

Evaluación tecno-funcional de la harina, aislado e hidrolizado proteico obtenidos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y chía (*Salvia hispanica* L.)

¹González-Luna, R., ²Bautista-Villarreal, M., ³Amaya-Guerra, C.A., ²Báez-González, J.G. y ¹Moreno-Limón, S.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, ¹Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal, ²Laboratorio de Reología, ³Laboratorio de Tecnología de Alimentos. arg.luna@hotmail.com

RESUMEN:

El reciente interés de la industria alimentaria en el empleo del amaranto, la quínoa y la chía como una alternativa para la elaboración de alimentos con alto valor añadido, se debe principalmente al elevado contenido de proteínas y carbohidratos en el caso de la harina de amaranto y quínoa, y a la excelente fuente de fibra y ácidos grasos en la de chía. Por ello, la obtención de aislados e hidrolizados proteicos a partir ellas, tiene por objetivo la mejora de sus propiedades tecno-funcionales, las cuales constituyen la base funcional de la elaboración de una amplia gama de productos. Las propiedades que se evaluaron fueron: capacidad de absorción de agua y aceite, capacidad gelificante y de hinchamiento, capacidad y estabilidad emulsificante y espumante, y solubilidad frente a pH. Los resultados indican que la hidrólisis enzimática contribuye a la mejora de la capacidad de absorción de aceite, así como a la capacidad espumante, lo cual resulta atractivo para la elaboración de alimentos funcionales con tales características, como pueden ser productos de panificación y repostería.

Palabras clave: harina, aislado, hidrolizado, solubilidad, funcionalidad, hidrofobicidad

ABSTRACT:

The recent interest of the food industry in the use of amaranth, quinoa and chia as an alternative for the elaboration of foods with high added value is mainly due to the high content of proteins and carbohydrates in the case of amaranth and quinoa flour, and the excellent source of fiber and fatty acids in chia. Therefore, the obtaining of protein isolates and hydrolyzates from them, aims to improve their techno-functional properties, which constitute the functional basis of the elaboration of a wide range of products. The properties that were evaluated were: water and oil absorption capacity, gelling and swelling capacity, emulsifying and foaming capacity and stability, and solubility. The results indicate that the enzymatic hydrolysis contributes to the improvement of the oil absorption capacity as well as to the foaming capacity, which is attractive for the elaboration of functional foods with such characteristics as bakery products and confectionery.

Keywords: flour, isolate, hydrolyzate, solubility, functionality, hydrophobicity

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, una de las estrategias para el aprovechamiento de residuos agroindustriales de fuentes vegetales es la obtención de aislados proteicos a partir de sus harinas desengrasadas, los cuales presentan una riqueza proteica cercana al 90%, resultando en un producto de gran interés para ser empleado con fines agroalimentarios. Sin embargo, estos aislados suelen presentar baja solubilidad y una potencial alergenicidad lo cual dificulta su empleo, por lo que la hidrólisis enzimática representa una opción viable para mejorar estas fuentes proteicas y obtener hidrolizados hipoalergénicos con un alto grado de solubilidad.

Recientemente ha repuntado el interés en el empleo del amaranto, la quínoa y la chía (Fig. 1) para la elaboración de alimentos con alto valor añadido, como pueden ser batidos, yogurts, sopas e incluso alimentos especializados, debido a que estas especies presentan una buena fuente de proteínas y carbohidratos en el caso de amaranto y quínoa, y una excelente fuente de fibra y ácidos grasos en la chía. La composición proximal de la semilla de amaranto es inconsistente entre y dentro de especies, pero en promedio está compuesta de 13-21% de proteína cruda, 5-11% de grasa cruda, 48-69% de almidón, 3-5% de fibra dietética y 2-5% de cenizas (Huerta & Barba de la Rosa, 2012). En lo que respecta a la quínoa, los beneficios de su cultivo están dados por su alto valor nutricional, en el que el contenido de proteína varía entre 13-22%, dependiendo de la variedad. Debido al elevado contenido de aminoácidos esenciales en su proteína la quinua es considerada como el único alimento del reino vegetal que posee todos los aminoácidos esenciales, que se encuentran extremadamente cerca de los estándares de nutrición humana establecidos por la FAO (FAO/OMS/UNU, 1985). Por otra parte, la chía es conocida principalmente como fuente de ácidos grasos omega 3, sin embargo, también posee cantidades significativamente mayores de proteína, fibra y grasas que otros cultivos de importancia como el arroz, el trigo y el maíz (Ayerza & Coates, 2006).

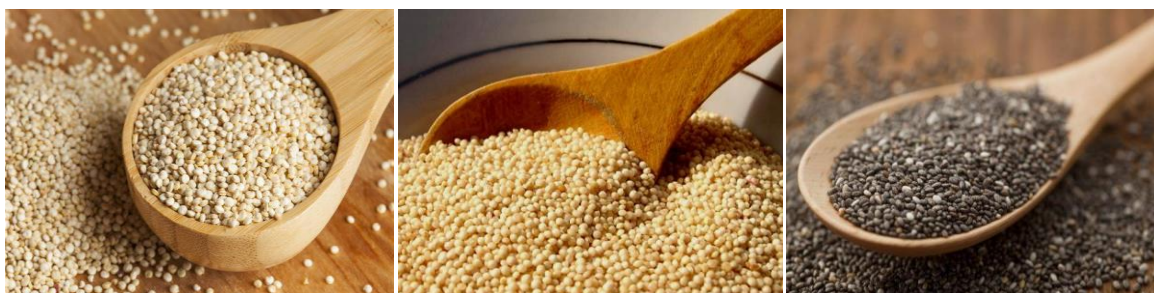


Figura 1. Granos de a) amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), b) quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y semillas de c) chía (*Salvia hispanica* L.)

Por esta razón, en los últimos años la industria alimentaria ha mostrado gran interés en emplear estas tres fuentes vegetales como alternativas para la elaboración de alimentos funcionales, siendo que sus propiedades, tales como la capacidad de absorción de agua y aceite, la capacidad de gelificación e hinchamiento, así como la capacidad emulsificante y espumante, constituyen la base funcional de una amplia gama de productos. Por ejemplo, Konishi y Yoshimoto (1989) estudiaron la actividad emulsificante de la fracción globulina de amaranto en comparación con las proteínas alimentarias más convencionales. Ellos describieron que la actividad emulsificante era aproximadamente el doble de la de los aislados proteicos de soja, pero menor que la de la caseína y la albumina de suero bovino. También reportaron que tanto la estabilidad de la emulsión después de 24 horas como la actividad emulsificante varían con el pH, siendo la estabilidad máxima de la emulsión a pH 7.5 y superior a 10.

Por ello, la búsqueda de nuevas fuentes proteicas con determinada funcionalidad y que además cuenten con un alto valor biológico y resulten atractivamente económicas para su producción, representa uno de los principales focos de interés por los consumidores y las industrias alimentarias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima

Se utilizaron granos de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.) y quínoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y semillas de chía (*Salvia hispanica* L.), libres de plagas y enfermedades, los cuales fueron adquiridos a través de una comercializadora de alimentos orgánicos (Vizana Nutrition) de la ciudad de Monclova, estado de Coahuila, México. Los granos y semillas se procesaron en el Laboratorio del Grupo de Proteínas Vegetales, del Instituto de la Grasa, perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Sevilla, España).

Procesamiento de los granos y semillas

Los granos y semillas se molieron y posteriormente la harina resultante se desengrasó, determinando el contenido total en lípidos por el contenido de aceite extraído de los granos y semillas mediante hexano en un equipo soxhlet durante 9 horas y expresado en porcentaje (%) en masa del producto (p/p). A partir de la harina desengrasada se obtuvieron aislados proteicos (altamente ricos en proteína), los cuales fueron sometidos a un proceso de hidrólisis enzimática (empleando Alcalasa) con el fin de evaluar su efecto sobre las propiedades funcionales y comparar su composición fisicoquímica.

Caracterización fisicoquímica

El perfil fisicoquímico se realizó en la harina, el aislado e hidrolizado proteico obtenido determinando el contenido de humedad por secado a 110°C durante 24 horas, cenizas por combustión a 550°C durante 12 horas, proteína (N x 6.25) por el método de Dumas (1831) empleando un microanalizador elemental LECO CHNS-932, azúcares solubles de acuerdo a los descrito por Dubois *et al.* (1956), polifenoles según el procedimiento de Moores *et al.* (1948), fibra según Lee *et al.* (1992) y grasa según metodologías descritas en la AOAC (2000).

Determinación de las propiedades funcionales

Solubilidad

Las muestras se disolvieron en H₂O_d (5% p/v) ajustándose en un rango de pH de 2-12 con NaOH 1 N o HCl 1 N y se mantuvieron en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente, centrifugándose posteriormente a 11000 rpm durante 15 minutos. A los sobrenadantes se les determinó su contenido en proteínas y los resultados se refirieron como porcentaje de proteína solubilizada respecto al contenido total de proteína total.

Capacidad de absorción de agua

Se determinó de acuerdo al método descrito por Beuchat (1977) a temperatura ambiente (25°C) con ligeras modificaciones. Se utilizaron 0.5 g de muestra en 5 mL de agua destilada ajustando el pH a 7 y agitando en un Vortex. Posteriormente se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos y los resultados fueron expresados como porcentaje de agua retenida por gramo de muestra.

Capacidad de absorción de aceite

Se determinó de acuerdo al método descrito por Beuchat (1977) a temperatura ambiente (25°C) con ligeras modificaciones. Se colocaron 0.5 g de muestra en tubos de centrifuga de 15 mL, luego se añadieron 5 mL de aceite de maíz y el conjunto se agitó en un Vortex durante 1 minuto. Por último, se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos y los resultados fueron expresados como porcentaje de aceite retenida por gramo de muestra.

Capacidad gelificante

Se determinó según lo indicado por Chau y Cheung (1997) preparando suspensiones de la muestra en agua destilada al 4, 8, 12, 16 y 20% (p/v). Los tubos se colocaron en un baño de agua a 100°C durante 1 hora y luego en un baño de hielo durante 1 hora. Los resultados se expresaron de forma cualitativa por la presencia o no de gelificación.

Capacidad de hinchamiento

Se determinó según Robertson *et al.* (2000) y Aguilera (2009). Se pesaron 100 mg de muestra en un cilindro graduado, luego se agregó agua destilada hasta 10 mL y se agitó suavemente para dispersar la muestra. Posteriormente, se dejó en reposo la muestra durante 16 horas para lograr su hidratación, midiendo el volumen final que ocupa la muestra. Los resultados se expresan en mL/g de muestra.

Capacidad emulsificante

Se determinó según Yasumatsu *et al.* (1992) con ligeras modificaciones, para lo cual se mezcló 0.5 g de muestra con 10 mL de agua destilada, agitando durante 15 min. Luego se ajustó el pH a 7 y se llevó el volumen hasta 15 mL con agua destilada. Posteriormente se mezclaron partes iguales (15 mL) de esta solución con aceite de maíz en un homogenizador (OMNI GLH-01 International) por 5 minutos y centrifugado a 1300 rpm. La emulsión fue expresada en términos de porcentaje, como la altura de la emulsión con respecto al total del líquido.

Capacidad espumante

Se determinó de acuerdo a lo indicado por Bencini (1986) con ligeras modificaciones, mezclando 0.5 g de muestra y 25 mL de agua destilada en un homogenizador (OMNI GLH-01 International) a 4000 rpm durante 3 minutos. La espuma resultante se transfirió a un cilindro graduado de 50 mL para medir el volumen de espuma inicial y final luego de 30 segundos. La capacidad espumante se expresó como el porcentaje de aumento en volumen. La estabilidad de la espuma se midió a intervalos de tiempo de 5, 10, 15, 30, 60 y 120 minutos.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se procesaron utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20. Se calcularon la media y la desviación estándar y se aplicó análisis de varianza (ANOVA). Los promedios correspondientes se compararon mediante la prueba de t de Tukey-Kramer, con nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar el empleo potencial de la harina desengrasada, el aislado e hidrolizado proteico obtenido de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L. como un componente que puede ayudar a mejorar las propiedades funcionales de un alimento, se analizaron algunas de sus propiedades, tales como solubilidad, absorción de agua y aceite, capacidad gelificante y de hinchamiento, así como la actividad y estabilidad emulsificante y espumante.

La solubilidad representa una de las características más importantes que deben ser tomadas en cuenta para la caracterización funcional de un producto, ya que puede afectar considerablemente sus propiedades. En la Fig. 2, se puede observar como la solubilidad de la harina desengrasada y el aislado proteico de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L. a pH neutro o ácido es baja, y esta se incrementa conforme el pH se hace más básico.

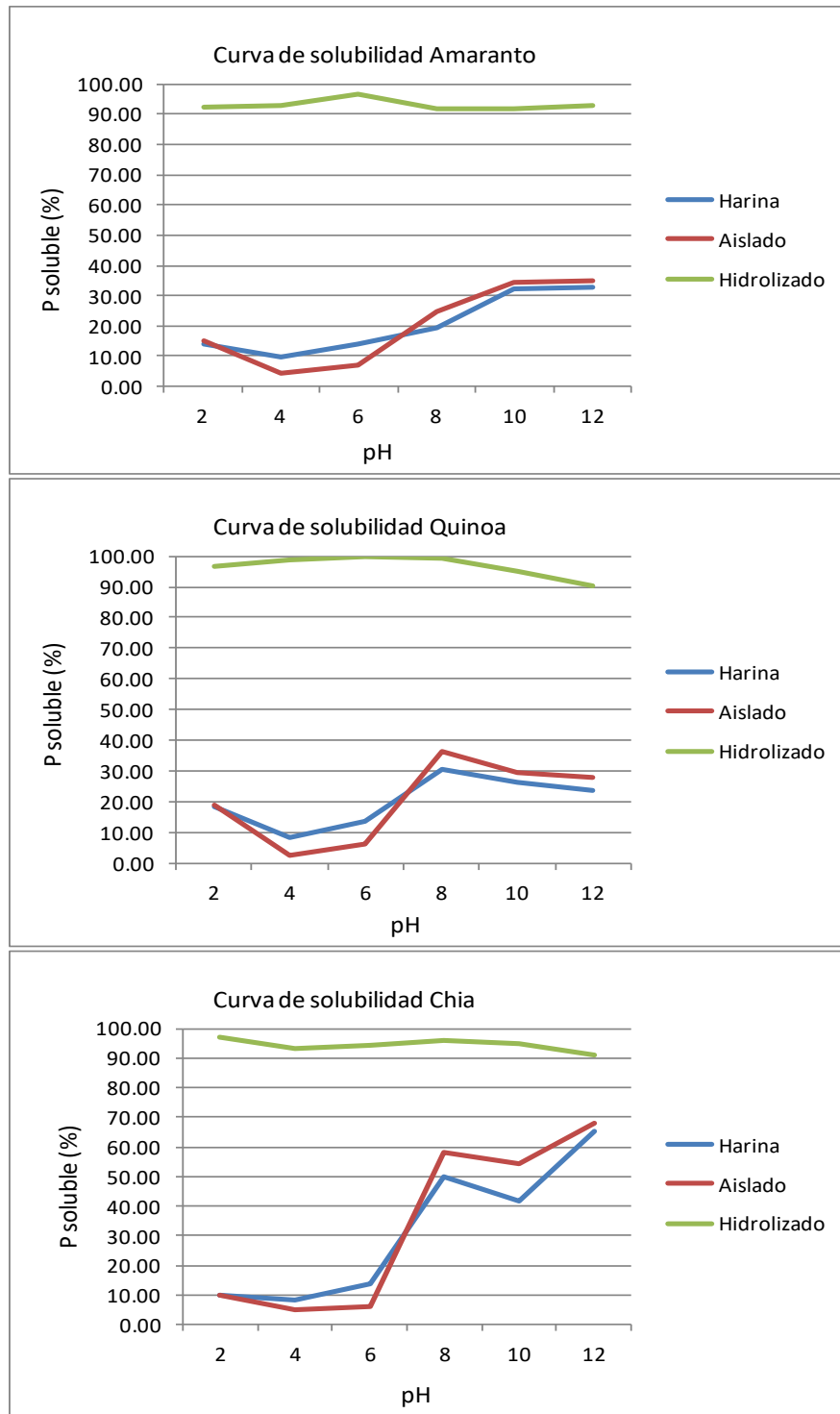


Figura 2. Curva de solubilidad proteica de la harina desengrasada, el aislado e hidrolizado proteico de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L. frente al pH

El carácter heterogéneo de la harina genera interacciones entre la fracción proteica y los distintos componentes de la harina, los cuales pueden afectar tanto a la carga neta como a la hidrofobicidad del conjunto proteico influyendo directamente en la solubilidad. A su vez, sin restar importancia, debe tomarse en cuenta que el método de desengrasado puede afectar a la configuración y estructura fisicoquímica de las proteínas dando como resultado una solubilidad proteica deficiente. Respecto al aislado proteico, no debe pasarse por alto este parámetro ya que puede limitar su utilización en productos alimenticios que requieran de pH ácidos para su realización, como pueden ser bebidas o jugos.

En lo que respecta a los hidrolizados proteicos, el grado de hidrólisis influye notablemente en sus propiedades funcionales, donde sobresale la alta solubilidad del hidrolizado obtenido con Alcalasa en el rango de pH de 2-12 en las tres especies en comparación con la harina desengrasada y el aislado proteico, alcanzando valores cercanos al 100%. Estos resultados son similares a los descritos por otros autores en amaranto, quínoa y chíá, quienes observaron que a pH cercanos al punto isoeléctrico, el porcentaje de solubilidad en las harinas y los aislados es menor, mientras que a pH básicos la solubilidad aumenta (Marcone & Kakuda, 1999; Aluko & Monu, 2003; Vázquez-Ovando *et al.*, 2013). Sin embargo, debe mencionarse que este aumento de solubilidad no asegura una mejora global de las propiedades funcionales debido probablemente al pequeño tamaño de los péptidos, los cuales no permiten estabilizar interfaces aire/agua (propiedad espumante) o aceite/agua (propiedades emulsificante).

Los resultados de la caracterización fisicoquímica de la harina desengrasada, el aislado e hidrolizado proteico se muestran en la Tabla I, donde se puede observar la notable diferencia en el contenido proteico entre ellos. Por otra parte, en la Tabla II, se muestran los resultados obtenidos de las demás propiedades funcionales, en donde las harinas desengrasadas de *A. hypochondriacus* L. y *C. quinoa* Willd. presentan valores aceptables de absorción de agua y aceite, así como de capacidad gelificante y de hinchamiento, mientras que en *S. hispanica* L. el mucilago interfirió en el análisis de estas propiedades por lo que sus resultados no fueron considerados.

García *et al.* (2012) describieron valores ligeramente superiores de absorción de agua y aceite en harinas de *Cajanus cajan* L. bajo distintos tratamientos de hidratación, cocción y secado con respecto a los mostrados por las harinas desengrasadas de amaranto, quínoa y chíá. Por otra parte, estudios realizados sobre el efecto de los polifenoles en las propiedades funcionales concluyeron que participan en la disminución de la solubilidad proteica al provocar la precipitación de estas debido a un aumento de la hidrofobicidad del complejo proteína-polifenol (Sarker *et al.*, 1995), resaltando nuevamente la influencia de la heterogeneidad de las muestras en el análisis.

En lo que respecta a los aislados proteicos, los cuales tienen una concentración proteica cercana al 90%, presentaron valores superiores en la mayoría de las propiedades funcionales respecto a la harina desengrasada. Es probable que a medida que se eleva el pH de extracción, se produzcan mayores modificaciones en cuanto a la carga neta, la hidrofobicidad o incluso cambios conformacionales de las proteínas extraídas que incidan en el empeoramiento de las propiedades funcionales. El comportamiento de las propiedades funcionales observadas en los aislados son similares a las observadas por otros autores en aislados proteicos de *Juglans regia* L., quienes describen valores superiores de estos en comparación con la harina desengrasada e incluso que algunos concentrados proteicos (Mao & Hua, 2012).

Por último, el concentrado proteico parcialmente hidrolizado con Alcalasa con un grado de hidrólisis superior al 10% presenta las mejores propiedades funcionales. Como puede observarse en la Fig. 3, la hidrólisis proteica realizada en los aislados proteicos, cambia el perfil de proteínas, en el cual se espera que un mejor balance en la distribución de residuos cargados y apolares que mejoran las interacciones interfaciales, una nueva disposición de los grupos cargados que repercutirá en un equilibrio entre la retención de las estructuras de las proteínas y péptidos formados, y una formación de dominios más flexibles que incrementen la estabilidad de las interfaces creadas, deben modificar positivamente las propiedades emulsificantes y espumantes así como sus estabilidades del conjunto proteico.

Tabla I. Caracterización fisicoquímica de la harina desengrasada, aislado e hidrolizado proteico de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L.

Análisis (%)	<i>A. hypochondriacus</i>			<i>C. quinoa</i>			<i>S. hispanica</i>		
	HD	AP	HP	HD	AP	HP	HD	AP	HP
Humedad	9.19 ± 0.09	2.34 ± 0.04	1.94 ± 0.04	9.82 ± 0.02	4.06 ± 0.04	4.77 ± 0.03	1.32 ± 0.03	3.90 ± 0.08	3.95 ± 0.01
Grasa	0.25 ± 0.03	0.01 ± 0.00	9.2 ± 0.00	3.00 ± 0.14	1.087 ± 0.00	9.5 ± 0.00	5.1 ± 0.15	4.1 ± 0.01	6.3 ± 0.00
Fibra	11.95 ± 0.02	3.97 ± 0.07	4.36 ± 0.55	7.13 ± 0.19	10.68 ± 0.19	3.89 ± 0.06	49.39 ± 0.46	11.54 ± 0.01	10.68 ± 0.40
Cenizas	8.64 ± 0.45	2.09 ± 0.18	2.12 ± 0.07	5.11 ± 0.10	5.79 ± 0.09	7.69 ± 0.27	7.22 ± 0.08	2.91 ± 0.03	3.64 ± 0.06
Proteínas	15.02 ± 0.19	89.25 ± 0.92	81.38 ± 0.56	18.64 ± 0.17	71.50 ± 0.79	72.13 ± 0.44	31.76 ± 0.09	75.58 ± 0.02	73.31 ± 0.09
Azúcares solubles	1.66 ± 0.00	0.52 ± 0.00	0.27 ± 0.00	1.28 ± 0.00	3.18 ± 0.00	0.83 ± 0.00	5.12 ± 0.05	1.92 ± 0.03	1.11 ± 0.00
Polifenoles	0.009 ± 0.00	0.011 ± 0.00	0.0427 ± 0.00	0.024 ± 0.00	0.010 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.0399 ± 0.01	0.0123 ± 0.01	0.13 ± 0.00
*Otros	53.281 ± 0.00	1.809 ± 0.00	0.6873 ± 0.00	54.996 ± 0.00	3.693 ± 0.00	1.8517 ± 0.00	0.0501 ± 0.00	0.0377 ± 0.00	0.88 ± 0.00

HD: Harina desengrasada; AP: Aislado proteico; HP: Hidrolizado proteico; *Otros: principalmente almidón y pectinas
Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes

Tabla II. Propiedades tecnofuncionales de la harina desengrasada, aislado e hidrolizado proteico de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L.

	<i>A. hypochondriacus</i>			<i>C. quinoa</i>			<i>S. hispanica</i>		
	HD	AP	HP	HD	AP	HP	HD	AP	HP
CAA (%)	220.00 ± 0.00 ^a	333.33 ± 17.78 ^b	NA	240.00 ± 0.00 ^a	613.33 ± 22.22 ^b	NA	NA	500.00 ± 26.67 ^a	NA
CAG (%)	162.83 ± 0.53 ^a	162.83 ± 6.94 ^a	207.01 ± 3.32 ^b	162.71 ± 9.88 ^a	120.72 ± 3.96 ^b	210.03 ± 9.12 ^c	252.47 ± 5.10 ^a	114.41 ± 4.18 ^b	330.27 ± 16.60 ^c
AEm (%)	0.00 ± 0.00	90.00 ± 3.33 ^a	86.67 ± 1.11 ^a	0.00 ± 0.00	90.00 ± 0.00 ^a	89.170 ± 4.44 ^a	0.00 ± 0.00	87.50 ± 1.67 ^a	75.00 ± 0.00 ^b
EEm (%)	-	85.00 ± 0.00 ^a	40.00 ± 0.00 ^b	-	30.00 ± 0.00 ^a	90.00 ± 0.00 ^b	-	90.00 ± 0.00 ^a	50.00 ± 0.00 ^b
CH (mL/g)	5.00 ± 0.00 ^a	3.67 ± 0.44 ^b	NA	4.00 ± 0.00 ^a	2.00 ± 0.00 ^b	NA	NA	2.00 ± 0.00 ^a	NA
CG	++	P	NA	+++	P	NA	++++	P	NA
AEs (%)	0.00 ± 0.00 ^a	21.75 ± 0.89 ^b	43.46 ± 1.11 ^c	0.00 ± 0.00 ^a	56.50 ± 0.44 ^b	43.46 ± 1.11 ^b	0.00 ± 0.00 ^a	21.75 ± 0.89 ^b	43.46 ± 1.33 ^c
EEs (%)	-	-	60.00 ± 0.67 ^a	-	76.92 ± 0.44 ^a	40.00 ± 1.11 ^b	-	0.00 ± 0.00 ^a	60.00 ± 0.67 ^b

CAA: Capacidad de Absorción de Agua; CAG: Capacidad de Absorción de Grasa; AEm: Actividad Emulsificante; EEm: Estabilidad Emulsificante; AEs: Actividad Espumante; EEs: Estabilidad Espumante; CH: Capacidad de Hinchamiento; CG: Capacidad Gelificante; HD: Harina desengrasada; AP: Aislado proteico; HP: Hidrolizado proteico; NA: No aplica; P: Precipitado. Promedios con letras distintas: diferencia estadística significativa a la prueba de t de Toker-Kramer (p<0.05). Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar de tres experimentos independientes

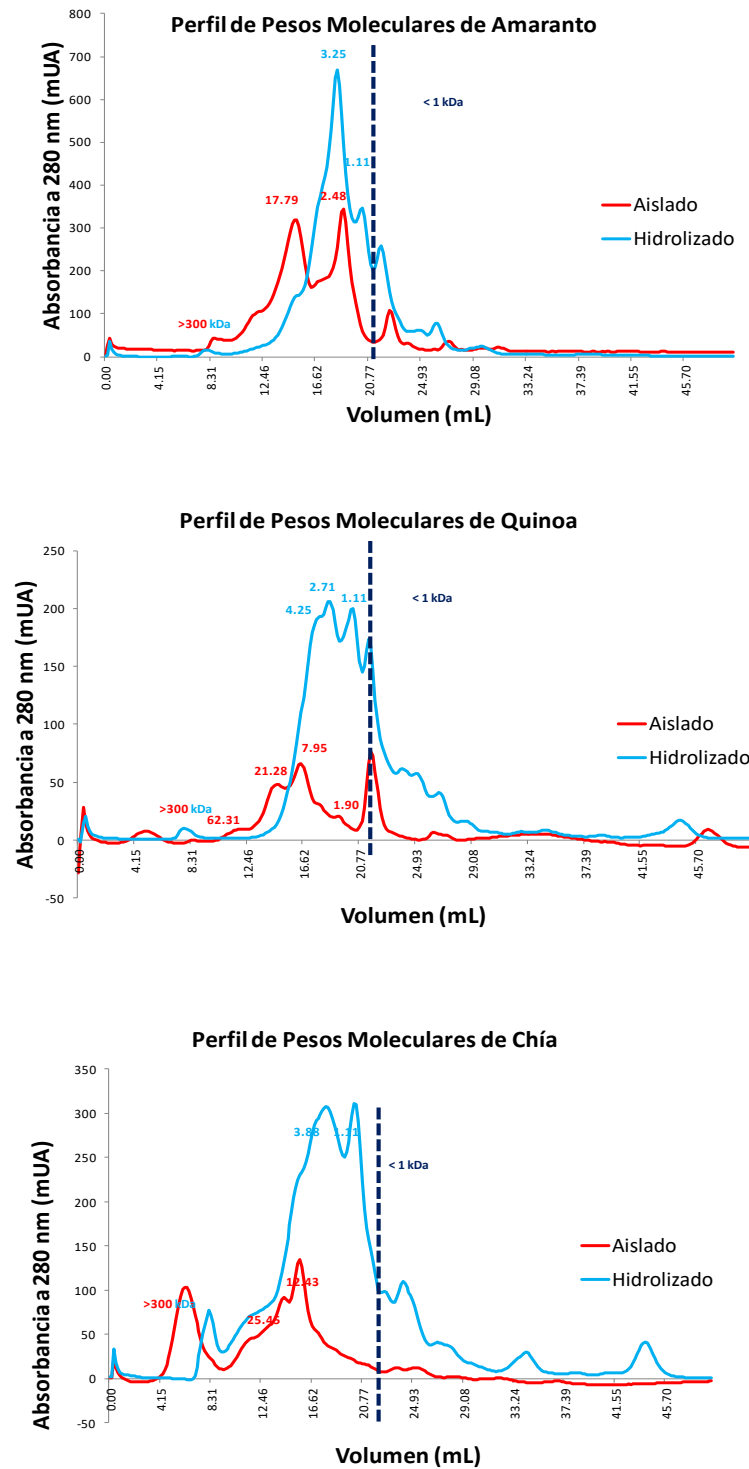


Figura 3. Perfil de pesos moleculares del aislado e hidrolizado proteico de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L.

Estos datos están en concordancia con los obtenidos por otros autores (van der Ven *et al.*, 2001) y ratifican aun más el hecho de controlar la hidrólisis proteica que conduzca a mejorar las propiedades funcionales del producto elegido.

CONCLUSIONES

La hidrólisis enzimática resulta ser una estrategia viable para mejorar las propiedades funcionales, siendo la capacidad de absorción de aceite y la capacidad espumante las que han presentado mejores valores en amaranto y chía, lo cual sugiere su utilización para la elaboración de aderezos, pasteles e incluso bebidas. En lo que respecta a los aislados proteicos, la capacidad emulsificante en las tres especies ha sido la que ha presentado valores más altos, esto atribuido principalmente a la elevada concentración proteica en el producto. Por otra parte, puede concluirse que es difícil determinar el papel que desempeñan las proteínas de la harina desengrasada de *A. hypochondriacus* L., *C. quinoa* Willd. y *S. hispanica* L. sobre las propiedades funcionales, esto partiendo de un material heterogéneo en el que los otros componentes no proteicos pueden interferir notablemente en cada propiedad funcional en particular.

BIBLIOGRAFÍA

- Aluko, R.E. & Monu, E. 2003. Functional and Bioactive Properties of Quinoa Seed Protein Hydrolyzates. *Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology*. Vol. 68, Nr. 4. 1254-1258.
- Ayerza, R. & Coates, W. 2006. El renacimiento de la chía (Cap. 4, pp. 91-114). En: Chía, redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. 1ra. Ed. Buenos Aires, Argentina: Del Nuevo Extremo. 205 p.
- FAO/OMS/UNU. 1985. Necesidades de energía y de proteínas. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/UNU de Expertos. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, 1985. 219 p.
- García, O., Aiello, C., Peña, M.C., Ruíz, J.L. & Acevedo, I.C. 2012. Physicochemical characterization and functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) grain flour under different processing. *Revista Científica UDO Agrícola*. 12(4): 919-928.
- Huerta-Ocampo, J.A. & Barba de la Rosa, A.P. 2012. Caracterización bioquímica y estructural de las proteínas de reserva de amaranto”, en E. Espitia-Rangel (ed.), *Amaranto: Ciencia y Tecnología*, México, INIFAP/SINAREFI, pp. 293-302 (Libro Científico núm. 2).
- Konishi, Y. & Yoshimoto, N. 1989. Amaranth globulin as a heat-stable emulsifying agent. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53, 3327-3328.
- Marcove, M.F. & Kakuda, Y. 1999. A comparative study of the functional properties of amaranth and soybean globulin isolates. *Nahrung* 43. Nr. 6. S. 368-373.
- Sarker, D.K., Wilde, P.J. & Clark, D.C. 1995. Control of surfactant-induced destabilization of foams through polyphenol-mediated protein-protein interaction. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 43, 295-300.
- Vázquez-Ovando, A., Betancur-Ancona, D. & Chel-Guerrero, L. 2013. Physicochemical and functional properties of a protein-rich fraction produced by dry fractionation of chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *CyTA – Journal of Food*, 11:1, 75-80.
- Mao, X. & Hua, Y. 2012. Composition, Structure and Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Walnut (*Juglans regia* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 13, 1561-1581.
- Van der Ven, C., Gruppen, H., de Bont, D.B. & Voragen, A.G. 2001. Emulsion properties of casein and whey protein hydrolyzates and the relation with other hydrolyzates characteristics. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 49, 5005-5012.