

COMPORTAMIENTO REOLÓGICO DE LA FRACCIÓN PROTEÍCA DEL GRANO DE AMARANTO EXTRAÍDA MEDIANTE MOLIENDA HÚMEDO-ÁCIDA

RHEOLOGICAL BEHAVIOR of Amaranth Protein-Enriched Fraction OBTAINED by acid wet-milling procedure

ComPortamento REOLOGICO DE PROTEÍNA FRAÇÃO DE GRÃO AMARANTO, REMOVIDO PELO ÁCIDO moagem úmida

DIEGO-ROA¹, VICENTE-ORTIZ², MARCELA-TOLABA¹

RESUMEN

El interés por el grano de amaranto se ha incrementado en los últimos años gracias a su gran potencial como alimento funcional. Se investigó el efecto de las condiciones de maceración en medio ácido (temperatura y concentración de SO₂) sobre el comportamiento termo-viscoelástico de la fracción proteica (FP) del grano de amaranto. Se utilizó un diseño factorial 3², involucrando dos factores: temperatura (40-60°C) y concentración de SO₂ (0,01-0,1% p/v). Se usó reometría oscilatoria dinámica con ciclos de calentamiento y enfriamiento (25-90°C) y atemperado a 90°C seguido de un barrido de frecuencia (0,1 y 10 Hz) a temperatura constante. El módulo viscoelástico (MV) y las propiedades térmicas fueron afectados por ambos factores, siendo significativo el efecto de la interacción. Los espectros mecánicos de las FP desnaturalizadas previamente se realizaron por barrido entre 0,1 y 10 Hz a 25°C y deformación constante (0,5%). Los resultados revelaron la formación de geles cuyo carácter fue dependiente de las condicio-

Recibido para evaluación: 30 de Septiembre de 2015. **Aprobado para publicación:** 20 de Junio de 2016.

- 1 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias exactas y Naturales, Departamento de Industrias, Grupo de Investigación de Postcosecha. Ph.D. Buenos Aires, Argentina.
- 2 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias exactas y Naturales, Departamento de Industrias, Grupo de Investigación de Postcosecha. M.Sc. Ph.D. Buenos Aires, Argentina.
- 3 Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingenierías, Grupo de Investigación GIEPRONAL. M.Sc. Popayán, Colombia.

Correspondencia: vicente.ortiz@unad.edu.co

nes de maceración. Las diferentes condiciones de maceración provocaron diferentes grados de desnaturalización de los componentes proteicos, los cuales influyeron en el comportamiento reológico.

ABSTRACT

Interest in the grain amaranth has increased in recent years due to its great potential as a functional food. The investigation showed the effect of soaking conditions in an acid atmosphere (temperature and concentration of SO₂) on thermo-viscoelastic behavior of the protean fraction (FP) of the amaranth grain. It used a 3² factorial design, involving two factors: temperature (40-60°C) and concentration of SO₂ (0,01-0,1% w/v). By the same way, it used a dynamic oscillatory rheometry, with heating and cooling cycles (25-90°C), tempered at 90°C, and followed by a frequency sweep (0,1 to 10 Hz) at a constant temperature. The viscoelastic module (MV) and the thermal properties were affected by both factors, with significant interaction effects. Mechanical FP spectra were previously denatured by sweeping from 0,1 to 10 Hz at 25°C, and constant (0,5%) deformation. The results revealed the formation of gels whose character depends on the soaking conditions. The different conditions of maceration caused different degrees of denaturation of the protein components, which influenced the rheological behavior.

RESUMO

O interesse no amaranto tem aumentado nos últimos anos, devido ao seu grande potencial como um alimento funcional. O efeito das condições de imersão em meio ácido (de temperatura e de concentração de SO₂) sobre o comportamento do termo-viscoelástico da fração de proteína (FP) de amaranto foi investigada. Desenho fatorial 3² envolvendo dois fatores: temperatura (40-60°C) e concentração de SO₂ (0,01 - 0,1% w/v). Reometria oscilatório dinâmico foi utilizado com ciclos de aquecimento e de arrefecimento (25-90°C) e anelamento a 90°C, seguido por um varrimento de frequência (0,1 a 10 Hz) a uma temperatura constante. O módulo viscoelástico (MV) e as propriedades térmicas foram afetados por fatores, com efeitos significativos de interação. Os espectros de FP mecânicos foram realizados previamente desnaturado por varrimento de 0,1 a 10 Hz, a 25°C e tensão constante (0,5%). As diferentes condições de maceração causada diferentes graus de desnaturação dos componentes proteicos, que influenciado o comportamento reológico.

INTRODUCCIÓN

El interés por el grano de amaranto se ha incrementado en los últimos años debido a su alto valor nutricional y a algunas ventajas relativas a su cultivo tales como el alto rendimiento, la resistencia a las sequías y su corto tiempo de producción. El amaranto, un pseudocereal, es una planta dicotiledónea cuyos granos presentan un importante contenido de proteínas (14-19% p/p) con un excelente balance de aminoácidos. Éstas poseen adecuados

PALABRAS CLAVE:

Amaranto, Molienda Húmeda, Proteínas.

KEY WORDS:

Amaranth, Wet-Milling, Proteins.

PALAVRAS-CHAVE:

Amaranto, Wet moagem, Proteínas

niveles de lisina, triptófano y metionina, los cuales se encuentran en bajas concentraciones en granos de cereales y leguminosas de uso común [1]. Recientes estudios han mostrado una potencial actividad funcional de estas fracciones proteicas, como por ejemplo en el tratamiento de inhibidores de células cancerígenas [2], aumento de la capacidad antitrombótica [3], propiedades antiinflamatorias [4] y capacidad antioxidante [5]. La maceración de granos es una etapa importante que afecta las propiedades de las diferentes fracciones de molienda. El efecto de la temperatura y concentración de agentes químicos (alcalinos y/o ácidos) han sido estudiados en algunos trabajos con diferentes propósitos [6]. Sin embargo, hasta el momento se han desarrollado pocos trabajos sobre los molienda húmeda del grano de amaranto, Roa *et al.*, 2014 [7] utilizaron una solución alcalina de hidróxido de sodio con el fin de obtener almidón nativo de amaranto, esta operación fue asistida mediante un molino planetario de alto impacto, lo que favoreció la disgregación de la matriz almidón-proteína, mientras que, Villareal *et al.* [6] usaron una solución acuosa de hidróxido de sodio con proteasas para la maceración del amaranto, encontrando que el pH y la concentración de proteasas tenían un marcado efecto en la velocidad de absorción de agua en el grano de amaranto. Ellos determinaron que la presencia de hidróxido de sodio en el medio de maceración no solo incrementaba la velocidad de absorción de agua sino también el nivel de saturación dentro del grano. Recientemente, Calzetta *et al.* [8] investigaron el efecto de la temperatura de maceración y la concentración de metabisulfito sobre el rendimiento y composición de las diferentes fracciones obtenidas mediante la molienda del grano de amaranto. Como resultado de ese trabajo fue posible establecer las condiciones óptimas para obtener un rendimiento máximo en la fracción proteica con bajo contenido de almidón. Bolontrade [9] y Condes *et al.* [10] encontraron que diferencias en el proceso de extracción alcalino producía cambios en la composición y funcionalidad de las proteínas de amaranto, observando también cambios en la estructura de los geles obtenidos de las proteínas del amaranto. De acuerdo a estos autores los cambios en los geles son inducidos también por agentes no proteicos como por ejemplo el almidón residual.

El propósito del presente trabajo fue evaluar el potencial uso de la fracción proteica obtenida a partir de la molienda húmeda, como subproducto de la separación del almidón en medio ácido, investigando el efecto de la temperatura y la concentración de dió-

xido de azufre (SO_2) durante la etapa de maceración del grano en las características termo-visco elásticas de los mismos.

MÉTODO

Material

Se emplearon granos de *Amaranthus cruentus* con 11% de humedad (base seca), se extrajeron materias extrañas por zarandeado y posterior observación visual y los granos se almacenaron en bolsas plásticas a 4°C hasta la molienda. La composición centesimal del grano en base seca se realizó según el método AOAC (AOAC, 1996): grasa 7,7%, proteína 16,8% (N = 6,25) y cenizas 3,1%, el contenido de almidón fue 73,0% según método AACC 76-11 [11].

Preparación de las muestras

Se utilizó el procedimiento a escala laboratorio propuesto por Calzetta *et al.*, [8]. Se remojaron 100 g de amaranto en 600 mL de solución acuosa de ácido sulfuroso a temperatura y concentración de ácido constante según el diseño experimental (Cuadro 1). El tiempo de remojado (24 h) se estableció con base a ensayos previos de cinética de hidratación de modo de garantizar la saturación del grano. Después del remojado se trituro el grano en presencia de solución en una procesadora Waring Blender (Dynamic Corporation of America, Hartford, CT) a velocidad máxima por el término de dos minutos. En una primera etapa se separó la fibra por tamizado y en una segunda etapa se separaron los aislados proteicos del almidón por sucesivas centrifugaciones y extrayendo la capa proteica de menor densidad. La fracción proteica se secó a 40°C por 48 horas en estufa de convección forzada, se disgregó en un mortero y se tamizó seleccionándose la fracción retenida entre 74 y 177 micrones. Las muestras fueron almacenadas herméticamente hasta su posterior uso.

Determinación de propiedades viscoelásticas

Las propiedades viscoelásticas se determinaron mediante ensayos oscilatorios realizados en un reómetro Paar Physica Rheolab Rheometer, modelo MCR 300 (Anton Paar, Austria) utilizando un sistema de platos planos paralelos, PP 30S de 3 cm de diámetro y 1 mm de distancia entre platos. Los bordes de la muestra

se sella-ron con aceite siliconado con el propósito de controlar la evaporación y evitar variaciones de concentración de las suspensiones acuosas empleadas [9,10]. Mediante un barrido de amplitud entre 0,1% y 20% a 25°C a frecuencia constante (1Hz) se determinó la región de viscoelasticidad lineal (RVL)

Ensayos de barrido de temperatura

Se prepararon y estabilizaron suspensiones acuosas de las fracciones proteicas a diferentes concentraciones (5 10, 20 %p/v) y se sometieron a un ciclo de calentamiento dinámico (30-90°C), estabilización (90°C durante 20 minutos) y enfriamiento (90-25°C) a 10°C/min, siendo la frecuencia de 1 Hz y la deformación de 0,5%. Se registraron mediante el software del equipo los perfiles de los módulos viscoelásticos en función de la temperatura.

Ensayos de barrido de frecuencia

Estos ensayos se realizaron a 25°C sobre muestras sometidas previamente al barrido de temperatura, con una amplitud de deformación fija de 0,5%, variándose la frecuencia entre 0,1 y 10 Hz. El espectro mecánico de la muestra que se obtiene mediante este ensayo brinda información acerca de la estructura del sistema la cual resulta útil para determinar si las muestras gelifican o forman pasta.

Modelo de Ross- Murphy

Para evaluar el comportamiento reológico de las suspensiones proteicas de amaranto en función de la frecuencia, se utilizó en este trabajo una ecuación relativamente simple, a dos parámetros, conocida como ecuación de Ross-Murphy (Ec. 1) [10].

$$\text{Log } G' = n \text{ Log } (w) + \text{Log } K \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde K y n son los parámetros a determinar. El valor de n permite establecer la naturaleza del gel. Según la clasificación dada por algunos autores [11] cuando n tiende a cero el modulo G' resulta independiente de la frecuencia y puede considerarse que el gel tiene carácter fuerte, en tanto que para valores de índice n con tendencia a 2, el sistema puede considerarse como dispersión. Este criterio es el que se empleará a continuación para la caracterización del sistema estudiado.

Diseño experimental y análisis MSR

Las experiencias se realizaron de acuerdo al diseño factorial 3^2 siendo los niveles de temperatura 40°, 50° y 60°C y los de concentración de SO_2 0,1, 0,55 y 1,0 (g/L). Cada experimento se realizó por duplicado, a excepción del punto central del diseño que se triplicó. En el Cuadro 1 se muestran las combinaciones de factores del diseño experimental.

Para analizar el efecto de las condiciones de maceración tienen sobre las propiedades estudiadas en los aislados proteicos se empleó el método de superficies de respuesta (MSR). Las respuestas estudiadas (Y , $K= 1, \dots, p$) se ajustaron en función de las variables del proceso codificadas (x_i , $i=1, \dots, n$) mediante el siguiente modelo polinómico (Ec. 2) asociado al diseño experimental [7].

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i + \sum_{i=1}^n a_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^n a_{ij} x_i x_j \quad (\text{Ec. 2})$$

Los coeficientes a_0 , a_i y a_{ii} representan los efectos constantes, lineales y cuadráticos, respectivamente, en tanto que los coeficientes a_{ij} representan el efecto de interacción entre los factores codificados x_i y x_j . Se adoptó una codificación lineal entre los valores reales y las variables codificadas. Se empleó el paquete estadístico Statgraphics® (Statistical graphics Corporation, U.S.A.) para procesar los resultados obtenidos.

Cuadro 1. Condiciones experimentales de molienda húmeda, rendimiento y contenido proteico de aislados

Muestra	T (°C)	SO2 (p/v %)	Rendimiento (%)	Proteína (%)
1	40	0,01	13,8	18,0
2	40	0,055	17,3	19,3
3	40	0,1	11,3	19,5
4	50	0,01	15,6	29,1
5	50	0,1	13,2	26,7
6	50	0,055	17,5	29,9
7	50	0,055	16,5	29,0
8	50	0,055	15,9	30,0
9	60	0,1	16,6	18,1
10	60	0,055	19,9	20,3
11	60	0,01	18,9	17,1

Se reportó el valor promedio de duplicados.

El valor del error para todas las mediciones fue menor al 5%.

RESULTADOS

Obtención de aislados proteicos de amaranto

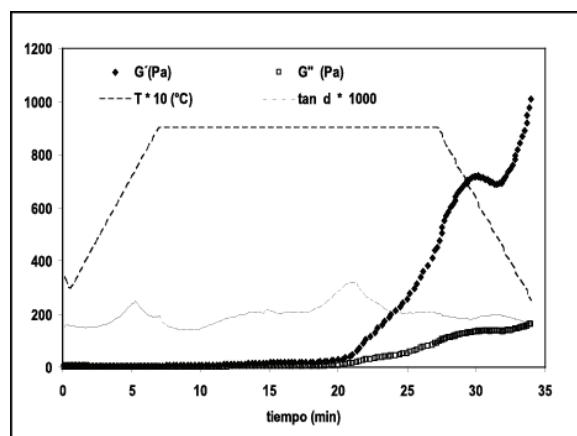
El cuadro 1, muestra el diseño experimental usado, los valores del rendimiento de la fracción proteica y el contenido proteico. Cabe señalar que las fracciones obtenidos en este trabajo difieren significativamente de los concentrados proteicos (proteína > 70%) cuya elaboración requiere harina desgrasada y un procedimiento más largo y costoso [8, 10].

Barrido de temperatura

El registro de los módulos viscoelásticos en función de la temperatura se muestra en la Figura 1, se observa que el módulo G' supera a G'' en todo el ciclo de calentamiento y enfriamiento, esto quiere decir que el sistema tiene características sólidas, así mismo, esto se confirma con el valor de la $\tan \delta$, la cual oscila en un valor de 0,2 confirmando que G' supera a G .

Un marcado incremento del módulo G' se inicia a los 20 minutos durante el atemperado a 90°C y luego el decaimiento a los 30 minutos en el enfriamiento, este comportamiento nos muestra la desnaturalización de las proteínas globulares del amaranto, especialmente las globulinas 7S. Condes *et al.*, [10] encontraron perfiles similares durante el barrido de temperatura de concentrados proteicos, estos autores atribuyeron el comportamiento observado a la desnaturalización de proteína y almidón presentes en los concentrados analizados.

Figura 1. Evolución de los módulos G' , G'' y $\tan \delta$ de una dispersión al 10% p/v de proteínas de amaranto, durante un ciclo de calentamiento y enfriamiento.



Durante la etapa de enfriamiento la diferencia entre G' y G'' se incrementaron respecto a los valores alcanzados durante el calentamiento evidenciando de esta manera el fortalecimiento y estabilidad del gel, el fortalecimiento y estabilidad del gel se debe principalmente al entrecruzamiento ordenado de las proteínas durante el enfriamiento, generalmente las estructuras ordenadas producen geles translucidos y con alta retención de agua. Con el objeto de establecer la influencia de las condiciones de remojo o condiciones en el reactor sobre los módulos viscoelásticos de las fracciones proteicas se utilizó el MSR. Los valores de los parámetros viscoelásticos (G' y n) se muestran en el cuadro 2.

Como la maceración del grano es un proceso difusivo, el efecto de la concentración depende del nivel de temperatura, esto se hace evidente cuando se compara los valores del módulo (G'_{25°) a 40°C y 60°C (cuadro 2). Una de las posibles razones se puede atribuir al efecto de desnaturalización proteica que provoca el aumento de la concentración de SO_2 en la matriz, lo que posteriormente puede facilitar la formación de entrecruzamientos en el gel en la etapa de enfriamiento.

El efecto de las variables de remojo (temperatura y concentración del ácido) se estudió mediante MSR y se muestra en el cuadro 3, donde se puede obser-

Cuadro 2. Valores del módulo elástico y Ross de las fracciones proteicas al final del calentamiento ($G'_{90^\circ C}$) y del enfriamiento ($G'_{25^\circ C}$) a las diferentes condiciones de remojo.

Muestra	Índice de Ross-Murphy (n)	Módulo Elástico ($G'_{90^\circ C}$)	Módulo Elástico (G'_{25°)
1	0,1426	462	1000
2	0,1676	2350	3380
3	0,1826	2036	4153
4	0,2639	1310	4260
5	0,1627	1630	5246
6	0,1701	1840	5550
7	0,1658	1950	5590
8	0,1594	1810	5560
9	0,0316	2690	6320
10	0,0203	2660	6080
11	0,0392	1580	6400

Se reportó el valor promedio de duplicados.

El valor del error para todas las mediciones fue menor al 5%.

Cuadro 3. Efecto de las condiciones de maceración en los módulos elásticos G' al final del calentamiento y enfriamiento.

Coeficiente		Modulo $G' 90^{\circ}\text{C}$ (Pa)	Modulo $G' 25^{\circ}\text{C}$ (Pa)
Constante	a0	2880	6398,8
Lineal	a1	13,7 NS	-122,2 NS
	a2	499NS	2287,2**
Cuadrático	a1.1	- 893,7*	-----
	a2.2	-----	-----
Interacción	a1.2	- 1171,0**	-3018,3**
Correlación	r2	0,8448	0,7630

a ***, **, * : Coeficiente significativo para intervalo de confianza de 99%, 95% y 90%, respectivamente; NS: coeficiente no significativo; -----: coeficiente eliminado

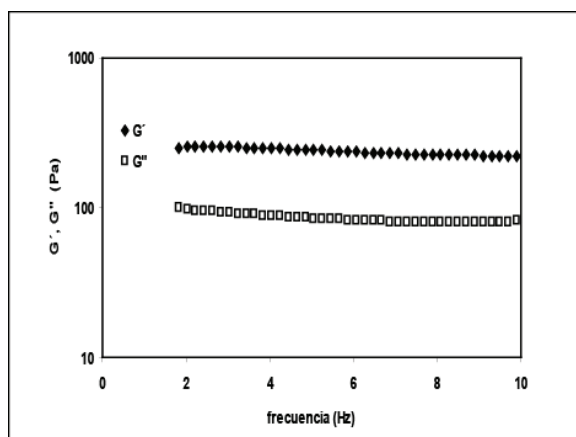
var una significativa influencia de la concentración de ácido sobre ambos módulos siendo apreciable la interacción temperatura-concentración tanto para $G' 90^{\circ}\text{C}$ como para $G' 25^{\circ}\text{C}$.

Barrido de frecuencia

La figura 2 corresponde al espectro mecánico de un gel proteico de amaranto con carácter fuerte, esto se comprueba con G' mayor a G'' e independientes de la frecuencia. El carácter elástico del sistema se manifiesta con valores del factor de pérdida tan δ menores a la unidad.

Con el propósito de modelar el espectro mecánico de los aislados proteicos representado por el barrido de

Figura 2. Barrido de frecuencia a 25°C para el gel proteico de amaranto.



frecuencia se utilizó el modelo de Ross-Murphy [14] [15]. El modelo resultó satisfactorio ($r^2 > 0,99$) para simular el comportamiento viscoelástico de los geles obtenidos. El Cuadro 2 muestra los valores del índice n , obtenidos mediante regresión utilizando la forma lineal de la ecuación de Ross-Murphy (ecuación 1), en función de las condiciones de remojado. Las características de los geles formados oscilaron entre geles de tipo fuerte (n tendencia a cero) y geles de débil firmeza (n tendencia a 0,3).

Con el objeto de interpretar cuantitativamente el efecto de las condiciones de remojado en los valores del índice de Ross-Murphy se realizó un análisis MSR. Los resultados del mismo se dan en el Cuadro 4 donde se muestran los coeficientes de la ecuación (1) y su nivel de significación.

Se observó el efecto lineal negativo de la temperatura, por lo tanto el índice (n) disminuye (gel firme) con el aumento de la temperatura. Probablemente la hidratación y la desnaturalización favorecidas a mayores temperaturas propician la formación de uniones entre las cadenas de proteína y contribuyen a formar una estructura más dura [16]. Por otra parte la concentración de ácido afecta cuadráticamente al índice n y por lo tanto existen ciertas concentraciones más convenientes para la elaboración de geles más fuertes [17]. Así mismo el efecto del ácido podría estar relacionado con cambios en la estructura de las proteínas, facilitando la formación en sistemas emulsionados [18]. El efecto del ácido es complejo dado el carácter heterogéneo de los aislados proteicos obtenidos en este trabajo.

Cuadro 4. Efectos de las condiciones de maceración sobre el índice "n" de Ross-Murphy.

Coeficiente		Indice "n" de Ross Murphy
Constante	a0	0,1873
Lineal	a1	-0,052***
	a2	0,0132NS
Cuadrático	a1.1	0,0204NS
	a2.2	- 0,086***
Interacción	a1.2	- 0,0217NS
Correlación	r2	0,9210

a ***, **, * : Coeficiente significativo para intervalo de confianza de 99%, 95% y 90%, respectivamente; NS: coeficiente no significativo; -----: coeficiente eliminado

CONCLUSIONES

Con base a los resultados obtenidos puede concluirse que las condiciones de remojo afectaron de modo significativo el comportamiento reológico de los aislados proteicos de amaranto obtenidos mediante molienda húmeda. Los diferentes comportamientos reológicos observados podrían atribuirse a los diferentes grados de desnaturalización de los componentes proteicos y no proteicos de los aislados logrados a partir de condiciones de remojo no equivalentes.

La obtención de geles de mayor firmeza estuvo asociada al uso de mayores temperaturas de remojo sin embargo también incide la concentración de ácido de modo cuadrático. El modelo de Ross-Murphy se usó con éxito para caracterizar los geles encontrándose en la manipulación de las condiciones de remojo una herramienta eficaz para modificar las características de los geles formados.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero provisto por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires (FCEN - UBA).

REFERENCIAS

- [1] ARENDT-ELKE, K. and ZANNINI, E. Amaranth, Cereal Grains for the Food and Beverage Industries. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 248, 2013. p. 439-473.
- [2] QUIROGA, A., BARRIO, D. and AÑÓN, M. Amaranth lectin presents potential antitumor properties. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 2015, p. 478-485.
- [3] SABBIONE, A.C., SCILINGO, A. and AÑÓN, M.C. Potential antithrombotic activity detected in amaranth proteins and its hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 2015, p. 171-177.
- [4] MORONTA, J., SMALDINI, P., DOCENA, G. and AÑÓN, M. Peptides of amaranth were targeted as containing sequences with potential anti-inflammatory properties. *Journal of Functional Foods*, 21, 2016, p. 463-473.
- [5] ORSINI, M., TIRONI, V.A. and AÑÓN, M.C. Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 2011, p. 1752-1760.
- [6] VILLARREAL, M., RIBOTTA, P. AND ITURRIAGA, L. Comparing methods for extracting amaranthus starch and the properties of the isolated starches. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 2013, p. 441-447.
- [7] ROA, D.F., SANTAGAPITA, P.R., BUERA, M.P. AND TOLABA, M.P. Amaranth milling strategies and fraction characterization by FTIR. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2014, p. 2723-2731.
- [8] CALZETTA-RESIO, A.N., TOLABA, M.P. and SUAREZ, C. Correlations between wet-milling characteristics of amaranth grain. *Journal of Food Engineering*, 3(92), 2009, p. 275-279.
- [9] BOLONTRADE, A., SCILINGO, A. and AÑÓN, M. Amaranth proteins foaming properties: Adsorption kinetics and foam formation-Part 1. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*, 105, 2013, p. 319-327.
- [10] CONDÉS, M.C., SPERONI, F., MAURI, A. and AÑÓN, M.C. Physicochemical and structural properties of amaranth protein isolates treated with high pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 2012, p. 11-17.
- [11] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC). Official methods of analysis. Washington (USA): AOAC, 1986.
- [12] AACC, A.A.O.C.C. Approved Methods of the Association of Cereal Chemists. St Paul (USA): The Association, 1995.
- [13] CONDÉS, M.C., SPERONI, F., MAURI, A. and AÑÓN, M.C. Amaranth protein films from thermally treated proteins. *Journal of Food Engineering*, 119, 2013, p. 573-579.
- [14] LOUBES, M.A., CALZETTA-RESIO, A.N., TOLABA, M.P. and SUAREZ, C. Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. *Food Science and Technology*, 46, 2012, p. 519-524.
- [15] RAMOS, J., KIRJORANTA, S., TENITZ, S., PENTTILÄ, P., SERIMAA, R., LAMPI, A. and JOUPPI-LA, K. Use of amaranth, quinoa and kañiwa in extruded corn-based snacks. *Journal of Cereal Science*, 2013, p. 1-9.
- [16] KOPPALU, V., PREETHAM, K., USHA, D., SURESH, D., SAKHARE, A. and INAMDAR, A. Preparation of protein and mineral rich fraction from grain amaranth and evaluation of its functional

- characteristics. *Journal of Cereal Science*, 2016, p. 451–458.
- [17] SANZ-PENELLA, J., WRONKOWSK, M., SORAL-SMIETANA, M. and HAROS, M. Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food Science Technology*, 50, 2013, p. 679-685.
- [18] BOLONTRADE, A., SCILINGO, A. and AÑÓN, M. Amaranth proteins foaming properties: Film rheology and foam stability – Part 2. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*, 141, 2016. p. 643–650.