

**ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL****PROTEIN PROFILE OF “SACHA INCHI” SEEDS (*PLUKENETIA VOLUBILIS* L. AND *PLUKENETIA HUAYLLABAMBANA* BUSSMANN, TÉLLEZ & GLENN)****PERFIL DE PROTEÍNAS DE LAS SEMILLAS DE “SACHA INCHI” (*PLUKENETIA VOLUBILIS* L. Y *PLUKENETIA HUAYLLABAMBANA* BUSSMANN, TÉLLEZ & GLENN)**Kattya, López¹; Carlos Santa Cruz¹ & Ana Gutiérrez¹

¹Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal – Lima – Perú
Correo electrónico: katymax10@hotmail.com; anaisabelflor@gmail.com

The Biologist (Lima), 14(1), jan-jun: 11-20.

ABSTRACT

In Peru, *Plukenetia* it is a genus of tropical plants of the family Euforbiaceae, called inchi, sacha inchi, sacha peanut, peanut of the Inca or rustic peanut, which are in use as food for the tribes of the Amazonia since ancient times. The most cultivated species is *Plukenetia volubilis*, while *Plukenetia huayllabambana* is a species recently discovered in the Province of Rodriguez de Mendoza (Amazonas-Peru). The aim of our research was to obtain, quantify and characterize protein profile of the two species mentioned above. The seeds were dried, ground and had fat extracted using the method of Folch (chloroform: methanol 2: 1), and then proteins fractionated using the method of Osborne: albumins (bidistilled water), globulins (NaCl 10.5 M), gliadin (Ethanol 70%) and glutelins (0.1 M NaOH). The proximate analysis for each species was performed following the techniques proposed by the AOAC. Quantitation of total protein was by the Kjeldah method and soluble proteins by the method of Gornall (Biuret), the fractions being separated by 15% SDS-PAGE. The results show that the total protein content in *P. volubilis* is higher than in *P. huayllabambana* (30.67% vs. 27.91%). However, in the latter the fat content is higher (52.11% vs. 45.49%). The majority protein fraction of *P. volubilis* were globulins and for *P. huayllabambana*, albumins. Electrophoretic patterns show no qualitative differences but there are quantitative differences ($p < 0.05$) between the two species.

Keywords: albumin – gliadin – globulin – glutelin – *Plukenetia volubilis* – *Plukenetia huayllabambana*

RESUMEN

En el Perú *Plukenetia* es un género de plantas tropicales de la familia Euforbiácea, denominadas inchi, sacha inchi, sacha maní, maní del Inca o maní jíbaro, las cuales se utilizan como alimento de las tribus de la Amazonía desde tiempos ancestrales. *Plukenetia volubilis* es la especie más conocida, mientras que, *Plukenetia huayllabambana* es una especie descubierta en la provincia de Rodríguez de Mendoza (Amazonas - Perú) por lo que el objetivo de nuestra investigación fue obtener y cuantificar el perfil de proteínas de las dos especies. Las semillas fueron secadas, molidas y desgrasadas empleando el método de Folch (cloroformo: metanol 2:1), para luego realizar el fraccionamiento de las proteínas aplicando el método de Osborne: albúminas (Agua bidestilada), globulinas (NaCl 10,5 M), gliadinas (Etanol 70%) y glutelinas (NaOH 0,1 M). El análisis químico proximal para cada especie se realizó siguiendo las técnicas propuestas por la AOAC. La cuantificación de proteínas totales fue por el método de Kjeldahl y las proteínas solubles por el método de Gornall (Biuret), siendo las fracciones separadas por SDS-PAGE 15%. Los resultados demuestran que el contenido de proteínas totales en *P. volubilis* es mayor que *P. huayllabambana* (30,67 % vs. 27,91 %). Sin embargo, en ésta última el contenido de grasas es mayor (52,11 % vs. 45,49 %). La fracción proteica mayoritaria para *P. volubilis* fueron las globulinas y para *P. huayllabambana* fueron las albúminas. Los patrones electroforéticos no muestran diferencias cualitativas, pero sí existen diferencias cuantitativas ($p < 0.05$) entre ambas especies.

Palabras clave: albúminas – gliadinas – globulinas – glutelinas – *Plukenetia volubilis* – *Plukenetia huayllabambana*.

INTRODUCCIÓN

Las tendencias actuales con respecto a la alimentación indican un marcado interés de los consumidores en ciertos alimentos que además de alimentar y nutrir aporten otros beneficios al organismo, llamándoseles alimentos nutraceuticos o funcionales, lo cual ha inducido a buscar otros alimentos que cubran estas expectativas, como las semillas de soya, girasol, cacahuate, chia, etc. (Fukushima 1994, Shewry et al. 1995, Shewry & Halford 2002). “Sacha Inchi” es una de las semillas con gran valor potencial, perteneciente al género *Plukenetia* (Linneo, 1753); son plantas tropicales de la familia Euforbiácea, denominadas además como inchi, sacha maní, maní del Inca o maní jíbaro; es una nuez utilizada como alimento de las tribus de la Amazonía peruana desde tiempos ancestrales y usada actualmente como alimento por la población rural nativa y mestiza (Rodríguez et

al. 2010). La especie más cultivada en el Perú es *Plukenetia volubilis* L., 1753, la cual crece entre los 30 a 2110 msnm en los departamentos de Amazonas, Cusco, Junín, Loreto, Pasco, San Martín y Madre de Dios (Selva Baja), mientras que *P. huayllabambana* Bussmann et al. 2009 crece a mayor altitud (1300 a 2200 msnm), se cultiva principalmente en la provincia de Rodríguez de Mendoza (Amazonas), y posee semillas más grandes que *P. volubilis* (Bussmann et al. 2009).

Actualmente “Sacha Inchi” se utiliza como fuente de ácidos grasos omega-3 y fibra, sin embargo, se conoce poco de la calidad de sus proteínas. El contenido proteico de la torta (residuo después de la extracción del aceite) de *P. huayllabambana* es menor al de *P. volubilis* (46 y 59%, respectivamente) (Ruiz et al. 2013); el porcentaje de proteínas totales en las semillas de *P. volubilis* varía de 27 a 33% (Hamaker et al. 1992) y en las semillas de *P. huayllabambana* es 24,5 % (Ruiz et al. 2013).

Por otro lado, solo se ha realizado estudios de fraccionamiento proteico en harina desgrasada de *P. volubilis* (San Martín) por su solubilidad (método de Osborne, 1907); sin embargo, el perfil de las proteínas de *P. huayllabambana* aún no se ha estudiado. La calidad nutricional de la proteína total dependerá de la proporción a la que se encuentren cada una de las fracciones proteicas en la semilla, así como las características fisicoquímicas y funcionales (Chan & Philips 1994, Nikokyris & Kandylyis 1997). La caracterización bioquímica de las semillas permite investigar fuentes alternativas de proteínas no convencionales, que puedan ser utilizadas en la industria alimentaria; dichas caracterizaciones generalmente tienen amplias aplicaciones y alternativas como ingredientes con propiedades funcionales (aditivos, espesantes u otros) y nutricionales. La realización de este tipo de estudios fomenta el desarrollo de tecnologías para el aprovechamiento de proteínas vegetales (Muñoz *et al.* 2012).

El objetivo de este estudio fue determinar el perfil de proteínas en la harina desgrasada de "Sacha Inchi" de la Provincia Rodríguez de Mendoza (Amazonas), en las especies *P. volubilis* y *P. huayllabambana*, cuyo conocimiento podrá ser utilizado en la formulación de las dietas de la población donde se produce este recurso y en la industria alimentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra. - Se trabajó con 100 semillas de cada especie: *P. volubilis* y *P. huayllabambana* "Sacha Inchi", procedentes de la provincia de Rodríguez de Mendoza, Amazonas.

Preparación del extracto. - Las semillas fueron secadas en el horno por 2 h a 80°C y se les eliminó la testa manualmente, posteriormente se trituraron en un molino

hasta obtener la harina de cada especie de "Sacha Inchi".

Análisis químico proximal. - Se evaluó el contenido de grasa, proteínas totales, la humedad, cenizas en las semillas de *P. volubilis* y *P. huayllabambana* siguiendo las técnicas propuestas por la AOAC (2005).

Extracción de grasas por el Método de Folch et al. (1957). - Se trabajó con 10 g de harina sin desgrasar de cada especie en estudio con la solución cloroformo: metanol (2:1).

Fraccionamiento de las proteínas por el método de Osborne (1907). - Se agregó agua bidestilada a la harina seca y libre de grasas (extracción de Albúminas), se dejó reposando en frío por 15 min y la suspensión se centrifugó a 11000 rpm/15 min (a 9°C), se recogió el sobrenadante y el precipitado se utilizó para la siguiente extracción. Los solventes para las extracciones de las siguientes fracciones fueron: NaCl 10,5 M (Globulinas), Etanol 70% (Gliadinas) y NaOH 0,1 M (Glutelinas).

Cuantificación de proteínas solubles método de Gornall et al. (1949). - Se determinó la concentración de las proteínas solubles, empleando el reactivo de Biuret. Para cuantificar proteínas solubles en cada muestra se utilizó 50 µl de muestra, 150 µl de agua destilada, 1mL de reactivo de Biuret, y se procedió a la lectura en el espectrofotómetro a 550 nm. La concentración se calculó mediante la ecuación de la recta previamente determinada de la curva estándar utilizando BSA 10 mg/mL.

Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE. - Las muestras de las fracciones de proteínas fueron corridas empleando un gel de apilamiento al 3,9% y un gel separador al 15% de poliacrilamida. Las muestras fueron mezcladas con el buffer de muestra (Tris HCl 0,5 M pH 6,8, glicerol, SDS 10%, Azul de Bromofenol 1%, 2-mercaptoetanol, agua

destilada) e incubados a 100°C. Se sembraron en los pocillos del gel 40 µg de proteína y la corrida se realizó con el buffer Tris Glicina pH 8,3 durante cuatro h a 100 voltios y 30 mA/gel. La fijación del gel se realizó con metanol (40%) y ácido acético (10%). Los geles se tiñeron con azul de Coomassie brillante durante toda la noche y la decoloración se llevó a cabo con una solución que contenía metanol al (10%) y ácido acético glacial (10%). Las bandas de proteínas presentes en el gel se observaron con un transluminador de luz blanca y fueron fotografiadas. Las fotografías fueron procesadas mediante el programa QUANTITY ONE, versión 4,6, el cual nos proporcionó el peso molecular (kDa), teniendo un estándar de siete proteínas conocidas (desde 14,4 kDa hasta 116 kDa) (Thermo Scientific, Lote: 00204625).

Análisis Estadístico. - Para todo el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social

Sciences) versión 21. Todos los experimentos se realizaron como mínimo por duplicado y la información se expresó en función a la desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características morfológicas de las semillas de "Sacha Inchi".

Los resultados sobre las características morfológicas de las semillas de *P. volubilis* están dentro del intervalo de los valores reportados por Manco (2006) y Gillespie (1993). Los resultados de las semillas de *P. huayllabambana* coinciden con los estudios obtenidos por Bussmann *et al.* (2009) para el grosor, pero no para el largo y ancho. Ambas semillas de "Sacha Inchi" presentan correlación positiva del peso con respecto al largo, grosor y diámetro con un nivel de significancia ($\alpha=0,01$) (Figura 1).



Figura 1. Semillas de "sacha inchi" de Rodríguez de Mendoza (Amazonas - Perú). *Plukenetia volubilis* (izquierda) y *Plukenetia huayllabambana* (derecha).

Análisis Proximal

Los resultados del análisis químico proximal nos muestran que para *P. volubilis*, el porcentaje de proteínas totales (30,67%) fue mayor a los reportado por Gutiérrez *et al.* (2011) (24,7%), Hurtado (2013) (29,8%) y Hamaker *et al.* (1992) (27 %); y para *P. huayllabambana*, se encontró que las proteínas totales fueron 27,91%, datos que difieren de los hallados por Ruiz *et al.* (2013) (24,5%) (Tabla 1). Por otro lado, si comparamos los valores de proteínas totales (método de Kjeldahl) de ambas variedades, frente a otros granos encontramos que estas son mayores a los reportados para la lenteja (23%), garbanzo (21%), aunque la proteína total de *P.*

huayllabambana es similar a la de *Salvia hispánica*, L. "chía" (28,4%) (Vásquez-Ovando *et al.* 2009), son mucho mayores que para maíz (10%), trigo (14%), arroz (8%) y avena (15,3%) (Lazcano & Cuellar 2004).

La cuantificación de lípidos totales para *P. volubilis* (45,49%) fue mayor a lo reportado por Gutiérrez *et al.* (2011) (41,4%) y Hurtado (2013) (42,7 %), pero menores a lo obtenido por Hamaker *et al.* 1992 (54 %). Sin embargo, los valores de lípidos totales para *P. huayllabambana* (52,11%), son similares a los reportados por Hamaker *et al.* (1992) (54%), lo cual nos indica que, *P. huayllabambana* es una mejor fuente de lípidos totales.

Tabla 1. Análisis químico de la harina de *Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana* provenientes de la provincia de Rodríguez de Mendoza (Amazonas), Perú*.

Componentes	<i>Plukenetia volubilis</i>	<i>Plukenetia huayllabambana</i>
Proteína total, %	30,67	27,91
Lípidos Totales, %	45,49	52,11
Humedad, %	4,02	2,91
Cenizas, %	2,41	2,64

* Análisis promedios de tres determinaciones.

Análisis del Patrón de Fraccionamiento

El fraccionamiento de las proteínas para *P. volubilis* que nosotros hemos estudiado no coincide con lo hallado por Sathe *et al.* (2012), quienes emplearon la misma especie de "Sacha Inchi" (Departamento San Martín) y el método de Osborne. Sus resultados muestran como fracción mayoritaria a las albúminas (43,7 %), seguidas de las globulinas (27,3%), mientras que en nuestros resultados la fracción mayoritaria son las globulinas (39,79%), seguidas por las albuminas (37,10%), gliadinas o prolaminas (13,93%) y glutelinas (9,18%). Este patrón de fraccionamiento que se observó para *P. volubilis* es semejante a los resultados reportados para semillas de chicharos (globulinas 44,8%, albúminas

15,4%, glutelinas 1,3%, prolaminas 0%), lupinus (globulinas 45,4% albúminas 15,5%, glutelinas 8,4%, prolaminas 2,4%), semillas de algodón (globulinas 38,1%, albúminas 6,3%, glutelinas 2,4% y prolaminas 0%) y semillas de chía (globulinas 52%, albúminas 17,3%, prolaminas 12,7% y glutelinas 14,5%) (Nikokyris & Kandyliis 1997, Vásquez-Ovando *et al.* 2009, Sandoval 2012).

Según Shewry *et al.* (1995) las globulinas son la fracción mayoritaria de reserva en las leguminosas de especies dicotiledóneas y en algunas monocotiledóneas incluyendo los cereales donde representa entre 10% al 85% (Shewry & Halford 2002). Nuestros resultados indican que después de la extracción de aceite

de Sacha Inchi, queda un subproducto del cual se obtienen diferentes fracciones de proteínas como las globulinas, las cuales, al igual que los subproductos de la soya, girasol y cacahuete (Lambert & Yarwood 1992, Fukushima 1994) podrían ser comercializados como aislados proteicos para suplementar alimentos. Mientras que las albuminas (proteínas de reserva), las gliadinas y glutelinas que se encuentran en menor proporción y que son las encargadas de las propiedades reológicas, como el de conferir viscosidad y elasticidad a los alimentos (Herrera et al. 2003), podrían ser utilizadas en la preparación de alimentos.

Las fracciones proteicas mayoritarias en *P. huayllabambana* lo constituyen las albúminas (34,04 %) y las gliadinas (30,08 %), seguidas de las globulinas (21,03 %), y glutelinas (14,85 %). Dichos resultados no pueden ser comparados con bibliografías ya que no existen estudios previos del perfil de proteínas en dicha especie (Tabla 2). Sin embargo, podemos comprobar que, aunque se trate de especies del mismo género (*Plukenetia*), la composición de sus fracciones proteicas son diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 2. Porcentaje de cada fracción proteica a partir de la concentración de proteínas solubles totales obtenidas de la curva de BSA (g) por cada 100 g de muestra desgrasada en *Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*.

	Fracciones proteicas	[g/Proteínas]/100 g muestra	**Porcentaje de proteínas solubles
<i>Plukenetia volubilis</i>	Albúminas	7,16 ± 0,488	37,09
	Globulinas	7,68 ± 0,822	39,78
	Gliadinas	2,69 ± 0,307	13,92
	Glutelinas	1,77 ± 0,261	9,18
	Proteínas totales insolubles		19,30 ± 0,826
<i>Plukenetia huayllabambana</i>	Albúminas	1,679 ± 0,289	34,06
	Globulinas	1,037 ± 0,247	21,04
	Gliadinas	1,484 ± 0,092	30,10
	Glutelinas	0,733 ± 0,441	14,86
	Proteínas totales insolubles		4,93 ± 0,413

**La cuantificación de las proteínas solubles (g) de cada fracción proteica fue trabajado por triplicado y presentaron una distribución normal según el test de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). La Prueba T de Student para muestras relacionadas de los porcentajes de proteínas solubles nos demuestra que las albúminas, globulinas, gliadinas y glutelinas en las dos especies de "Sacha Inchi" estudiadas son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

Caracterización bioquímica de las Fracciones de Osborne: Electroforesis SDS-PAGE y determinación del peso molecular de las proteínas fraccionadas.

Posteriormente al fraccionamiento de Osborne, las muestras antes de separarlas en el gel de SDS-PAGE 15% fueron reducidas con β -mercaptoetanol, por lo que las proteínas de cada fracción mostraron bandas de diferente

tamaño que a continuación detallaremos y compararemos entre las especies estudiadas.

Las semillas de *P. volubilis* para las albúminas presentaron dos bandas de 30 KDa y 32 KDa, similar a lo reportado por Sathe et al. (2002) (32,8 KDa y 34,8 KDa), la misma cantidad de bandas para *P. huayllabambana* (31 KDa y 33 KDa), La principal función de las albúminas es de reserva, pero pueden tener actividad

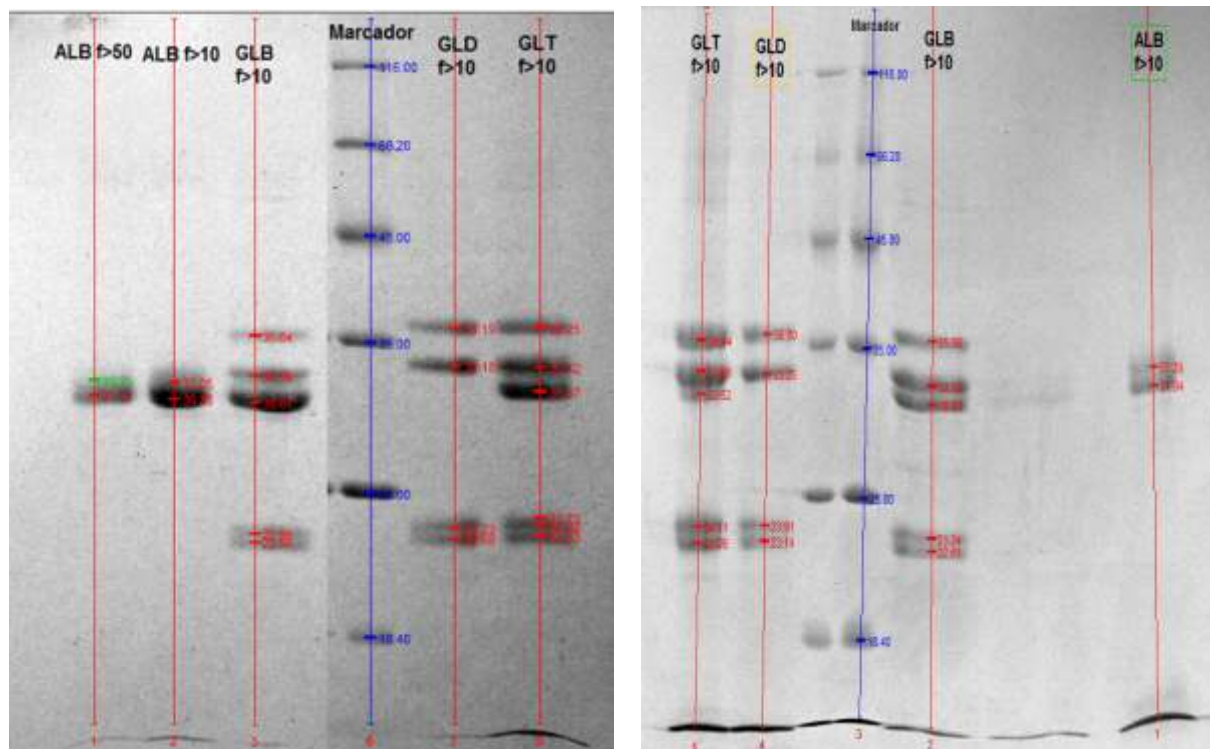


Figura 2. Corrida electroforética SDS-PAGE-15% de las fracciones proteicas de semillas de *Plukenetia volubilis* (izquierda) y *Plukenetia huayllabambana* (derecha).

biológica como inhibidores de proteasas y como proteínas de defensa (Svendsen *et al.* 1994, Genov *et al.* 1998).

Las globulinas bajo condiciones reductoras presentaron cinco bandas con pesos moleculares de 22 KDa, 23 KDa, 31 KDa, 33 KDa y 36 KDa en *P. volubilis* y *P. huayllabambana*. Estas proteínas son también consideradas proteínas de reserva de las semillas y se caracterizan por estar formadas por puentes disulfuros, cuyas subunidades pueden ser iguales o diferentes, las que en condiciones denaturantes pueden disociarse (Tai *et al.* 1999). Además, Nielsen *et al.* (1995) reportó que cada subunidad de las globulinas puede producir una cadena ácida de 30-40 KDa y una básica de 20-25 KDa enlazadas por puentes disulfuro.

Las gliadinas presentaron cuatro bandas en ambas especies: *P. volubilis* (22 KDa, 23 KDa,

33 KDa y 36 KDa) y *P. huayllabambana* (23 KDa, 24 KDa, 33 KDa y 36 KDa), cuyos resultados guardan cierta relación con el análisis bidimensional (2D-SDS PAGE) realizado por Sathe *et al.* (2012). Los análisis electroforéticos, ya sea en forma nativa o después de la reducción de los enlaces disulfuro, muestran que esta fracción es una mezcla compleja de polipéptidos de muchos componentes que poseen pesos moleculares que varían desde 10 KDa hasta 100 KDa. Son proteínas monoméricas, por lo general ricas en azufre y las de alto peso molecular aparecen como polímeros unidos por enlaces disulfuro intermoleculares que varía según los diferentes cultivares (Coleman & Larkis 1999, Sherwry & Halford 2002).

Las glutelinas constituyen las fracciones minoritarias en ambas especies y presentaron cinco bandas en cada especie de "Sacha Inchi": 22 KDa, 23 KDa, 31 KDa, 33 KDa y 36 KDa

para *P. volubilis*, y cinco bandas de 23 KDa, 24 KDa, 32 KDa, 33 KDa y 36 KDa para *P. huayllabambana*. Las glutelinas están constituidos por proteínas multiméricas unidas por puentes disulfuro, por lo que, al reducir las con β -mercaptoetanol se ha separado en subunidades o monómeros (Lea & Leegood 1999). Esta fracción es la más difícil de definir y entender dado que son insolubles en agua, etanol, soluciones salinas y sólo se solubilizan en medios ácidos (pH 2) o álcalis (pH 12). Se encuentran agregadas en complejos de muy alto peso molecular que son difíciles de disolver (Tatham *et al.* 1985).

Al comparar los pesos moleculares de cada fracción proteica (ALB, GLB, GLD, GLT) en las especies *P. volubilis* y *P. huayllabambana* mediante la Prueba de T de Student para muestras relacionadas por triplicado, se llegó a la conclusión que estadísticamente son iguales ($p > 0,01$), esto se ve reflejado en la electroforesis realizado para cada una de las especies. (Figura 2).

Se concluye que, las semillas de *P. volubilis* mostraron un contenido de proteína total de 30,67 % y *P. huayllabambana* de 27,91 %, además, ésta última sobresale por su gran contenido de grasas (52,11 %). La fracción mayoritaria para *P. volubilis* fueron las globulinas y para *P. huayllabambana* fueron las albúminas. Los patrones electroforéticos no muestran diferencias cualitativas en ambas especies, pero sí diferencias cuantitativas con un nivel de significancia $< 0,05$ que los porcentajes de las proteínas solubles para cada especie son diferentes.

AGRADECIMIENTO

Los autores de este trabajo desean manifestar su agradecimiento a Oscar Nolasco Cárdenas, por su asesoramiento en la utilización de algunas técnicas y equipos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. 2005. *Official Method of Analysis*. Consultado el 10 de Mayo de 2014.
- Bussmann, R.W.; Tellez, C. & Glenn, A. 2009. *Plukenetia huayllabambana* sp. nov. (Euphorbiaceae) from the upper Amazon of Peru. *Nordic Journal of Botany*, 27:313-315.
- Chan, C.W. & Philips, R.D. 1994. Amino acid composition and subunit constitution of protein fractions from cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42:1857-1860.
- Coleman, C.E. & Larkis, B.A. 1999. *The prolamins of maize*. pp. 109-139. En: Shewry, P.R. & Case, R. (eds). *Seed Proteins*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Folch, J.; Lees, M. & Stanley, G. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.
- Fukushima, D. 1994. Recent progress on biotechnology of soybean protein and soybean protein food products. *Food Biotechnology*, 8:83-135.
- Genov, N.; Goshev, I.; Nikolova, D.; Georgieva, D.N.; Filippi, B. & Svendsen, I. 1998. A novel thermostable inhibitor of trypsin and subtilisin from the seeds of *Brassica nigra*: amino acid sequence; inhibitory and spectroscopic properties and thermostability. *Biochemical et Biophysical Acta*, 1341: 157-164.
- Gillespie, L. A. 1993. Synopsis of neotropical *Plukenetia* (Euphorbiaceae) including two new species. *Systematic Botany*, 18: 575-592.
- Gornall, A.G.; Bardawill, Ch. J. & David, M.M. 1949. Determination of serumproteins by means of the Biuret reaction. *The Journal of Biological*

- Chemistry, 177: 751-766.
- Gutiérrez, L.F.; Rosada, L.M. & Jiménez, Á. 2011. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites*, 62: 76-83.
- Hamaker, B.R.; Valles, C.; Gilman, R.; Hardmeier, R.M.; Clark, D.; García, H.H.; Gonzales, A.E.; Kohlstad, I.; Castro, M.; Valdivia, R.; Rodríguez, T. & Lescano, M. 1992. Amino acid and fatty acid profiles of the Inca peanut (*Plukenetia volubilis*). *Cereal Chemistry Journal*, 69: 461-463.
- Herrera, C.F.; Bolaños, N. & Lutz, G. 2003. *Química de alimentos: manual de laboratorio*. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 1^{ra} ed. p.37.
- Hurtado, Z. 2013. *Análisis composicional de la torta y aceite de semillas de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis) cultivada en Colombia*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Posgrados Palmira, Universidad Nacional de Colombia.
- Lambert, W. & Yarwood, J.N. 1992. *Engineering legume seed storage proteins*. In: *Plant Protein*. Shewry, P.R. & Guteridge, S. (eds.). Cambridge University Press. Londres. pp.167-187.
- Lazcano, M. & Cuellar, D. 2004. Caracterización de una golosina amaranto-avena-miel. Memorias VI Congreso de Ciencias de los Alimentos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, N°6.
- Lea, P.J. & Leegood, R.C. 1999. *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. 2^{da} Ed. Nueva York: J. Wiley & Sons, pp. 184-187.
- Linneo, C. 1753. *Species plantarum*. Tomo II. 561-1200, plus indexes and addenda, 1201-1231.
- Manco, E. 2006. *Cultivo de sachá inchi*. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA). San Martín.
- Muñoz, L.A.; Cobos, A.; Díaz, O. & Aguilera, J.M. 2012. Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, 108: 216-224.
- Nielsen, N.C.; Jung, R.; Nam, Y.; Beaman, T.W.; Oliveira, L.O. & Bassuner, R.B. 1995. Synthesis and assembly of 11S globulins. *Journal of Plant Physiology*, 145: 641-647.
- Nikokyris, P.N. & Kandyliis, K. 1997. Feed protein fractions in various solvents of ruminant feedstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 75:198-204.
- Osborne, T.B. 1907. *The proteins of the wheat kernel*. Washington, D. C.: Published by the Carnegie Institution of Washington. Publication No. 84. pp 1-117.
- Rodríguez, A.; Corazon-Guivin, M.; Cachique, D.; Mejía, K.; Del Castillo, D.; Renno, J- F. & García-Dávila, C. 2010. Diferenciación morfológica y por ISSR (Inter simple sequence repeats) de especies del género *Plukenetia* (Euphorbiaceae) de la Amazonía peruana: propuesta de una nueva especie. *Revista Peruana de Biología*, 17:325-330.
- Ruiz, C.; Díaz, C.; Anaya, J. & Rojas, R. 2013. Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* y *Plukenetia huayllabambana*). *Revista de Sociedad Química del Perú*, 79: 29-36.
- Sandoval, O.M.R. 2012. *Aislamiento y caracterización de las proteínas de chíá (Salvia hispánica L.)*. Tesis de Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Univ. Autónoma de Querétaro. México.
- Sathe, S. K, Hamaker, B. R.; Sze-Tao, K. W. C. & Venkatachalam, M. 2002. Isolation, purification, and biochemical characterization of a novel water soluble protein from Inca peanut (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:4906-4908.
- Sathe, S.; Kshirsagar, H. & Sharma, G. 2012.

- Solubilization, fractionation, and electrophoretic characterization of Inca Peanut (*Plukenetia volubilis* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 67:247-55.
- Shewry, P.R. & Halford, N.G. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53: 947-958.
- Shewry, P.R.; Napler, J.A. & Tatham, A.S. 1995. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. *The Plant Cell*, 7:945-956.
- Svendsen, I.; Nikolova, D.; Goshev, I. & Genov, N. 1994. Primary structure, spectroscopic and inhibitory properties of a two-chain trypsin inhibitor from the seeds of charlock (*Sinapsis arvensis* L.), a member of the napin protein family. *International Journal of Peptide and Protein Research*, 43:425-430.
- Tai, S.S.; Wu, L.S.; Chen, E.C. & Tzen, J.T. 1999. Molecular cloning of 11S globulin and 2S albumin, the two major seed storage proteins in sesame. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4932-4938.
- Tatham, A.S.; Shewry, R.R. & Belton, P.S. 1985. ¹³C NMR study of C hordein. *Biochemical Journal*, 232: 617-620.
- Vásquez-Ovando, A.; Rosado-Rubio, G.; Chel-Guerrero, L. & Betancur-Ancona, D. 2009. Physicochemical properties of a fibrous fraction from chía (*Salvia hispanica* L.). *Food Science and Technology*, 42: 168-173.

Received January 3, 2016.
Accepted February 20, 2016.