

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**“PRODUCCIÓN INOCUA, VALOR NUTRITIVO Y SAPONINAS EN
EL GERMINADO DE HUAUZONTLE, CALABAZA, CANOLA Y
AMARANTO”**

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ROSARIO MELINA BARRÓN YÁNEZ

Chapingo, Estado de México, agosto del 2006



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

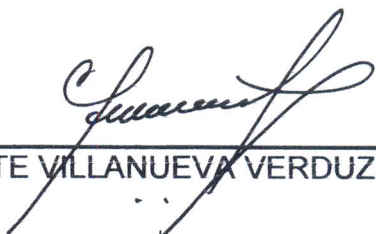


**PRODUCCIÓN INOCUA, VALOR NUTRITIVO Y SAPONINAS EN EL
GERMINADO DE HUAUZONTLE, CALABAZA, CANOLA Y AMARANTO**

Tesis realizada por **Rosario Melina Barrón Yáñez** bajo la dirección del Comité
Asesor indicado, por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el
grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

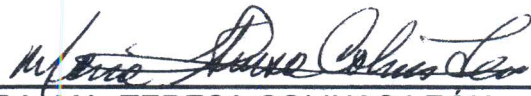
DIRECTOR:


DR. CLEMENTE VILLANUEVA VERDUZCO

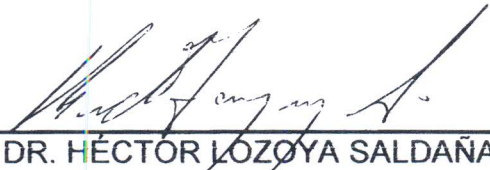
ASESOR:


DRA. MA. DEL ROSARIO GARCÍA MATEOS

ASESOR:


DRA. MA. TERESA COLINAS LEÓN

ASESOR:


DR. HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para llevar a cabo los estudios de Maestría en el Departamento de Fitotecnia.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Programa Docente de Horticultura por la oportunidad que me brindo para mi superación profesional.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la culminación de la tesis de Maestría en el Departamento de Fitotecnia.

Al Dr. Clemente Villanueva Verduzco, a la Dra. Ma. del Rosario García Mateos, a la Dra. Ma. Teresa Colinas León y al Dr. Héctor Lozoya Saldaña por su paciencia y dedicación en la dirección de ésta tesis.

Al laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y al laboratorio de Farmacología de la Facultad de Química en la UNAM; por apoyar en la realización de los análisis de la Tesis.

A los laboratoristas: Sr. Manuel Ayala y al Sr. Guillermo Caballero por el apoyo en el manejo de material y equipo de laboratorio.

Al MC. Alejandro Rodríguez Ortega por el apoyo incondicional.

A compañeros y amigos, dentro y fuera de la Universidad, de quien siempre sentí apoyo y afecto.

DEDICATORIAS

A mis padres: José Luis y Petra

A Alejandro con amor y respeto...

A mi más grande tesoro: ZAYETHZY YOALI. Te amo pequeña

¡MUCHAS GRACIAS!

Sinceramente Rosario Melina Barrón Yáñez

“El alimento es la medicina,
y la medicina el alimento...”

(Hipócrates)

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de la presente tesis, Ingeniero Agrónomo Rosario Melina Barrón Yáñez, es originaria de Pachuca, Hidalgo, donde nació el 05 de Octubre de 1979. Realizó estudios de Educación Media Superior y Educación Superior en la Universidad Autónoma Chapingo donde curso la carrera de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola de la que egresó en junio del 2002.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xv
1 INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	5
HIPÓTESIS	5
2 REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 Desnutrición, obesidad y sobrepeso	6
2.2 Semilla	10
2.2.1 Estructura de la semilla	11
2.2.2 Letargo	11
2.2.3 Germinación	12
2.2.4 Factores que intervienen en la germinación	13
2.2.5 Procesos bioquímicos de la germinación	13
2.2.6 Metabolismo de las proteínas en las semillas	16
2.2.7 Metabolismo de los lípidos en las semillas	17
2.3 Patógenos en la semilla	21

2.3.1 Localización de los patógenos en la semilla	21
2.3.2 Métodos de desinfección de semilla	23
2.3.3 Pruebas de sanidad de semillas	25
2.4 Germinados	25
2.4.1 Historia del germinado	25
2.4.2 Semillas para germinar	27
2.4.3 Importancia económica de los germinados	27
2.4.4 Germinados como hortaliza	28
2.4.5 Potencial alimenticio de las semillas germinadas	28
2.4.6 Valor nutrimental de algunas semillas germinadas	29
2.4.7 Métodos para obtener germinados	34
2.4.8 Beneficio en la salud	37
2.5 Huauzontle	40
2.6 Calabaza	41
2.7 Colza, Nabo Silvestre o Canola.....	43
2.8 Amaranto	44
2.9 Análisis de alimentos	48
2.10 Análisis proximal	48
2.10.1 Proteína cruda	49
2.10.2 Extracto etéreo.....	50
2.10.3 Cenizas	50
2.10.4 Fibra cruda.....	51
2.11 Saponinas	51
2.11.1 Estructura química y clasificación	52

2.11.1.1 Saponina con genina esteroídica	52
2.11.1.2 Saponina con genina triterpénica	53
2.11.2 Propiedades fisiológicas y farmacológicas de las saponinas...	55
2.11.3 Efecto de las saponinas en mamíferos y aves	57
2.11.4 Toxicidad de las saponinas	57
2.11.5 Papel de las saponinas en la prevención de enfermedades cardiovasculares	58
2.11.6 Uso de las saponinas	59
2.11.7 Métodos de detección de saponinas	60
2.11.7.1 Cualitativos	60
2.11.7.2 Cuantitativos	60
 3 MATERIALES Y MÉTODOS	 62
3.1 Semillas para los germinados	62
3.2 Diseño de tratamientos y experimental	63
3.3 Pruebas de germinación	63
3.4 Obtención de Germinados	64
3.5 Variables respuesta	69
3.6 Análisis proximal	71
3.6.1 Proteína cruda	71
3.6.2 Extracto etéreo	72
3.6.3 Cenizas	72
3.6.4 Fibra cruda	73
3.6.5 Carbohidratos	73

3.7 Saponinas	74
3.7.1 Identificación preliminares.....	74
3.7.2 Método semi cuantitativo de saponinas y sapogeninas	75
3.7.2.1 Desengrasado de las muestras	75
3.7.2.2 Extracción de las saponinas y sapogeninas	75
3.7.2.3 Cuantificación de saponinas por Método de la Hemólisis	76
3.8 Análisis estadístico.....	80
 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 81
4.1 Pruebas de germinación	81
4.2 Obtención de los germinados inocuos	81
4.2.1 Desinfección de semilla de huauzontle, calabaza y canola.....	81
4.2.1.1 Experimento para determinar la desinfección adecuada de la semilla de amaranto.....	82
4.2.1.2 Sanidad del germinado	83
4.2.2 Cosecha	85
4.2.3 Productividad del germinado	85
4.3 Análisis proximal	87
4.3.1 Proteína.....	87
4.3.2 Extracto etéreo	88
4.3.3 Cenizas	89
4.3.4 Fibra cruda	89
4.3.5 Humedad.....	90
4.3.6 Carbohidratos.....	90

4.3.7	Calorías	91
4.4	Saponinas	93
4.4.1	Identificación preliminares	93
4.4.2	Método semi cuantitativo de saponinas y sapogeninas	94
5	CONCLUSIONES	98
6	LITERATURA CITADA	101
7	PÁGINAS WEB PARA CONSULTA SOBRE GERMINADOS	110
8	ANEXOS	112

ÍNDICE DE CUADROS

1. Recomendaciones de energía (Kcal) y proteínas (g) por día.	9
2. Requerimientos nutricionales por individuo por día.	10
3. Contenido nutricional de algunas semillas germinadas (100g materia fresca)	30
4. Valor nutritivo y ventajas de los germinados de algunas especies.....	32
5. Composición de 100 g de parte comestible de calabaza	42
6. Análisis bromatológico de la panícula de huauzontle, semilla de canola y amaranto, en una muestra de 100 g peso seco.	46
7. Valor nutritivo de la panícula de huauzontle, semilla de calabaza, plántula de canola y semilla de amaranto (100 gramos de alimento crudo en peso neto)	47
8. Arreglo de los tratamientos para la desinfección de semillas de amaranto	69

9. Porcentaje de germinación de las semillas	81
10. Efecto del método de desinfección sobre el crecimiento, aspecto y el % de infección del germinado en amaranto a los nueve días después de la siembra.....	84
11. Incremento de peso y volumen de la semilla al germinado, tamaño final del germinado y periodo de siembra a cosecha.	87
12. Contenido proximal de semillas y germinados de cuatro especies cultivadas (g/100 g).....	92
13. Identificación cualitativa saponinas en semillas y germinados de cuatro especies.....	93
14. Contenido de saponinas en semillas y germinados de las especies de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, mediante la técnica de la hemólisis (mg de saponinas/100 g materia seca).	96

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Reacciones del ciclo del ácido glioxílico en relación al ciclo del ácido cítrico (Richter, 1971).....	18
2. Espirostano, estructura hexacíclica clásica de las saponinas esteroidales.....	53
3. Furostanol, estructura pentacíclica clásica de saponinas esteroidales.	53
4. Lupeol, estructura pentacíclica clásica de saponinas triterpénicas.....	54
5. Dammarano, estructura tetracíclica clásica de saponinas triterpénicas.	55
6. Método para siembra en charolas. A) Charola vacía y desinfectada; B) primera capa de yute; C) primera capa de organza; D) capa de semilla; E, F) segunda capa de organza y yute, y G) producto final.	66
7. Instrumentos utilizados para la cuantificación hemolítica de saponinas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto. a) Placa en “U”; b) Pipeteador de gota; c) Microdilutor y d) Placas calibradoras de microdilutor.	79

8. Placa con el resultado de la hemólisis de cada muestra.	79
---	----

0

9. Comparación entre la semilla y el germinado de huauzontle, calabaza, canola y amaranto en relación al contenido de saponinas.....	96
---	----

0

0

0

"PRODUCCIÓN INÓCUA, VALOR NUTRITIVO Y SAPONINAS EN EL GERMINADO DE HUAUZONTLE, CALABAZA, CANOLA Y AMARANTO"

"HEALTHY PRODUCTION AND NUTRITIONAL VALUE OF HUAUZONTLE, PUMPKIN, CANOLA AND AMARANTH SPROUTS"

RESUMEN

La investigación se realizó en la Universidad Autónoma Chapingo, utilizando semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto producidas en el Campo Experimental de la misma Universidad. Se utilizó hipoclorito de calcio a una concentración de 0.06 % para desinfectar las semillas de huauzontle, calabaza y canola; y para amaranto se utilizó ioduro de potasio al 0.005 y 0.01 % e hipoclorito de calcio al 0.06 y 0.08 %. Las variables evaluadas en los germinados fueron: peso y volumen final, índice de conversión, apariencia, porcentaje de infección y tamaño del germinado. A la semilla y al germinado de las cuatro especies se les realizó un análisis proximal y se cuantificaron las saponinas. Los resultados indicaron que el mejor desinfectante para huauzontle, calabaza y canola fue el hipoclorito de calcio al 0.06 % durante 8 horas; y para amaranto fue el Ioduro de potasio al 0.005 % durante 16 horas. El contenido de extracto etéreo (lípidos) en las semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto fue mayor (6.21, 18.75, 28.42 y 7.03 % respectivamente); que en su correspondiente germinado (2.26, 29.24, 8.47 y 3.19 % respectivamente). El contenido de proteína en la semilla fue de 17.83 % en huauzontle, 31.56 % en calabaza, 17.38 % en canola y 16.73 % en amaranto, mientras que en el germinado fue de 21.19 %, 34.4 %, 27.81 % y 20.43 %, en el mismo orden anterior. La cantidad de saponinas en la semilla de huauzontle, calabaza, canola y amaranto fue de 5280.57, 0.00, 35.77 y 42.84 mg/100 g de muestra seca, respectivamente; mientras que en germinado fue de 2873.23, 155.40, 429.81 y 491.45 mg/ 100 g.

Palabras clave: Germinados, análisis proximal, Saponinas, *Chenopodium* sp., *Cucurbita pepo*, *Brassica napus*, *Amaranthus* sp.

SUMMARY

This research was done at the *Universidad Autonoma Chapingo*, with *huauzontle*, pumpkin, canola and amaranth seeds harvested at the Experimental Station at this same university. A 0.06% concentration of calcium hypochlorite was used to disinfect the *huauzontle*, pumpkin and canola seeds, while 0.005 and 0.01% concentrations of potassium iodide and 0.06 and 0.08% concentrations of calcium hypochlorite were used to disinfect the amaranth seeds. The variables that were evaluated were: final weight and volume, conversion index, appearance, infection percentage, and sprout size. A proximal analysis and quantified saponins was made of the seeds and sprouts from the four species. The results indicated that the best disinfectant for *huauzontle*, pumpkin and canola seeds was a 0.06 % concentration of calcium hypochlorite for 8 hours and a 0.005% concentration of potassium iodide for amaranth seeds for 16 hours. The lipid content in the *huauzontle*, pumpkin, canola and amaranth seeds was greater (6.21, 18.75, 28.42 and 7.03 %, respectively) than in their corresponding sprouts (2.26, 29.24, 8.47 and 3.19%, respectively). The protein content in the seeds was: 17.83% in *huauzontle*, 31.56 % in pumpkin, 17.38 % in canola, and 16.73% in amaranth. The protein content in sprouts was: 21.19%, 34.4%, 27.81% and 20.43 %, in the same previous order. The saponins content in the seeds was: 5280.57, 0.00, 35.77 and 42.84 mg/100 g of dry sample, respectively. The saponins content in the sprouts was: 2873.23 in *huauzontle*, 155.40 in pumpkin, 429.81 in canola, and 491.45 mg/100 g dry sample in amaranth

Key words: Sprout, proximal analysis, Saponins, *Chenopodium* sp., *Cucurbita pepo*, *Brassica napus*, *Amaranthus* sp.

1 INTRODUCCIÓN

En México, aproximadamente el 50 % de la población tiene una condición económica baja y vive en pobreza extrema. Esto le dificulta tener acceso a una alimentación constante, sana y balanceada. Una de las principales deficiencias nutricionales se presenta por el bajo consumo de proteínas, vitaminas y minerales. Ante esta situación surge la necesidad de producir alimentos con altos niveles nutritivos, accesibles y de bajo costo, siendo una alternativa la utilización de semillas germinadas de cereales, leguminosas y oleaginosas, ya que éstos aumentan en gran medida su peso, volumen y valor nutritivo, sobre todo en vitaminas. Los germinados son un alimento completo, y fácil de producir, cuyo empleo podría contribuir a resolver en parte problemas de desnutrición (Domínguez, 1992).

En países como Estados Unidos, la alimentación moderna de una gran parte de la población, esta compuesta por carne en abundancia, frituras, alimentos de rápida preparación, harinas y azúcares refinados, por lo que siete de cada diez adultos de este país padecen de alguna enfermedad relacionada con el corazón o con algún tipo de cáncer, entre otras (Millas, 1999)

Paralelamente en México, las primeras causas de mortalidad del 2002 al 2005 están relacionadas con problemas del corazón, con diabetes y obesidad. Para reducir estos problemas de salud, es suficiente con cambiar algunos hábitos alimenticios. Se puede empezar incluyendo en la alimentación a los germinados (Domínguez, 1992).

Los germinados son un alimento completo (Obizoba, 1991). Debido a la técnica tan sencilla de producirlos y manera de prepararlos, los germinados son usados en condiciones extremas. Resuelven el problema de alimentación en casos fuera de lo común, debido a que no requieren de mucho espacio para guardarse, ningún cuidado especial y tampoco refrigeración (Dominguez, 1992). Para producir germinados es necesario que la semilla se encuentre en óptimas condiciones fisiológicas para germinar, y sobre todo que no haya recibido algún tratamiento químico que ponga en riesgo la salud.

La semilla es una estructura de reposo que se define en un sentido botánico estricto, como un óvulo fecundado con disponibilidad de reservas. Los hidratos de carbono son los constituyen más comunes en las semillas y, de ellos, el almidón es la forma en que aparece frecuentemente. El almidón se acumula en el endospermo y en los cotiledones; es un polisacárido que se compone de dos polímeros: la amilosa y la amilopectina (Besnier 1988).

Las semillas contienen una gran variedad de proteínas. Usualmente se dividen en cuatro grupos: albúminas, globulinas, gluteninas y prolaminas. Son diferentes en cada especie vegetal (García-Agustín y Primo-Millo, 1996).

Los lípidos que contiene la semilla son fundamentalmente triglicéridos, aunque también existen los fosfolípidos y glucolípidos, más complejos. Otros

compuestos de los vegetales tales como las saponinas y el inhibidor de la proteasa son considerados como antinutricionales. Sin embargo, poseen beneficios para el ser humano en lo que se refiere a la prevención del cáncer y enfermedades del corazón.

En particular, las saponinas ejercen un efecto benéfico al contribuir en la disminución del colesterol. Estudios realizados en animales y seres humanos indican que aumenta la excreción fecal del colesterol y de ácidos biliares, además de disminuir el colesterol total del plasma. Tienen además reacción anticarcinogénica en células animales. En un estudio realizado por Xia Xu (2004), se encontró que el contenido de saponinas en el germinado de alfalfa aumenta aproximadamente 4.5 veces con respecto al existente en la semilla.

Aunque existen estudios que demuestran la presencia de saponinas en familias de plantas tales como Agavaceae, Solanaceae y Lilaceae, entre otras, es de interés conocer la cantidad aproximada de éstos compuestos tanto en la semilla como en el germinado de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, ya que este tipo de estudio no se ha realizado hasta el momento.

En germinados de especies como huauzontle y canola, no existe información sobre análisis proximal y contenido de saponinas, siendo el huauzontle una de las especies mas prometedoras para una buena alimentación.

Si bien existen referencias de protocolos de producción de germinados, tanto a nivel doméstico como comercial, para muchas especies, no se ha definido su valor nutritivo y metodologías eficientes de esterilización de semillas específicas para sistemas superintensivos y forzados en invernadero. Por lo antes expuesto, se plantean los siguientes objetivos e hipótesis en éste trabajo de investigación:

OBJETIVOS

1. Definir los protocolos eficientes de esterilización de semillas, necesarios para la producción de germinados en un sistema superintensivo y forzado bajo invernadero, en huauzontle, calabaza, canola y amaranto.
2. Realizar un análisis proximal tanto en semilla como en el germinado de las siguientes especies: huauzontle, calabaza, canola y amaranto para compararlos con el de semillas y germinados de otras especies vegetales.
3. Cuantificar el contenido total de saponinas en semillas y germinados de las cuatro especies, para consumo humano.

HIPÓTESIS

1. Con el uso de metodologías eficientes de esterilización de semillas, se obtienen germinados inocuos libres de patógenos y de alto valor nutritivo, útiles para sistemas de producción forzada en invernadero.
2. Los germinados de las especies de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, tienen mayor valor nutritivo que sus semillas así como cantidades adecuadas de saponinas para lograr adquirir beneficios en los organismos que las consumen.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Desnutrición, obesidad y sobrepeso

En las áreas rurales, desde los años 80's la desnutrición era fundamentalmente un problema; y sigue siéndolo, pero ahora, se ha extendido de modo creciente hasta en las áreas urbanas, no sólo por la importante migración rural a las ciudades sino porque en éstas han surgido grandes cinturones de miseria (Bourges, 2001).

En el área de la salud, a mediados del siglo XX, Colombia contaba con la cruda realidad de enfrentar una alta tasa de mortalidad infantil. En 1954, de cada mil niños nacidos en Chile, 180 de ellos morían antes de cumplir su primer año de vida. Las razones eran variadas, pero una de ellas, quizás la más impactante en nuestros días era la desnutrición (Millas, 1999).

A principios del 2000, investigadores del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) desarrollaron la primera versión de un indicador del estado de nutrición en el país por Municipio. El resultado fue un país partido a la mitad: el del norte, con problemas de nutrición bajos y moderados, y en el centro y sur, predominan las categorías graves de nutrición. En el 2003, los especialistas identificaron los núcleos sociales de máxima prioridad de atención y establecieron cinco categorías: riesgo nutricional bajo, moderado, alto, muy alto y extremo. Las tres últimas se consideran graves.

En esta clasificación, 70% de los Municipios del país que concentran un 30% de la población tienen problemas graves de nutrición. Son los Municipios rurales, cuya delimitación geográfica empata con las zonas indígenas. En el nivel estatal, hay ocho Entidades con riesgo nutricional grave: Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Veracruz, Yucatán, Hidalgo, Puebla y Campeche (Pastrana, 2005).

Un tercio de las familias del país (que vive en el 70% de los Municipios) tiene niños con problemas nutricionales. Son niños condenados a vivir en condiciones de desventaja, pues su nivel de aprendizaje siempre será menor que el de los demás, lo cual ha sido evidentemente observado por muchos años. Desde que se conoció la primera cartografía del hambre en nuestro país, las zonas críticas siguen siendo las mismas; las comunidades indígenas, social y económicamente marginadas, que no han sido suficientemente atendidas por las políticas sociales (Pastrana, 2005).

Es posible contribuir a dar solución a esta problemática, con ayuda de programas gubernamentales que impulsen y apoyen el consumo de especies nativas de cada región. Además de dar a conocer algunas opciones de uso, ya sea como harinas, dulces, germinados y con esto proporcionar alternativas y conformar tablas nutricionales para una alimentación balanceada.

Existen diversas clasificaciones de los alimentos, pero siempre tomando en cuenta su composición química, su origen y, sobre todo el tipo de nutrimentos que aportan. Por lo que Bourges (1982) plantea la siguiente clasificación:

- a. Cereales y tubérculos
- b. Leguminosas y oleaginosas
- c. Vegetales frescos
- d. Carne y huevo
- e. Leche y derivados

Desde el punto de vista biológico, la dieta debe aportar todos los nutrimentos en las cantidades y proporciones apropiadas; es decir, debe ser completa, suficiente y equilibrada. Si en la dieta diaria aparecen cuando menos dos porciones o raciones de cada grupo de alimentos, se puede asegurar que la dieta es equilibrada y muy probablemente suficiente (Bourges, 1982).

En el Cuadro 1 se muestra las cantidades necesarias de energía (kcal) y proteína, para cubrir los requerimientos nutricionales del ser humano. Por otro lado, en el Cuadro 2 se muestra la cantidad necesaria de proteínas, lípidos, carbohidratos y fibra necesaria para cada individuo por día.

Cuadro 1. Recomendaciones de energía (Kcal) y proteínas (g) por día.

Edad	Peso (Kg)	Sexo	Energía	Proteína		
			Kcal	g/kg	Dieta mixta*	
0-3 m	4.7	M-F	550		17	
3-6 m	6.7	M-F	650	2.5	17	
6-9 m	8.3	M-F	800	2.2	18	
9-12 m	9.4	M-F	950	2.0	19	
1-2 a	11.2	M-F	1100	1.6	18	
2-3 a	13.4	M-F	1300	1.55	21	
3-5 a	16.4	M-F	1500	1.5	25	
5-7 a	20.7	M	1750	1.35	27	
5-7 a	19.7	F	1600	1.35	27	
7-10 a	26.7	M	2000	1.35	36	
7-10 a	26.6	F	1700	1.35	36	
Actividad Física						
Hombres						
			Liviana	Moderada	Fuerte	
10-12	35		2050	2200	2400	1.35 47
12-14	42		2150	2350	2650	1.35 57
14-16	52		2350	2650	3050	1.3 68
16-18	62		2650	3000	3400	1.2 74
18-65	68		2650	3100	3600	1.0 68
≥65	65		2050	2300	2600	1.0 68
Mujeres						
10-12	36		1750	1900	2000	1.35 47
12-14	43		1850	2000	2150	1.3 56
14-16	48		1900	2100	2350	1.2 58
16-18	50		1950	2150	2400	1.1 55
18-65	53		1950	2100	2350	1.0 53
≥65	55		1750	1850	2100	1.0 53
Energía y proteína adicional:						
Embarazo	258					6
Lactancia	500			≤ 6 m		23
				≥ 6 m		16

*Proteínas de digestibilidad verdadera de 80-85 % y calidad de aminoácidos de 90 % en relación a la leche o huevo

Fuente: Muñoz, *et al.*, 1996

Cuadro 2. Requerimientos nutricionales por individuo por día.

Nutriente		Cantidad requerida
Hidratos de carbono		60 al 70 % de la energía total
Fibra dietética		18 a 24 g ó de 8-10 g por cada 1000 kcal tanto en niños como adultos.
Lípidos	Ácidos grasos saturados	No más de 10 % de la energía total.
	Ácidos grasos poliinsaturados	No más de 7-10% de la energía total.
	Ácidos grasos esenciales	3-5%
	Colesterol	≤300 mg. También puede usarse de 100 mg por cada 1000 kcal.
	Proteínas	10-14 % de la energía total

Fuente: Muñoz, *et al.*, 1996

2.2 Semilla

La semilla es una estructura de reposo que se define en un sentido botánico estricto, como un óvulo fecundado con disponibilidad de reservas, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para generar una nueva planta. Por lo regular está sumamente deshidratada, compuesta de tejido de reserva y rodeada por una cubierta esencialmente impermeable. Está en condición de vida muy disminuida, debido principalmente a su carencia de agua y oxígeno. Contiene un embrión, donde en uno de cuyos extremos la radícula formará la raíz de la planta; en el otro extremo, la plúmula formará el tallo y las hojas

(Meyer, et al, 1972; Bidwell, 1979; Thompson, et al, 1979; Camacho, 1994). Fernández y Johnston (1986), mencionan que la semilla constituye dentro del ciclo de vida de las plantas, la unidad de dispersión y el medio de perpetuación de la especie; a la vez que es importante como fuente alimenticia para el hombre.

2.2.1 Estructura de la semilla

La semilla tiene cuatro partes principales: el embrión, los cotiledones, endospermo y la testa. El embrión, formado por células que darán lugar a las estructuras de la planta adulta (raíz, yemas, tallos, hojas), en el embrión de las gimnospermas con frecuencia existen varios cotiledones; los cotiledones, uno en las monocotiledóneas y dos en las dicotiledóneas, son órganos de absorción que toman nutrientes de las reservas de la semilla. En las dicotiledóneas, los cotiledones actúan como tejido de almacenamiento. El endospermo es una estructura que puede ser de muy poca utilidad en las semillas, y su función es de almacenamiento cuando los cotiledones son de reducido tamaño. La testa es la capa externa que protege las anteriores estructuras y evita la pérdida de agua. (Meyer, et al, 1972; Fernández y Johnston, 1986; García-Agustín y Primo-Millo, 1996).

2.2.2 Letargo

El término letargo se refiere a la falta de crecimiento de cualquier parte de una planta resultante de factores inducidos interna o externamente. Una semilla con letargo es aquella que no llega a germinar aunque haya absorbido agua y esté

expuesta a condiciones favorables de temperatura y de concentración de oxígeno (Meyer, et al. 1972; Hartmann *et al.*, 1995). Bidwell (1979), indica que después de la maduración y la caída de los frutos, la semilla generalmente entra en letargo por un tiempo más o menos largo. Esto quiere decir que aunque se le humedezca y se le den las condiciones que favorecen la germinación, ésta no se produce.

2.2.3 Germinación

Se llama germinación al proceso por el que se reanuda el crecimiento embrionario después de la fase de descanso. Este fenómeno no se desencadena hasta que la semilla no ha sido transportada hasta un medio favorable por alguno de los agentes de dispersión (Meyer, et al., 1972). Molina (1998), menciona que desde el punto de vista agronómico, se concibe la germinación como la emergencia y desarrollo de las estructuras esenciales para que el embrión se transforme en una plántula bajo condiciones favorables, a partir de la semilla. Las condiciones determinantes del medio son: aporte suficiente de agua y oxígeno y temperatura apropiada. Cada especie prefiere una temperatura determinada para germinar. En general, las condiciones extremas de frío o calor no favorecen la germinación. Algunas semillas necesitan también un tiempo determinado de exposición a la luz para iniciar la germinación (Thompson, et al., 1979). Castro (1978), indica que la germinación es un proceso respiratorio mediante el cual el embrión crece a expensas de la oxidación enzimática de sus reservas, sean endospermicas o cotiledonarias, rompiendo los tegumentos seminales y brotando una nueva planta.

La germinación comienza con la entrada de agua a la semilla, que le permite reanudar actividades metabólicas y termina con el crecimiento de la radícula que emerge al exterior (Fernández y Jonson, 1986; García-Agustín y Primo-Millo, 1996).

2.2.4 Factores que intervienen en la germinación

Según Hartmann y Kester (1992), la iniciación de la germinación requiere que se cumplan tres condiciones:

1. La semilla debe ser viable; el embrión debe estar vivo y ser capaz de germinar.
2. La semilla no debe estar en letargo ni el embrión quiescente. No deben existir barreras fisiológicas o físicas que induzcan el letargo, ni barreras químicas para la germinación.
3. La semilla debe estar expuesta a las condiciones ambientales apropiadas de disponibilidad de agua, temperatura adecuada, disponibilidad de oxígeno y en ocasiones luz.

2.2.5 Procesos bioquímicos de la germinación

La absorción de agua por la semilla es el primer paso de la germinación, sin el cual este proceso no puede producirse (García-Agustín y Primo-Millo, 1996; Besnier, 1989). Este paso se efectúa en tres fases; una fase inicial de rápida absorción; una fase intermedia en la cual el contenido de agua de la semilla permanece casi constante; y una fase final de intensa absorción que está relacionada con el alargamiento de las células y la aparición de la radícula. Por

otro lado, los factores externos que activan el metabolismo, como la temperatura, tienen efectos estimulantes en la fase de emergencia de la radícula y crecimiento de la plántula (García-Agustín y Primo-Millo, 1996).

Besnier (1989), menciona que las semillas contienen coloides que absorben agua. Por el contrario, el almidón no interviene en este proceso porque sólo absorbe agua en condiciones ácidas y tras tratamientos a altas temperaturas.

Las semillas secas tienen una baja actividad respiratoria, aumenta el consumo de oxígeno después de iniciar la imbibición. A partir de éste momento la actividad respiratoria se divide en cuatro fases; en la primera existe una rápida absorción de oxígeno; a continuación sobreviene una fase latente en la que la cantidad de oxígeno absorbido no aumenta, pero sigue la producción de dióxido de carbono y aumenta el coeficiente de respiración como consecuencia del fenómeno de respiración anaeróbica o fermentación (García-Agustín y Primo-Millo, 1996). En ésta fase, el mecanismo bioquímico que suministra energía es la glucólisis anaeróbica, que produce etanol o ácido láctico como productos secundarios que se acumulan en las semillas. Este mecanismo respiratorio es poco eficiente desde el punto de vista energético, pues suministra solamente dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa respirada (Besnier, 1989).

En la fase tres hay un segundo incremento en la actividad respiratoria como consecuencia de la ruptura de la testa producida por la emergencia de la radícula (Fernández, *et al.* 1986).

Y en la última fase tiene lugar una acusada disminución de la respiración que coincide con la desintegración de los cotiledones, después de que han exportado las reservas almacenadas (García-Agustín y Primo-Millo, 1996).

Las mitocondrias y enzimas son activadas durante la imbibición, pero su eficacia dura poco tiempo por lo que la respiración se interrumpe hasta que se restauran o se forman de nuevo las mitocondrias y se sintetizan de nuevo las enzimas respiratorias ligadas a aquellas y que sólo funcionan en condiciones aerobicas (Fernández, *et al.* 1986).

Los mecanismos, a través de los cuales el eje embrionario puede ejercer control sobre la actividad de las enzimas, son dos: el control hormonal y el control por eliminación de productos finales (Fernández, *et al.* 1986).

Al hidratarse la semilla, las células del embrión sintetizan giberelinas, las cuales pasan a las células del endospermo. Allí actúan induciendo la síntesis de amilasas, por lo que las reservas de las semillas son hidrolizadas y el embrión obtiene glucosa, fuente de energía para el desarrollo. A continuación el embrión forma citocininas que estimulan la división de las células, se forman aminoácidos y ácido indolacético, bajo cuya inducción las células se alargan mientras el tallo y la raíz crecen y presentan polaridad (Rojas, 1979).

2.2.6 Metabolismo de las proteínas en las semillas

Los sitios principales de lo que se podría llamar “síntesis primaria” de las proteínas, son las regiones donde se forman nuevas células y se produce nuevo crecimiento (ápices de raíces y vástagos, cámbium, etc.) (Trione, 1986).

Las proteínas de reserva se encuentran típicamente, como producto de almacenaje, en frutos y otros órganos de reserva. En dicotiledóneas, una gran parte de las proteínas de reserva de las semillas se encuentra como globulina (sobre todo en las semillas y frutos que contienen grasas). Estas se hallan depositadas en los tejidos de almacenaje, en estado semicristalino, y constituyen los granos de aleurona. Entre las globulinas se pueden mencionar las siguientes: edesina (semilla de cáñamo), excelsita (nuez de Brasil), vicilina y legumina (Arveja), glicina (soya), arachina y conarachina (cacahuate). Respecto de los granos de cereales α , β , γ y δ - globulinas, pero por su bajo contenido parecen ser proteínas protoplasmáticas (Trione, 1986).

Las principales proteínas de reserva de los cereales son las prolaminas y las glutelinas. Entre las primeras encontramos la gliadina (trigo), la hordeína (cebada), y la zeína (maíz) (Trione, 1986).

Las semillas en germinación, los tejidos paranquimáticos de reserva (en época de brotación), así como las hojas verdes en oscuridad conforman sitios de hidrólisis o desdoblamiento proteico (Trione, 1986).

Durante la germinación, en el cotiledón y el endospermo tiene lugar una lisis masiva de proteínas de reserva, paralelamente hay una rápida síntesis de proteínas que tiene lugar en el embrión, en donde existe una acumulación de aminoácidos y de amidas. Los factores fisiológicos que provocan la germinación ponen en marcha la degradación de las proteínas de reserva. El producto de ésta degradación (aminoácidos) es enviado al embrión y a la síntesis de nuevas proteínas (Devlin, 1980).

2.2.7 Metabolismo de los lípidos en las semillas

Las grasas como sustancias de reserva en células vegetales de tejidos tienen una doble tarea: 1) servir como substrato para la obtención de energía y 2) como materia prima para la neosíntesis de constituyentes celulares (Richter, 1971).

Los componentes moleculares de grasas y aceites, glicerina y ácidos grasos, son producidos por caminos biosintéticos diferentes. En la última reacción tiene lugar su unión para formar la molécula grasa o aceites (Richter, 1971).

En los órganos vegetales ocurren transformaciones de carbohidratos y de proteínas para generar ácidos grasos, especialmente en los representantes que almacenan grasas como materia de reserva, por ejemplo las semillas. Para su transformación en ácidos grasos, los carbohidratos deben ser primeramente degradados a través de hexosa y ácido pirúvico como compuestos intermedios hasta la acetil-CoA (Richter, 1971).

La degradación de ácidos grasos en la célula tiene lugar en las mitocondrias. Una modificación importante del ciclo del ácido cítrico ocurre durante la germinación de semillas de plantas que tienen a su disposición exclusivamente grasas como material de reserva. La modificación se designa, según el compuesto clave, como el “ciclo del ácido glicólico” en donde transforman las grasas en carbohidratos como se muestra en la Figura 1(Romeo, 1997).

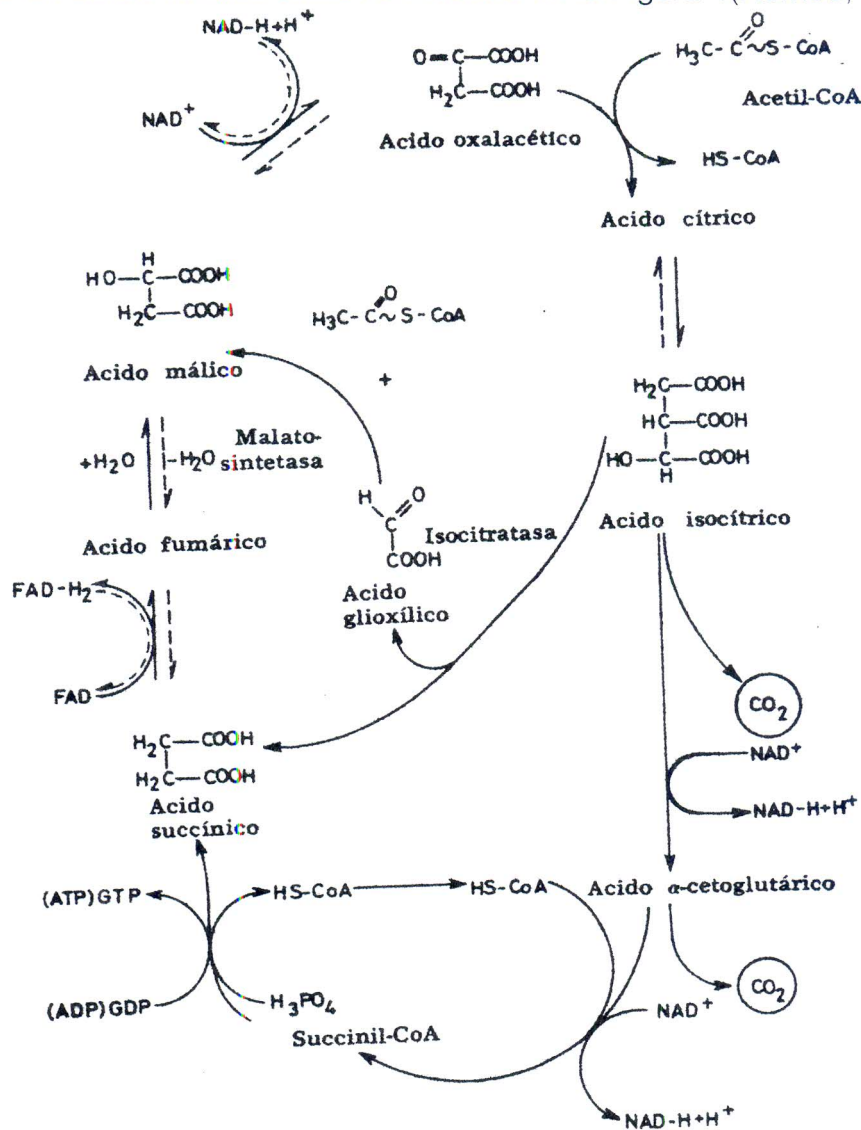


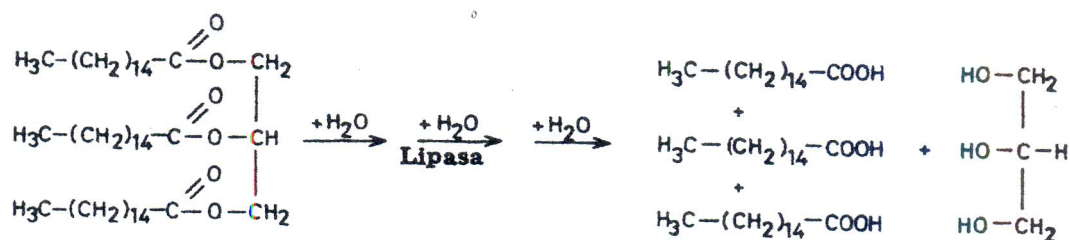
Figura 1. Reacciones del ciclo del ácido glicólico en relación al ciclo del ácido cítrico (Richter, 1971).

En semillas ricas en grasas (cacahuete, girasol, higuera), el valor máximo de la actividad de la isocitratoasa coincide con el periodo del desdoblamiento máximo de las grasas durante la germinación. La ocurrencia de esta enzima parece estar limitada a tejidos vegetales que contienen grasas y a microorganismos utilizadores de acetato. Las enzimas del ácido glicólico, o sea la isocitratoasa (isocitrato-asa) y la malato-sintetasa, no están ligadas a las mitocondrias, sino a los glioxisomas. Este resultado indica que el ciclo del ácido glicólico opera como un complejo reactivo propio, en separación espacial del ciclo del ácido cítrico (Richter, 1971).

Con la incorporación del ácido glicólico se ha originado un camino de reacciones acortado transversalmente a través del ciclo del ácido cítrico, que permite, en primer lugar, una síntesis incrementada de ácido oxalacético, puesto que de dos cuerpos de C_2 se forma, según el equilibrio, un cuerpo de C_4 adicional. En este caso, el resto acetilo de la acetil-CoA no es degradado como es común, mediante el ciclo del ácido cítrico, sino que es utilizado para la síntesis de compuestos C_4 , pero especialmente de ácido oxalacético. Mientras que por un lado la oferta grande de acetil-CoA, el producto típico de la degradación de ácidos grasos, es eliminada; se logra, por otro lado, un aumento de la reserva de ácido oxalacético. Este compuesto es la sustancia de partida para algunas síntesis importantes. Los fragmentos C_2 derivados del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas, que son introducidos, no sólo representan el combustible para la disimilación, sino también constituyen materia prima para la asimilación; su transformación hace factible la salida de

compuestos intermedios del ciclo y la entrada de éstos en procesos fotosintéticos (Richter, 1997).

Para que las reservas de grasa puedan ser asimiladas deben estar primero desintegradas en fragmentos utilizables. Las lipasas, las cuales se encargan de la degradación de grasas, alcanzan su máxima actividad durante la germinación de semillas oleaginosas. La forma de actuar de las enzimas consiste correspondientemente en el desdoblamiento de la unión éster en la molécula de grasa, mediante utilización de H_2O ; con suficiente tiempo para la reacción, se originan finalmente ácidos grasos libres y glicerina, a través de los pasos de diglicéridos y monoglicéridos.



Los dos productos de degradación entran en distintos canales del metabolismo. Para la glicerina se muestra una estrecha correlación con los carbohidratos. La glicerina es transformada, a través de los pasos de triosafosfatos y hexosafosfatos, en sacarosa. Por otro lado, la glicerina está sujeta a la degradación a través de dihidroxiacetonafofosfato y ácido pirúvico, cuyas reacciones son idénticas con la disimilación de la glucosa y abarca las áreas de las reacciones de la glicólisis y del ciclo del ácido cítrico (Richter, 1971).

2.3 Patógenos en la semilla

Los microorganismos que producen enfermedades y se propagan en las semillas se clasifican de la siguiente manera: 1) Bacterias; 2) Virus y 3) Hongos, estos últimos pueden encontrarse en la etapa vegetativa, como micelio, dentro de las semillas o en el exterior de las mismas como esporas (Anónimo, 1952).

La semilla puede ser infectada por hongos en tres espacios distintos que pueden estar ligados. Uno es la entrada del hongo en el momento de la formación de la semilla; una segunda clase es el transporte de forma interna o externa de la semilla; y la tercera es en el almacenamiento por las diferentes condiciones presentes en el medio (Besnier, 1989).

Los patógenos en las semillas pueden ser localizados en las distintas partes, según la forma en que se mueve dentro de la planta en el momento en el que se da la infección.

2.3.1 Localización de los patógenos en la semilla

Los patógenos que están asociados con semillas pueden localizarse en forma de infección (embebida en la semilla) o infestación (pasivo, en la superficie de la semilla). La infección de las semillas puede ser sistémica a través del pedúnculo de las flores y de los frutos hasta llegar a las semillas, por el funículo (Moreno, 1993). La localización del inóculo en la semilla depende del tipo de patógeno, modo y tiempo de infección, condiciones de humedad, cultivar y muchos otros factores (Agarwal y Sinclair, 2000).

a. Embrión

Muchos de los hongos pueden invadir a la semilla a través de los tejidos vasculares de las plantas como es el caso de *Fusarium oxysporum*. Otra manera de llegar al embrión es a través de los estigmas de las flores y por las paredes del ovario y de la testa (Moreno, 1993). Según Agarwal y Sinclair (2000), mencionan que en el embrión se pueden alojar una gran diversidad de hongos, tal es el caso del girasol infectado por *Alternaria alternata*; *A. sesamicola* en ajonjolí; *A. brassicicola* en col; *Colletotrichum graminicola* en sorgo; *Fusarium moniliforme* en maíz; *F. oxysporum* f. sp. *cumini* en comino; *F. solani* f. sp. *cucurbitae* en cucurbitas.

Entre las fitobacterias encontramos *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* en tomate y *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en cucurbitas, entre otras.

b. Endospermo y Perispermo

El hongo llega al endospermo y perispermo a través de los tejidos vasculares (Moreno, 1993). El endospermo es un típico sitio de infección por hongos como por ejemplo *Alternaria alternata* en girasol, *A. sesamicola* en ajonjolí, *Colletotrichum graminicola* en sorgo, *Pyricularia oryza* en arroz. Entre las fitobacterias del endospermo están *Corynebacterium michiganense* pv. *insidiosum* en alfalfa y *C. michiganense* pv. *sepedonicum* en tomate (Agarwal y Sinclair, 2000).

c. Pericarpio y testa

Los hongos que se alojan en el pericarpio y testa, al germinar las semillas, se activan, crecen y producen esporas que se diseminan e infectan a las primeras hojas, de donde se continúa la dispersión de la enfermedad al resto del follaje, infectando las vainas y nuevamente a las semillas (Moreno, 1993). Algunos ejemplos importantes de patógenos de la testa son *A. alternata* del girasol, *A. brassicae* y *A. brassicicola* en colza, *A. sesamicola* en ajonjolí, *Colletotrichum graminicola* en sorgo, *Didymella lycopersici* en tomate, *F. oxysporum* f sp. *cucumerinum* y *F. solana* f sp. *cucurbitae* en géneros de Calabaza, *Microphomina phaseolina* en ajonjolí, *Phytophthora infestans* en tomate (Agarwal y Sinclair, 2000).

2.3.2 Métodos de desinfección de semilla

Existen diferentes métodos para eliminar una gran variedad de microorganismos que pueden estar presentes en la semilla. Para obtener una semilla sana es necesario hacer una combinación de métodos preventivos

Las semillas son tratadas para minimizar el riesgo de pérdida de una plántula, pero de ninguna manera se le debe de causar daño al embrión. McGee (1986), hace una clasificación de los tratamientos que se realizan en la semilla, quedando de la siguiente manera:

a. Físico

Estos tratamientos incluyen el uso de agua caliente, vapor y calor seco. Es necesario aplicar por periodos largos para asegurar la eliminación del patógeno pero no de la semilla. Es poco eficiente y puede causar daño a la semilla.

b. Biológico

Estos métodos consisten en aplican microorganismos antagonistas a la semilla o al suelo. La desventaja de este método es que el microorganismo antagonista en muchas ocasiones no tiene las condiciones necesarias para actuar eficientemente.

c. Químico

En la actualidad el tratamiento a las semillas con fungicidas es una práctica común en la agricultura intensiva. Los grupos como carbamatos, benzimidazoles y pirimidinas son de los productos más utilizados para el tratamiento a la semilla de manera superficial. Las formulaciones pueden ser muy específicas para el tratamiento contra hongos en la semilla.

En las semillas se evita usar algún producto para combatir la infección, ya que el embrión puede ser dañado. Una alternativa es la prevención de enfermedades en el ciclo vegetativo para favorecer la producción de semillas sanas.

2.3.3 Pruebas de sanidad de semillas

Las distintas enfermedades presentes en las semillas necesitan diferentes métodos de laboratorio para su detección. Uno de estos métodos es la observación con una lupa para encontrar esclerocios duros de color oscuro. Otra técnica es agitar la muestra de semilla con agua y examinar microscópicamente la suspensión para ver si hay microorganismos. Estas dos técnicas son aplicables para las semillas que tienen las esporas en la superficie.

Una técnica mas consiste en colocar las semillas en la superficie de agar nutritivo, una vez que crece el hongo para formar colonias, se puede identificar por el color o forma de crecimiento. Con el conjunto de estos métodos es posible conocer la sanidad de las semillas y darles un tratamiento apropiado según el fin ya sea siembra directa o almácigo para establecer en campo o para uso como germinado (Thompson, 1979).

2.4 Germinados

2.4.1 Historia de los germinados

Se mencionan que existieron escritos de hace 5000 años en donde, los antiguos médicos chinos reconocieron y recomendaron los germinados para corregir desórdenes físicos. Por otra parte, a partir de 1772-1775 durante los viajes marinos, el Capitán James Cook hizo que sus marineros comieran limones y las múltiples variedades de germinados, todos éstos ricos en vitamina

C, ya que de esta manera solucionaba la muerte de los marineros por inanición y avitaminosis (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm> 04/2004).

Los germinados de soya y frijol mungo son un tradicional componente en la dieta de los orientales. El beneficio de las semillas germinadas se observó desde antes de 1782 cuando se detectaron las propiedades antiescorbuto en los germinados de semillas (Xia Xu, 2004).

Durante la Segunda Guerra Mundial, el germinado de soya tomó gran importancia gracias a los escritos del Dr. Clive M Mckay, en donde se menciona un alimento que crecerá en cualquier clima, rivalizará con la carne en valor nutritivo, madurará en 3 a 5 días y puede ser plantado cualquier día del año (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm> 04/2004).

Los cambios químicos metabólicos que ocurren en la semilla para dar origen al proceso de germinación, es consecuencia de la acción enzimática, ya que esta actividad se incrementa hasta en un 500 % durante la germinación (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm> 04/2004).

Los germinados constituyen el alimento más fresco y nutritivo para el cuerpo en particular se señala que la clorofila se incorpora rápidamente a la corriente sanguínea, importante para el tratamiento de anemia (Jensen 1980).

2.4.2 Semillas para germinados

Los tipo de germinados depende del cultivo que se utilice para producirlos. Villanueva (2005) menciona especies como alfalfa, frijol (mungo y otros), soya, trébol, lenteja, garbanzo, cacahuete, chícharo, trigo, cebada de semilla desnuda, centeno, maíz chía, calabaza, ajonjolí, brócoli, coliflor, col, canola o nabo, mostaza, cebollín lechuga, berro, rábano y okra.

Debra Schwarze (2004), menciona una lista de las semillas que se pueden germinar y algunos parámetros establecidos con respecto a los días de siembra a cosecha y manera de consumirlos (Anexo 1).

2.4.3 Importancia económica de los germinados

Los germinados están cobrando gran importancia ya que la forma de producirlos es muy sencilla. En lugares con mayor pobreza, el germinado puede ser una alternativa para alimentarse. Desde el punto de vista económico su producción es importante ya que por ejemplo, un kilogramo de semillas de alfalfa proporciona unos ocho kilogramos de germinado y a un precio realmente insignificante. Por cada kilogramo de semilla en el caso de calabaza la producción es de dos kg de germinado obteniendo un índice de conversión económico de 2.7; para amaranto 1.8 kg (Garzón, 1998). Potrero (1997) reporta que en ajonjolí hay un incremento de germinado de 6-8 veces el peso inicial de la semilla. Para el frijol mungo el incremento es de 4 a 6 veces el peso inicial de la semilla (Ramos, 1997). Villanueva (2005), menciona que el rendimiento en especies como frijol mungo y trigo es de 3 veces lo invertido, es decir que de

cada kilogramo que se pone a germinar se obtienen 3 kilogramos de germinado, aproximadamente; muestra que para alfalfa y ajonjolí es de más de 5 veces lo invertido.

2.4.4 Germinados como hortaliza

Los germinados presentan características muy propias de una hortaliza como plántulas suculentas, de ciclo vegetativo corto que va de tres a diez días según la especie. Son cultivados bajo condiciones de manejo intensivo. Se consumen en fresco y cobran gran importancia por el buen balance dietético, composición química y su contenido de vitaminas (Castaños, 1993).

2.4.5 Potencial alimenticio de las semillas germinadas

Los germinados son uno de los alimentos probados más completos y nutritivos. Contienen vitaminas, minerales, proteínas y enzimas. Su valor alimenticio fue descubierto por los chinos hace millones de años (<http://vegetarianos.org/germinados.htm>, 03/2004).

Como ejemplo, una ración (50 g) de germinados de frijol mungo contiene la misma cantidad de carbohidratos de un melón, la vitamina A de un limón, la tiamina de un aguacate, la riboflavina de una manzana seca, niacina de un plátano, y el ácido ascórbico de una guayaba (<http://www.chefnoah.com/sprouts.htm>, 02/2004).

El proceso de germinación bajo acción de la luz, crea la clorofila. Se ha demostrado que la clorofila es eficaz en la superación de anemia y de la carencia de proteínas. Los germinados tienen efecto reconstituyente del cuerpo humano debido a su alta concentración de RNA, del DNA, proteína y elementos esenciales que se pueden encontrar solo en células vivas (Cav, *et al.* 1996).

Los cambios químicos que ocurren en la semilla durante la germinación activan los procesos enzimáticos. En trigo, la vitamina B-12 se cuadruplica, otras vitaminas del complejo B aumentan de 3 a 12 veces, la vitamina E se triplica en cantidad por la germinación. El contenido de fibra aumenta tres a cuatro veces comparado con el pan de trigo entero (Peavy, *et al.* 2004).

2.4.6 Valor nutrimental de algunas semillas germinadas

La National Nutrient Database (USDA) publicó una base de datos en donde muestra el contenido nutricional de germinados de algunas especies. En el Cuadro 3 se observa el contenido nutricional de manera resumida y únicamente de las especies más comunes de germinados reportados a la fecha.

Cuadro 3. Contenido nutricional de algunas semillas germinadas (100g materia fresca).

		Alfalfa	Soya	Frijol Kidney	Frijol navy	Frijol pinto	Frijol mungo	Lentejas	Brusselas	Chicharo	Rábano	Trigo
Humedad	g	91.14	69.05	90.70	79.15	81.30	90.40	67.34	86	62.27	90.07	47.75
Energía	kcal	29	122	29	67	62	30	106	43	128	43	198
Proteína	g	3.99	13.09	4.20	6.15	259	3.04	8.96	3.38	8.80	3.81	7.49
Lípidos	g	0.69	6.70	0.50	0.70	5.25	0.18	0.55	0.30	0.68	2.53	1.27
Cenizas	g	0.40	1.59	0.50	0.95	0.90	0.44	1	1.37	1.14	0.53	0.96
Carbohidratos	g	3.78	9.57	4.10	13.05	11.60	5.94	22.14	8.95	28.26	3.60	42.53
Fibra total	g	2.5	1.1	0	0	0	1.8	0	3.80	0	0	1.1
Azúcares totales	g	0.18	0	0	0	0	4.13	0	2.20	0	0	
Calcio	mg	32	67	17	15	43	13	25	42	36	51	28
Hierro	mg	0.96	2.10	0.81	1.93	1.97	0.91	3.21	1.40	2.26	0.86	2.14
Magnesio	mg	27	72	21	101	53	21	37	23	56	44	82
Fósforo	mg	70	164	37	100	94	54	173	69	165	113	200
Potasio	mg	79	484	187	307	307	149	322	389	381	86	139
Sodio	mg	6	14	6	13	153	6	11	25	20	6	16
Zinc	mg	0.92	1.17	0.40	0.89	0.50	0.41	1.51	0.42	1.05	0.56	1.65
Cobre	mg	0.15	0.42	0.15	0.35	0.32	0.16	0.35	0.07	0	0.12	0.26
Manganeso	mg	0.18	0.70	0.18	0.40	0.36	0.18	0.50	0.37	0.43	0.26	1.85
Selenio	mcg	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	1.60	0.60	0.60	42.50
Vitamina C	mg	8.20	15.30	38.70	18.80	21.70	13.20	16.50	85	10.40	28.90	2.60
Tiamina	mg	0.07	0.34	0.37	0.39	0.23	0.08	0.22	0.13	0.22	0.10	0.22
Riboflavina	mg	0.12	0.11	0.25	0.21	0.17	0.12	0.12	0.09	0.15	0.10	0.15
Niacina	mg	0.48	1.14	2.92	1.22	2.28	0.74	1.12	0.74	3.08	2.85	3.08
Ácido pantoténico	mg	0.56	0.92	0.36	0.82	0.74	0.38	0.57	0.30	1.02	0.73	0.94
Vitamina b-6	mg	0.03	0.17	0.08	0.19	0.17	0.08	0.19	0.21	0.26	0.28	0.26
Folato total	mcg	36	175	59	132	118	61	100	61	144	95	38
Vitamina A, UI	iu	155	11	2	4	2	21	45	754	166	391	0
Vitamina E	mg	0.02	0	0	0	0	0.10	0	0.88	0	0	0
Vitamina K	mcg	30.50	0	0	0	0	33.00	0	177	0	0	0
Ác. grasos sat total	g	0.06	0.92	0.07	0.08	0.10	0.04	0.05	0.06	0.12	0.76	0.20

Continuación Cuadro 3...

		Alfalfa	Soya	Frijol Kidney	Frijol navy	Frijol pinto	Frijol mungo	Lentejas	Brusselas	Chicharo	Rábano	Trigo
Ac. grasos monoinsat total	g	0.05	1.51	0.03	0.05	0.06	0.02	0.10	0.02	0.06	0.41	0.15
Ac. grasos poliinsat	g	0.40	3.78	0.27	0.40	0.52	0.058	0.21	0.15	0.32	1.14	0.55
Coolesterol	mg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
fitosteroles	mg	0	0	0	0	0	15	0	24	0	0	
Triptofano	g	0	0.15	0.04	0.06	0.05	0.03	0	0.03	0	0	0.11
Treonina	g	0.13	0.50	0.17	0.25	0.22	0.07	0.32	0.12	0.18	0	0.25
Isoleucina	g	0.14	0.58	0.18	0.27	0.23	0.13	0.32	0.13	0.17	0	0.28
Leucina	g	0.267	0.938	0.302	0.442	0.377	0.175	0.628	0.152	0.365	0	0.507
Lisina	g	0.21	0.75	0.23	0.35	0.05	0.16	0.71	0.15	0.38	0	0.24
Metionina	g	0	0.13	0.04	0.06		0.03	0.10	0.03	0.06	0	0.11
Cisteina	g	0	0.15	0.04	0.07	0.06	0.01	0.33	0.02	0.15	0	0.13
Fenilalanina	g	0	0.64	0.21	0.31	0.26	0.11	0.44	0.09	0.25	0	0.35
Tirosina	g	0	0.47	0.14	0.21	0.18	0.05	0.25	0	0.12	0	0.27
Valina	g	0.14	0.62	0.21	0.31	0.27	0.13	0.39	0.15	0.22	0	0.36
Arginina	g	0	0.90	0.22	0.33	0.28	0.19	0.61	0.20	0.48	0	0.42
Histidina	g	0	0.35	0.11	0.17	0.14	0.07	0.25	0.07	0.16	0	0.19
Alanina	g	0	0.54	0.17	0.25	0.21	0.09	0.35	0	0.24	0	0.29
Ácido aspártico	g	0	1.77	0.24	0.79	0.68	0.47	1.43	0	0.65	0	0.45
Ácido glutámico	g	0	1.96	0.51	0.75	0.64	0.16	1.25	0	1.01	0	1.87
Glicina	g	0	0.50	0.14	0.21	0.18	0.06	0.31	0	0.20	0	0.30
Prolina	g	0	0.67	0.16	0.24	0.21	0	0.35	0	0.27	0	0.67
Serina	g	0	0.65	0.22	0.32	0.28	0	0.49	0	0.29	0	0.34
Caroteno beta	mcg	87	0	0	0	0	6	0	450	0	0	0
Caroteno alfa	mcg	6	0	0	0	0	6	0	6	0	0	0
Criptantina beta	mcg	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0

Fuente: USDA National Nutrient Database, www.nal.usda.gov/fric/foodcomp.03/2004.

Berry (1988) menciona que durante la germinación, en las leguminosas, se produce una gran mejora en el valor nutritivo, y al mismo tiempo se elimina la presencia de algunos compuestos antinutricionales constituyentes de la semilla, como las saponinas.

La semilla en el momento de la germinación presenta una gran actividad metabólica y cuando se consumen los germinados en este momento, puede aportar al organismo muchos beneficios. En el Cuadro 4 se mencionan algunas especies germinadas y las ventajas que tiene el consumirlas frescas.

Cuadro 4. Valor nutritivo y ventajas de los germinados de algunas especies.

Cultivo	Componente y/o actividad
Soya	Fitoestrógenos, proteínas, antioxidantes, saponinas, genisteína, minerales, ácidos grasos esenciales y aminoácidos esenciales.
Brócoli	Estimula el sistema enzimático natural desintoxicante, reduce riesgo de cáncer, fortalece huesos, ayuda a disminuir problemas de próstata.
Trigo	Aminoácidos esenciales, vitamina B, C y E, hierro, ácido fólico, ácidos grasos (omega 6).
Alfalfa	Clorofila, proteínas, saponinas, fitoestrógenos, potasio y calcio. Canavanina (contra cáncer de páncreas, colon y leucemia)

Continuación Cuadro 4...

Cultivo	Componente y/o actividad
Quinoa	Fuente de energía, contiene proteínas, enzimas, vitaminas (Vitamina B6, niacina, riboflavina, tiamina), fibra alimenticia, minerales (calcio, fósforo, cobre, magnesio, manganeso, potasio y zinc). Aminoácidos como metionina, cisteína y Lisina.
Cebada	Tiene enzimas antioxidantes, actúa como desintoxicante, estimulante del sistema inmunológico, ayuda a disminuir los niveles de colesterol en la sangre, mejoran calidad de vida de los diabéticos. Aminoácidos: arginina, ácido glutámico, leucina, tirosina, treonina, metionina, ácido aspártico, lisina y valina. Minerales: calcio, hierro, potasio, magnesio, zinc, cobre, fósforo. Vitaminas: tiamina, riboflavina, ácido pantoténico, piridoxina, ácido nicotínico, biotina, inositol, ácido fólico.
Girasol	Vitaminas B y D, aminoácidos esenciales.
Ajonjolí	Calcio, hierro, fósforo, niacina y proteína.

Fuente: Germinados saludables

<http://www.rosicrucian.com/foreign/zinespa/pamspa043.htm> 09/2005

2.4.7 Métodos para obtener germinados

Se debe hacer una fina selección de semilla, ya que de esto dependerá el resultado del germinado. Serán semillas homogéneas, de preferencia de la cosecha anterior, sin ningún tratamiento químico. Estarán perfectamente lavadas y desinfectadas para evitar contaminación por hongos y bacterias (Domínguez de Diez, 1992). De forma general la producción de semillas germinadas debe ser en lugares que estén protegidos contra la contaminación.

Según el propio autor, los métodos se pueden clasificar en tres categorías según la cantidad de producción que se desee obtener, tomando en consideración el tamaño de la semilla y el tiempo en el cual se cosechará el germinado: método casero, método para producción semiintensiva y método para producción intensiva.

a. Métodos caseros

Frasco de vidrio. Consiste en colocar 30 g de semillas en un frasco de boca ancha, con una capacidad aproximada de tres litros, cubrir las con agua; remojarlas durante dos horas o si es posible por toda la noche. Desalojar el agua y enjuagarlas con agua limpia utilizando una coladera para que no se escape ninguna semilla y regresarlas con cuidado dentro del frasco. Colocar el frasco horizontalmente y distribuir las en una capa uniforme. Dejar en esta posición y tapar con una tela porosa sujeta con una liga para permitir la circulación del aire. Enjuagar los germinados tres veces al día, procurando que éstas se mantengan húmedas pero escurriendo bien el recipiente.

Normalmente, entre 4 y 8 días después ya han conseguido la germinación el desarrollo requerido, según la especie. Se deben sacar del frasco y enjuagarlos con abundante agua. Se observará como la cascarilla oscura que envolvía a la semilla se separa fácilmente de ella, quitar a continuación todas las que se pueda y poner los germinados en un colador para que escurra el agua. Y ya se pueden consumir (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm> 03/2005).

Método del plato. Se deposita en un plato hondo la cantidad necesaria de semillas, es necesario regar constantemente para mantener la humedad requerida para el óptimo desarrollo del germinado. Es preciso mantener el plato en la oscuridad o al menos tapado. Para enriquecer los germinados se deben exponer un par de horas a la luz del día, pero no al sol (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm> 03/2005).

Recipiente poco profundo. Poner varias capas de papel absorbente o manta de cielo en el fondo de éste. Distribuir muy bien las semillas en una capa muy delgada. Después, cubrirlas con papel o manta de cielo humedecido y escurrir el exceso de agua cuidadosamente, pues si queda agua en el recipiente, las semillas se pueden pudrir o enmohecerse (<http://www.sprouthouse.com>, 07/2004).

Coladera grande. También cubrir el fondo con papel o manta de cielo, y después lavar las semillas, colocar la coladera sobre un recipiente para escurrir el exceso de agua (<http://www.sprouthouse.com>, 07/ 2004)

Charolas. En charolas perforadas colocar una capa de yute, después una de tela de organza (tela muy delgada que se utiliza en velos de novia), posteriormente dispersar una capa de semillas previamente desinfectada y cubrir con tela de organza, regar cada tres días.

b. Métodos para producción semiintensiva

Consiste en limpiar la semilla de residuos de cosecha, posteriormente colocar en una bolsa de malla y poner al chorro del agua para eliminar el polvo y tierra que pueda tener adherido la semilla. Una vez que el agua ha salido limpia después de enjuagar la semilla, agregar detergente Roma[®] en proporción de 3 gramos por litro de agua; lavar hasta limpiar completamente la semilla. Posteriormente desinfectar la semilla sumergiendo en una solución de hipoclorito de calcio al 0.06%, es decir 0.6 gramos de hipoclorito de calcio en 1 litro de agua, durante 6 horas, después eliminar el agua clorada, enjuagar la semilla con agua limpia y colocar en charolas de plástico, para después poner en un lugar oscuro (Villanueva, 2005).

c. Métodos para producción intensiva

Se debe limpiar la semilla de residuos de cosecha, posteriormente colocar en un recipiente metálico, grande, circular con un mecanismo especial para que la semilla este en constante movimiento, y con abundante agua. Dejar durante 20 minutos para eliminar el polvo y tierra que pueda tener adherido la semilla, cambiar el agua repetidas veces hasta que esta salga limpia. El siguiente lavado es con detergente Roma[®] en proporción de 3 gramos por litro de agua,

lavar hasta limpiar completamente la semilla. La desinfección consiste en introducir la semilla en una solución de hipoclorito de calcio al 0.06 %, es decir 0.6 gramos de hipoclorito de calcio en 1 litro de agua, durante 6 horas, después eliminar el agua clorada y enjuagar con agua limpia, colocar las semilla en charolas de plástico coladas, y después acomodar en estantes en donde tienen condiciones adecuadas de temperatura y humedad para germinar, el sistema de riego se programa cada tres horas (Villanueva, 2006).

2.4.8 Beneficio en la salud

Contenido de antioxidantes. Al realizar comparaciones con el contenido de antioxidantes que tienen algunos productos se observa que el ajo tiene la actividad antioxidante más alta contra los radicales de peroxilo (19.4), la col (17.7), la espinaca (12.6), seguidos por la col de Bruselas, el germinado de alfalfa (9.8-7.5), las flores de brócoli, la remolacha, la cebolla, el maíz, la berenjena (9.8-3.9), la papa, la lechuga, el haba, la zanahoria, la calabaza, el apio y el pepino (3.8-0.5) (Cav, *et al.* 1996). Los antioxidantes tienen una actividad como captadores de radicales libres de oxígeno; éstos radicales tienen una alta capacidad mutagénica (Sánchez, *et al.* 2002). Al parecer, los antioxidantes protegen al cuerpo de los efectos de los elementos que causan cáncer. Se estima que operan evitando el deterioro del DNA. Si éste ya se encuentra dañado, incluso pueden ayudar a su reparación.

El extracto de germinado de rábanò (que en japonés se le llama “Kaiware-daikon”) muestra 1.8 veces más actividad antioxidante que el ácido ascórbico, y se debe a la presencia de ácido sinapínico y flavonoides que se encuentran de forma natural al momento de la germinación (Takaya, *et al.* 2003).

Prevención del cáncer. El germinado de trébol rojo es uno de los más viejos y conocidos remedios contra el cáncer. Contiene genistina, es un compuesto anticancerígeno que evita que los vasos sanguíneos formen un tumor (Older, 1998). Las enzimas son generalmente referidas como “tipo 1” y “tipo 2”; la oxidación, reducción e hidrólisis (tipo 1) y por otro las enzimas que afectan de manera diferente las drogas, metabolitos, cánceres, y otros químicos tóxicos (tipo 2) en donde incrementan la polaridad y eliminación de dichos compuestos (Kirlin, *et al.* 1999). La tipo 2 esta presente en los germinados de brócoli. La actividad anticancerígena del grupo de enzimas se deriva de la presencia de los glucosinolatos, precursores glucorafanina. La síntesis enzimática de la “tipo 2” ocurre después de la germinación, pero la concentración decrece cuando la planta llega a la madurez fisiológica. El extracto de germinado de brócoli contiene de 10 a 100 veces más enzimas del grupo 2 que la planta madura y son más eficientes en la inhibición de tumores (Nestle, 1997).

Prevención de la osteoporosis. En estudios recientes en humanos y animales, se observó que los fitoestrógenos juegan un papel muy importante para la prevención de síntomas de la osteoporosis, el cáncer y enfermedades cardíacas. Los fitoestrógenos incluyen a las isoflavonas, las coumestinas y las

ligninas, éstos compuestos están contenidos en germinados de soya, trébol y alfalfa. Aunque no hay actualmente recomendaciones dietéticas para los fitoestrógenos individuales, puede haber gran ventaja al consumir germinados de alfalfa, trébol, soya y linaza (Kurtzer and Xu, 1997).

Fitoestrógenos en los germinados. El trébol rojo favorece el incremento natural de estrógenos y de esta manera contribuye a disminuir los síntomas de la menopausia (Older, 1998). Los fitoestrógenos son compuestos presentes en plantas, tienen actividad antioxidante, inhibición enzimática, mejora la compílanse, ayuda a fijar calcio en los huesos, entre otras ventajas que presenta al organismo (Sánchez, 2002).

Regularización de los contralimentos. El germinado también regula los contralimentos tales como inhibidores enzimáticos que incrementan la cantidad de enzimas proteolítica y amilasas. Estas enzimas degradan las proteínas y los carbohidratos (almidones) respectivamente. Se encuentran en alta concentración en los germinados crudos (<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm>, 09/2004).

2.5 Huauzontle

Pertenece a la familia Chenopodiaceae, es una hierba anual y erecta. Los tallos presentan estrías ligeras color amarillo. Las hojas son ligeramente romboidales, están acomodadas de forma alterna. La inflorescencia es densa, axilar y terminal. La panícula es de forma ovoide constituida por glomérulos. El fruto es un cariósido parcialmente cubierto por los pétalos en la madurez.

El origen del huauzontle (*Chenopodium nuttallia* Saff.) es difícil de precisar, Hunziker (1943) reporta que es de origen mexicano y fue introducido a Sudamérica, donde junto con la quinoa se ha convertido en un alimento importante.

Las inflorescencias se emplean como ^o verdura. Puede usarse diversas partes de la planta como alimento de acuerdo a las diferentes fases del ciclo biológico. En los Cuadros 6 y 7 se muestra el análisis bromatológico de la panícula de huauzontle.

La temperatura óptima para la germinación del huauzontle es de 22-25° C, pero puede iniciar el proceso de germinación desde los 12-15° C y hasta los 28° C. La semilla puede presentar enfermedades causadas por hongos como son *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp y *Phoma* sp (Pupo, et al. 1998).

2.6 Calabaza

El centro de origen de la especie *Cucurbita pepo* L. es América y se considera a México como el centro de distribución ya que se han encontrado muchas especies silvestres y cultivadas (Teodoro, 2005). Datos arqueológicos indican que *C. pepo* estuvo ampliamente distribuida en el norte de México y suroeste de Estados Unidos desde 7000 años a. C. hasta la era cristiana.

Pertenece a la familia Cucurbitaceae, es una especie anual monoica. Se desarrolla y adapta a diferentes áreas y climas. El tallo es angular y duro con pubescencia. La raíz fibrosa y poco profunda. Las hojas son anchas y grandes con cinco lóbulos semiprofundos y bordes aserrados. En la etapa reproductiva, produce una flor masculina o femenina y un zarcillo por nudo. Flor con cinco pétalos y cinco sépalos con tres estambres filamentosos, el fruto es verde oscuro ovoide, semillas ovoides y grandes, color blanco y margen del mismo color.

Las semillas empiezan a germinar a temperatura de 12 y hasta los 20 °C, siendo la temperatura optima de 25-26 °C. La semilla puede ser atacada por hongos como *Alternaria alternata*, *Cladosporium* sp, *Colletotricum acutatum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium* sp, *Phoma* sp y *Sclerotium* sp.

Las semillas de calabaza se pueden comer frescas, tal como salen del fruto o tostarlas con sal y comerlas como botana o también en licuados. Es usada como condimento para consumo humano, los frutos tiernos son laxantes, las flores y tallos son diuréticos, los frutos maduros son tónicos y muy alimenticios

(Valdéz, 1979). El los Cuadros 5 y 7 muestra la composición de 100 g de parte comestible de calabaza.

Cuadro 5. Composición de 100 g de parte comestible de calabaza.

Componente	Fruto maduro	Fruto tierno	Hojas frescas	Flores masculinas	Semillas
Agua	90 g	---	90g	80.7 g	---
Proteínas	1.3 g	1.76 g	4.2 g	26.95 g	44%
Lípidos	0.2 g	0.11 g	0.4 g	---	---
Azúcares	6.0 g	2.14 g	3.4 g	0.035 g	---
Sales minerales	0.4-0.5 g	---	---	---	---
Vitamina A	---	100 UI _o	0.8 mg	---	---
Vitamina B ₁	---	60 mcg	0.14 mg	---	---
Vitamina B ₂ Niacina	---	40 mcg	0.17 mg	---	---
Vitamina C	---	---	1.8 mg	---	---
Ácido ascórbico	---	20 mg	58.0 mg	16.32 mg	---
Tiamina	10.0mg	---	---	16.0 mg	---
Riboflavina	0.05 mg	---	---	---	---
PP	0.05 mg	---	---	---	---
Carotenoides	0.50 mg	---	---	---	---
Fibra	2.0 mg	---	---	g	---
Ceniza	---	---	1.5 g	---	---
Valor energético	---	---	1.6 g	2.80 g	---
Aceite	---	17 cal ^o	26.0 kcal	---	---
Azufre	---	---	---	---	39%
Fósforo	10 mg	---	---	---	---
Sodio	30 mg	21 mg	96.0 mg	12.38 mg	1%
Potasio	3 mg	---	---	---	---
Magnesio	400 mg	---	---	37.63 mg	---
Calcio	10 mg	---	---	---	---
Hierro	21 mg	18 mg	127.0mg	79.0 mg	---
Zinc	0.8 mg	0.6 mg	5.8 mg	6.50 mg	---
	0.21 mg	---	---	---	---

Fuente: Ayala (2002).

2.7 Colza, Nabo Silvestre ó Canola

La Canola se cultiva en Canadá Occidental. De cada semilla se extrae aproximadamente 40% de aceite vegetal con características muy importantes como son: el poseer el nivel más bajo de grasa saturada (7%) comparada con la de otros aceites vegetales disponibles en el mercado y contiene de forma natural dos ácidos grasos esenciales: Omega 3 ($\Omega 3$) y Omega 6 ($\Omega 6$) sustancias que no pueden ser sintetizados por el organismo pero que tienen un papel fundamental en la salud del sistema cardiovascular.

Se ha demostrado que el consumo de alimentos que contienen el ácido alfa-linolénico ($\Omega 3$) tiene efectos de reducción sobre los niveles de triglicéridos en la sangre y el consumo del ácido linoléico ($\Omega 6$) reducción sobre el colesterol. La Canola favorece la absorción de las vitaminas liposolubles, promueve el sabor, textura y gusto por las comidas. El aceite de canola es el más sano ya que el contenido de grasa saturada es bajo (7 %), además de aportar ácidos grasos esenciales como linolénico (11%) y linoleico (21%) (www.harineradelvalle.com/comunicados/marcas/canola2.doc, 03/2006).

La colza es originaria de la India, China y Japón. Es conocida desde hace 2000 años antes de la Era Cristiana. Específicamente, la localización del nabo-colza-canola, es en Asia (Downey, 1966). Se utilizó históricamente como alimento humano por las clases poco pudientes hasta que fue desplazada por la papa (Cruz, 1989).

La canola pertenece a la familia de las Crucíferas (*Cruciferae*). El nombre científico de la canola es *Brassica napus* L y *B. campestris retroflexus*. Es una planta herbácea anual o bianual de tallos erectos, hojas basales liradas y lobuladas, racimos florales corimbiformes. Las semillas son globuladas de color castaño –rojizo (Nuez, et al. 1999).

La temperatura óptima recomendada para la germinación de la canola es de 15 – 20 ° C, con un mínimo de 5-7° C. En las semillas de canola se pueden presentar enfermedades como: *Alternaria alternata*, *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *Alternaria* sp, *Botritis cinerea*, *Fusarium equiseti*, *F. moniliforme*, *F. pallidoroseum*, *Fusarium* sp, *Phoma* sp, *Phyllosticta* sp, *Rhizoctonia solana* (Pupo et al., 1998).

El cultivo de la canola se hace casi exclusivamente por su semilla, de la que se extrae el aceite. La torta se usa como alimento del ganado. Las hojas se consumen como verdura en algunos lugares (Nuez et al., 1999). En el Cuadro 6 se muestra el análisis bromatológico de la semilla de canola, y en el Cuadro 7 se presenta la composición de la parte comestible (plántula) de la canola.

2.8 Amaranto

Entre los pseudo cereales se pueden mencionar el amaranto, la quinua y el trigo sarraceno. El amaranto (*Amaranthus hypocondriacus* y *Amaranthus cruentus*) es nativo de México y Guatemala (Ruskin, 1987). América es el centro de origen del amaranto. Fue cultivado por los Aztecas y los Incas.

El amaranto pertenece a la familia de las Amarantáceas (Amaranthaceae), del orden Cariofilales. Es una planta herbácea anual de 1.5 a 2 metros de altura, el tallo es ramificado desde la base y marcado con estrias longitudinales. Las hojas son largamente pecioladas y ovadas. Las inflorescencias se ubican en panículas terminales o axilares muy ramificadas. El fruto es una cápsula pequeña que se abre transversalmente y contiene una sola semilla blanca, lisa y brillante.

La temperatura adecuada para que las semillas de amaranto germinen es entre 16 a 35° C. Las semillas de amaranto pueden presentar las siguientes enfermedades causadas por hongos: *Albugo blitti* (Biv), *Alternaria longissima*, *Alternaria* sp., *Corynespora cassicola*, *Fusarium* sp, *Phoma* sp, *Septoria* sp.

La harina de amaranto es utilizada para la elaboración de panes y tortillas. En sopas, tartas, crepas, cereales para el desayuno, budines, barritas, adorno de pasteles, bebidas y se usa en alimentos infantiles. El grano no procesado puede ser empleado como alimento para animales, en especial para animales de corral. Además la planta tiene importante potencial como fuente de tintes naturales, productos farmacéuticos (Ruskin, 1987).

Alejandre y Gómez (1986) mencionan que el amaranto es una especie rica en carbohidratos asimilables y aporta aminoácidos importantes para el organismo (Cuadro 6). En el Cuadro 7 se muestra un análisis bromatológico de la parte comestible (semilla) del amaranto.

Cuadro 6. Análisis bromatológico de la panícula de huauzontle, semilla de canola y amaranto, en una muestra de 100 g peso seco.

Componente	Huauzontle	Canola	Amaranto
Proteínas	4.6 g	35.0 %	14-16 %
Extracto etéreo	0.7 g	30.0 %	6.50 %
Carbohidratos	12.1 g	---	50-60 %
Calcio	163 mg	---	---
Hierro	6.1 mg	---	---
Tiamina	0.20 mg	---	---
Riboflavina	0.31 mg	---	---
Niacina	0.5 mg	---	---
Ácido ascórbico	95 mg	---	---
Retinol	252 µg	---	---
Cenizas	---	6.1 %	2.7 %
Humedad	---	10.0 %	10.25 %
Fibra cruda	---	12.0 %	15.70 %
Taninos	---	1.5 %	---
Ácido linoleico	---	0.6 %	---
Ácido fítico	---	4.0 %	---
Glucosinolatos	---	16 µmoles/g	---

Fuente: Huauzontle: Bautista (1988); Canola: Antecedentes y mercado de la pasta de canola. Anónimo (2006); Amaranto: Alejandre y Gómez (1986).

Cuadro 7. Valor nutritivo de la panícula de huauzontle, semilla de calabaza, plántula de canola y semilla de amaranto (100 gramos de alimento crudo en peso neto)

Componente	Huauzontle	Calabaza	Canola	Amaranto
Carbohidratos (g)	12.10	12.20	3.30	65.10
Proteínas (g)	4.60	36.90	1.70	12.90
Grasas (g)	0.70	44.00	0.20	7.20
Fibra (g)	2.80	2.60	1.40	6.70
Humedad (%)	76.10	4.30	93.20	12.30
Energía (kcal)	60.	546	18.00	358.00
Porción comestible (%)	80.	74.00	66.00	100.00
Lípidos				
Grasas totales (g)	0.70	44.00	0.20	7.20
Colesterol (mg)	0.00	0.00	0.00	0.00
Ácidos grasos saturados totales (g)	---	7.69	0.03	---
Ác. grasos monoinsaturados (oléico) g	---	16.33	0.02	---
Ácidos grasos poliinsaturados (Linoléico) g	---	---	0.04	---
Minerales				
Calcio (mg)	163.0	247.00	20.0	34.00
Fósforo (mg)	---	500	20.0	---
Fierro (mg)	6.10	3.40	1.50	9.20
Magnesio (mg)	---	---	20.00	---
Sodio (mg)	---	---	49.00	---
Potasio (mg)	---	---	268.00	---
Zinc (mg)	---	---	0.68	---
Vitaminas				
Retinol (mcg)	252.00	15.00	0.00	0.00
Ác. ascórbico (mg)	45.00	0.00	26.00	0.00
Tiamina (mg)	0.20	0.14	0.04	0.14
Riboflavina (mg)	0.31	0.15	0.04	0.32
Niacina (mg)	0.50	2.20	0.70	1.00
Piridoxina (mg)	---	---	0.18	---
Ácido fólico (mcg)	---	---	10.00	---
Cobalamina (mcg)	---	0.00	---	---

Fuente: Muñoz, *et al.*, 1996.

2.9 Análisis de alimentos

El análisis de alimentos es la herramienta que ha proporcionado la ciencia para conocer la composición de los materiales destinados a la alimentación y es una rama de la Química Analítica, que se fundamenta en la Química Orgánica, Química Inorgánica, Matemáticas, Física y en la Fisicoquímica (Sosa, 1979).

Alimento es una sustancia o conjunto de sustancias que después de ser ingeridas, son digeridas, absorbidas y utilizadas para su mantenimiento y producción de organismo que lo consume. Un alimento se puede dividir en grupos de sustancias químicas, las cuales, tienen cada una de ellas una función particular en el organismo. A cada una de éstas sustancias se le denomina nutriente (Sosa, 1979).

Un alimento completo está constituido por los siguientes componentes: agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y minerales. Existe un concepto más general de alimento "Alimento es cualquier material comestible que consume el hombre o los animales y que aporta nutrientes a su dieta" (Sosa, 1979).

2.10 Análisis proximal

El análisis proximal es un conjunto de determinaciones de laboratorio que pretende evaluar en forma global cada grupo de nutrientes que contiene un alimento. Consta de las siguientes determinaciones: humedad, extracto etéreo, fibra cruda, extracto libre de nitrógeno, proteínas crudas y cenizas, con el

propósito de tener una idea global de los componentes de una muestra vegetal (Sosa, 1979; Church y Pond, 1987).

Los análisis proximales son una combinación de los procedimientos analíticos desarrollados en Alemania desde hace más de un siglo. Tienen como fin la descripción rutinaria de los alimentos y aunque desde el punto de vista nutricional tienen muchas fallas, aunque todavía se utilizan en muchas partes. En algunos casos su utilización ha persistido y ha recibido apoyo de algunas normas que exigen que se limiten o establezcan las cantidades mínimas y máximas de los componentes que conforman las mezclas de alimentos que se venden comercialmente.

2.10.1 Proteína cruda

El procedimiento que se utiliza para su determinación se conoce como el método de Kjeldahl. El material que se va analizar se digiere en una mezcla concentrada de H_2SO_4 que convierte el Nitrógeno en $(NH_4)_2SO_4$. Luego se enfría esta mezcla con NaOH, que transforma al N en una forma de amoníaco ionizado. Después se destila la mezcla y el destilado se titula con ácido. Este análisis es exacto y repetible, pero toma relativamente demasiado tiempo e incluye la utilización de sustancias químicas peligrosas (Church y Pond, 1987).

2.10.2 Extracto etéreo

Este procedimiento requiere que las muestras molidas se extraigan con éter de petróleo por un periodo de dos horas. Las sustancias solubles en éter incluyen una gran variedad de compuestos orgánicos de los cuales solamente unos pocos tienen valor nutritivo. Los que tienen una importancia cuantitativa incluyen las grasas verdaderas y ésteres de los ácidos grasos, algunos lípidos compuestos y las vitaminas liposolubles o provitaminas, tales como los carotenoides. La principal razón para obtener la información del extracto etéreo es aislar una fracción de los alimentos de elevado valor calórico.

2.10.3 Cenizas

Son el residuo que queda después de que todo el material orgánico ha sido incinerado (oxidado completamente) en una mufla de 500 a 600 ° C. Desde el punto de vista nutricional, los valores de las cenizas tienen poca importancia, aunque los valores sumamente elevados pueden indicar que existe una contaminación con tierra o la dilución de alimentos con sustancias tales como sal y piedra caliza. En el análisis proximal se requieren datos sobre las cantidades de cenizas que son necesarias para obtener otros valores. Algunos elementos minerales, tales como el yodo y el selenio, pueden ser volátiles y se pierden al convertir la sustancia en ceniza. Normalmente estos elementos representan únicamente un porcentaje muy pequeño del total, de manera que el error es muy pequeño (Church y Pond, 1987).

2.10.4 Fibra cruda

Se determina utilizando una muestra desengrasada previamente, la cual se lleva a ebullición en ácido diluido, luego, en una base diluida, se seca y se quema en un horno. La fracción de la fibra cruda es la diferencia entre el peso antes y después de quemar la muestra. Este es un procedimiento tedioso de laboratorio que no se repite con facilidad. Se trata de un intento de imitar el proceso digestivo que ocurre primero en el estomago gástrico y luego en el intestino delgado de los animales.

La fibra cruda esta conformada principalmente por carbohidratos estructurales vegetales, tales como celulosa y hemicelulosa, pero también contiene algo de lignina, que es una sustancia muy poco digerible que se relaciona con la porción fibrosa de los tejidos vegetales. Para el animal monogástrico, la fibra cruda tiene un valor variable más bien bajo; para los rumiantes, también tiene un valor variable, pero la utilizan más que los animales monogástricos (Church y Pond, 1987).

2.11 Saponinas

Las saponinas (del latín *sapon* = jabón) son heterósidos (azúcar + aglicón) muy frecuentes en los vegetales. A las agliconas de las saponinas se les denomina sapogeninas (Vickery y Vickery, 1981). Se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de ésta y es una de las principales propiedades que se han explotado, por lo que al agitarse produce espuma en forma de panal (Sotelo, 1997). La mayor parte de las saponinas tienen propiedades hemolíticas y son

tóxicas para los animales de sangre fría, principalmente los peces. Las saponinas son utilizadas tanto por su aplicación en la industria; como materias primas para la semisíntesis de moléculas medicamentosas, y cosmetología; como por sus propiedades farmacológicas; en la fitoterapia (Kaufman, *et al.* 1999).

2.11.1 Estructura química y clasificación

Las saponinas son estructuras formadas por una parte glucosídica (azúcar) y una parte no glucosídica (aglicona) denominada sapogenina. Las unidades de azúcar pueden ser neutras o ácidas. Estructuralmente las saponinas se pueden clasificar en dos grupos según la naturaleza de su genina (aglicona): esteroidales y triterpénicas.

2.11.1.1 Saponina con genina esteroideal

Se encuentran casi exclusivamente en Angiospermas Monocotiledoneas: Liliaceae, Agavaceae, Dioscoreaceae, Fabaceae y Solanaceae. Se sintetizan por la ruta del ácido mevalónico y son en general menos frecuentes. Ejercen acciones biológicas en las plantas, como promotores de la germinación e inhibidores del crecimiento de la raíz. Se pueden clasificar en:

- i. Derivados del espirostano: estructura hexacíclica de 27 átomos de carbono y deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno con dos heterociclos de 5 y 6 miembros y una cadena lateral en la posición 17. Estos heterosídicos se encuentran distribuidos principalmente en bulbos, raíces y semillas (Figura 2).

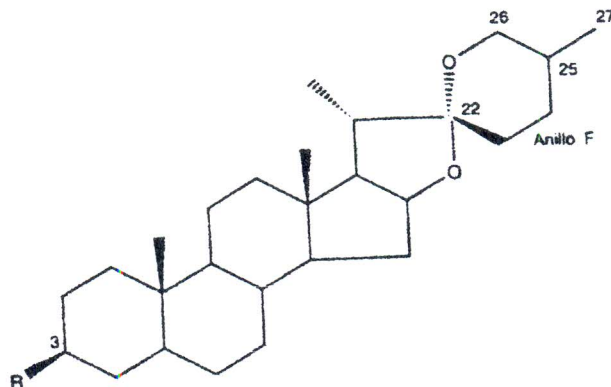


Figura 2. Espirostano, estructura hexacíclica clásica de las saponinas esteroidales.

- II. Derivados del furostano: estructura pentacíclica de 27 átomos de carbono (Figura 3). Generalmente las saponinas permanecen en la planta con un núcleo de furostano y durante la extracción se produce una ciclación que da lugar al ciclo de espirostanol.

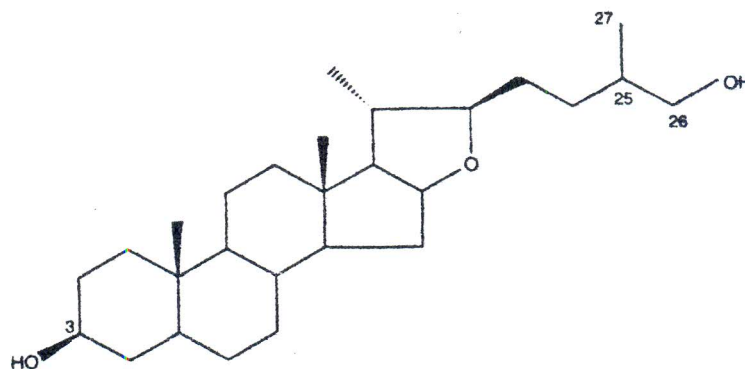


Figura 3. Furostano, estructura pentacíclica clásica de saponinas esteroidales.

2.11.1.2 Saponina con genina triterpénica

Son las más numerosas, se encuentran en algunos animales marinos y algunos Pteridofitas. Prácticamente inexistentes en Gimnospermas, se encuentran

especialmente en Angiospermas Dicotiledóneas: Araliaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Fabales, Primulaceae, Ranunculaceae, Rosaceae, Sapindaceae, etc. Tiene la aglicona de 30 átomos de carbono (triterpeno). Dicha aglicona procede de la ruta biosintética de la condensación isoprénica, también denominada ruta del ácido mevalónico, por unión de 6 unidades C_5 . Son usadas como expectorantes (Samuelsson, 1999). Se subdividen en:

- i. Saponinas triterpénicas pentacíclicas: son las más frecuentes y pueden ser derivados del oleano, del ursano o lupeol (Figura 4).

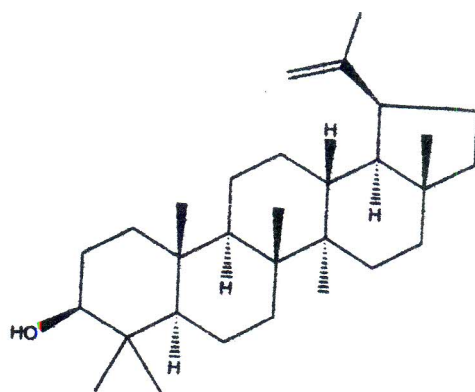


Figura 4. Lupeol, estructura pentacíclica clásica de saponinas triterpénicas

- ii. Saponinas triterpénicas tetracíclicas: conservan la estructura clásica del dammarano con tres ciclos de 6 miembros y un ciclo de 5 miembros (Bruneton, 1991) (Figura 5)

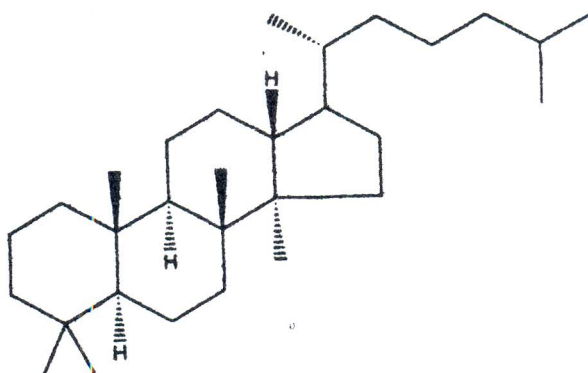


Figura 5. Dammarano, estructura tetracíclica clásica de saponinas triterpénicas.

2.11.2 Propiedades fisiológicas y farmacológicas de las saponinas

La toxicidad natural de muchas saponinas ha sido conocida y explicada durante muchos siglos, particularmente por la toxicidad que produce a los animales de sangre fría como peces, moluscos y anfibios (Harborne, 1984).

Las distintas saponinas tienen diferente actividad hemolítica, y esta variación está dada por una parte a la sensibilidad de los eritrocitos por consiguiente a la hemólisis en cada especie animal, y por otra a la estructura de la molécula. La actividad hemolítica de las saponinas no puede ser atribuida a la propiedad de detergente, pero puede estar relacionada a una habilidad de interaccionar con algunos componentes de la membrana celular. El mecanismo del cambio de estructura en la membrana dado por la presencia de saponinas se explica de la siguiente manera:

- a. La aglicona hidrofóbica de la molécula de saponina penetra en la capa lipídica de la membrana y puede interactuar específicamente con otro componente de la membrana como el colesterol.

- b. La presencia de saponinas en la membrana induce la formación de canales y marca la membrana con agujeros.
- c. Esto incrementa la permeabilidad de la membrana permitiendo la salida de K^+ y entrada de Na^+ y otros iones.
- d. Se completa la acción cuando el contenido de la molécula se encuentra en el medio exterior, tal como ocurre con la hemoglobina (Chekee, 2000).

Las membranas celulares ricas en colesterol son las más susceptibles a ser dañadas por saponinas y las que tienen menor cantidad de colesterol. Algunas saponinas modifican la permeabilidad de la mucosa de células epiteliales de los intestinos (Harborne, 1984).

La diosgenina es una sapogenina que reduce la absorción del colesterol y como consecuencia incrementa la degradación de colesterol por el intestino y el hígado. Incrementa la secreción de colesterol en la bilis y excreción de otros esteroides pero sin incrementar la bilis o excreción fecal de ácidos biliares (Bruneton, 1991).

Las saponinas identificadas en la raíz cruda del ginseng tienen efecto en el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos. Además de tener el poder de reducir la fatiga de los músculos ocasionada por el ejercicio, aparentemente por conservar las reservas endógenas de carbohidratos con la baja producción de lactato y piruvato e incrementar la oxidación de los ácidos grasos. Las saponinas del ginseng inyectadas de forma intravenosa se reporta que

incrementa la síntesis de proteínas en el hígado, continúa con el incremento de síntesis de ARN e incrementa la actividad de la ARN-polimerasa (Cheeke, 2000).

2.11.3 Efecto de las saponinas en mamíferos y aves

Las saponinas son de 10 a 1000 veces menos tóxicas si se administran de forma oral que en inyección intravenosa. Las enzimas del tracto gastrointestinal no son afectadas por las saponinas, pero pueden ser hidrolizadas por la microflora hasta sapogeninas. En el tracto gastrointestinal de los caballos, algunas saponinas pueden causar inflamación. Esto incrementa la permeabilidad del intestino lo suficiente como para que las saponinas pasen al plasma sanguíneo y cause el daño de la hemólisis (Cheeke, 2000).

2.11.4 Toxicidad de las saponinas

Las diferentes especies animales difieren en la susceptibilidad a las saponinas. La dosis letal puede variar de 1 a 6 000 mg/kg de peso corporal. Se marca una gran diferencia si las saponinas se administran de forma oral o intravenosa. La DL_{50} en ratas es de 1.9 mg/kg de peso de manera intravenosa y de 50 mg/kg de peso cuando se administra de forma oral. En un reciente estudio de purificación de la saponina del ginseng muestra que la DL_{50} es de 5 000 mg/kg de peso. Encontraron que algunas saponinas de la alfalfa no son tóxicas para los monos cuando la dieta es de 10g/kg de ración diaria durante 6 meses (Cheeke, 2000).

2.11.5 Papel de las saponinas en la prevención de enfermedades cardiovasculares

La acción de las saponinas es reconocida desde hace 30 años, pero actualmente es poca la información que existe al respecto. Chekee (2000) menciona que las saponinas de las semillas de alfalfa son las responsables de bajar la concentración de colesterol en el plasma en aves de corral y que la fibra de alfalfa no es la responsable de la actividad de las saponinas. Chekee (2000) encontró que en ratas hay una reducción significativa en las concentraciones de colesterol en respuesta a la alimentación con saponinas comerciales o saponinas aisladas de soya, frijol o chícharos pequeños.

Los alimentos que contienen cantidades significativas de saponinas tienen un efecto de disminuir el colesterol del plasma en personas con hiperlipidemia. El metabolismo del colesterol y ácidos biliares están íntimamente relacionados ya que los ácidos biliares son sintetizados del colesterol en el hígado, el colesterol es el inmediato precursor (Harborne, 1984).

Los ácidos biliares y el colesterol son secretados por el hígado como bilis promotora de la digestión y absorción de los lípidos. Los ácidos biliares son muy eficientes para reciclar, y después completar la función como detergente en la digestión de lípidos y absorción, regresan al hígado en el torrente sanguíneo (el ciclo del hígado). La habilidad de las saponinas de formar micelas con los ácidos biliares interrumpe éste ciclo. Las moléculas de ácidos biliares con las micelas no son disponibles para reabsorberse por lo que son llevadas al

intestino. Similarmente la formación de moléculas complejas de las saponinas con el colesterol previene la absorción del colesterol. El resultado neto de la alta pérdida por la excreción fecal de colesterol y ácidos biliares puede ser encontrado en fuentes exógenas o endógenas, como consecuencia la reducción de niveles de colesterol del plasma de la sangre, el hígado y otros tejidos (Cheeke, 2000).

2.11.6 Uso de las saponinas

Saponinas aisladas de los frutos del árbol de la leguminosa *Swartzia madagascariensis* manifestaron actividad molucicida y son empleadas en África como uno de los mejores candidatos en el control del caracol (Harborne, 1988).

Algunas saponinas presentan fuerte actividad fungicida y antimicrobial. Inhibe el crecimiento de los hongos *Trichoderma*, *Sclerotium rolfsii*, micoplasmas y varias especies de *Pythium* (Kaufman, *et al.* 1999).

En la nutrición humana, las saponinas se utilizan para la prevención de enfermedades cardiovasculares, disminuir la concentración de colesterol e incrementar la excreción fecal del colesterol de forma directa o indirecta con los ácidos biliares. También se han identificado saponinas con actividad antileucémica, antitumoral, antihipertensiva, analgésica, antipirética antiinflamatorio, antidiurético y antihistamínico. También se utilizan para la elaboración de cosméticos, de agentes de limpieza, tienen aplicaciones como surfactantes (Kaufman, *et al.* 1999).

Saponinas como la yamogenina aisladas de Dioscorea, son usadas como materia prima en la síntesis de progesterona, compuesto usado en la elaboración de pastillas para control de la natalidad (Taiz y Zeiger 1991).

2.11.7 Métodos de detección de saponinas

2.11.7.1 Cualitativos

Para la detección de saponinas se pueden realizar diferentes ensayos tales como:

- a. Espuma. La formación de espuma a partir de la dilución de un extracto vegetal.
- b. Efecto hemolítico. En donde únicamente se observa la solución de eritrocitos transparente de color rojo.
- c. Reacción coloreada con reactivo de Liebermann-Burchard (Anhídrido acético/ácido sulfúrico)
- d. Reacción coloreada con reactivo de Carr-Price (tricloruro de antimonio)
- e. Reacción coloreada con aldehído aromático en ácido sulfúrico (vainillina, anisaldehído)

2.11.7.2 Cuantitativos

Los métodos para cuantificar saponinas tienen una confiabilidad baja, ya que no todas reaccionan de la misma manera con los mismos reactivos. Se clasifican de la siguiente manera:

- a. Gravimetría: se parte de la solución acuosa de las saponinas y se realiza una hidrólisis, se obtienen las sapogeninas (agliconas) libres que precipitan y se determinan por peso.
- b. Cromatografía de alta resolución (CLAR, HPLC).
- c. Índice de hemólisis. La hemólisis es un proceso en el cual la membrana de la célula se degrada y permite el paso de la hemoglobina al exterior de la célula. Es fácilmente demostrable, en una suspensión de eritrocitos en solución salina opaca, si se agrega saponinas la solución con los eritrocitos se pone transparente y roja. Este efecto puede ser usado para conocer el contenido de saponinas en un extracto vegetal. Para determinar bajas concentraciones se requiere de una solución salina con eritrocitos, en donde la cantidad de éstos es conocida, el resultado es expresado en Índice Hemolítico (Sotelo, 1997).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

La germinación de las semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto se realizó en el laboratorio de Olericultura. El análisis proximal en el laboratorio de Investigación del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, la primera fase de la cuantificación de saponinas en el laboratorio de Investigación de Fisiología Vegetal del Departamento de Fitotecnia y la segunda fase de la cuantificación de saponinas en el laboratorio de Investigación en Farmacología de la Facultad de Química de la UNAM.

3.1 Semillas para los germinados

Las semillas utilizadas en esta investigación estuvieron libres de tratamiento previo con agroquímicos, su origen fue: huauzontle cosechadas en Chapingo en el 2001; las semillas de calabaza Round Zuchini UACH-2004 sin testa tipo arbustiva de Chapingo; canola cosechada en Chapingo en el año 2004; y finalmente, el amaranto de región tropical fue traída de la comunidad de Huazulco, Morelos.

De los lotes utilizados se obtuvo una pequeña muestra para realizar la prueba de germinación.

3.2 Diseño de tratamientos y experimental

Se estudiaron dos desinfectantes y dos concentraciones para la esterilización de la semilla de amaranto (hipoclorito de calcio 0.06 y 0.08 % y ioduro de potasio 0.005 y 0.01 %). También se estudiaron cuatro tiempos en cada concentración a las 3, 9, 16 y 24 horas. Se estableció un testigo en cada tiempo de desinfección en un diseño estadístico de completamente al azar con cuatro repeticiones. De las combinaciones anteriores resultaron 20 tratamientos. La unidad experimental fue una charola por tratamiento.

Se colocaron cuatro charolas con semillas de cada una de las especies. Posteriormente se preparó una muestra compuesta, la cual se dividió en dos partes iguales, una de estas partes se utilizó en el análisis proximal y la otra para la cuantificación de saponinas.

Para analizar el contenido de saponinas y el análisis proximal en cada especie se utilizó otro diseño experimental de completamente al azar con cuatro repeticiones.

3.3 Pruebas de germinación

La prueba de germinación se llevó a cabo con semillas de alta calidad física y fisiológica. Para las semillas de huauzontle, canola y amaranto, se usaron cuatro repeticiones de 100 semillas al azar; para la calabaza únicamente fueron 100 semillas divididas en repeticiones de 25, ya que es poca la disponibilidad de esta semilla sin testa y no se encuentra comercialmente. Las semillas no

desinfectadas dispersaron uniformemente encima de una toalla de papel humedecida, se colocaron en charolas de unicel. Las charolas con las semillas se mantuvieron a temperatura ambiente que varió entre 18 y 25 °C. Las semillas no fueron desinfectadas previamente. La duración de la prueba fue de 5 días para las cuatro especies.

3.4 Obtención de Germinados

De las semillas de huauzontle, canola y amaranto se tomaron 40 gramos de cada una para obtener los germinados. En el caso de calabaza se pesaron únicamente 25 gramos. El proceso fue el siguiente:

Lavado de la semilla

Antes de iniciar con los lavados, se determinó el volumen inicial mediante la técnica de desplazamiento en probeta, con el propósito de conocer el volumen inicial de la semilla.

La semilla se lavó perfectamente con agua corriente hasta eliminar por completo las partículas de polvo y las de mayor tamaño que se presentan como impurezas.

Se hizo un segundo lavado con detergente Roma[®] en una proporción de tres gramos por litro de agua, para eliminar totalmente la tierra y algunos microorganismos que pudieran haber quedado adheridos a las semillas.

Desinfección de semilla

Después de lavar con detergente las semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, se llevaron a un recipiente el cual contenía una solución de hipoclorito de calcio a concentración de 0.06 % durante 8 horas para su desinfección. Posteriormente, se enjuagaron en agua limpia para eliminar los residuos de hipoclorito de calcio.

Siembra

Después de enjuagar las semillas, se escurrieron y se colocaron en charolas de plástico caladas de 40*25*12 cm a las cuales ya se les había colocado sobre el fondo una capa de yute y puesta a su vez una de tela de organza. Las charolas también fueron previamente desinfectadas con hipoclorito de calcio y lavadas del mismo modo que la semilla. Se cubrieron las semillas con otra tela de yute para guardar humedad (Figura 6).



Figura 6. Método para siembra en charolas. A). Charola vacía y desinfectada; B) primera capa de yute; C) primera capa de organza; D) capa de semilla; E, F) segunda capa de organza y yute, y G) producto final.

Incubación

Las charolas con las semillas esterilizadas se llevaron a un lugar con oscuridad parcial para promover la germinación a temperatura ambiente (25° C). El riego con agua se realizó cada tres días ya que el yute retiene humedad y no es necesario el riego diario.

Cada 24 horas se tomó una muestra con 10 plántulas para observar el incremento de tamaño del germinado (T), porcentaje de infección (D), y la apariencia (A) del germinado.

Cosecha

Las fechas de cosecha para cada una de las especies se establecieron con base en la información ya existente de Potrero (1997), Garzón (1998) y Ramos (1997), además de una prueba propia que duró 15 días después de la siembra de las semillas. La prueba antes mencionada se utilizó para confirmar la definición del momento óptimo de cosecha, para ello se consideró el máximo rendimiento de germinado con sabor agradable y el crecimiento de hongos y bacterias inexistente. Al momento de detectar un sabor ligeramente desagradable (por ejemplo amargo) o crecimiento de hongos o bacterias, se marcó como fecha límite de cosecha del germinado a la que no se debe llegar.

Transcurrido el tiempo previamente establecido para la cosecha en cada especie, el germinado se desprendió manualmente de las charolas, posteriormente, se enjuagó con agua limpia.

Para medir el aspecto o apariencia del germinado se consideró que éste se mostrara turgente, uniformidad en crecimientos y color verde, para ello se utilizó la siguiente escala:

0: Mala (0-30 %); 1: Regular (35-60 %); 2: Buena (65-80 %); 3: Excelente (85-100 %).

Para el caso del amaranto, al no obtener resultados favorables con el método usado para la desinfección de la semilla, se optó por mejorar el tratamiento de desinfección con hipoclorito de calcio, para lo cual se realizó un ensayo con tratamientos combinando dos desinfectantes, dos concentraciones y cuatro tiempos. Nuevamente se pesaron 20 gramos de semilla y se hicieron los mismos lavados. Después del lavar con detergente a las semillas de amaranto se aplicaron cuatro tratamientos con un único testigo.

Los tratamientos fueron con hipoclorito de calcio en concentraciones de 0.06 % y 0.08 % y con ioduro de potasio en concentraciones de 0.005 % y 0.01 % y el testigo con agua. Durante 6, 9, 16 y 24 horas para cada uno de los tratamientos (Cuadro 8).

Posterior al término del tiempo establecido, se enjuagaron las semillas para eliminar los residuos de la solución de cada tratamiento.

Cuadro 8. Arreglo de los tratamientos para la desinfección de semillas de amaranto.

Tiempo de desinfección (horas)	Desinfectantes				
	Ioduro de potasio		Hipoclorito de calcio		Agua (Testigo)
	0.005 %	0.01 %	0.06 %	0.08 %	0.0 %
3	Trat 1	Trat 5	Trat 9	Trat 13	Trat 17
9	Trat 2	Trat 6	Trat 10	Trat 14	Trat 18
16	Trat 3	Trat 7	Trat 11	Trat 15	Trat 19
24	Trat 4	Trat 8	Trat 12	Trat 16	Trat 20

3.5 Variables respuesta

Peso inicial (P_i ; g). Se pesaron 40 gramos de semilla de huauzontle, canola y amaranto y 25 g de calabaza para cada unidad experimental. Esta variable se tomó como punto de referencia.

Volumen inicial (V_i ; cm^3). Se midió de forma individual para cada una de las muestras en la unidad experimental.

Peso de la semilla embebida o peso embebido (P_e ; g). Fue el peso de las semillas de cada unidad experimental después del tratamiento correspondiente.

Volumen embebido (V_e ; cm^3). Se determinó cuando las semillas habían sido tratadas en cada unidad experimental.

Porcentaje de germinación (Ger; %). Se registró por conteo y mediante la siguiente fórmula: (semillas germinadas/semillas establecidas)*100.

Rendimiento de germinado (Rg; g). Se refiere al peso del germinado incluyendo la testa, excepto en calabaza que no tenía, en cada tratamiento y tiempo de germinación.

Volumen del germinado (Vg; cm³). Se midió en una probeta después de que se registró el peso del germinado. Se realizó después de la cosecha y para cada unidad experimental.

Contaminación (Con; %). Se registró mediante una escala en donde por ejemplo si una cuarta parte de la unidad experimental estaba contaminada se le daba 25 % de infección por hongos y bacterias.

Índice de conversión semilla a germinado (IC). Se obtuvo a partir de los datos de rendimiento del germinado y el peso inicial de semilla seca, mediante la siguiente ecuación:

Índice de conversión = $\text{Peso de germinado} / \text{peso inicial de la semilla seca}$.

3.6 Análisis proximal

El análisis proximal de los germinados de huauzontle, calabaza, canola y amaranto se realizó en 4 repeticiones. Se colocaron en una estufa de secado durante tres días a 40° C con el fin de eliminar humedad para así facilitar el manejo. Una vez que la muestra estuvo a peso constante por el secado se mezclaron para obtener una muestra de 300 gramos aproximadamente en peso seco. En el caso de las semillas se tomaron 200 gramos. Las muestras de semillas y germinados se molieron finamente en un molino hasta obtener partículas no mayores de 0.5 mm. Posteriormente, se colocaron en frascos pequeños de vidrio perfectamente cerrados.

3.6.1 Proteína cruda

El procedimiento que se utiliza para su determinación se conoce como método de Kjeldahl (AOAC, 1980). Se tomaron de los frascos de vidrio, 0.1 g de la muestra compuesta ya seca y molida de cada especie, para depositarla, junto con la mezcla catalizadora (93 g de sulfato de sodio anhidro y 7 g de sulfato de cobre fino cristalino) y ácido sulfúrico concentrado, en el matraz Kjeldahl. Inmediatamente después los matraces se colocaron en el digestor hasta que la muestra adquirió un color verde esmeralda. Los matraces se retiraron del fuego y se dejaron enfriar, se les agregó 10 ml de agua destilada, después se les adicionó 6 ml de ácido bórico al 4 %. Cada muestra se colocó en el destilador para obtener el amonio. Al matraz en donde se recuperó la muestra se le agregaron unas gotas de solución indicadora de rojo de metilo y verde de bromocresol (una parte de solución etanólica de rojo de metilo al 0.2 % con 5

parte de solución etanólica de verde de bromocresol al 0.2 %) para después titular con ácido clorhídrico al 0.02 N.

3.6.2 Extracto etéreo

El procedimiento descrito por la AOAC (1980) consistió en tomar, de los frascos de vidrio que contenían la muestra compuesta previamente seca y molida de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, 1 g de muestra. Ésta muestra se colocó en papel filtro y se enrolló perfectamente para que no se dispersara en los cartuchos de celulosa del aparato. A cada cartucho le correspondió un vaso de aluminio que fue lavado, desengrasado con éter de petróleo, secados y pesados. En un aparato de Soxtec System HT 1043 Extraction Unit Tecator, se colocaron las muestras con los cartuchos y los vasos de aluminio, dejando que las muestras actuar dentro del vaso con éter de petróleo durante 45 min, posteriormente las muestras se sacaron del vaso y se dejaron lavar por el éter de petróleo por 45 min más. Trascurrido el tiempo, los vasos de aluminio en donde se recuperó el extracto etéreo se colocaron en una estufa para eliminar el exceso de éter de petróleo y se pesaron, para que por diferencia de peso se lograra conocer la cantidad de lípidos en semilla y en germinado de las cuatro especies.

3.6.3 Cenizas

Nuevamente de cada muestra se tomó 1 g de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, tanto de la semilla como del germinado. Las muestras se colocaron en crisoles que se encontraron a peso constante y se dejaron por dos horas en

la mufla a una temperatura entre 500 y 600 °C. La cantidad de cenizas se determinó por diferencia de peso del crisol sin muestra y el crisol con muestra incinerada (AOAC, 1980).

3.6.4 Fibra cruda

Se pesaron aproximadamente 0.2 g de la muestra que se utilizó para la determinación de extracto etéreo, ya que estaba totalmente desengrasada y seca. Se colocó en un vaso de precipitado y se le agregaron 200 ml de ácido sulfúrico a 0.255 N llevando a ebullición durante 30 minutos. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar el vaso con la muestra, posteriormente, se filtró con una bomba de vacío. La muestra se regresó al vaso de precipitado y se aforó hasta 200 ml con el hidróxido de sodio al 0.313 N, dejándolo hervir durante 30 minutos. Se retiró del fuego y se dejó enfriar para después pasar la muestra por el crisol de filtración y enjuagar con agua destilada. Los crisoles con la muestra se colocaron en una estufa a 100 °C durante 12 horas para eliminar humedad. Transcurrido el tiempo se pesaron y colocaron en una mufla a 500 °C durante 2 horas, dejándolos enfriar en un desecador y pesando nuevamente para conocer la cantidad de fibra cruda en cada muestra (AOAC, 1980).

3.6.5 Carbohidratos

Para conocer la cantidad de carbohidratos (Harrison, et al. 1984) contenidos en semillas como en el germinado de cada especie se utilizó la fórmula siguiente:

% de carbohidratos totales = 100 - (proteína cruda % + Extracto etéreo % + Cenizas %).

3.7 Saponinas

3.7.1 Identificación preliminar

Se sometieron a un desengrasado una muestra aproximada de 50 gramos de semillas y de germinados de cada especie separadamente. Consistió en depositar la muestra seca y molida en un cartucho de papel filtro, el cual se colocó a su vez en un soxhlet para someter a reflujo con hexano (200 ml) durante 48 horas en tiempo discontinuo. Después de este tiempo, los cartuchos con la muestra se sacaron del soxhlet y se dejaron secar por 24 horas al ambiente. Nuevamente se pesaron los cartuchos y se colocaron en los soxhlets, dejándolos en reflujo con acetato de etilo (200 ml) durante 48 horas en tiempo discontinuo. Se recuperó el extracto con el acetato de etilo y se llevó a sequedad en un rotavapor Büchi. Los extractos de las especie se aplicaron en una placa cromatográfica de silicagel (F 254 Merck) utilizando β -sitosterol como blanco. Como eluyente se utilizó una mezcla de hexano: acetato de etilo en proporción 7:3.

El revelado de la cromatoplaça se realizó de dos formas: a) a través de el uso de una lámpara ultravioleta observando las manchas a longitud de onda larga (365) y corta (254), b) Una vez que las manchas se visualizaron, se revelaron con un agente cromogénico específico para sapogeninas triterpénicas y esteroidales, llamado reactivo de Liebermann-Burchard. Tal reactivo se preparó mezclando 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de cloroformo, enfriando la mezcla a 0 °C. Posteriormente, se agregó a la mezcla una gota de ácido sulfúrico concentrado. Con la mezcla se asperjó la placa obteniéndose una coloración de

rosa a rojo si se encuentra presente una genina triterpénica; ó si se observa una mancha azul a verde si se encuentra presente una genina esteroideal (Domínguez, 1973).

3.7.2 Método semi cuantitativo de saponinas y sapogeninas

3.7.2.1 Desengrasado de las muestras

De las muestras secas y previamente molidas se pesaron aproximadamente 50 gramos y se colocaron en unos cartuchos hechos con papel filtro para ser colocados en el aparato soxhlet, se adicionaron 200 ml de hexano y se llevó a reflujo durante 48 horas. Se colocaron en serie cuatro soxhlets. Pasado este tiempo, el hexano obtenido del reflujo se recuperó a presión reducida empleando un rotavapor modelo Büchi, llevando a sequedad el primer extracto. El primer extracto fue rico en grasa y cera, éstas se depositaron en frascos de vidrio pequeños previamente pesados, aun conservaban una pequeña porción de disolvente, se dejaron al ambiente para que se evaporara de forma natural. Una vez evaporado todo el disolvente, se pesaron nuevamente. Por diferencia de peso del frasco se conoció el porcentaje de grasas y ceras contenidas en la muestra (Girón, 1982). En el extracto hexanico no se identifican saponinas por cromatografía en capa fina.

3.7.2.2 Extracción de las saponinas y sapogeninas

Después de que los cartuchos concluyeron con el tiempo de reflujo con hexano, se dejaron al ambiente durante 48 horas para que se secaran perfectamente y se pesaron. Se depositaron los cartuchos en los soxhlets con los residuos

vegetales desengrasados y se dejaron a reflujo con 200 ml de metanol:agua (85:15) durante 6 horas. Después de este tiempo los cartuchos se desecharon y el segundo extracto se llevó a sequedad en un rotavapor Büchi eliminando todo el disolvente. Cada extracto se colocó en viales de vidrio previamente pesados (Girón, 1982).

3.7.2.3 Cuantificación de saponinas por Método de la Hemólisis

La determinación del contenido total de saponinas y sapogeninas se realizó de acuerdo al método de la hemólisis y con las modificaciones de Girón (1982) ya que es un método económico y confiable para conocer la cantidad de saponinas y sapogeninas presentes en una muestra.

Se utilizaron glóbulos rojos de conejo ya que es el tipo de sangre más sensible para la prueba. 5 ml de sangre de conejo con anticoagulante (0.1 ml de heparina de 5000 UI/ml) se colocó en tubos de centrifuga para lavarla (3 veces) con solución salina (NaCl al 0.9 %), en una proporción sangre: solución salina de 1:5. Se realizó la centrifugación a 1500 r.p.m., durante 15 minutos. Después se eliminó el líquido sobrenadante por decantación.

Terminado el tercer lavado, se diluyó el paquete de glóbulos rojos al 4%, para lo cual por cada mililitro de eritrocitos se añadieron 24 ml de solución salina (0.9%).

Para la sensibilización de los eritrocitos, por cada 10 ml de glóbulos rojos al 4

%, se agregó 1 ml de solución de proteasa, se colocó en la incubadora por espacio de una hora a 37° C, después se volvió a lavar (tres veces) centrifugando para eliminar la enzima a 1500 r.p.m. durante 15 minutos con solución salina (0.9 %), se colocó la suspensión de eritrocitos en un matraz.

Para obtener la suspensión de eritrocitos adecuada fue necesario ajustar el espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy con solución salina como blanco, a una transmitancia de 100%. La lectura de la suspensión de eritrocitos se ajustó a $26\% \pm 0.5$ de transmitancia.

La micro titulación se realizó en placas tipo "U" (Figura 7a), con el pipeteador de gota (Figura 7b) se colocaron en cada pozo 50 microlitros de solución salina (0.9 %). Se llenó el microdilutor (Figura 7c) con 50 microlitos del extracto problema o del estándar de saponina que fueron de digitonina y quillaza en relación 1:1, y se calibró el volumen con las placas de la Figura 7d.

Una vez calibrado el volumen, a partir de 50 μ l se realizaron 12 diluciones sucesivas desde el primer pozo (siguiendo la hilera horizontal hasta el último pozo) y se eliminó el residuo de la última dilución.

Finalmente, con el pipeteador de gota se colocaron 50 microlitros de la última suspensión de glóbulos rojos ya sensibilizados y ajustados en cada uno de los pozos de la placa, teniendo siempre un control negativo con solución salina (0.9 %) sin extracto problema y otro positivo con solución salina (0.9 %) y el

estándar de saponinas (relación 1:1 de saponinas de digitonina y saponinas de quillaza) al 0.5 % en solución salina 0.9 %.

Se giró la placa en forma circular sobre una superficie plana, para homogenizar la muestra, y se colocaron en la incubadora por 1 hora a 37° C; una vez transcurrido el tiempo de incubación se puso la placa con todo cuidado sobre un espejo para obtener el título de la hemólisis. El título de la hemólisis se determinó de la siguiente manera: los pozos se enumeraron, tomando hileras horizontales y de izquierda a derecha, del 1 al 12 para cada una de las muestras. Se localizó en la hilera horizontal de la placa, el número que correspondió al último pozo donde se produjo la hemólisis, en donde el contenido del pozo se observó de color rojo transparente, que resultó ser la mínima cantidad de muestra que produce prueba positiva de hemólisis. En la Figura 8 se observa que en la hilera dos, el último pozo que muestra hemólisis se ubica en la columna 6, siendo éste el valor del estándar.

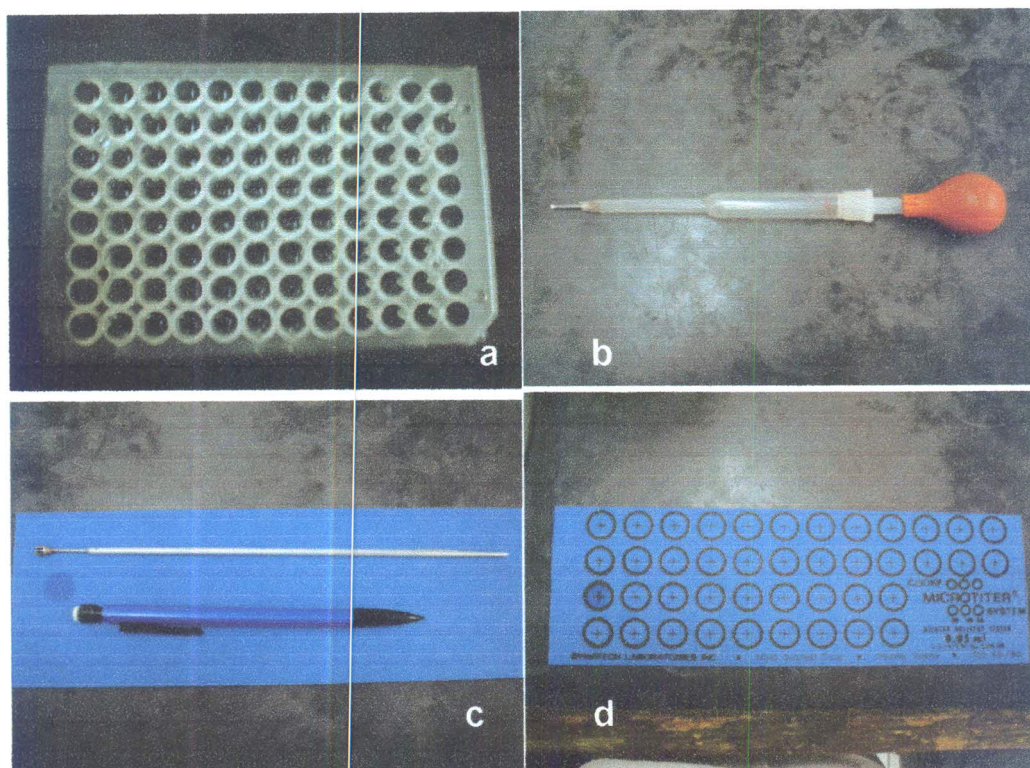
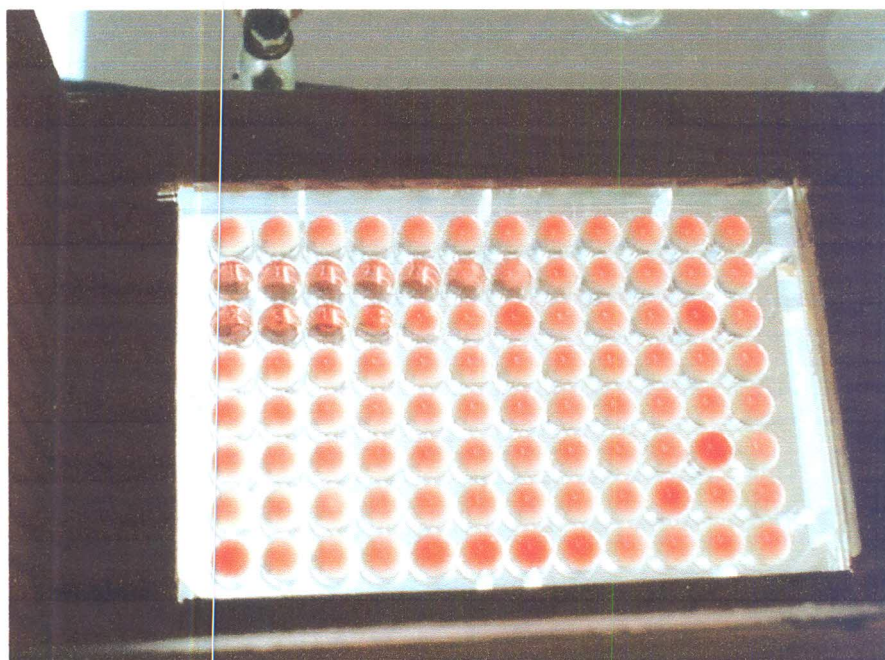


Figura 7. Instrumentos utilizados para la cuantificación hemolítica de saponinas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto. a) Placa en “U”; b) Pipeteador de gota; c) Microdilutor y d) Placas calibradoras de microdilutor.



3.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables respuesta se realizaron con el paquete estadístico SAS version 8.0, 2000 (Statistical Analysis System). Los análisis de comparación de medias de Tukey con un $\alpha = 0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Pruebas de germinación

El Cuadro 9 muestra que las especies presentaron un alto porcentaje de germinación, entre 89 % (Huauzontle) y 98.5% (Calabaza) por lo que los lotes de semillas usadas presentaron condiciones adecuadas para la investigación.

Cuadro 9. Porcentaje de germinación de las semillas.

Especie	% germinación
Huauzontle ^a	89.00 %
Calabaza ^b	98.50 %
Canola ^a	96.50 %
Amaranto ^a	90.50 %

^a Se utilizaron 100 semillas con 4 repeticiones.

^b Única especie en la que se utilizaron 25 semillas con 4 repeticiones.

4.2 Obtención de los germinados inocuos

4.2.1 Desinfección de semilla de huauzontle, calabaza y canola

Las semillas de huauzontle, calabaza y canola se desinfectaron con un procedimiento estándar a base de agua, jabón e hipoclorito de calcio. Después de 8 horas de imbibición todas las semillas duplicaron el peso original.

4.2.1.1 Experimento para determinar la desinfección adecuada de la semilla de amaranto

Para el caso del amaranto, la semilla puede ser atacada por una gran diversidad de hongos fitopatógenos. Debido a que se tenían antecedentes de Garzón (1998) en donde mostró mayor dificultad para esterilizar el amaranto respecto a las semillas de otros cultivares se decidió utilizar otra forma de desinfectarla. Se hicieron cámaras húmedas en cajas de petri para conocer la incidencia de hongos en la semilla y con un microscopio estereoscópico se pudieron identificar *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp y *Choanefora cucurbitarum*. Adebajo e Ikotun (1994), reportan la incidencia de 15 hongos fitopatógenos en la semilla de amaranto, entre los que se encontraron como mas importantes *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria amaranthi* y *Choanefora cucurbitarum*. Por tal motivo, únicamente para la semilla de amaranto se hizo un nuevo proceso de desinfección, el cual consistió en lavar la semilla con agua corriente, posteriormente, un lavado con detergente y finalmente, la desinfección. Para el proceso de desinfección de la semilla se utilizaron sucesivamente dos desinfectantes, siendo el primero el hipoclorito de calcio en dos concentraciones, al 0.06 y 0.08 % y con cuatro intervalos de tiempo a 3, 9, 16 y 24 horas; y el segundo con ioduro de potasio en dos concentraciones de 0.005 y 0.01 % y con cuatro intervalos de tiempo 3, 9, 16 y 24 horas; con un testigo en donde igualmente la semilla lavada se dejó en agua por los mismos intervalos de tiempo en cada uno de los tratamientos anteriores.

4.2.1.2 Sanidad del germinado

El porcentaje de daño se evaluó tomando como unidad experimental una charola con el germinado, el cual, por ejemplo, se le asignó el valor de 25% si una cuarta parte del total de la charola estaban contaminada con hongos. Según la comparación de medias con respecto al tamaño que alcanzó el germinado en buenas condiciones y sin la aparición de hongos (Cuadro 10), fueron los tratamientos 3 y 4, en donde la semilla de amaranto se desinfectó con ioduro de potasio durante 16 y 24 horas respectivamente, y alcanzó su mayor longitud (Tg) (Cuadro 11). El someter a la semilla a remojar en soluciones desinfectantes de ioduro de potasio por más de 9 horas ayudó a eliminar los microorganismos y al parecer estimuló el crecimiento del germinado. Puede ser a consecuencia de la acumulación de solutos osmóticos, que provocan un incremento de la presión debido a la turgencia de las células localizadas en la región subapical (zona de alargamiento) y trae como consecuencia el crecimiento radicular (Mateilo, 2000).

Para la variable apariencia, la comparación de medias del germinado de amaranto muestra que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos, los que sobresalen por su mejor efecto sobre los tratamientos 1 y 2 en donde las semillas se les aplicó ioduro de potasio por 3 y 9 horas, respectivamente.

Con ioduro de potasio, el germinado tiene buena apariencia utilizando las dos concentraciones. Por el contrario para el hipoclorito de calcio no presentan buenos resultados ya que la plántula se mostró débil y marchita.

Los tratamientos 6, 9 y por supuesto el testigo son los que mostraron infección de 82, 71 y 65 % aproximadamente, (Cuadro 10). En los dos primeros tratamientos, las semillas se desinfectaron con hipoclorito de calcio a concentraciones de 0.06 y 0.08 % respectivamente.

Cuadro 10. Efecto del método de desinfección sobre el crecimiento, aspecto y el % de infección del germinado en amaranto a los nueve días después de la siembra.

Desinfectantes	Conc. (%)	Desinfección (h)	Tamaño medio del brote (mm)		Apariencia del brote		% de infección	
Ioduro de potasio	0.005	3	53.75	bcdefg ^s	1.42	ab ^s	35.42	defghij ^s
		9	52.50	bcdefg	2.00	a	24.17	ij
		16	70.00	a	1.08	bcde	27.50	hij
		24	64.00	ab	1.08	bcde	31.25	fghij
	0.01	3	54.00	bcdefg	1.08	bcde	32.08	efghij
		9	40.25	g	1.25	bc	29.58	ghij
		16	61.25	abc	1.00	bcde	24.17	ij
		24	59.00	abcd	1.1	bcd	16.67	j
Hipoclorito de calcio	0.06	3	43.50	efg	0.00	g	82.17	a
		9	42.50	fg	1.00	bcde	49.25	cdef
		16	48.25 ^o	cdefg	0.58	defg	42.42	defghi
		24	50.50	bcdefg	0.83	bcdef	51.67	cde
	0.08	3	42.50	fg	1.25	bc	44.17	defgh
		9	48.00	cdefg	0.67	cdef	47.00	cdefgh
		16	58.25	abcde	0.25	fg	71.58	ab
		24	56.25	abcdef	0.83	bcdef	45.83	cdefgh
Testigo	---	3	45.50	defg	0.83	bcdef	49.00	cdefg
		9	47.50	cdefg	0.50	efg	42.50	defghi
		16	59.50	abcd	0.33	fg	53.92	bcd
		24	64.50	ab	0.67	cdef	65.00	abc

^s: Promedios seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)
Para medir la apariencia del germinado se utilizó la siguiente escala: 0: Mala; 1: Regular; 2: Buena; 3: Excelente

4.2.2 Cosecha

En el momento de la cosecha se observó que el germinado de canola alcanzó mayor tamaño (15.2 cm) que el resto de las especies estudiadas, esto se debió a que fue la única especie a la que el periodo de siembra a cosecha se extendió hasta los 12 días después de la siembra porque aun tenía buen sabor (Cg). El incremento de tamaño se ve reflejado en el índice de conversión, en donde aumenta hasta 12 veces el peso inicial (P_i).

4.2.3 Productividad del germinado

En huauzontle, canola y amaranto se pesaron 20 gramos de semillas, mientras que en calabaza se utilizaron 10 gramos. El volumen se midió con el método de desplazamiento con una probeta, se realizó inmediatamente después de pesar las semillas. Estos datos se utilizaron como un punto base para los cálculos siguientes. Los datos de peso y volumen del germinado se tomaron de la misma manera que se hizo para la semilla (Cuadro 11).

Huauzontle

Aun no existen reportes de semillas germinadas para consumo humano de ésta especie. Puede ser una alternativa ya que a partir de 20 gramos se obtuvo un índice de conversión en gramos de 5.8, alcanzando un tamaño a los 10 días para la cosecha de 13 cm (Cuadro 11). El problema de sanidad no es grave ya que la planta de huauzontle cubre a la semilla con una capa de células para que no entre en contacto directo con el suelo. Es suficiente con un tratamiento de hipoclorito de calcio al 0.06% durante 6 horas.

Calabaza

En el índice de conversión (IC) de la semilla a germinado de la calabaza no coincidió con lo publicado por Potrero (1997), ya que éste autor obtuvo 2.03 veces y en éste caso se tiene de 4 veces de semilla a germinado. Se le atribuye al alto porcentaje de germinación y el tipo de semilla, y ya que la utilizada en este experimento fue sin testa. El tiempo de siembra a cosecha es corto (24 horas), por lo que la incidencia de patógenos es poco significativa (Cuadro 11). En la calabaza después de la cosecha el sabor se hace desagradable al paladar, por lo que es una desventaja para la producción de manera intensiva.

Canola

A partir de 20 g de semilla seca sembrada se obtuvieron más de 240 gramos de germinado. El índice de conversión fue mayor que el resto de las especies ya que el periodo de siembra a cosecha fue de 12 días, dando oportunidad a la plántula de incrementar el tamaño (15.2 cm). Es posible extender el periodo de siembra a cosecha ya que es una de las especies que las personas la consumen en casi cualquier estado vegetativo. El IC (12) es uno de los mayores en las cuatro especies estudiadas (Cuadro 11).

Amaranto

En amaranto se obtuvo un mayor índice de conversión (4) comparado con lo obtenido por Garzón (1998) que fue de 1.8 con germinación a los 4 días poco uniforme y lenta, debido a que el periodo de siembra a cosecha fue de nueve días y la germinación fue uniforme (Cuadro 11). El inconveniente es que la

desinfección con Ioduro de potasio es más costosa que con hipoclorito de calcio.

Cuadro 11. Incremento de peso y volumen de la semilla al germinado, tamaño final del germinado y periodo de siembra a cosecha.

Cultivo	P i (g)	V i (cm ³)	V g (cm ³)	P g (g)	IC		T g (cm)	C g (DDS)
					(g)	(cm ³)		
Huauzontle	20	16	43.5	115	5.8	2.7	13	10
Calabaza	10	9.25	14	40	4	1.5	0.3	1
Canola	20	19.25	172	240.75	12	8.9	15.2	12
Amaranto	20	13.75	63.5	80	4	4.6	7.0	9

Pi: Peso inicial; Vi: Volumen inicial; Vg: Volumen del germinado; Pg: Peso del germinado; Ic: Índice de conversión; Tg: Tamaño del germinado; Cg: Cosecha del germinado; DDS: Días después de la siembra.

4.3 Análisis proximal

4.3.1 Proteína

El huauzontle, calabaza, canola y amaranto, mostraron mayor proteína en el germinado que en la semilla (Cuadro 12). En calabaza, la semilla (31.56 g) incrementó 2.84 gramos de proteína que el germinado (34.4 g). En huauzontle (3.36 g), canola (10.43 g) y amaranto (3.7 g) se observó una diferencia positiva de la semilla al germinado, es decir que incrementó el contenido de proteína. Estos resultados pueden estar relacionados con lo mencionado por Kylen & Rolland (1975) en el sentido de que el contenido de proteína se incrementa en el proceso debido en parte a la síntesis de proteínas para el desarrollo de la plántula desde los primeros estadios de la germinación, también en las dicotiledóneas se presenta la degradación de proteínas de reserva, en la aleurona lo cual lleva a una acumulación mayor de aminoácidos durante los

primero seis días de la germinación, utilizados para proporcionar energía mediante la oxidación de su esqueleto carbonado, después de su desaminación y para la síntesis de nuevas enzimas hidrolíticas (Azcon-Bieto y Talon, 1993). Es necesario destacar que el contenido de proteína en semilla de huauzontle (17.83 g/100g muestra) es mayor al del amaranto, tanto en semilla como en germinado (16.73 y 20.43g/100g de muestra seca, respectivamente). Esto se puede deber a que en las semillas durante la germinación, los tejidos paranquimáticos de reserva (en época de brotación), así como las hojas verdes en oscuridad conforman sitios de hidrólisis o desdoblamiento proteico (Trione, 1986). Lo cual potencializa su uso como componente en la dieta del consumidor. En calabaza se obtuvo mayor cantidad de proteína en semilla y germinado (31.56 y 34.4 g/100g de muestra) comparado con la canola (17.38 y 27.81 g/100g de muestra). El incremento en cantidad de proteínas puede deberse a que durante el proceso de germinación las proteínas de la semilla se hidrolizan para formar enzimas y a su vez otras proteínas.

4.3.2 Extracto etéreo

La calabaza mostró el mayor contenido extracto etéreo (29.24 g/100 g de muestra), quizás porque el tiempo de germinación fue menor. Mientras que huauzontle y amaranto presentaron el menor contenido de extracto etéreo de las cuatro especies, tanto en semilla como en el germinado (Cuadro 12). Una disminución en el contenido de extracto etéreo, es decir, de lípidos durante la germinación, es el resultado de su hidrólisis por lipasas, formándose ácidos grasos, degradados por la principal ruta oxidativa, lo cual genera acetil CoA que

en el ciclo de Krebs se transforma en CO_2 y agua, reflejándose en un aumento en la tasa respiratoria durante la germinación (Azcon-Bieto y Talon, 1993; King & Puwastien, 1987). Para el caso del extracto etéreo, la cantidad en la semilla fue mayor que en el germinado (Cuadro 12). El incremento en el contenido de lípidos es debido a la síntesis de ácidos grasos (Richter, 1971). Obizoba & Tai (1991) mencionan que la síntesis de ácidos grasos se presenta cuando el peso de la semilla ha incrementado al menos 185 % el peso original por causa de la imbibición.

4.3.3 Cenizas

La calabaza mostró el mayor contenido de cenizas (7.45 g/100g de muestra), mientras que en huauzontle y el amaranto presentaron el menor contenido de cenizas y extracto etéreo de las cuatro especies, tanto en semilla como en el germinado (Cuadro 12). Durante el proceso de germinación la materia seca aumenta y permite que la cantidad de ceniza se vea modificada.

4.3.4 Fibra cruda

El contenido de fibra cruda de la semilla cambió en el germinado. En huauzontle el incremento de fibra cruda se observó en el germinado con 10.77 gramos. La canola presentó mayor cantidad de fibra en la semilla (24.37 %) que en el germinado (15.82 %). Lo mismo ocurrió en la calabaza en donde la mayor cantidad de fibra se presentó en la semilla con 22.68 % que en el germinado con 9.89 %. Para el caso de amaranto, la cantidad de fibra en semilla es de 4.4 %, mientras que para el germinado aumenta hasta 9.67 g/100 g de muestra

(Cuadro 12). En estudios realizados por Nishimura, *et al.* (2000) menciona que en extractos de germinados de remolacha, col, rábano japonés, cebolla y frijol mungo presentan de 5 % a 10 % de fibra, convirtiéndose en una fuente muy importante de fibra que ayuda a reducir las concentraciones de colesterol en el organismo.

4.3.5 Humedad

Dado que las semillas, fisiológicamente deben tener poca humedad, es por lo que en el análisis proximal muestra bajo el porcentaje de humedad. Por el contrario en el germinado, aunque se sometió a un secado previo, presentó mayor cantidad de humedad ya que el agua es indispensable para la germinación.

4.3.6 Carbohidratos

El huauzontle tanto en semilla como en el germinado presentan mayor cantidad de carbohidratos (73.94 y 71.33 %, respectivamente), al igual que en amaranto, ya que en semilla presentó 73.52 % y en germinado de 72 %. Mientras que la calabaza presentó menor cantidad de carbohidratos (42.92 % en semilla y 28.91 % en germinado). En canola se observó en semilla 49.33 % y en germinado 57.94 %. Durante la germinación, canola fue la única que no mostró una disminución del contenido de carbohidratos quizás por ser una oleaginosa, en cambio fue la que presentó una mayor degradación de lípidos.

4.3.7 Calorías

El contenido de calorías se calculó multiplicando por cuatro los gramos de carbohidratos y proteínas; por 9 los gramos de lípidos (Kyllén y McCready, 1975). La semilla de canola aporta mayor cantidad de energía (522.62 calorías) al igual que el germinado de calabaza (516.4 calorías). De las cuatro especies estudiadas, el germinado de huauzontle es el que aporta menor cantidad de calorías (390.42) que el resto, lo cual es congruente al disminuir el contenido de carbohidratos y lípidos en la mayoría de los germinados.

Cuadro 12. Contenido proximal de semillas y germinados de cuatro especies cultivadas (g/100 g).

	Proteína (g)		Extracto etéreo (g)		Cenizas (g)		Fibra cruda (g)		Humedad (g)		Carbohidratos (g)		Energía (Calorías)	
	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a	Semilla	Germinado ^a
Huauzontle	17.83 c [§]	21.19 bc	6.21 c	2.26 d	4.97 c	5.22 c	6.59 cd	10.77 c	9.71 e	12.78 a	71 a	71.32 a	411.18 cd	390.45 e
Calabaza	31.56 a	34.4 a	18.75 b	29.24 a	6.77ab	7.45 a	22.68 a	9.89 c	7.91 f	6.22 g	42.91 c	28.9 d	466.68 b	516.4 a
Canola	17.38 c	27.81 ab	28.42 a	8.47 c	4.87 c	5.78 bc	24.37 a	15.82 b	8.21 f	10.67 d	49.33 bc	57.95 b	522.64 a	419.22 c
Amaranto	16.73 c	20.43 bc	7.03 c	3.19 d	2.72 d	4.38 c	4.4 d	9.67 c	11.25 c	11.81 b	73.51 a	72 a	424.29 c	398.43 de
DMS	8.57		2.8		1.44		4.81		0.55		8.87			15.12

[§]: Promedios seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente, según Tukey ($p \leq 0.05$).

^a: Semilla y germinado en peso seco.

4.4 Saponinas

4.4.1 Identificación preliminar

Las pruebas preliminares permitieron identificar la presencia o ausencia de estos compuestos (saponinas). La reacción colorida en capa fina, mostró que en todas las especies, tanto en semilla como en germinado, hay presencia de saponinas. Durante las primeras pruebas en semilla y germinado de huauzontle y de amaranto presentaron los dos tipos de saponinas, tanto triterpénicas como esteroidales (Cuadro 13). En la literatura no se ha encontrado documentado la presencia de saponinas en calabaza, canola y huauzontle, en cambio en amaranto se ha descrito la presencia de cuatro nuevas saponinas (Junkuzew *et al.* 1998). En calabaza, al agregarle el reactivo de Liebermann-Burchard al extracto de semilla y germinado mostró coloración azul, por lo que se infirió la presencia de saponinas esteroidales. En canola la coloración fue rosa en la semilla (triterpénicas) y azul en el germinado (esteroidales).

Cuadro 13. Identificación cualitativa saponinas en semillas y germinados de cuatro especies.

Especie	Caracterización	
	Reactivo de Lieberman-Burchard	
	Semilla	Germinado
Huauzontle	Rojo y azul	Rojo y azul
Calabaza	Azul	Azul
Canola	Rosa	Azul
Amaranto	Rosa y azul	Rojo y azul

Presencia de color indica que hay saponinas (azul: esteroidales; rosa: triterpénicas y; rosa y azul: existen los dos tipos).

4.4.2 Método semi cuantitativo de saponinas y sapogeninas

No existe información sobre la cantidad total de saponinas en germinados de huauzontle, calabaza, canola y amaranto. La prueba de la hemólisis es una de las más precisas para la cuantificación de saponinas en plantas.

Las semillas y el germinado de huauzontle presentaron la mayor cantidad de saponinas (5280.57 y 2873.23 mg/100 g materia seca, respectivamente). En Cuadro 14 se muestra la cantidad que necesita de saponinas para llegar a la dosis letal (6 000 mg/Kg corpora) y considerar tóxicas a las especies vegetales estudiadas. Es de importancia mencionar que la semilla de huauzontle, que es una de las que presentan mayor cantidad de saponinas. En el caso del germinado de huauzontle no se conoce en el mercado pero disminuye la cantidad de saponinas. Woldemichael y Wink (2001), reportan la presencia de 16 saponinas triterpencoides en semilla de *Chenopodium quinoa*, la cual es una especie peruana muy parecida al huauzontle. Detectaron actividad biológica contra algunos hongos del ser humano como la candidiasis, por lo que se puede utilizar como complemento para algunos tratamientos contra enfermedades. La presencia de un grupo carboxil en el ciclo E de la saponina reduce la actividad hemolítica, es decir, que no hay ruptura de las células de eritrocitos, porque la interacción hidrofóbica con la membrana lipídica se reduce. El huauzontle es la especie que presentó mayor cantidad de saponinas tanto en las semillas como los germinados.

El sabor amargo o desagradable del germinado de calabaza se le puede atribuir a la concentración elevada de otros compuestos y no precisamente a las saponinas (Cucurbitacina). Los resultados de hemólisis difieren con las pruebas preliminares, esto se debe principalmente a que el reactivo de Liebermann-Burchard es utilizado para detectar compuestos esteroides, además de las saponinas, sin embargo permitió tener un panorama general de presencia o ausencia de éstos compuestos (Domínguez, 1973).

La canola en la semilla presentó 35.77 mg de saponinas, mientras que en el germinado 429.81 mg/100g muestra seca. En las pruebas preliminares mostró presencia de saponinas en semilla y germinado.

El amaranto presentó 42.84 mg en semilla y 491.45 mg/100 g materia seca en germinado. Junkuszew, *et al.* (1998) reportaron cuatro nuevas saponinas triterpenoides en la semilla de amaranto, por lo que se puede intuir que pueden estar presentes en el germinado (Cuadro 14).

En canola y amaranto muestran incremento de saponinas de 2 y 4 veces respectivamente en comparación con la semilla, pero sin causar algún desorden en el sabor del germinado.

Cuadro 14. Contenido de saponinas en semillas y germinados de las especies de huauzontle, calabaza, canola y amaranto, mediante la técnica de la hemólisis (mg de saponinas/100 g materia seca).

Cultivo	Contenido total de saponinas				Diferencia de semilla a germinado
	Semilla	Diferencia Toxicidad [§]	Germinado	Diferencia Toxicidad [§]	
Huauzontle	5280.57 a [§]	719.42	2873.23 b	3126.76	0.544 (-)
Calabaza	0.00 e	6 000	155.40 cd	5844.59	155.40 (+)
Canola	35.77 de	5964.22	429.81 c	5570.18	12.02 (+)
Amaranto	42.84 de	5957.15	491.45 c	5508.54	11.47 (+)

§: Promedios seguidos por la misma letra no son diferentes estadísticamente, según Tukey ($p \leq 0.05$).

DMS: Diferencia mínima significativa = 4.5739.

§: Es el resultado de la diferencia del contenido de saponinas de la semilla o el germinado y la dosis letal (6000 mg/kg de peso corporal).

En la Figura 9 se muestra la diferencia de saponinas en semillas y germinados. El huauzontle es la única especie que disminuye la presencia de saponinas, mientras que las tres especies restantes mostraron un aumento significativo.

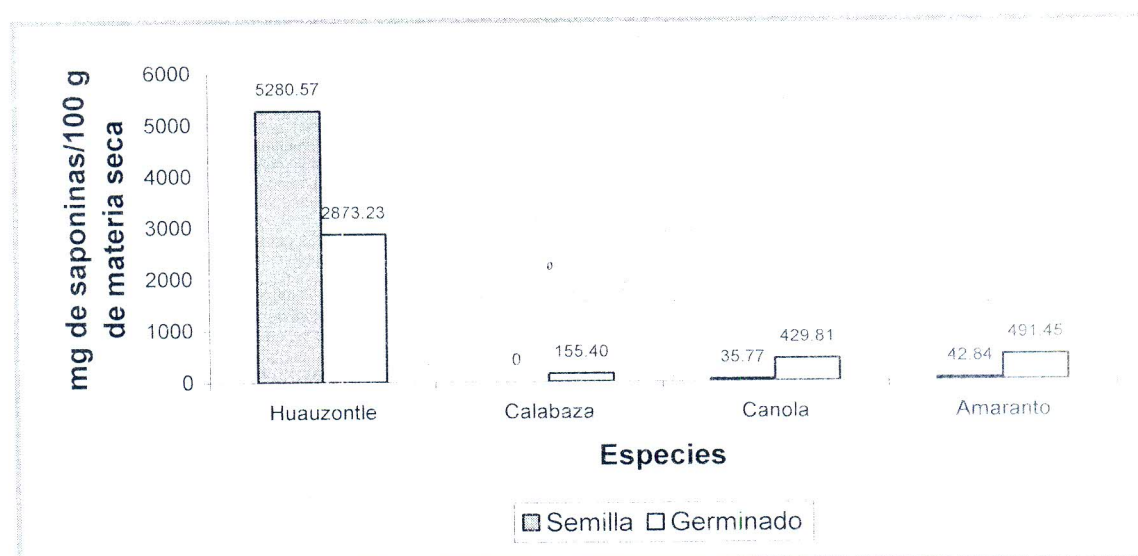


Figura 9. Comparación entre la semilla y el germinado de huauzontle, calabaza, canola y amaranto en relación al contenido de saponinas.

El efecto fisiológico y farmacológico de las saponinas depende íntimamente de los detalles de la estructura química. En esta investigación únicamente se cuantificaron las saponinas totales de las especies vegetales estudiadas, pero aun hace falta identificar el tipo de saponinas para poder darles aplicaciones precisas en beneficio del ser humano ya sea de forma directa; para prevención de enfermedades; o indirecta como control de hongos y moluscos en la agricultura. Las concentraciones de semillas y germinados de huauzontle son elevadas, pero aun están en el límite de la Dosis Letal 50 (6000mg/kg corporal) (Cheeke, 2000).

5 CONCLUSIONES

En huauzontle, calabaza y canola, la desinfección de las semillas con hipoclorito de calcio a 0.06 % durante 12 horas fue eficiente; no así en amaranto donde los mejores resultados se obtuvieron con loduro de potasio 0.005 % (16 horas); este método de desinfección puede ser aplicado a un sistema superintensivo y forzado en invernadero para la producción de germinados de las especies antes mencionadas.

La mejor edad de cosecha de los germinados de calabaza, amaranto, huauzontle y canola, fueron de 1, 9, 10 y 12 días después de la siembra, respectivamente, ya que pasado éste tiempo de cosecha, se percibe un sabor amargo o desagradable en los germinados.

Según el análisis proximal, el huauzontle, la calabaza y el amaranto, incrementaron la cantidad de proteína, fibras crudas y cenizas presentes en la semilla al pasar a germinado. La canola presentó mayor cantidad de proteína y fibra cruda tanto en la semilla como en el germinado, que el resto de las especies; aunque la cantidad de extracto etéreo (lípidos) disminuyó cuando la semilla se transformó en germinado; por lo que se considera que la canola es la especie de las aquí estudiadas, con mayor potencial para producir germinados de forma intensiva.

En proteína, las semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto (17.83, 31.56, 17.38 y 16.73 %, respectivamente) incrementaron el contenido a 21.19, 34.4, 27.81 y 20.43 %, al pasar a germinados.

El contenido de cenizas en semillas de huauzontle, calabaza, canola y amaranto (4.97, 6.77, 4.87 y 2.72 %, respectivamente) incrementó (5.22, 7.45, 5.78 y 4.38 %, respectivamente) con respecto al germinado.

La cantidad de extracto etéreo (lípidos) de huauzontle (6.21 %), canola (28.42 %) y amaranto (7.03 %), disminuyó a 2.26, 8.47 y 3.19 % respectivamente; mientras que en calabaza, aumentó ya que en la semilla presentó 18.75% y en el germinado 29.24%;

En huauzontle y amaranto, la cantidad de fibra cruda aumentó, ya que en semilla contenía 6.59 y 4.4 % y en el germinado 10.77 y 9.67%, respectivamente; mientras que en calabaza y canola, la fibra cruda disminuyó porque la semilla presentó 22.68 y 24.37 % y el germinado 9.89 y 15.82 %.

Las cantidades de saponinas presentes en los germinados de huauzontle, calabaza, canola y amaranto (2873.23, 155.40, 429.81 y 491.45; mg/100 g de materia seca) no son dañinas para el organismo, ya que son inferiores al límite de toxicidad letal establecida (50 mg/kg de peso en ratas y de 50 a 5000 mg/kg de peso en monos).

El contenido de saponinas presente en las semillas de huauzontle (5280.57 mg/100g materia seca) fue casi el doble de lo encontrado en el germinado (2873.23 mg/100g materia seca); pese a ello, el germinado mas rico en saponinas fue el huauzontle. Por el contrario, en calabaza, canola y amaranto el contenido de saponinas se incrementó en el germinado (155.40, 429.81 y 491.45 mg/100 g materia seca), respecto al contenido en la semilla (0, 35.77 y 42.84, respectivamente).

El valor nutritivo del germinado de huauzontle, se considera bueno, ya que contiene 21.19 % de proteína, el extracto etéreo (lípidos) es menor al de la semilla (2.26 %) y la fibra cruda es hasta 10 % mayor en el germinado. El contenido de saponinas es elevado (2873.23 mg/100g materia seca), por lo que el germinado de huauzontle en la dieta puede servir como suplemento preventivo contra enfermedades cardiovasculares, para disminuir la producción de células cancerígenas, eliminar los ácidos biliares, entre otras.

De los germinados de huauzontle, calabaza, canola y amaranto se puede considerar que el mejor es el de la canola, ya que fue el más alto en proteína (27.81 %) y fibra cruda (15.82 %); y el más bajo en contenido de extracto etéreo (lípidos; 8.47 %), aunado a una concentración de saponinas de 429.81 mg/100 g de materia seca.

6 LITERATURA CITADA

- Adebanjo, A. & T. Ikotun. 1994. Effect of harvest seasons on the incidence of seed-borne mycoflora of three *Amaranthus* cultivars. *Mycopathologia* 128:25-32
- Agarwal, V. K. and J. B. Sinclair 2000. Chapter 4: Location of Seedborne Inoculum. *Principles of Seed Pathology. Volume I.* Editorial CRC PRESS. Boca Raton, Florida, E. U. A. pp 85-93
- Alejandro, I. G. y L. F. Gómez. 1986. El cultivo del amaranto en México. Departamento de Zonas Áridas, Universidad Autónoma Chapingo. México. pp. 161-164.
- Anónimo, 2006. Antecedentes y Mercado de la Pasta de Canola <http://www.canola.org/pubs/mealguide/antecedentes.pdf>.
- Anónimo. 1952. Semillas. Manual para el análisis de su calidad. USA. Department of Agricultura. Traducción en México. Herrera S. A. México, D. F. pp 185-203
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis. 13th edn. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists
- Ayala, E. J. A. 2002. Cambios ocasionados en los parámetros genéticos por la selección participativa en calidad local de calabaza (*Cucúrbita pepo* L.) tipo round zucchini. Tesis Maestría en Horticultura. Chapingo, Estado de México. México. pp. 125.

- Bautista, N. M. 1988. Biología y hábitos del minador de la hoja *Pegomya exilis* Zinder (Diptera: Anthomyiidae) y del barrenador del tallo *Scrobipalpa atriplicella* (Fischer v. Roeslerstamm) (Lepidoptera: Gelechiidae) al huauzontle *Chenopodium nuttallia* Saff. Tesis. Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México. pp. 3-8
- Berry, S. K.; R. Okianh H. I. and Nordin A. K. 1988. Effect of germination on the biological quality of winged beans (*P. tetragonolobus*) Nutrition Reports International. 37: 1237-1243.
- Besnier, F. R. 1989. Cap. VII Fisiología de la germinación. *In*: Semillas, Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. México, D. F. pp 76-194
- Bidwell, R. G. S. 1979. Fisiología vegetal. AGT Editor. 1ª Edición en español. México. pp. 600-650.
- Bourges, 2001. La alimentación y la nutrición en México. Comercio Exterior. 51 (10) Artículos en Línea. <http://www.bancomext.com> 02/2006
- Bourges, H. 1982. Cap. II. Generalidades. *In*: Nutrición y alimentos: su problemática en México. 1ª edición. Compañía Editorial S.A. de C.V. México, D. F. pp 17-52.
- Bruneton, J. 1991. Triterpenos y Esteroides. *In*: Elementos de fitoquímica y de farmacognosia. Ed. Acribia, España.
- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas. Causas y tratamientos. Editorial Trillas. México. pp. 50-76.

- Castaños, C. M. 1993. Cap 1o: Conceptos generales. *In: Horticultura manejo simplificado*. Estado de México, México. pp 29.
- Cav. G. H.; E. Sofic and R. L. Prior. 1996. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables. A News Extract From Journal of Agricultural and Food Chremestry. 44: 3426-3431.
- Cheeke, P. R. 2000. Volume II. Glycosides. *In: Toxicants of Plant Origin* CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. USA. pp. 98-140.
- Church D., C. y Pond W., G. 1987. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Ed. LIMUSA. México. pp 11- 29.
- Cruz, M. E. G. 1989. La colza/canola, (*Brassica napus* L. y *B. campestris* L.) su factibilidad de cultivo en la Republica Mexicana. Tesis Ingeniero Agronomo Especialista en Fitotecnica. Chapingo, México. pp 120-121.
- Devlin, R. M. 1980. Cap 16: El Metabolismo del Nitrógeno. *In: Fisiología Vegetal*. 3ª Edición. Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. pp. 346-347.
- Domínguez de Diez, G. B. 1992. Germinados: el alimento más perfecto y completo. 12ª edición. Editorial Posada. México. pp.12-50.
- Domínguez, X. A. 1973. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa. México. 281 p.
- Fernández G. y M. Johnston. 1986. Cap. 8 Germinación. *In: Fisiología Vegetal Experimental*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. pp 339-341

- García-Agustín, P. y E. Primo-Millo. 1996. Germinación de las semillas, In: Fisiología y Bioquímica Vegetal. (J. Azcon-Bieto y M. Talon) Interamericana. McGRAW-HILL. Madrid, España. pp 419-420.
- Garzón, L. S. 1998. Periodo de siembra a cosecha en las características de germinado de calabaza, alfalfa y amaranto. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. México.
- Girón, M.C.M. 1982. Determinación semicuantitativa de saponinas aprovechando su capacidad hemolítica. Tesis. Químico Farmacéutico Biólogo. Facultad de Química. UNAM. México. D.F. 107 p.
- Harborne, J. B. 1984 Phytochemical Methods. Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 2ª. De. Chapman and Hall. USA. pp 135.
- Harborne, J. B. 1988. Introduccion to Ecological Biochemistry. Academic Press. U.K. pp 256.
- Harrison, J. E. and J. Vanderstoep. 1984. Effect of Germination Environment on Nutrient Composition of Alfalfa Sprouts. Journal of Food Science. 49:21-23
- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1995. Propagación de plantas. Editorial CECSA. México. pp. 137-159.
- Jensen, B. 1980. Semillas y germinados. 5ª edición. Editorial Yug. México, D.F. pp 9-16, 47-50

- Junkuszew, M.; W. Oleszek; M. Jurzysta; S. Piancente and C. Pizza. 1998. Triterpenoid Saponins from the Seeds of *Amaranthus cruentus*. *Phytochemistry*. 49:195-198.
- Kaufman, P. B.; Cseke L. J., Warber; S. Duke, J. A. y Brielmann, H. L. 1999. *Natural Products from Plants*. CRC Press. Washington, DC. 356 p.
- King, R. D. and Puwastien, P. 1987. Effects of germination on the proximate composition and nutritional quality of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) seed *Journal Food Science* 52:106.
- Kirlin, W. G.; J. Cai; M. J. DeLong ; E. J. Patten and D. P. Jones. 1999. Dietary Compounds that Induce Cancer Preventive Phase 2 Enzymes Activate Apoptosis at Comparable Doses in HT29Colon Carcinoma Cells. *Journal of Nutrition* 129:1827-1835.
- Kurtzer, M.S.; X. Xu. 1997. Dietary Phytoestrogens. A News Extract from the *Annual Review of Nutrition* 17:353-381
- Kylen, A. M. and Rolland M. M. 1975. Nutrients in seed and sprouts of alfalfa, lentils, mung and soybeans. *Journal of Food Science* 40:1008-1009.
- Mateilo, A. 2000. Germinación y Dormancia de las Semillas. Cap 27 *In: Fundamentos de Fisiología Vegetal* (Azcon-Bieto, J. Talión, M. McGrin Hill. Interamericana. España
- McGee, D. 1986. Control of seed diseases; Seed health testig methods. Cap 8 y 9 *In: Patología de semillas*. Montecillos, Mexico. pp 1-9

Meyer B. S., Anderson D. B., Böhning R. H. 1972. Germinación y letargo. Cap.XXIV *In*: Fisiología Vegetal. Universidad de Buenos Aires, Argentina. pp. 550-558

Millas, P. 1999. De la desnutrición a la obesidad. Revista Creces. <http://www.creces.cl/new/index.asp> 11/2004

Moreno, E. M. 1993. Tratamiento Químico de las Semillas para el Combate de los Hongos. Instituto de Biología. Unidad de Investigación en Granos y Semillas. UNAM. INIFAP. Departamento de Botánica. México D. F. pp 56-120

Muñoz, M. Ch.; A. Chávez V.; F. Pérez G.; J. Roldan A.; J. Ledesma S.; E. Mendoza M.; S. Hernández C.; A. Chaparro F. Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Pax México. 1ª edición México, D. F. pp 1-323.

Nestle, M. 1997. Broccoli Sprouts as Inducers of Carcinogen-Detoxifying Enzyme System: Clinical, Dietary and Policy Implications. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:11149-11151.

Nishimura N.; Y. Taniguchi; S. Kiriama. 2000. Plasma cholesterol-lowering effect on rats of dietary fiber extracted from immature plants. Biosci Biotechnol Biochem. 64:2543-2551

Nuez, F. C.; G. Campo P.; S. Fernández S. y J. Valcárcel. 1999. Colección de semillas de Coliflor y Brócoli. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid, España. pp 13-34.

Obizoba, I. C. and J. V. Tai. 1991. Effect of soaking, sprouting, fermentation and cooking on nutrient composition and some anti-nutritional factors of sorghum (Guinesia) seeds. *Plants Foods Human Nutrition* 41:23-212.

Older, W. 1998. El trébol anticancerígeno y germinado de trébol rojo. *Investigación de Cáncer* 48 (22): 1256-1258

Sánchez, R. B.; M. Ribes R. y M. Cuadros V. 2002. Cap 2. Fitoestrógenos. Tipos. Mecanismo de acción. *In: Fitoestrógenos*. (S. Palacios). Ediciones Harcourt. Madrid, España. pp 9-28.

Pastrana, D. 2005. El mapa del hambre en México. *Masiosare*. 392 domingo. <http://www.jornada.unam.mx> 01/2006

Potrero, S. M. A. 1997. Producción de germinados de ajonjolí y calabaza. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. México.

Pupo, E. P.; I. Heredia R. 1998. Lista de Hongos Asociados a Semillas. Instituto de Sanidad Vegetal Cuba. 1ª Edición. CIDISAV. Boletín técnico 1. La Habana, Cuba. 47 p.

Ramos, C. A. 1997. Producción de germinado de frijol mungo y calabaza pipiana. Tesis. Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. México.

- Richter, G. 1971. II IV La autotrófica de organismos vegetales. Fisiología del Metabolismo de las plantas. El metabolismo de constituyentes celulares. 1ª edición.
- Rojas, M. G.; M. Rovalo M. 1979. El Desarrollo I. Estado Embrionario, Morfogénesis, Autocontrol. Cap 16. *In: Fisiología Vegetal Aplicada*. pp 192-194
- Romeo, J. 1997. Recent Advances in phitochemistry: Functionality of Food Phytochemicals. Plenum Press-New York and London 273 p
- Romo de Vivar, A. 1985. Productos Naturales de la Flora Mexicana. Limusa. México. pp 220
- Ruskin, F. R.; M. J. Engquist ; C. Reges. 1987. El amaranto. Prespectivas modernas para un cultivo olvidado. Villacañas S. A. México, D. F. pp.15-82
- Samuelsson, G. 1999. Drugs of Natural Origin: A textbook of Pharmacogosy. Apotekar Societeten. Swedish Pharaceutical Societyl Swedish Pharmaceutical. Press USA 351 p.
- Sosa De Pró E. 1979. Manual de Procedimientos Analíticos para Alimentos de Consumo Animal. Departamento de Zootecnia de la Escuela Nacional de Agricultura (U. A. Ch). pp. 1-71.
- Sotelo, A. 1997. Constituents of wild food plants. *In: Recent Advances in Phytochemistry*. Vol 31 J. Romeo. Plenum Press- New York and London. pp 89-112.

- Taiz, L.; E. Zeiger. 1991. Plant Physiology. The Benjamin/Cummings. Redwood City, California. U.S.A. 565 p.
- Takaya, Y.; Y. Kondo; T. Furukawa; M. Niwa. 2003. Antioxidant Constituents of Radish Sprout (Kaiwarw-daikon), *Raphanus sativus* L. Journal Agricultural Food Chemistry. 51:8061-8066.
- Thompson J. R. 1979. Desarrollo, maduración, latencia y germinación. In: Introducción a la Tecnología de las Semillas. Acribia, Zaragoza, España. pp. 36-50.
- Trione, S. O. 1986. Metabolismo del nitrógeno. In: Fisiología Vegetal II. E. M. Sivori; E. R. Montaldi; O. H. Caso. 1º Reimpreso. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. pp. 298-301.
- Valdez, T. H. 1979. Revisión bibliográfica sobre el cultivo de Calabacita. Universidad Autónoma Chapingo. Depto. Fitotécnia. Folleto 960. Chapingo, Estado de México.
- Vickery, M. J. y Vickery, B. 1981. Secondary Plant Metabolism. McMillan Press Ltd. Hong Kong. 335 p.
- Villanueva, C. V. 2006. Producción de germinados. Libro. (En prensa).
- Woldemichael, G. M. and M. Wink. 2001. Identification and Biological Activities of Triterpenoid Saponins from *Chenopodium quinoa*. Journal Agricultural Food Chemical. 49:2327-2332°
- Xia Xu, 2004. Health Benefits of Sprout Consumption. Dept of Food Science & Nutrition, University of Minnesota. U.S.A.

----- 1965. Use of Detergents in Analysis of fibrous feeds. III. Study of Effects of Heating and Drying on Yield of Fiber and Lignin in Forages. Journal of the A.O.A.C. 48, 785-790

7 PAGINAS WEB PARA CONSULTA SOBRE GERMINADOS

<http://www.rosicrucian.com/foreign/zinespa/pamspa043.htm> (18-junio-2004)

<http://www.actosdeamor.com/germinados.htm>

<http://www.barrameda.com.ar/colabora/sojacl01.htm>

<http://www.celanauruguay.com/congermi.htm>

<http://www.fdg.es/usr/avn/aee/aee/germinados.html>

<http://www.fdg.es/usr/avn/aee/GERMINAD.html>

<http://www.funprojal.org.mx/tecnologia/Germinados/index.html>

http://www.orgescobar.freewebspages.org/html/power_sprouts.html

<http://www.uva.org.ar/germinados.html>

<http://www.vegetarianos.org/germinados.htm>

<http://health.med.monash.edu.au/anf/dictionary/details.asp?ID=4201>

http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/list_nut_edit.pl

<http://www.ncb3.com/>

http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl?sprouted+wheat

<http://www.innergardenwheatgrass.com/analysis.html>

http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl

http://www.nal.usda.gov/fnic/cgi-bin/nut_search.pl?sprouted+beans

www.easygreen.com/articles/nutritional_data.html

<http://waltonfeed.com/grain/sprtnutr.html>

<http://www.chefnoah.com/sprouts.htm>

<http://www.nutritiondata.com/search.php?q=sprout>

<http://www.foodsafety.gov/~dms/prodguid.html>

<http://attra.ncat.org/attra-pub/PDF/sprouts.pdf>

<http://attra.ncat.org/attra-pub/sprout.html>

<http://www.mda.state.mn.us/mgo/crops/Sprouts.htm>

<http://www.sprouthouse.com/>

http://www.btinternet.com/~bury_rd/sprout.htm

<http://www.cleanseandpurify.com/bookstore/sprouting.htm>

<http://waltonfeed.com/grain/sprtnutr.html>

<http://chinesefood.about.com/library/weekly/aa092101a.htm>

8 ANEXOS

Lista de semillas sugeridas para germinados e información con respecto a los métodos de producción y uso.

			Producción del brote (para las longitudes deseadas)				
Semilla	Longitud deseada	Tiempo medio	semilla s utilizad as	germinado obtenido	Método apropiado del germinado	Cons umo crudo	Tiempo de cocción medio (minutos)
Adzuki	1/2 a 1 pulgada	4 - 5 días	¼ taza	1 taza	Empape y aclarar	Si	8 - 12
Alfalfa	1 a 1 ½ pulgadas	1 - 2 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Empape y aclarar	Si	3 - 5
Cebada	La longitud de la semilla	3 - 5 días	½ tz	1 tz	Empape y aclarar	No	8 - 10
Haba	½ a 1 ½ pulgadas	3 - 5 días	¼ tz	1 1/4 tz	Empape y aclarar	Si	8 - 15
Alforfón	La longitud de la semilla	2 - 4 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Aclarar y asperjar solamente	No	8 - 15
Col, brócoli, coles de Bruselas, coliflor, col rizada	½ a 1 pulgada	3 - 5 días	¼ tz	1 1/4 tz	Empape y aclarar	Si	3 - 8
Chia	1/8 a ½ pulgada	1 - 2 días	¼ tz	1 tz	Asperjar solamente	Si	
Garbanzo o garbanzo	¾ a 1 pulgada	5 - 8 días	1 tz	3 tzs del 1/2	Empape y aclarar 4- 6 veces al día	Si	10 - 20
Berro	¾ a 1 pulgada	2 - 4 días	1 tbs.	¾ tz	Asperjar solamente	Si	
Alholva	½ pulgada	3 - 4 días	¼ tz	1 tz	Empape y aclarar	Si	2 - 4
Lenteja	¼ a ½ pulgada	3 - 4 días	1 tz	2 tzs	Empape y aclarar	No	3 - 8
Mijo	La longitud de la semilla	3 - 5 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Empape y aclarar	No	8 - 10
Haba de mung	½ a 3 pulgadas	3 - 8 días	1 tz	4 tzs	Empape y aclarar	Si	25
Avena	La longitud de la semilla	3 - 5 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Asperjar solamente	No	8 - 10
Guisante	¼ a ½ pulgada	3 - 4 días	1 tz	2 tzs	Empape y aclarar	No	3 - 8
Rábano	½ a 1 pulgada	2 - 4 días	1 tbs.	¾ tz	Empape y aclarar	Si	
Arroz	La longitud de la semilla	3 - 4 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Empape y aclarar	No	8 - 10
Centeno	La longitud de la semilla	3 - 5 días	1 tz	2 tzs del 1/2	Empape y aclarar	Si	3 - 5
Sésamo	Florecido solamente	2 - 5 días	1/4 tz	1/3 tz	Empape y aclarar	No	Carnes asadas del horno
Soja	¾ a 1 pulgada	4 - 6 días	1 tz	3 tzs del 1/2	Empape y aclarar 4- 6 veces al día	Si	10 - 20
Girasol	Florecido solamente	5 - 8 días	1 tz	2 tzs	Empape y aclarar	No	Carnes asadas al horno
Triticale	La longitud de la semilla	1 - 3 días	1 tz	3 tzs	Empape y aclarar	Si	8 - 10
Trigo	La longitud de la semilla	4 - 5 días	1 tz	4 tzs	Empape y aclarar	Si	8 - 10

Fuente: <http://www.funprojal.org.mx/tecnologia/Germinados/index.html>