pipeta pasteur. Cuando la solución está dentro de la columna, se adicionan 5 ml de éter de petróleo usados previamente para lavar el recipiente de contención de la muestra. Luego se siguió adicionando éter de petróleo de 5 en 5 ml hasta haber eluido un volumen total de 50 ml. La velocidad de elusión no debe ser mayor de 1 ml/min. Al terminar la elusión, lavar la columna con 40 ml de éter de petróleo y acondicionar nuevamente hasta la siguiente

elusión. Finalmente todo el disolvente de la muestra es removido hasta total sequedad.

Cuantificación de escualeno

El residuo inadsorbido por la columna de adsorción, fue redisolto en 5 ml de diclorometano y se añadió luego una cantidad suficiente de solución de sulfato-bromo-piridina para obtener un exceso del 50% o más del halógeno, o sea aproximadamente 10 ml.

Se mezcló en la oscuridad por 5 minutos y a la reacción resultante se le agregaron 5 ml de KI al 10% juntamente con 40 ml de agua, agitando vigorosamente. Por último se utilizó una solución de tiosulfato de sodio 0.05 N para la titulación del halógeno.

Al mismo tiempo se examinó un blanco de reactivos, y el cálculo del contenido de escualeno se basó en las proporciones sugeridas en el método oficial de la AOAC (23). Los resultados se han reportado como mg de escualeno/100 g de aceite.

Análisis de ácidos grasos

Los ácidos grasos del aceite de amaranto han sido analizados por cromatografía de gases (GC) utilizando el método propuesto por la AOAC (23) para la preparación e identificación de ésteres metílicos (FAMES) de ácidos grasos.

El sistema cromatográfico utilizado fue un HP-5890 II/Chemstation equipado con ionizador de flama FID. Se utilizó una columna cromatográfica SPB-5 (30 m x 0.53 mm i.d. x 0.5 µm).

Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron: corriente de nitrógeno (47 psi) con split, acarreador 2 psi en cabeza de columna, helio como gas inerte 12 psi, aire 35 psi, temperatura del inyector 250°C, temperatura del detector FID 260°C, temperatura del horno 200°C con una rampa de temperatura de 10°C/min hasta 250°C, 17 min, volumen de inyección 1.0 microlitro. Los picos fueron identificados por comparación de estándares de FAMES (SIGMA, Aldrich).

RESULTADOS

La Tabla 1 resume los datos de composición química de las 6 variedades de amaranto de grano. A pesar del contenido bajo de humedad, el contenido de proteína varió de 14.5% – 15.1%, y el de grasa entre 5.9% – 6.7%. La Tabla 2 resume el porcentaje de aceite encontrado en las 6 variedades de amaranto sometidas a procesamiento. El contenido de aceite promedio por proceso fue mayor en muestras de procesos en seco como el expandido, el malteado y el laminado que de los procesos en húmedo.

TABLA 1
Composición química proximal de variedades de amaranto crudos, g/100g

Variedad	Humedad	Proteína	Grasa	Ceniza	Fibra Cruda	Carbohidratos
K-227	9.4 ± 0.1ab	15.1 ± 0.7	6.2 ± 0.1	2.6 ± 0.1abc	4.0 ± 0.2	62.6 ± 0.4
D-70-1	9.1 ± 0.2ab	14.8 ± 0	6.2 ± 0.1	2.4 ± 0abc	4.2 ± 0	63.2 ± 0.2
A-200-D	9.0 ± 0.1b	14.8 ± 0.1	6.5 ± 0	2.3 ± 0abc	4.1 ± 0	63.4 ± 0.1
Don Armando	9.2 ± 0.6ab	14.5 ± 0.1	6.4 ± 0.2	3.2 ± 0.1abc	3.8 ± 0.3	62.9 ± 0.5
Alegría Disciplinada	9.7 ± 0.3ab	14.5 ± 0.1	5.9 ± 0.4	2.9 ± 0.2ab	4.7 ± 1.3	62.2 ± 2.1
Montana	10.2 ± 0a	14.5 ± 0.4	6.7 ± 0.1	3.3 ± 0.1a	3.8 ± 0.2	61.6 ± 1.6
	s	Ns	ns	s	ns	Ns

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente diferentes.

TABLA 2
Contenido de aceite en variedades de grano de amaranto con respecto al proceso, g/100g

Variedad	Crudo	Cocción Agua	Cocción Alcalina	Expandido	Malteado	Laminado	Promedio
K-227	6.5 ± 0.13	6.6 ± 0.03	6.8 ± 0.22	7.6 ± 0.29	6.9 ± 0.22	6.5 ± 0.13	6.81
D-70-1	6.7 ± 0.19	6.5 ± 0.47	6.2 ± 0.70	7.4 ± 0.70	6.6 ± 0.70	6.5 ± 0.03	6.65
A-200-D	6.8 ± 0.21	6.9 ± 1.38	6.3 ± 1.45	6.7 ± 0.19	7.3 ± 1.45	6.5 ± 0.52	6.75
Don Armando	6.3 ± 0.18	6.08 ± 0.19	6.6 ± 0.12	6.1 ± 0.12	6.1 ± 1.63	7.3 ± 1.37	6.53
Alegría Disciplinada	6.4 ± 0.04	6.6 ± 0.17	6.9 ± 0.22	6.9 ± 0.35	8.6 ± 0	6.6 ± 0.22	7.00
Montana	6.9 ± 0.36	5.2 ± 0.22	6.9 ± 0.16	7.2 ± 0.25	6.1 ± 0.17	8.6 ± 3.06	6.82
Promedio	6.60	6.43	6.61	6.98	6.93	7.00	

Las diferencias entre variedades de grano no fueron significativas estadísticamente como tampoco fueron las diferencias entre procesos. La Tabla 3 presenta datos de ácidos grasos en el aceite de 3 variedades que fueron procesadas por cocción en agua, por nixtamalización y expansión. El ácido palmítico se encontró en un rango de 14.6% a 20.6%. No se obtuvo un fraccionamiento limpio entre el ácido esteárico, oleico y linoleico, representando el mayor contenido en el aceite. Esta cifra esta dada en su mayor cantidad por el linoleico

de acuerdo a la literatura consultada y por el ácido oleico (13-15). Los procesos húmedos en la semilla incrementan el contenido en comparación con el control, o sea no procesado, mientras que el grano procesado en seco reduce la cantidad de estos tres ácidos grasos. La cantidad de ácidos grasos C20:0 (araquidónico) parece aumentar en procesamiento de la semilla en seco. También se detectaron pequeñas cantidades de C20:1 y C22:0.

TABLA 3
Composición de ácidos grasos en aceite de amaranto crudo y procesado (%)

Muestra	C14:0	C16:0	C18:0+18:1+18:2	C18:3	C20:0	C:201	C22:0
Crudo	D-70-1	-	20.65	75.52	3.82	-	-
	A-200-D	0.18	18.47	73.69	4.04	0.35	0.38
	Don Armando	-	18.38	48.17	3.45	-	-
Cocción agua	D-70-1	-	17.01	75.41	3.83	0.49	0.88
	A-200-D	-	18.83	70.53	4.63	1.92	1.24
	Don Armando	-	18.77	71.98	4.16	2.44	0.37
Nixtamalizado	D-70-1	-	15.66	73.40	3.54	0.62	5.40
	A-200-D	-	18.94	71.88	4.57	1.15	0.91
	Don Armando	-	18.21	61.17	3.40	8.91	1.14
Expandido	D-70-1	-	14.59	59.37	3.40	19.53	1.72
	A-200-D	-	15.50	66.21	3.69	11.39	1.23
	Don Armando	-	19.12	70.00	3.73	3.83	1.34

C14:0 ácido mirístico; C16:0 ácido palmítico; C18:0 ácido esteárico; C18:1 n-9 ácido oleico; C18:2 n-6 ácido linoleico; C18:3 n-3 ácido alfa-linolénico; C20:0 ácido araquídico; C20:1 ácido cis-eicosanoico; C22:0 ácido behénico

TABLA 4
Contenido de escualeno en harinas crudas y procesadas de amaranto de grano (g/100 g aceite)

Variedad	Crudo	Cocción agua	Cocción alcalina	Expandido	Malteado	Laminado
K-277	9.24 ± 0	10.30 ± 0.09	9.43 ± 0.29	12.47 ± 0.57	11.18 ± 0.45	8.15 ± 0.45
D-70-1	9.29 ± 0.27	12.66 ± 0.87	11.05 ± 0	10.16 ± 0.18	10.88 ± 0	8.04 ± 0
A-200-D	7.99 ± 0.08	12.14 ± 0	8.78 ± 0.01	10.05 ± 0.33	9.64 ± 0.31	5.52 ± 0
Don Armando	9.64 ± 0.21	11.32 ± 0.30	11.69 ± 0	12.34 ± 0	9.46 ± 0	6.95 ± 0.01
Alegría Disciplinada	8.05 ± 0.54	10.81 ± 0.23	12.73 ± 0	12.88 ± 0.63	8.92 ± 0	7.37 ± 0
Montana	6.98 ± 1.05	8.13 ± 0	11.74 ± 0	10.68 ± 0.30	9.59 ± 0.20	9.57 ± 0
Media	8.53e	10.89ab	10.90ab	11.43a	9.94abcd	7.60e

Letras diferentes indican diferencias estadística

Finalmente la Tabla 4 resume el contenido de escualeno en el aceite de los materiales crudos y procesados del presente estudio. Hubo diferencias estadísticamente significativas por variedad, así como también por proceso.

DISCUSION

La composición química proximal de las 6 variedades de amaranto son comparables a datos publicados anteriormente (6-8). Sin embargo el contenido de proteína se esperaba que fuera un poco más elevado. Las diferencias en el promedio de humedad fue significativo entre muestras, así como también en el contenido de cenizas. El contenido de aceite de las harinas obtenidas del amaranto procesado (Tabla 2) varía con respecto al contenido de aceite del amaranto crudo. Los materiales procesados en seco (expansión, malteado, laminado) contienen más aceite que las muestras crudas y las procesadas en medio líquido. La causa podría ser el rompimiento de la célula, permitiendo una mejor penetración del solvente y extrayendo por consiguiente mayores niveles de grasa.

Los principales ácidos grasos encontrados en el aceite de amaranto (Tabla 3) son el palmítico (16:0) en un porcentaje promedio de 18%, el ácido oleico (18:1 n-9) que juntamente con el ácido linoleico (18:2 n-6) hacen un total de 75% del total de ácidos grasos, y el ácido linoleico (18:3 n-3) presente en un 3% del total de ácidos grasos. Puede advertirse que la diferencia entre genotipos es mínima en cuanto al porcentaje de ácidos grasos, sin embargo, es significativa entre los procesos de cocción húmeda y expandido en los que se observa una diferencia de un 10% menos en el ácido linoleico, no siendo así para el proceso de nixtamalización. Cabe mencionar que la identificación realizada para los ácidos grasos sólo es una aproximación de los valores totales individuales. En experiencias futuras se estudiará la composición cuantitativa de los ácidos presentes en el aceite de amaranto.

El proceso de nixtamalización – expandido, dieron niveles de ácidos grasos insaturados en menor cantidad que el de cocción en agua y el crudo. Los valores de las extinciones a

234 – 268 nm reflejan que la aparición de productos primarios y secundarios de oxidación es mínima tanto para el proceso nixtamalizado (con cocción) – expandido con el proceso de nixtamalizado (sin cocción) – expandido.

El aceite de amaranto extraído contiene cantidades considerablemente altas de escualeno (Tabla 4). Los valores obtenidos están comprendidos en un intervalo de 7 a 9.6 g/100 g en el amaranto crudo y entre 6 y 12.8 g/100 g en el amaranto procesado, mismos que difieren de los citados en la literatura (4% – 8%) (12,15). La mayor variabilidad se observa en el amaranto tratado por expansión en el que los valores son superiores a los obtenidos en los otros procesos (10.1 – 12.8 g/100 g) que puede ser causado por la formación de productos de oxidación durante el proceso y que pueden ser contados como impurezas por lo que es aconsejable verificar la estructura del escualeno mediante análisis cromatográfico o espectrometría de masas.

CONCLUSIONES

El aceite de amaranto puede ser considerado como una fuente vegetal alternativa en la obtención de escualeno (8 – 12 g/100 g). Este porcentaje varía en proporción a la cantidad de insaponificables aislados durante la extracción. Los datos mostraron diferencias de escualeno entre variedades. Con la excepción del proceso de laminado del grano, los procesos de cocción en agua, la cocción alcalina, el de expansión y malteo dieron valores más altos de escualeno que los valores en la muestra cruda. Puede ser considerado también como fuente importante en la obtención de ácidos grasos esenciales como el linoleico y linolénico.

AGRADECIMIENTO

La información del presente documento viene principalmente del proyecto FODECYT 23-02 “Estudios Sobre la Industrialización del Grano de Amaranto, Caracterización Química y Nutricional de Productos

Intermedios y Finales del Procesamiento “, financiado parcialmente por FODECYT.

REFERENCIAS

1. National Research Council. Amaranth: Modern prospects for an ancient crop. Washington. National Academy Press. 1984 pp 153.
2. National Research Council. Board on science and technology for international development. Lost crops of the Imcas. National Academy Press, DC 1989.
3. Sánchez Marroquin, A. Potencialidad agroindustrial del amaranto. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo. México 1980.
4. Saunders RM and R Becker. In advances in cereal science and technology Vol. VI Ed. Y. Pomeranz, St. Paul, Mn, American Association of Cereal Chemists, pp. 357-396; 1984.
5. Bressani R. World needs for improved nutrition and the role of vegetables and legumes. In: 10th. Anniversary Monograph Series. Asian Vegetable and Development Center. Shanhua, Taiwan, Republic of China AV DC Pub. 83 – 185; 1983.
6. Bressani R, JM González, J Zuñiga, M Breuner and LG Elias. Yield, selected chemical composition and nutritional value of 14 selections of amaranth grain representing four species. *J Sci Food Agric.* 38:347 – 353;1987.
7. Bressani R, LG Elias, JM González and R Gómez-Brenes. The Chemicals composition and protein quality of amaranth grain germoplasm in Guatemala. *Arch Latinoamer Nut.* 37:364-377; 1987.
8. Bressani R, JM González, LG. Elias and M Melgar. Effect of fertilizer application on the yield, proteína and fat content, and protein quality of raw and cooked grain of three amaranth species. *Plant Food Human Nutr.* 37: 59 – 67; 1987.
9. Bressani R. The proteins of grain amaranth. *Food Rev Intl.* 5: 13 – 38; 1989.
10. Bressani R. Composition and nutritional properties of amaranth. Chap. 10 In: Amaranth, biology, chemistry and technology. Ed. O. Paredes-López CRC Press, Inc. 1994.
11. Breene WM. Food uses of grain amaranth. *Cereal Foods World* 36:426-430; 1991.
12. Lyon CK and R Becker, Estructure and refining of oil from amaranth seed. *J Am Oil Chem. Soc.* 64:233-235; 1987.
13. Becker R. Preparation, composition and nutritional implications of amaranth seed oil. *Cereal Foods World* 34:950-953; 1989.
14. Singhal DS and PR Kulkarni. Effect of puffing on oil characteristics of amaranth (Rajgeera) seeds. *J Am Oil Chem Soc.* 67:952 – 954; 1990.
15. FO Ayorinde, MO Ologunde, EY Nana, BN Bernard, OA Afolabi, OL Oke and RL Shepard. Determination of fatty acid composition of amaranthus species. *J Am Oil Chem Soc.* 66:1812 – 1814;1989.
16. Berganza BF, AW Moran, G Rodriguez, NM Coto, M Santa Maria y R Bressani, Effect of variety and location on the total fat, fatty acids and squalene content of amaranth. *Plant Food for Human Nutrition*, 58:1-6, 2003; 2003.
17. He Han-Ping, Y Cai, M Sun and H Corke. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain. *J Agric Food Chem.* 50:368 – 372; 2002.
18. Fitelson J. The occurrence of squalene in natural fats. *J Am Oil Chem Soc.* 26:506-509.
19. Heller JH, MS Heller, J Spanfer and E Clark. Squalene content of various shark livers. *Nature* 174:919; 1957.
20. Gylling H, Miettinen TA. Post absorptive metabolism of dietary squalene. *Atherosclerosis* 106: 169 – 178; 1994.
21. Miettinen TA, Vanhanen H. Serum concentration and metabolism of cholesterol during rapeseed oil and squalene feeding. *Am J Clin Nutr.* 59:356 – 363; 1994.
22. Bressani R and L Estrada, Effect of lime cooking of grain amaranth on selected chemical components and on its protein quality. *J. Agr. Food chem.* 42: 1998-2001; 1994.
23. AOAC. Official Methods of Analysis. 14th Edition 1984.
24. Kelly GS. Squalene and Its Potential Clinical Uses. *Altern. Med. Rev.* 4(1)29-36; 1999.

Recibido: 06-08-2008

Aceptado: 18-02-2009