

ENVELHECIMENTO DO AMARANTO: ALTERAÇÕES FÍSICAS NOS GRÃOS E NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS

MARIANA LUIZA DE LOYOLA CURI DALLA PRIA*
TATIANA COLOMBO PIMENTEL**
SANDRA HELENA PRUDENCIO***

Objetivou-se avaliar o efeito do tempo pós-colheita do amaranto (3 e 27 meses de armazenamento em condições ambientais $T_{\text{média}} 27^{\circ}\text{C}$ e $UR_{\text{média}} 80\%$) nas características físicas de grãos e nas propriedades físico-químicas e funcionais de seus concentrados proteicos. Grãos com maior tempo pós-colheita apresentaram-se mais avermelhados e escuros, com maior acidez e umidade, além de menor capacidade de hidratação e solubilidade proteica em água em diferentes pH que os grãos mais novos. O concentrado proteico de amaranto proveniente de grãos com maior tempo pós-colheita mostrou menor rendimento (9,62 %) que o obtido de grãos mais novos (11,06 %), assim como menor solubilidade das proteínas em diferentes pH e menor capacidade de absorção de água ou óleo. Por outro lado, apresentou maior estabilidade da emulsão e da espuma. Não houve diferença na capacidade de formação de gel, espuma e emulsão e no perfil eletroforético das proteínas dos dois concentrados. O concentrado proteico de grãos com menor tempo pós-colheita pode ser empregado em produtos cujas propriedades de absorção de água ou óleo e solubilidade sejam importantes. O concentrado proteico obtido de grãos mais antigos pode ser ingrediente de alimentos em que a formação de gel, espuma ou emulsão seja necessária, devido à sua maior estabilidade. O amaranto apresenta propriedades emulsificantes e espumantes adequadas, podendo ser utilizado em produtos emulsionados ou como agente espumante.

PALAVRAS-CHAVE: *Amaranthus cruentus*; GRÃOS DE AMARANTO; CONCENTRADO PROTEICO; FUNCIONALIDADE.

- * Nutricionista, Mestre em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR (e-mail: marianaccuri@hotmail.com).
- ** Engenheira de Alimentos, Mestre e Doutora em Ciência de Alimentos, Professora, Instituto Federal do Paraná, Ivaiporã, PR (e-mail: tatiana.pimentel@ifpr.edu.br).
- *** Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Ciência de Alimentos, Doutora em Ciência de Alimentos, Professora Associada, UEL, Londrina, PR (e-mail: sandrah@uel.br).

1 INTRODUÇÃO

O amaranto apresenta grande potencial de cultivo devido ao valor nutricional de seus grãos (15 a 20 % de proteína com alta concentração de aminoácidos essenciais, especialmente lisina e triptofano; 6 a 9 % de fibra alimentar e 6 a 8 % de lipídios insaturados). Além disso, esse pseudo-cereal pode ser utilizado integralmente (folhas, talos e grãos), tem ciclo curto e resistência a condições adversas ao seu desenvolvimento, como solos deficientes, restrição hídrica, altas altitudes e temperaturas (até 3500 m e 35 a 45 °C), e intensa luminosidade (PAGANO e MASCHERONI, 2005; BIANCHINI e BELEIA, 2010; CASTEL *et al.*, 2012; MILÁN-CARRILLO *et al.*, 2012).

Muitos benefícios à saúde têm sido relacionados com o consumo de grãos de amaranto, tais como: diminuição nos níveis de colesterol (CAZARIN *et al.*, 2012); atividade anti-hipertensiva (FRITZ *et al.*, 2011); manutenção dos índices glicêmicos do sangue (DURGADEVI e NAZNI, 2012); e propriedades antioxidantes (DELGADO, TIRONI e AÑON, 2011), antitumorais (BARRIO e AÑON, 2010) e anti-alergênicas (HIBI *et al.*, 2003). Além disso, o amaranto tem sido recomendado a celíacos e imunodeficientes (BALLABIO *et al.*, 2011).

Os grãos de amaranto podem ser consumidos inteiros, cozidos ou expandidos; como farinhas, substituindo parcial ou integralmente a farinha de trigo na produção de pães, massas e bolos, e na fabricação de cereais e *snacks*; ou como ingredientes na forma de concentrados e isolados proteicos (RESIO, AGUERRE e SUAREZ, 2005; MILÁN-CARRILLO *et al.*, 2012). A inclusão do amaranto na formulação de alimentos depende em grande parte das propriedades funcionais de sua proteína, as quais são influenciadas por fatores intrínsecos (composição e conformação das proteínas); composição dos produtos e pelos métodos e condições de isolamento das proteínas (SALCEDO-CHÁVEZ *et al.*, 2002). Suas propriedades funcionais envolvem a absorção de água e de óleo, geleificação e solubilidade, entre outras (CARRAZCO-PEÑA *et al.*, 2013).

As operações de pós-colheita de grãos de amaranto compreendem: estocagem, secagem, aeração, manipulação e processamento (PAGANO e MASCHERONI, 2005). Assim como ocorre com grãos de soja, milho e sorgo, as condições de temperatura e umidade relativa durante a estocagem muitas vezes não são controladas. Isso dificulta a manutenção da qualidade dos grãos, principalmente em países de clima tropical como o Brasil, com médias de temperatura e umidade relativa de 27 °C e 80 %, respectivamente (McDONOUGH *et al.*, 2004; KONG *et al.*, 2008; BIANCHINI e BELEIA, 2010).

Durante o período de estocagem dos grãos, geralmente, não ocorre deterioração microbiana, contudo estão sujeitos a mudanças físicas, químicas e fisiológicas (KONG e CHANG, 2013). Em grãos de bico, soja, milho, sorgo, feijão e abóbora, as mudanças físicas são caracterizadas pelo escurecimento da casca (HOU e CHANG, 2004a; KONG *et al.*, 2008), diminuição de densidade (McDONOUGH *et al.*, 2004), e aumento de dureza (DONADEL e PRUDENCIO-FERREIRA, 1999; McDonough *et al.*, 2004). As alterações químicas são evidenciadas pela oxidação de lipídios (KONG *et al.*, 2008; BELMIRO *et al.*, 2010), aumento da umidade (KONG *et al.*, 2008; BELMIRO *et al.*, 2010), diminuição de pH e aumento de acidez titulável (KONG *et al.*, 2008; BELMIRO *et al.*, 2010), e redução da solubilidade das proteínas (McDONOUGH *et al.*, 2004; KONG *et al.*, 2008) e da capacidade de absorção de água (REYES-MORENO *et al.*, 2000; RIOS, ABREU e CORRÊA, 2003; KONG e CHANG, 2013).

Sabe-se que o amaranto pode permanecer armazenado em condições ambientais, sem o controle de umidade relativa e temperatura por longos períodos até ser utilizado. No entanto, não foram encontrados estudos a respeito de alterações físico-químicas dos componentes do grão de amaranto durante seu envelhecimento e as consequências do tempo na funcionalidade das suas proteínas. Por isso, objetivou-se avaliar o efeito do tempo pós-colheita do amaranto (3 e 27 meses de armazenamento) nas características físicas de grãos e nas propriedades físico-químicas e funcionais de seus concentrados proteicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

As amostras de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. variedade BRS-alegria) estudadas, provenientes do município de Sorriso (MT), foram cultivadas nas mesmas condições edafoclimáticas, sendo as semeaduras realizadas em março de 2008 e 2010 e as colheitas em junho dos mesmos anos do plantio. Após a colheita, os grãos permaneceram em condições ambientais de temperatura e umidade relativa ($T_{\text{média}} = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $UR_{\text{média}} = 80\%$) no município de Sorriso (MT) por 3 meses (safra 2010) e 27 meses (safra 2008), sendo mantidos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (SALCEDO-CHÁVEZ *et al.*, 2002) durante o período de análise.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Grãos e concentrados proteicos de amaranto

Os grãos de amaranto foram submetidos às análises de capacidade de absorção de água, parâmetros L^* , a^* e b^* de cor, composição química, pH, acidez titulável, solubilidade proteica em água e em diferentes pH e eletroforese das proteínas. Já os concentrados proteicos foram avaliados quanto ao teor de umidade e proteínas, pH, parâmetros L^* , a^* e b^* de cor, solubilidade proteica em diferentes pH, eletroforese das proteínas e propriedades funcionais (capacidade de absorção de água e óleo, capacidade emulsificante e estabilidade da emulsão, capacidade de formação de espuma, estabilidade da espuma e capacidade de formação de gel) (BENJOSANO e CORKE, 1999; CONDÉS, SCILINGO e AÑÓN, 2009; BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010).

Para a obtenção dos concentrados proteicos, os grãos de amaranto em umidade natural foram moídos em moinho (Ika®, modelo A11 basic 29.000) e, posteriormente, reduzidos em sistemas de peneiras até granulometria inferior a $250\text{ }\mu\text{m}$ (60 mesh) (GORINSTEIN *et al.*, 2001).

Os grãos moídos foram desengordurados com hexano (1/10, p/v) em temperatura ambiente por 24 horas, sob agitação contínua durante as primeiras 5 horas. Após secagem, também à temperatura ambiente, as amostras foram estocadas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a utilização (VENTUREIRA, MARTÍNEZ e AÑÓN, 2010).

Obtiveram-se os concentrados proteicos de amaranto por meio de extração alcalina, precipitação isoelétrica e ajuste do pH para a neutralidade, de acordo com as metodologias de Martínez e Añón (1996) e Castel *et al.* (2012). As amostras desengorduradas foram suspensas em água na proporção de 1:10 (p/v) e as suspensões tiveram o pH ajustado para 9,0 por meio da adição de NaOH 2 M. Após agitação, por 60 minutos em temperatura ambiente, as suspensões foram centrifugadas (centrífuga refrigerada Eppendorf® 58042) por 20 minutos a $9000 \times g$ e $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os sobrenadantes tiveram o pH ajustado para 5, utilizando-se HCl 2 M e em seguida, foram centrifugados a $9000 \times g$ por 20 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os precipitados foram suspensos em água e a suspensão neutralizada com NaOH 0,1 M liofilizada.

Calculou-se o rendimento do concentrado proteico com base na relação entre a massa do concentrado liofilizado e a massa dos grãos secos moídos.

2.2.1.1 Capacidade de Absorção de Água e Parâmetros de Cor

Determinou-se a capacidade de absorção de água dos grãos por meio da imersão de amostras de 10 g de grãos de amaranto em 150 mL de água destilada, as quais foram colocadas em banho maria (Marconi®, modelo MA 127) à temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em intervalos regulares por até 3 horas, as amostras foram removidas do banho e a capacidade de absorção de água medida por meio da determinação da quantidade de água absorvida (RESIO, AGUERRE e SUÁREZ, 2003).

Para avaliação da cor das amostras utilizou-se colorímetro (Konica Minolta, Chroma Meter, modelo CR 400), o qual forneceu diretamente os parâmetros L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) (KONICA, 2002).

2.2.1.2 Composição química e características físico-químicas

As determinações de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibras (totais, solúveis e insolúveis) foram realizadas de acordo com a AOAC (2004) e o teor de carboidratos totais obtido por diferença.

Determinou-se o pH dos grãos e concentrados proteicos de amaranto utilizando potenciômetro digital (Hanna instruments®, modelo Hi 3221), previamente calibrado com soluções tampão fosfato comerciais pH 4,0 e 7,0 (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A acidez titulável foi determinada segundo a AOAC (2004), com modificações. Preparou-se a solução com 2,5 g de grãos moídos em água suficiente para totalizar 25 mL. As soluções foram tituladas com NaOH 0,1 N até alcançar o pH 8,3, sendo o resultado expresso em porcentagem (%).

2.2.1.3 Solubilidade das proteínas em água e em diferentes pH

As solubilidades das proteínas em água e em diferentes pH foram determinadas segundo Morr *et al.* (1985), com modificações. Preparou-se suspensão de 0,25 g de amostra em 12,5 mL de água destilada. Para solubilidade em diferentes pH, ajustou-se o pH da solução (2, 4, 6, 8 e 10) com HCl 0,1 M e NaOH. As suspensões foram submetidas à agitação por 1 hora e centrifugadas (centrífuga Harrier®, modelo MSE 15/80) em temperatura ambiente (± 21 °C) a 2400 x g por 20 minutos. O teor de nitrogênio nas amostras foi determinado por meio do método de Kjeldahl com fator de conversão de 6,25. Calculou-se a solubilidade com base na relação entre a quantidade de proteína no sobrenadante e a quantidade de proteína total.

2.2.1.4 Eletroforese das proteínas

Determinou-se o perfil das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), segundo a metodologia descrita por Laemmli (1970), usando dois tipos de gel (de separação, 12 %, e gel de empilhamento, 4 %). Amostras contendo 0,4 % de proteína foram diluídas em 5 mL de tampão redutor (Tris-HCl 62,5 mM, pH 6,8, SDS 2 %, glicerol 20 %, β -mercaptoetanol 5 % e azul de bromofenol 0,1 %) e aquecidas a 90 °C por 5 minutos. Posteriormente, volumes de 10 μ L das soluções das amostras foram aplicados nos géis. O padrão de 10 a 220 kDa (Bench Mark, cód. 10747-012, Invitrogen) foi utilizado para determinação da massa molar das frações proteicas. Após a corrida, os géis foram corados com Coomassie Blue G-250 0,1 % e descorados em solução ácido acético/metanol/água (1:4:5).

2.2.1.5 Propriedades funcionais dos concentrados proteicos

2.2.1.5.1 Capacidade de absorção de água e óleo

Determinaram-se as capacidades de absorção de água (CAA) e de óleo (CAO) dos concentrados proteicos segundo o método descrito por Benjarano-Luján e Netto (2010), com modificações. Preparou-se suspensão com 0,5 g de amostra e 25 mL de água destilada (CAA) ou óleo de milho (CAO) e, após descanso de 30 minutos, o material foi centrifugado a 1400 x g por 25 minutos em temperatura ambiente. A diferença entre a quantidade de água/óleo adicionada e de

água/óleo sobrenadante foi tomada como medida aproximada da capacidade de absorção de água ou da capacidade de absorção de óleo do concentrado, sendo expressa como a quantidade de água/óleo (mL) por 100 g de amostra.

2.2.1.5.2 Capacidade de formação de gel (CFG)

Verificou-se a capacidade de formação de gel das amostras conforme o método descrito por Coffmann e Garcia (1977). Tubos de ensaio contendo dispersões de amostra em água destilada nas concentrações de 2 a 14 % foram aquecidos em banho-maria (Marconi®, modelo MA 127) a 90 °C por 30 minutos, resfriados à temperatura ambiente e refrigerados a 4 °C por 12 horas. Os resultados foram expressos com base na formação de gel a partir da menor concentração da amostra.

2.2.1.5.3 Propriedades emulsificantes

Mediu-se a capacidade emulsificante (CE) dos concentrados de acordo com o método de Beuchat (1977). Foram homogeneizados, em liquidificador e velocidade baixa (Britânia®), 2 g de amostra (base seca) em 100 mL de água destilada. Após 30 segundos, adicionou-se óleo de milho à mistura sob agitação, com vazão de 2 mL/minuto. O ponto de inversão de fase foi registrado por meio de aumento na resistência elétrica da emulsão, observado com o auxílio de voltímetro (Dawer®, mod. DM 2020). A capacidade emulsificante foi expressa como a quantidade de óleo emulsificado por grama de proteína na amostra.

A estabilidade de emulsão (EEm) foi medida de acordo com Yasumatsu *et al.* (1972). Preparou-se suspensão com 1 g de amostra em 10 mL de água destilada e 20 mL de óleo de milho (Suavit®), a qual foi emulsificada em agitador de haste por 1 minuto em velocidade moderada. A emulsão preparada foi aquecida em banho-maria (Marconi®, modelo MA 127) a 80 °C por 30 minutos, resfriada em água corrente por 15 minutos, e centrifugada a 800 x g por 5 minutos em temperatura ambiente. Calculou-se a estabilidade da emulsão pela relação entre o volume da camada emulsificada remanescente e o volume da camada emulsificada inicial.

2.2.1.5.4 Propriedades espumantes

Mediu-se a capacidade de formação de espuma (CFE) dos concentrados proteicos pelo método de Coffmann e Garcia (1977). Preparou-se suspensão com 2 g de amostra em 100 mL de água destilada, a qual foi agitada em agitador de haste por 5 minutos (velocidade moderada). Calculou-se o aumento percentual do volume com base nos volumes inicial e final após a formação de espuma. A espuma obtida foi mantida em repouso à temperatura ambiente (22 ± 2 °C), sendo a estabilidade da espuma (EEsp) avaliada após 120 minutos por meio da porcentagem de espuma remanescente.

2.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram conduzidos de acordo com delineamento inteiramente casualizado e duas repetições, sendo as medidas realizadas em triplicata em cada repetição do experimento. Para as análises de composição química, pH, acidez titulável, parâmetros L*, a* e b* de cor, solubilidade proteica em água e propriedades funcionais dos concentrados proteicos (CAA, CAO, CE, EEm, EEsp, CFE e CFG), os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p = 0,05$) de comparação de médias. Para a análise de absorção de água pelo grão e perfil de solubilidade em diferentes pH utilizou-se esquema de tratamentos em parcelas subdivididas, sendo o tempo pós-colheita dos grãos (3 e 27 meses) o tratamento principal e os secundários o tempo de absorção de água ou pH. Os resultados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA)

e teste “t” de comparação de médias, utilizando-se o programa estatístico SAS versão 9.2 (SAS, 2008).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DE GRÃOS DE AMARANTO

Os resultados de composição química e características físicas e químicas dos grãos de amaranto estão apresentados na Tabela 1. O envelhecimento ocasionou aumento no parâmetro a^* e redução no parâmetro L^* ($p \leq 0,05$) de cor dos grãos de amaranto, indicando que as cascas dos grãos se tornaram mais avermelhadas e escuras. As alterações de cor poderiam estar relacionadas com a oxidação de compostos fenólicos ou reações de Maillard durante o armazenamento dos grãos. Os compostos fenólicos, presentes principalmente nas cascas dos grãos de amaranto são incolores ou ligeiramente coloridos, mas sua oxidação os converte a polímeros coloridos (SALCEDO-CHÁVEZ *et al.*, 2002). A hidrólise do amido durante o envelhecimento dos grãos resulta em açúcares livres, os quais podem participar de reações de Maillard com resíduos de aminoácidos das proteínas, contribuindo para o escurecimento dos grãos (AULER, 2002; HOU e CHANG, 2004a). A cor constitui fator decisivo e crítico na comercialização de grãos (ALENCAR e FARONI, 2011). O escurecimento dos grãos pode diminuir sua comercialização ou ser transferido aos concentrados proteicos, reduzindo sua aplicabilidade em produtos alimentícios.

TABELA 1 – PARÂMETROS DE COR (L^* , a^* e b^*), COMPOSIÇÃO QUÍMICA (g/100 g, BASE SECA), pH, ACIDEZ TITULÁVEL (%) E SOLUBILIDADE PROTEICA EM ÁGUA (g/100 g) DE GRÃOS DE AMARANTO*

Parâmetros	3 meses	27 meses
L^*	66,21 \pm 0,36 ^a	64,37 \pm 0,67 ^b
a^*	7,33 \pm 0,16 ^b	7,72 \pm 0,23 ^a
b^*	30,37 \pm 0,37 ^a	31,09 \pm 0,68 ^a
Umidade	9,22 \pm 0,10 ^b	10,25 \pm 0,05 ^a
Cinzas	2,24 \pm 0,10 ^a	1,98 \pm 0,08 ^b
Proteínas	16,91 \pm 4,29 ^a	16,83 \pm 0,47 ^a
Lipídios	7,02 \pm 0,35 ^a	7,11 \pm 0,34 ^a
Fibra total	9,53 \pm 0,36 ^a	9,76 \pm 0,19 ^a
Fibra insolúvel	7,60 \pm 0,32 ^b	7,90 \pm 0,17 ^a
Fibra solúvel	1,94 \pm 0,13 ^a	1,85 \pm 0,10 ^a
Carboidratos**	64,28	64,32
pH	6,97 \pm 0,03 ^a	6,76 \pm 0,03 ^b
Acidez titulável	5,28 \pm 0,03 ^b	6,28 \pm 0,08 ^a
Solubilidade das proteínas em água	58,63 \pm 0,62 ^a	56,62 \pm 0,78 ^b

Médias \pm desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras distintas indicam diferenças a $p \leq 0,05$. L^ variando de 0 (preto) à 100 (branco); a^* variando de vermelho (+ a^*) ao verde (- a^*) e b^* variando de amarelo (+ b^*) ao azul (- b^*).

**incluindo fibras.

A absorção de água pelos grãos está apresentada na Figura 1. O conteúdo de água dos grãos de amaranto aumentou rapidamente (70 g/100 g) durante os primeiros estágios da hidratação (90 minutos) nas duas amostras (3 e 27 meses de armazenamento). Tal fato pode estar relacionado às características estruturais das camadas mais externas dos grãos de amaranto, isto é, o revestimento do grão e o pericarpo são relativamente porosos, permitindo que o equilíbrio com a água de imersão seja atingido rapidamente por embebição capilar (RESIO, AGUERRE e SOAREZ, 2005).

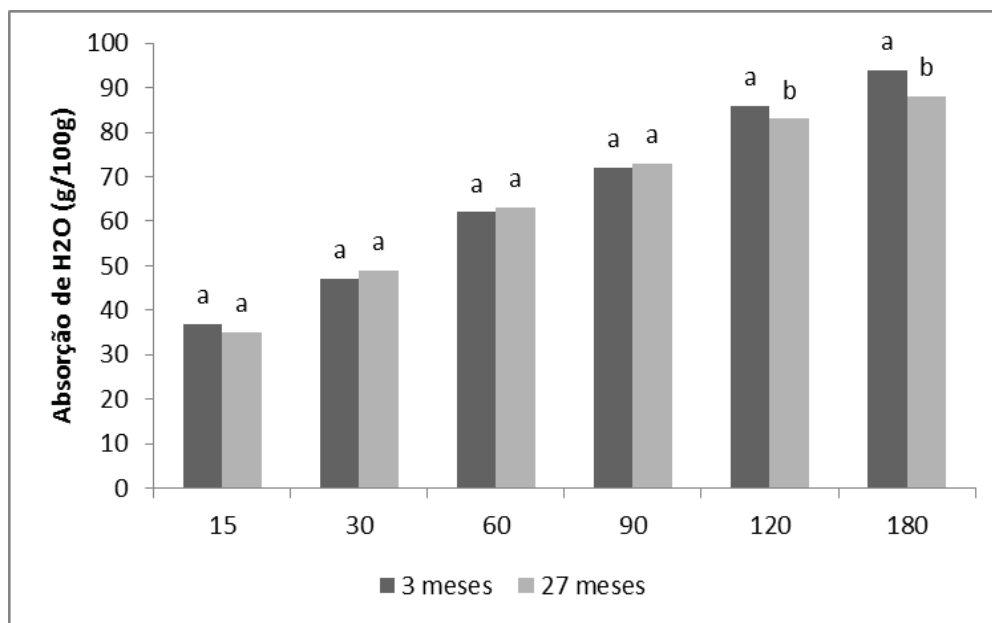


FIGURA 1 - ABSORÇÃO DE ÁGUA PELOS GRÃOS DE AMARANTO COM 3 E 27 MESES PÓS-COLHEITA

Letras diferentes em cada tempo indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Os grãos com maior tempo pós-colheita (27 meses) apresentaram menor absorção de água a partir de 120 minutos de hidratação ($p \leq 0,05$) que os mais novos (3 meses). Tal fato pode estar relacionado a alterações físicas no tegumento dos grãos e nos cotilédones, ocorridas durante o armazenamento, as quais dificultaram a absorção de água. Ademais, durante o envelhecimento de grãos (milho, sorgo e soja) há mudanças na estrutura das proteínas, como diminuição da hidrofobicidade de superfície e aumento no número de pontes dissulfeto intramoleculares, aumentando sua dureza e formando matriz proteica fortificada no grão. Com as moléculas mais agregadas há menor disponibilidade de sítios para se ligar à água, dificultando sua absorção e retenção (HOU e CHANG, 2004b; MCDONOUGH *et al.*, 2004).

A capacidade de hidratação constitui propriedade importante no consumo dos grãos inteiros, cozidos ou expandidos. Para os grãos cozidos, menor capacidade de hidratação pode resultar em produtos mais duros e com maior tempo de cozimento (PLATE e ARÊAS, 2002; RESIO, AGUERRE e SOAREZ, 2005). Menor hidratação de grãos expandidos dificulta o pipocamento, resultando em pipocas com menor qualidade, capacidade de expansão e rendimento menores, além de maior tempo de residência (BIANCHINI e BELEIA, 2010).

A composição química (g/100 g) dos grãos de amaranto enquadrou-se nas seguintes faixas: umidade, 9,22-10,25, proteínas, 16,83-16,91, cinzas, 1,98-2,24, lipídios, 7,02-7,11, fibra total, 9,53-9,76 e carboidratos, 64,28-64,32, sendo consistente com a apresentada por outros

autores (BIANCHINI e BELEIA, 2010; TÖMÖSKÖZI *et al.*, 2011; MILÁN-CARRILLO *et al.*, 2012).

Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os grãos com 3 e 27 meses de armazenamento para o conteúdo de proteínas, lipídios, fibra total, fibra solúvel e carboidratos. No entanto, o envelhecimento dos grãos ocasionou aumento no teor de umidade e fibra insolúvel e diminuição no conteúdo de cinzas ($p \leq 0,05$). É possível que os grãos de amaranto tenham absorvido umidade do ambiente em que estavam armazenados, com tendência ao equilíbrio com a umidade relativa ambiente ($\approx 80\%$ em Sorriso, MT). De fato, Chayan *et al.* (2010) relataram que os grãos de amaranto são altamente higroscópicos, absorvendo umidade do ambiente se estiverem armazenados em condições cuja a umidade seja maior que o conteúdo de água do grão. Segundo Belmiro *et al.* (2010), maiores teores de água resultam em menores conteúdos de cinzas em grãos. Portanto, o envelhecimento dos grãos não causaria perda substancial do valor nutricional do amaranto, principalmente relacionado ao seu conteúdo proteico.

Quanto à acidez dos grãos, o envelhecimento (27 meses de armazenamento) resultou em diminuição do pH e aumento da acidez titulável ($p \leq 0,05$). Com o envelhecimento há perda de integridade das membranas celulares, desencadeamento de reações de hidrólise e oxidação de triacilgliceróis e ácidos graxos insaturados, ocasionando aumento da acidez nos tecidos (BELMIRO *et al.*, 2010). Além disso, pode ter havido hidrólise de fitatos, o que contribui para o aumento da acidez (KONG *et al.*, 2008). A maior acidez dos grãos com o envelhecimento pode comprometer a sua utilização em produtos alimentícios, devido à perda parcial da funcionalidade das proteínas e alteração do sabor e do aroma dos produtos (KONG *et al.*, 2008).

A solubilidade das proteínas dos grãos de amaranto em água foi menor ($p \leq 0,05$) na amostra com maior tempo pós-colheita (27 meses), o que poderia estar relacionado com a maior acidez dos grãos. Maior acidez do tecido dos grãos pode promover agregação e desnaturação parcial da proteína presente, diminuindo sua solubilidade (MCDONOUGH *et al.*, 2004; KONG *et al.*, 2008), característica requerida para o preparo de bebidas instantâneas e sopas prontas (MENEGASSI, 2009). Solubilidade em água semelhantes às apresentadas neste estudo (56,62-58,63 %) foram relatadas por outros autores (SILVA-SANCHÉZ *et al.*, 2004).

O perfil de solubilidade das proteínas dos grãos de amaranto em diferentes pH (Figura 2-A) mostrou solubilidade em torno de 60 % em pH 2; solubilidade mínima (40 %) em torno do ponto isoelétrico ($\text{pH} \approx 4$), e aumento da solubilidade em pH superiores a 4, com 60 % de solubilidade em pH neutro ($\text{pH} 7$) e 70 % em pH extremamente alcalino ($\text{pH} 10$), independentemente do tempo de armazenamento dos grãos (3 e 27 meses). Com base nos resultados obtidos, sugere-se a utilização de grãos de amaranto em produtos ligeiramente ácidos ou com pH próximo à neutralidade.

O envelhecimento dos grãos diminuiu sua solubilidade, visto que a maior solubilidade ($p \leq 0,05$) para as proteínas dos grãos com menor tempo pós-colheita (3 meses) foi observada em todos os pH. Possivelmente, a acidez mais elevada dos grãos de amaranto com maior tempo pós-colheita (Tabela 1) tenha resultado em desnaturação parcial das proteínas, com a consequente diminuição da sua solubilidade, independentemente do pH do meio. McDonough *et al.* (2004) relataram aumento no teor de proteínas insolúveis com o envelhecimento de grãos de milho e sorgo, com consequente diminuição da solubilidade. Os valores para solubilidade em função do pH para grãos de amaranto foram semelhantes àqueles encontrados por outros pesquisadores e similares aos observados para outras fontes de proteínas vegetais, tais como soja, farelo de arroz e ervilha (MARCONE e KAKUDA, 1999; BENJARANO-LUJAN e NETTO, 2010).

Os perfis eletroforéticos de grãos com 3 e 27 meses pós-colheita estão apresentados na Figura 3-A. Foram observadas frações proteicas na faixa de 10 a 60 kDa. As bandas com massas molares inferiores a 30 kDa correspondem à albumina-1 e as com massas molares superiores a 30 kDa correspondem aos componentes da albumina-2, globulinas e glutelinas (MARTÍNEZ e AÑÓN, 1996). A baixa resolução das bandas na região de menor massa molar (< 20 kDa) é consistente

com os resultados de Castel *et al.* (2012), os quais relataram que os perfis eletroforéticos nessa região são fracos com bandas não discerníveis.

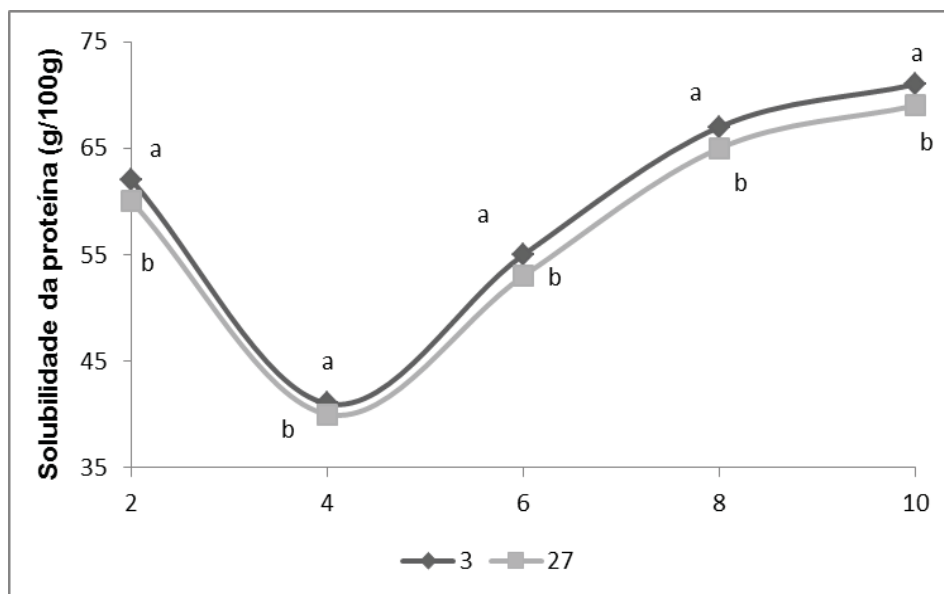


Figura 2 (A)

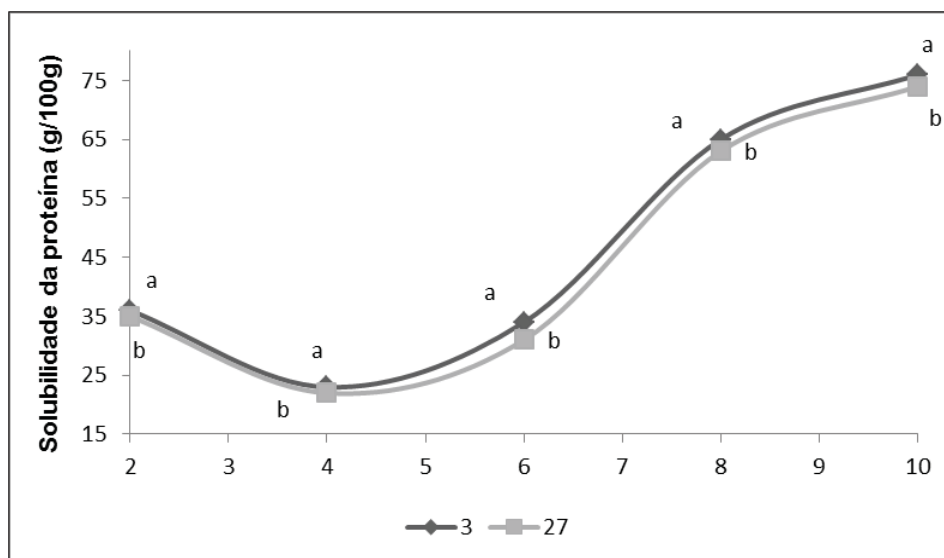


Figura 2 (B)

FIGURA 2 - PERFIL DE SOLUBILIDADE DAS PROTEÍNAS DOS GRÃOS (A) E CONCENTRADOS (B) DE AMARANTO EM FUNÇÃO DO pH

Letras diferentes em cada pH indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Não houve diferença ($p > 0,05$) no perfil eletroforético das proteínas das duas amostras (3 e 27 meses de armazenamento). Provavelmente a menor solubilidade das proteínas de grãos de amaranto mais velhos (27 meses) esteja associada à desnaturação parcial, resultando em mudanças moleculares como o aumento de interações intramoleculares, mas sem alteração das massas molares e perfil eletroforético (HOU e CHANG, 2004b).

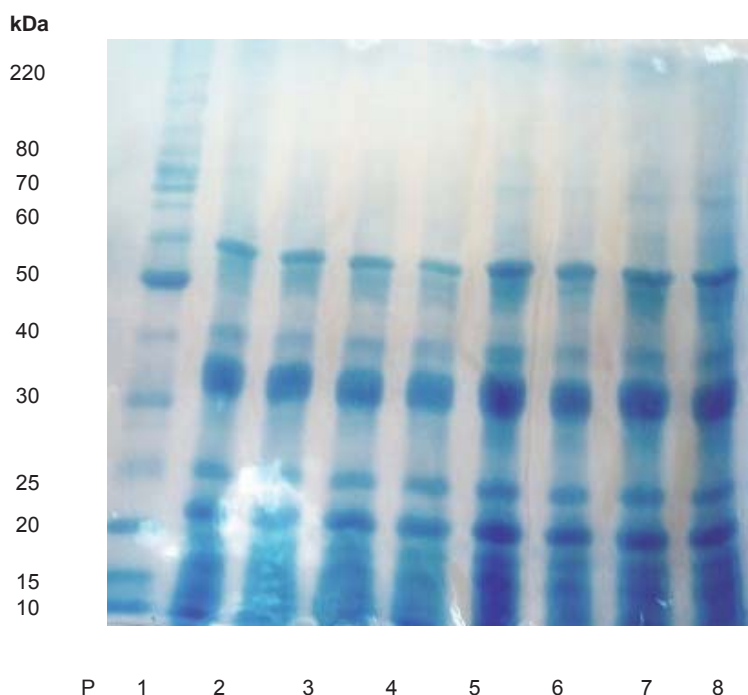


Figura 3 (A)

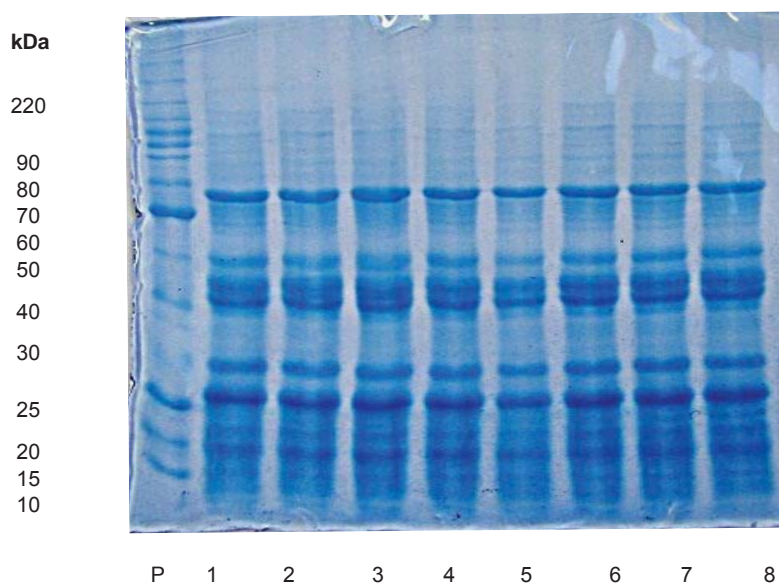


Figura 3 (B)

FIGURA 3 - PERFIL ELETROFORÉTICO SDS-PAGE DA PROTEÍNA DO GRÃO (A) E CONCENTRADO (B) DE AMARANTO

Coluna P – padrão; colunas 1 e 2 (repetição 1, 27 meses); colunas 3 e 4 (repetição 2, 27 meses); colunas 5 e 6 (repetição 1, 3 meses); colunas 7 e 8 (repetição 2, 3 meses).

O armazenamento em condições ambientais por longos períodos apresenta menor custo que em condições controladas (22 °C e umidade relativa entre 55 e 60 %), mas reduz a qualidade de grãos de amaranto para o consumo na forma crua, cozida, expandida ou processada. Foram verificadas alterações na maioria das propriedades físico-químicas dos grãos (escurecimento,

aumento da acidez e da umidade, e diminuição da capacidade de hidratação e solubilidade proteica em água em diferentes pH). No entanto, deve-se avaliar se essas alterações são transferidas para seu concentrado proteico.

3.2 CONCENTRADOS PROTEICOS DE AMARANTO

Comparando o rendimento dos concentrados proteicos das amostras com 3 meses de armazenamento (11,06 %) e 27 meses (9,62 %) verifica-se que o tempo de armazenamento dos grãos após a colheita interfere no rendimento do concentrado proteico de amaranto. A redução na extração das proteínas de grãos mais envelhecidos pode ser devido à desnaturação parcial das proteínas causada pelo aumento da acidez (Tabela 1) dos grãos durante o armazenamento, levando à redução da solubilidade (HOU e CHANG, 2004b). Martinez e Añon (1996) obtiveram rendimento de 12,4 % em pH 11 para amostras de amaranto recém-colhidas.

As características físicas e químicas dos concentrados proteicos de amaranto dos grãos com 3 e 27 meses pós-colheita estão apresentadas na Tabela 2. Os concentrados proteicos de amaranto evidenciaram teores de umidade próximos a 8 g/100 g e de proteínas próximos a 79 g/100g (bs), sendo consistentes com os apresentados por outros autores (FIDANTSI e DOXASTAKIS, 2001; AULER, 2002; BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010) e não havendo diferença ($p > 0,05$) entre o tempo de armazenamento dos grãos (3 e 27 meses). Os resultados indicam que o envelhecimento dos grãos influencia o rendimento do concentrado, mas não seu conteúdo de proteínas. Contudo, o nível constante de proteína não significa que não tenham ocorrido alterações nas características das proteínas, como solubilidade em água, rearranjo de pontes dissulfeto, entre outras (MARCONE e KAKUDA, 1999).

TABELA 2 - PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS E PROPRIEDADES FUNCIONAIS DOS CONCENTRADOS PROTEICOS DE AMARANTO*

Parâmetros/Propriedades	3 meses	27 meses
Umidade (g/100 g)	7,83 ± 0,38 ^a	8,1 ± 0,36 ^a
Proteínas (g/100 g)	78,55 ± 0,38 ^a	78,95 ± 0,62 ^a
L*	79,77 ± 0,59 ^a	80,32 ± 0,70 ^a
a*	2,16 ± 0,10 ^a	2,00 ± 0,05 ^b
b*	12,28 ± 0,33 ^a	11,81 ± 0,36 ^a
CAA (mL/100 g)	0,71 ± 0,03 ^a	0,59 ± 0,02 ^b
CAO (mL/100 g)	5,52 ± 0,27 ^a	4,66 ± 0,23 ^b
CE (mL/g de proteína)	88,40 ± 2,11 ^a	86,58 ± 2,29 ^a
EEm (%)	10,60 ± 0,18 ^b	16,45 ± 0,52 ^a
CFE (%)	63,50 ± 1,67 ^a	62,33 ± 2,65 ^a
EEsp (%)	42,41 ± 0,57 ^b	46,39 ± 1,19 ^a
CFG	7 %	7 %

Valores representam a média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$). Teor de proteína = $N \times 6,25$ (%), base seca). L variando de 0 (preto) à 100 (branco); a* variando de vermelho (+a*) ao verde (-a*) e b* variando de amarelo (+b*) ao azul (-b*). CAA = capacidade de absorção de água; CAO = capacidade de absorção de óleo; CE = capacidade emulsificante; EEm = estabilidade de emulsão; CFE = capacidade de formação de espuma; EEsp = estabilidade de espuma em 120 minutos de repouso; CFG = formação de gel, expressa na menor concentração da amostra.

Os concentrados obtidos de grãos com 3 e 27 meses de armazenamento mostraram-se semelhantes ($p > 0,05$) quanto aos parâmetros L* e b*, e menor valor do parâmetro a* ($p \leq 0,05$) com o envelhecimento, ou seja, os concentrados de grãos com 27 meses eram menos avermelhados. Os valores de L* (79,77 - 80,32); a* (2,00 - 2,16) e b* (11,81 - 12,28) estão consistentes com os apresentados por Benjarano-Luján e Netto (2010). Diferenças de cor entre os concentrados proteicos e os grãos de amaranto (Tabela 1) podem estar relacionadas à redução

do teor de polifenóis, os quais formam complexos com proteínas e precipitam durante a extração alcalina (BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010), ou à perda de cascas durante o processamento (tornando os concentrados proteicos mais claros e menos vermelhos e amarelos que os grãos).

O perfil de solubilidade das proteínas dos concentrados de amaranto (Figura 2-B) foi semelhante ao observado para os grãos de amaranto (Figura 2-A), sendo seus valores coerentes com os encontrados por outros pesquisadores (SALCEDO-CHÁVEZ *et al.*, 2002; BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010).

As solubilidades em pH ácidos (35 %, pH 2) e próximos ao ponto isoelétrico (25 %, pH 4) do concentrado proteico foram menores que as dos grãos de amaranto (Figura 2-A; 60 % pH 2; 40 % pH 4), independentemente do tempo de armazenamento dos grãos (3 e 27 meses). Essas diferenças podem estar relacionadas com a formação de pequenos agregados proteicos causados pela desnaturação parcial e associação/dissociação de proteínas durante a etapa de precipitação isoelétrica (CASTEL *et al.*, 2012). Embora a precipitação isoelétrica seja o método de recuperação de proteínas que causa menor desnaturação, a exposição prolongada ao ácido pode provocar perda de solubilidade das proteínas (GLÓRIA e REGINATO-D'ARCE, 2000). Com base nos resultados obtidos, o concentrado proteico de amaranto poderia ser utilizado na preparação de pães, massas em geral e produtos semi-sólidos, devido à maior solubilidade em pH ligeiramente ácido ou próximo à neutralidade.

A solubilidade proteica dos concentrados de grãos com 27 meses de armazenamento foi menor ($p \leq 0,05$) quando comparada à da amostra com 3 meses, de forma semelhante ao observado para os grãos de amaranto (Figura 2-A). Durante o armazenamento de grãos (milho, sorgo e soja) ocorre aumento no conteúdo de proteínas insolúveis, diminuição de grupos sulfidrilas e formação de pontes dissulfeto, o que resulta em perda de solubilidade das proteínas (McDONOUGH *et al.*, 2004; KONG e CHANG, 2013).

Os perfis eletroforéticos dos concentrados proteicos de amaranto estão apresentados na Figura 3-B. Foram observadas frações proteicas na faixa de 10 a 110 kDa, semelhantes às obtidas por outros autores (AULER, 2002; BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010; CASTEL *et al.*, 2012). Quando comparado ao perfil eletroforético do grão de amaranto (Figura 3-A), algumas bandas mostraram maior massa molar, mas perfis semelhantes. As similaridades entre os perfis eletroforéticos dos grãos e dos concentrados de amaranto indicam que todas as frações proteicas do grão foram recuperadas após os processos de extração e precipitação das proteínas (BENJOSANO e CORKE, 1999). O aparecimento de bandas com maior massa molar pode estar associado à formação de agregados proteicos durante o desengorduramento da farinha com hexano, à extração alcalina, ou à precipitação isoelétrica (BENJARANO-LUJÁN e NETTO, 2010). Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) entre os perfis eletroforéticos dos concentrados obtidos de grãos com diferentes tempos de armazenamento (27 e 3 meses), de forma semelhante ao relatado para o grão de amaranto.

O envelhecimento dos grãos ocasionou diminuição ($p \leq 0,05$) na capacidade de absorção de água e de óleo dos concentrados proteicos de amaranto (Tabela 2). O armazenamento de grãos em condições adversas de temperatura e umidade relativa tem sido relacionado com a diminuição de interações hidrofóbicas e aumento no número de pontes dissulfeto intramoleculares, fazendo com que as moléculas proteicas se tornem mais agregadas ou contraídas. Essa agregação promove mais interações intramoleculares na estrutura das proteínas e, conseqüentemente, há menor disponibilidade de grupos funcionais para se ligar à água ou ao óleo, diminuindo sua capacidade de absorção de água/óleo (HOU e CHANG, 2004b; KONG e CHANG, 2013).

A capacidade de absorção de água constitui indicador para se avaliar se determinado concentrado pode ser incorporado em alimentos aquosos, especialmente aqueles envolvendo manipulação de massa, sendo desejável no preparo de sopas, mingaus e pudins instantâneos (MENEGASSI, 2009; MENEGASSI, PILOSOFF e AREAS, 2011). Já a capacidade de absorção de óleo

torna-se relevante para o sabor e aparência de produtos alimentícios (ZAPOTOCZNY *et al.*, 2006).

Não foram observadas diferenças entre os concentrados (grãos com 3 e 27 meses de armazenamento, $p > 0,05$) em relação à capacidade emulsificante e de formação de espuma (Tabela 2), mas o concentrado proteico de amaranto provenientes de grãos com 27 meses apresentou valores mais elevados ($p \leq 0,05$) para a estabilidade de emulsão e de espuma. A melhor estabilidade de emulsão e espuma desses concentrados proteicos de amaranto poderia estar relacionada à menor solubilidade de suas proteínas (Tabela 1). Proteínas menos solúveis contribuem pouco para a formação da emulsão ou espuma, mas podem auxiliar a estabilização da dispersão já formada (DAMODARAN, 2010).

A estabilidade da emulsão torna-se importante para vários produtos alimentícios, tais como creme de leite, glacês, manteiga, queijo fundido, maionese e carne finamente moída do tipo utilizada em salsichas e outros embutidos. Já a estabilidade da espuma é importante se o concentrado for utilizado como agente espumante, quando a espuma deve ser mantida pelo maior tempo possível (KAUR e SINGH, 2005).

A concentração mínima para formação de gel foi de 7 %, não havendo diferença ($p > 0,05$) entre os concentrados proteicos (grãos com 3 e 27 meses pós-colheita) quanto a esse parâmetro.

Valores semelhantes aos obtidos para CAA (0,59-0,71 %), CAO (4,66-5,52 %), CE (86,58-88,40 %), EEm (10,60-16,45 %), CFE (62,33-63,50 %), EEsp (42,41-46,39 %) e CFG (7 %) foram reportados por outros autores para concentrados proteicos de amaranto (BEJOSANO e CORKE, 1999; MARCONE e KAKUDA, 1999; SILVA-SÁNCHEZ *et al.*, 2004; AVANZA *et al.*, 2005).

Dentre as propriedades funcionais estudadas, as proteínas do amaranto apresentaram boa capacidade de formação de espuma (62,33 ou 63,50 %) e capacidade emulsificante (86,58 ou 88,40 %), independentemente do envelhecimento dos grãos. Assim, o concentrado proteico de amaranto poderia ser utilizado como agente espumante ou emulsificante. De fato, Silva-Sánchez *et al.* (2004) afirmaram que as albuminas do amaranto apresentam boa capacidade de formação de espuma, especialmente em pH inferior a 6, podendo ser utilizadas como substitutas da albumina do ovo em alimentos ácidos. Benjosano e Corke (1999) relataram que concentrados proteicos de amaranto apresentam boa capacidade emulsificante em pH 7, sendo superior à de concentrados proteicos de soja.

O concentrado proteico de grãos com menor tempo pós-colheita pode ser empregado em produtos cujas propriedades de absorção de água ou óleo e solubilidade sejam importantes. Já o concentrado obtido de grãos mais envelhecidos pode servir como ingrediente em alimentos nos quais a formação de gel, espuma ou emulsão seja necessária, devido à sua maior estabilidade.

4 CONCLUSÃO

O tempo prolongado de armazenamento, em condições ambientais, resulta em grãos de amaranto mais escuros, avermelhados e ácidos, além de apresentarem menor capacidade de absorção de água e solubilidade em água, mas não ocorrem perdas nos valores nutricionais. Algumas propriedades físico-químicas e funcionais dos concentrados proteicos são afetadas pelo armazenamento dos grãos, como a solubilidade das proteínas e a capacidade de absorção de água ou óleo, as quais são menores para concentrados de grãos armazenados por mais tempo. O armazenamento de grãos de amaranto em condições ambientais, sem o controle da umidade relativa e temperatura, representa prejuízo para a qualidade dos grãos para consumo direto (cru, cozido ou expandido), para o processamento e para sua comercialização, pois ocorrem alterações na maioria das propriedades físico-químicas dos grãos e funcionais dos seus concentrados. No entanto, grãos que se tornam envelhecidos poderiam ser aproveitados como ingrediente na forma de concentrados proteicos, em produtos geleificados, emulsionados ou com formação de espuma, devido sua maior estabilidade.

ABSTRACT

AGING OF AMARANTH: PHYSICAL CHANGES IN GRAIN AND PHYSICOCHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEIN

This study aimed to evaluate the effect on amaranth of post-harvest time (3 and 27 months of storage at ambient conditions: $T_{\text{average}} 27^{\circ}\text{C}$ and $RH_{\text{average}} 80\%$) regarding the physical characteristics of the grains and the physicochemical and functional properties of the protein concentrates. Grains with a longer post-harvest time were more reddish and darker, with more acidity and moisture. There was also lower hydration capacity and protein solubility in water at different pH than the younger grains. The yield of protein concentrate from amaranth with a longer post-harvest time was lower (9.62 %) than that obtained from younger grains (11.06 %). There was also lower protein solubility at different pH and water or oil absorption capacity, however, the emulsion and foam stability was higher. There was no difference in the capabilities of forming gel, foam and emulsion, or in the electrophoretic pattern of the proteins of the two concentrates. The protein concentrate of grains with a shorter post-harvest time can be used in products where the properties of water and oil absorption and solubility are important, while that obtained from older grains can be used as an ingredient in foods in which the formation of gel, foam or emulsion is required, due to their greater stability. Amaranth has appropriate emulsifying and foaming properties, so it can be used in emulsified products or as a foaming agent.

KEY-WORDS: *Amaranthus cruentus*; AMARANTH GRAIN; PROTEIN CONCENTRATE; FUNCTIONALITY.

REFERÊNCIAS

- 1 ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.A. **Storage of soybeans and its effects on quality of soybean sub-products, recent trends for enhancing the diversity and quality of soybean products**. Disponível em: <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/22596.pdf>. Acesso em: 30/09/2014.
- 2 Association of Official Analytical Chemistry (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. 18th ed. Washington, DC, 2004.
- 3 AULER, F. **Produção e caracterização de farinhas e concentrados proteicos de amaranto (*Amaranthus cruentus*)**. 2002. 75 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2002.
- 4 AVANZA, V.; PUPPO, C.; AÑON, C. Structural characterization of amaranth protein gels. **Journal of Food Science: Engineering and Physical Properties**, v.70, n.3, p.223-229, 2005.
- 5 BALLABIO, C.; UBERTI, F.; DI LORENZO, C.; BRANDOLINI, A.; PENAS, E.; RESTANI, P. Biochemical and immunochemical characterization of different varieties of amaranth (*Amaranthus L. ssp.*) as a safe ingredient for gluten-free products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.24, p.12969-12974, 2011.
- 6 BARRIO, D.A.; AÑON, M.C. Potential antitumor properties of a protein isolate obtained from the seeds of *Amaranthus mantegazzianus*. **European Journal of Nutrition**, v.49, n.2, p.73-82, 2010.
- 7 BELMIRO, T.M.C.; QUEIROZ, A.J.M.; FIGUEIREDO, R.M.F.; FERNANDES, T.K.S.; BEZERRA, M.C.T. Alterações químicas e físico-químicas em grãos de abóbora durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.9, p.1000-1007, 2010.
- 8 BENJARANO-LUJÁN, D.L.; NETTO, F.M. Effect of alternative processes on the yield and physicochemical characterization of protein concentrates from *Amaranthus cruentus*. **Food Science and Technology**, v.43, n.5, p.736-743, 2010.
- 9 BENJOSANO, F.P.; CORKE, H. Properties of protein concentrates and hydrolysates from *Amaranthus* and buckwheat. **Industrial Crops and Products**, v.10, n.3, p.175-183, 1999.
- 10 BEUCHAT, L.R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.25, n.2, p.258-261, 1977.
- 11 BIANCHINI, M.G.A.; BELEIA, A.D.P. Umidade e congelamento de grãos de amaranto e sua capacidade de expansão térmica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.8, p.917-924, 2010.
- 12 CARRAZCO-PEÑA, L.; OSUNA-CASTRO, J.A.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A.; MARUYAMA, N.; TORO-VAZQUEZ, J.F.; MORALES-RUEDA, J.A.; DE LA ROSA, A.P.B. Modification of solubility and heat-induced gelation of amaranth 11S globulin by protein engineering. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.14, p.3509-3516, 2013.
- 13 CAZARIN, C.B.B.; CHANG, Y.K.; DEPIERI, M.; CARNEIRO, E.M.; SOUZA, A.S.; AMAYA-FARFÁN, J. Amaranth grains brings health benefits to young normolipidemic rats. **Food and Public Health**, v.2, n.5, p.178-183, 2012.
- 14 CASTEL, V.; ANDRICH, O.; NETTO, F.M.; SANTIAGO, L.G.; CARRARA, C.R. Comparison between isoelectric precipitation and ultrafiltration processes to obtain *Amaranthus mantegazzianus* protein concentrates at pilot plant scale. **Journal of Food Engineering**, v.112, n.4, p.288-295, 2012.

- 15 CHAYAN, A.A.I.M.; RAHMAN, M.H.; SULTANA, R.; ISLAM, M.R. Initial moisture content and different storage container potentiality on vigourity of stem amaranth (*Amaranthus oleraceus*) seed. **Bangladesh Research Publications Journal**, v.3, n.4, p.1197-1203, 2010.
- 16 COFFMANN, C.N.; GARCIA, V.V. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. **International Journal of Food Science and Technology**, v.12, n.5, p.473-484, 1977.
- 17 CONDÉS, M.C.; SCILINGO, A.A.; AÑÓN, M.C. Characterization of amaranth proteins modified by trypsin proteolysis. Structural and functional changes. **LWT – Food Science and Technology**, v.42, n.5, p.963-970, 2009.
- 18 DAMODARAN, S. Aminoácidos, peptídeos, e proteínas. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- 19 DELGADO, M.C.O.; TIRONI, V.A.; AÑÓN, M.C. Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. **LWT – Food Science and Technology**, v.44, n.8, p.1752-1760, 2011.
- 20 DONADEL, M.E.; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Propriedades funcionais de concentrado protéico de feijão envelhecido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.3, p.380-386, 1999.
- 21 DURGADEVI, R.; NAZNI, P. Comparative study of processed amaranth grains on glycemic indices in niddm subjects. **International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences**, v.1, n.2, p.194-205, 2012.
- 22 FIDANTSI, A.; DOXASTAKIS, G. Emulsifying and foaming properties of amaranth seed protein isolates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.21, n.1-3, p.119–24, 2001.
- 23 FRITZ, M.; VECCHI, B.; RINALDI, G.; AÑÓN, M.C. Amaranth seed protein hydrolysates have *in vivo* and *in vitro* antihypertensive activity. **Food Chemistry**, v.126, n.3, p.878-884, 2011.
- 24 GLÓRIA, M.M.D.; REGINATO-D'ARCE, M.A.B. Concentrado e isolado proteico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.2, p.240-245, 2000.
- 25 GORINSTEIN, S.; DELGADO-LINCON, E.; PAWELZIK, E.; PERMADY, H.H.; WEISZ, M.; TRAKHTENBERG, S. Characterization of soluble amaranth and soybean proteins based on fluorescence, hydrophobicity, electrophoresis, amino acid analysis, circular dichroism, and differential scanning calorimetry measurements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.11, p.5595-5601, 2001.
- 26 HIBI, M.M.; HACHIMURA, S.S.; KASHIZUME, S.S.; OBATA, T.T.; KAMINOGAWA, S.S. Amaranth grain inhibits antigen-specific IgE production through augmentation of the IFN-gamma response *in vivo* and *in vitro*. **Cytotechnology**, v.43, n.1-3, p.33-40, 2003.
- 27 HOU, H.J.; CHANG, K.C. Storage conditions affect soybean color, chemical composition and tofu qualities. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.28, n.6, p.473-488, 2004a.
- 28 HOU, H.J.; CHANG, K.C. Structural characteristics of purified β -conglycinin from soybeans stored under four conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.26, p.7931-7937, 2004b.
- 29 INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, 2008. p. 104-105.
- 30 KAUR, M.; SINGH, N. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v.91, n.3, p.403-411, 2005.
- 31 KONG, F.; CHANG, S.K.; LIU, Z.; WILSON, S.A. Changes of soybean quality during storage as related to soymilk and tofu making. **Journal of Food Science**, v.73, n.3, p.S134-S144, 2008.
- 32 KONG, F.; CHANG, K.C. Changes in protein characteristics during soybean storage under adverse conditions as related to tofu making. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.2, p.387-393, 2013.
- 33 KONICA MINOLTA INC. **Chroma Meter CR- 400/410**: instruction manual. Tokyo, 2002. 157 p.
- 34 LAEMMLI, UK. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, n.5259, p.680-685, 1970.
- 35 MARCONE, M. F.; KAKUDA, Y. A comparative study of the functional properties of amaranth and soybean globulin isolates. **Nahrung – Food**, v.43, n.6, p.368–373, 1999.
- 36 MARTÍNEZ, E.N.; AÑÓN, M.C. Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, n.9, p.2523–2530, 1996.
- 37 MCDONOUGH, C.M.; FLOYD, C.D.; WANISKA, R.D.; ROONEY, L.W. Effect of accelerated aging on maize, sorghum, and sorghum meal. **Journal of Cereal Science**, v.39, n.3, p.351-361, 2004.

- 38 MENEGASSI, B. **Efeito da extrusão termoplástica nas características tecnológicas de farinha de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria)**. 2009. 132 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- 39 MENEGASSI, B.; PILOSO, A.M.R.; ARÊAS, J.A.G. Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L. – BRS Alegria) flour. **LWT – Food Science and Technology**, v.44, n.9, p.1915-1921, 2011.
- 40 MILÁN-CARRILLO, J.; MONTOYA-RODRÍGUEZ, A.; GUTIÉRREZ-DORADO, R.; PERALES-SÁNCHEZ, X.; REYES-MORENO, C. Optimization of extrusion process for producing high antioxidant instant amaranth (*Amaranthus hypochoeroides* L.) flour using response surface methodology. **Applied Mathematics**, v.3, n.10, p.1516-1525, 2012.
- 41 MORR, C.V.; GERMAN, J.E.; KINSELLA, J.M.; REGENSTEIN, J.P.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A. A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, v.50, n.6, p.1715-1718, 1985.
- 42 OKEZIE, B.O.; BELLO, A.B. Physicochemical and functional properties of winged bean flour and isolate compared with soy isolate. **Journal of Food Science**, v.53, n.2, p.450-454, 1988.
- 43 PAGANO, A.M.; MARCHERONI, R.H. Sorption isotherms for amaranth grains. **Journal of Food Engineering**, v.67, n.4, p.441-450, 2005.
- 44 PLATE, A.Y.A.; ARÊAS, J.A.G. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. **Food Chemistry**, v.76, n.1, p.1-6, 2002.
- 45 REYES-MORENO, C.; OKAMURA-ESPARZA, J.; ARMIENTA-RODELO, E.; GÓMEZ-GARZA, R.M.; MILÁN-CARRILLO, J. Hard-to-cook phenomenon in chickpeas (*Cicer arietinum* L): effect of accelerated storage on quality. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.55, n.3, p.229-241, 2000.
- 46 RESIO, A.N.; AGUERRE, R.J.; SUAREZ, C. Study of some factors affecting water absorption by amaranth grain during soaking. **Journal of Food Engineering**, v.60, n.4, p.391-396, 2003.
- 47 RESIO, A.N.C.; AGUERRE, R.J.; SUAREZ, C. Analysis of simultaneous water absorption and water-starch reaction during soaking of amaranth grain. **Journal of Food Engineering**, v.68, n.2, p.265-270, 2005.
- 48 RIOS, A.O.; ABREU, C.M.P.; CORRÊA, A.D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23 (supl.), p.39-45, 2003.
- 49 SALCEDO-CHÁVEZ, B.; OSUNA-CASTRO, J.A.; GUEVARA-LARA, F.; DOMÍNGUEZ- DOMÍNGUEZ, J.; PAREDES-LOPEZ, O. Optimization of the isolates precipitation method to obtain protein isolates from amaranth (*Amaranthus cruentus*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.22, p.6515-6522, 2002.
- 50 SAS INSTITUTE INC. **SAS software**. Version 9.2. Cary, NC, 2008.
- 51 SILVA-SÁNCHEZ, C.; GONZÁLEZ-CASTAÑEDA, J.; LEÓN-RODRÍGUEZ, A.D.; DE LA ROSA, A.P.B. Functional and rheological properties of amaranth albumins extracted from two Mexican varieties. **Plants Foods for Human Nutrition**, v.59, n.4, p.169-174, 2004.
- 52 TÖMÖSKÖZI, S.; GYENGE, L.; PELCÉDER, A.; ABONYI, T.; SCHÖNLECHNER, R.; LÁSZTITY, R. Effects of flour and protein preparations from amaranth and quinoa seeds on the rheological properties of wheat-flour dough and bread crumb. **Czech Journal of Food Science**, v.29, n.2, p.109-116, 2011.
- 53 VENTUREIRA, J.; MARTINEZ, E.N.; ANÓN, M.C. Stability of oil: water emulsions of amaranth proteins. **Food Hydrocolloids**, v.24, n.6-7, p.1-9, 2010.
- 54 YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.36, n.5, p.719-727, 1972.
- 55 ZAPOTOCZNY, P.; MARKOWSKI, M.; MAJEWSKA, K.; RATAJSKI, A.; KONOPKO, H. Effect of temperature on the physical, functional, and mechanical characteristics of hot-air puffed amaranth seeds. **Journal of Food Engineering**, v.76, n.4, p.469-476, 2006.