

Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de Teff (*Eragrostis tef* (Zuccagni) Trotter) y evaluación de su actividad antioxidante

V.G. Ruiz-Camacho¹, C.A. Amaya-Guerra², M. Bautista-Villarreal² y A.R. González-Luna*¹

1 Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. **2** Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Pedro de Alba s/n, Ciudad Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México. *agonzalezl@uanl.edu.mx

RESUMEN

Eragrostis tef, conocido como teff, es un antiguo cereal originario de Etiopía, el cual es utilizado en la elaboración de un pan plano llamado injera. Su valor nutritivo es similar al de otros cereales, además no contiene gluten lo que resulta beneficioso en la elaboración de productos alimenticios. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antioxidante de los productos proteicos de teff y así determinar su uso potencial como aditivo en la elaboración de alimentos funcionales. La concentración proteica de la harina desengrasada y el aislado proteico de teff resultó en un 45.29% y 88.29%, mientras que el hidrolizado con la enzima alcalasa y flavourzima resultó en 381.26 mg prot/mL y 390.78 mg prot/mL, respectivamente. En lo que respecta a la actividad antioxidante de los hidrolizados proteicos, los valores más elevados resultaron en un 66.61% a los 45 minutos con la enzima flavourzima y a los 30 minutos de iniciado el proceso de hidrólisis con un 66.61% con la alcalasa.

Palabras clave: Hidrolizado, aislado, actividad antioxidante, proteínas, teff.

ABSTRACT

Eragrostis tef, known as teff, is an ancient cereal native to Ethiopia, which is used in the preparation of a flat bread called injera. Its nutritional value is similar to that of other cereals, it also does not contain gluten, which is beneficial in the production of food products. The objective of this work is to evaluate the antioxidant activity of teff protein products and thus determine their potential use as an additive in the production of functional foods. The protein concentration of the defatted flour and the teff protein isolate resulted in 45.29% and 88.29%, while the hydrolyzate with the enzyme alcalase and flavourzyme resulted in 381.26 mg prot/mL and 390.78 mg prot/mL, respectively. Regarding the antioxidant activity of protein hydrolysates, the highest values were 66.61% at 45 minutes with the enzyme flavourzyme and 30 minutes after starting the hydrolysis reaction with 66.61% with alcalase.

Key words: Hydrolyzed, isolated, antioxidant activity, protein, teff.

INTRODUCCIÓN

El Teff (*Eragrostis tef* (Zuccagni) Trotter) es un cereal perteneciente a la familia *Poaceae*, originario de Etiopía el cual es utilizado como base para la elaboración de injera. A pesar de que el cultivo de teff es endémico de Etiopía, su cultivo se ha introducido en varios países como Australia, India, Sudáfrica, Argentina, Ucrania, Canadá, Estados Unidos y partes de Asia, cultivándose principalmente como cultivo forrajero (Abebe, 2015). Su harina no produce gluten y tiene un alto contenido de hierro, de vitamina B y de lisina, por lo que su perfil nutricional sugiere que podría usarse en la producción de cereales saludables (Umaña *et al.*, 2012). El contenido proteico de la semilla de teff representa el 13%, el cual es similar y en algunos casos superior al de otros cereales. Se ha reportado que la composición fraccionaria de las proteínas de teff está conformada por glutelinas y albuminas principalmente, por lo que en orden de importancia están las glutelinas con 44.55%, albuminas 36.6%, prolaminas 11.8% y globulinas con 6.7% (Ketema, 1997).



Figura 1. Variedades de la harina de teff (*Eragrostis tef*)

En años recientes, el incremento en la población mundial ha impulsado la búsqueda de nuevas fuentes proteicas de menor costo con el fin de obtener una mayor disponibilidad y calidad de proteínas a partir de diversas fuentes proteicas existentes ya que se ha demostrado que las proteínas juegan un papel muy importante en la alimentación debido a la aportación de aminoácidos en la dieta, así como de sus propiedades funcionales; por consiguiente, uno de los procesos más comunes para la obtención de proteínas son los aislados proteicos los cuales son empleados en las industrias alimenticias con el fin de ser utilizados como aditivos en alimentos para consumo humano y así poder conferir diversas propiedades funcionales mejorando su valor nutricional y la calidad del producto final (Chaparro *et al.*, 2014). Otro proceso utilizado de manera similar es la elaboración de hidrolizados proteicos, los cuales son empleados para mejorar las propiedades funcionales o nutricionales de los alimentos, tales como la solubilidad, el poder emulsificante y la capacidad espumante (Benítez *et al.*, 2008). Además, los hidrolizados pueden conferir grandes beneficios debido a la producción de péptidos con actividad biológica, tales como la actividad antioxidante, antimicrobiana y antihipertensiva. Por lo que, el objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antioxidante de los productos proteicos de teff y así determinar su uso potencial como aditivo en la elaboración de alimentos funcionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron semillas obtenidas a través de la empresa Maskal Teff, las cuales posteriormente fueron limpiadas.

Procesamiento y desengrasado de la harina de teff

Las semillas fueron molidas siguiendo la metodología descrita por Martínez *et al.* (2011) y, por último, la harina obtenida fue tamizada empleando una malla no. 40. La harina fue desengrasada siguiendo la metodología descrita por Colunga (2008), utilizando el equipo Soxhlet con hexano como solvente durante 4 horas. Pasado este tiempo la muestra obtenida se secó en estufa para eliminar el hexano residual.

Determinación cuantitativa de las fracciones proteicas de teff por el método de Bradford

La determinación se realizó por el método de Bradford según Herrera *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. En una microplaca de 96 pocillos se agregaron 250 μ L del reactivo de Bradford y 5 μ L de las muestras a evaluar (harinas, aislados e hidrolizados proteicos). Así mismo, se utilizó la Albumina de Suero Bovino (BSA) como curva patrón a diferentes concentraciones para interpolar los resultados; por último, se realizó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 595 nm.

Curva de solubilidad de la harina desengrasada de teff por el método de Bradford

Se realizó según Martínez *et al.* (2011) con ligeras modificaciones. Se disolvieron 4 g de harina desengrasada de teff en 40 mL de agua destilada manteniendo una agitación constante; posterior a eso, se fue ajustando el pH a valores que iban desde 1.0 a 14.0 tomando alícuotas de 1 mL de cada uno de estos valores. Las muestras se centrifugaron a 8500 rpm durante 5 minutos, recuperando el sobrenadante, y una vez homogeneizadas en vortex, se realizó la determinación proteica por el método de Bradford.

Obtención de aislados proteicos de teff

El aislado proteico de teff se realizó de acuerdo con lo descrito por Almazán *et al.* (2016) con ligeras modificaciones. Se disolvieron 10 g de la harina desengrasada de teff en 100 mL de bisulfito de sodio manteniendo una agitación constante; posterior a eso, se mantuvo a pH 10.5 (pH de extracción) durante una hora. Se centrifugó a 4°C a 8500 rpm durante 25 minutos y el sobrenadante se ajustó a pH 4.0 (pH de precipitación) manteniéndolo durante una hora en agitación constante. Se centrifugó y se recuperó el precipitado mediante lavados con agua destilada a pH 4.0, para posteriormente liofilizarlo.

Determinación proteica del aislado proteico de teff por el método de micro Kjeldhal

De acuerdo con lo descrito por Colunga (2008) con ligeras modificaciones. Debido a lo poco soluble del aislado, se utilizó el método de Kjeldhal para determinar el porcentaje de nitrógeno y de proteínas pertenecientes al aislado proteico de teff, empleando el factor de conversión 6.25.

Hidrolisis de proteínas de teff

El hidrolizado proteico se elaboró en base a lo descrito por Quelal *et al.* (2019) con ligeras modificaciones. De acuerdo con las condiciones óptimas de pH, concentración de sustrato, relación enzima sustrato y temperatura de las enzimas a utilizar (alcalasa: pH 8, 5%, 0.3 UA/g proteína, 50°C; flavourzima: pH 7, 5%, 50 LAPU/g proteína, 50°C), se tomaron alícuotas de 6 mL cada 15 minutos

durante el proceso de hidrolisis que fue por una hora; posterior a eso, las alícuotas se inactivaron en un baño maría a 85°C durante 15 minutos. Las muestras obtenidas se centrifugaron a 8500 rpm durante 10 minutos recuperando el sobrenadante, el cual se congeló hasta su posterior uso.

Evaluación biológica: actividad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidante por el método basado en la captación del radical DPPH se realizó de acuerdo con lo descrito por Echeverria *et al.* (2020) con algunas modificaciones. En un lector de microplacas de 96 pocillos utilizando agua destilada como blanco, una solución compuesta por 150 µL de agua y 150 µL de DPPH 0.1mM como control negativo, y una solución de 150 µL de BHT y 150 µL de DPPH 0.1mM como control positivo. Para la determinación, se depositaron 150 µL de las muestras a evaluar con 150 µL de DPPH 0.1mM, dejando incubar por 30 minutos a 25°C en ausencia de luz, para finalmente medir la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación proteica de la harina desengrasada de teff se muestra en la Fig. 2, observando el valor de concentración proteica más elevado en la muestra original (sin dilución) el cual oscila alrededor del 45.29%. De acuerdo con Baye (2014) el contenido proteico del teff representa hasta el 13% lo que indica que el proceso de desengrasado de la harina de teff aumentó considerablemente el valor proteico.

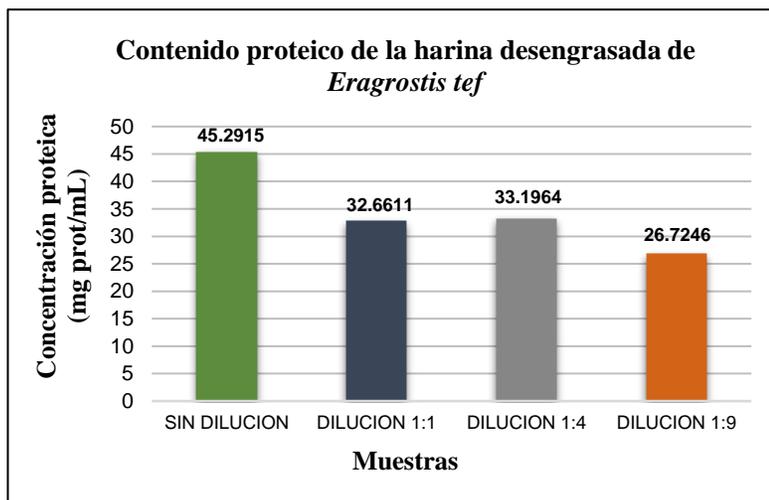


Figura 2. Concentración proteica de la harina desengrasada

La Fig. 3 muestra la variación de la solubilidad de la harina desengrasada de teff a diferentes valores de pH, mostrando una mayor solubilidad a pH 12, sin embargo, los valores altos o bajos de pH pueden alterar la conformación de las proteínas, por tal motivo, se optó por trabajar a pH 10.5 el cual presenta la segunda concentración proteica más elevada siendo de 86.59 mg prot/mL, siendo considerado como el pH óptimo de extracción proteica. Por otro lado, el punto isoelectrico se mostró cercano al pH 4.0 con una concentración de 17.46 mg prot/mL. De acuerdo con González (1999) el punto isoelectrico se refiere al valor de pH en el cual las proteínas presentan una solubilidad mínima debido a que la carga

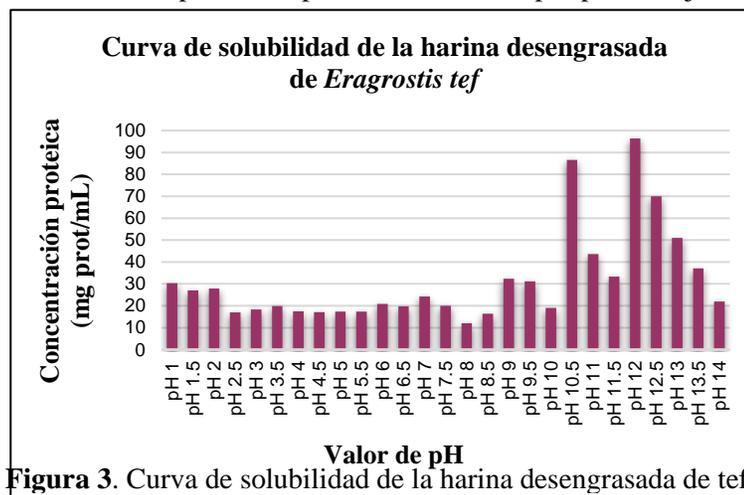


Figura 3. Curva de solubilidad de la harina desengrasada de teff

eléctrica neta de los polímeros a ese determinado pH es cero, lo que favorece en mayor grado la interacción proteína-proteína obteniendo así una máxima

acuerdo con Quelal *et al.* (2019), obtuvieron un aislado proteico de la harina desengrasada de quinua, empleando agua destilada en una relación 1:10 (p/v), realizando la extracción de proteínas a pH 9.0 durante una hora y una vez obtenido el sobrenadante realizaron la precipitación isoelectrica a pH 4.5, obteniendo así un aislado con una concentración proteica de 72.81%. Por otra parte, en un estudio realizado por Qi *et al.* (1997), obtuvieron un aislado proteico de la harina desengrasada de soya realizando la extracción de proteínas a pH 9.0 y precipitándolas a pH 4.5, obteniendo un aislado que contenía el 92% de proteínas. Comparando con los resultados obtenidos por Quelal *et al.* (2019) y Qi *et al.* (1997) se puede concluir que la determinación de los pH de extracción y de precipitación del sustrato a emplear, son factores determinantes a la hora del proceso de aislamiento; comparando las concentraciones proteicas resultantes, estas son muy cercanas a la obtenida en este estudio, recordando que un aislado proteico es aquel que contiene cerca del 90% de proteínas, por lo cual se denota la eficiencia del proceso realizado para la obtención de la fracción proteica.

Como se mencionó anteriormente, los aislados proteicos son altamente insolubles, por ello que en la Fig. 4 se muestre la curva de solubilidad del aislado proteico de teff empleando el método de Bradford para dicha determinación. Se observa precipitación proteica. Quelal *et al.* (2019) señala que los rangos de mayor precipitación de proteínas suelen ser entre 4.0 y 4.5, por lo que se decidió utilizar el pH 4.0. Una vez obtenidos los valores del pH de extracción y de precipitación se realizó la obtención del aislado proteico.

Para la determinación proteica basada en el método de micro Kjeldhal, considerando el factor de conversión de 6.25 y el contenido de nitrógeno obtenido de 14.12%, la concentración proteica del aislado de teff fue del 88.29%. Cabe resaltar que el método ha sido empleado en

lugar del método de Bradford debido a la gran insolubilidad de las muestras, lo cual ocasionaba un alto margen de error con las lecturas de proteínas por espectrofotometría. De que las muestras parecieran tener un alto contenido proteico (que van desde 15.71 mg prot/mL hasta 108.59 mg prot/mL), incluso más que el obtenido en la harina desengrasada, sin embargo, este método no es el más apto para este tipo de muestras ya que puede haber interferencias entre la unión del colorante (azul de coomassie) y las proteínas debido a la poca solubilidad que presentan, lo cual generaría resultados imprecisos sobre la concentración proteica. Por esta razón, se optó por utilizar el método de Kjeldhal debido a su alta confiabilidad.

Con el aislado proteico obtenido y adecuadamente liofilizado, se realizó la hidrolisis empleando la enzima Alcalasa (pH óptimo: 8.0, temperatura: 50°C, concentración de sustrato: 5%, y cumpliendo con la relación enzima-sustrato: 0.3 UA/g de proteína) y la enzima Flavourzima (pH óptimo: 7.0,

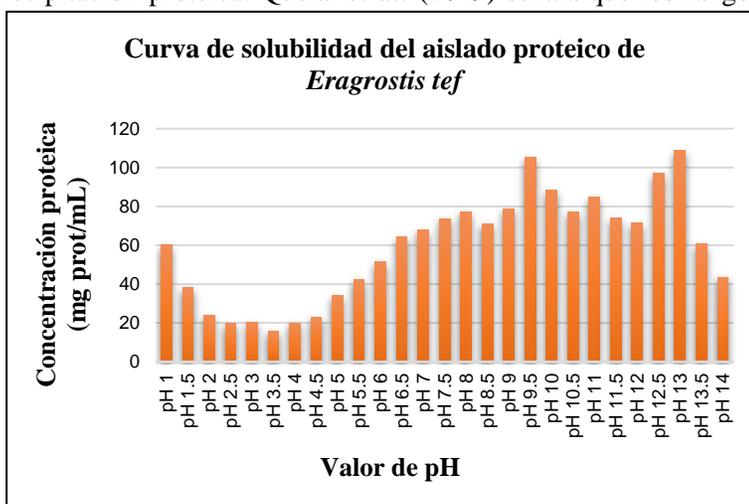


Figura 4. Curva de solubilidad del aislado proteico de teff

temperatura: 50°C, concentración de sustrato: 5%, y cumpliendo con la relación enzima-sustrato: 50 LAPU/g de proteína).

La concentración proteica de los distintos hidrolizados obtenidos utilizando la enzima Alcalasa se muestra en la Fig. 5, donde es posible apreciar la disminución del contenido proteico al transcurrir el tiempo durante proceso de hidrolisis con respecto a la concentración inicial (456.3392 mg prot/mL), siendo evidente el aumento de la concentración proteica con respecto a las fracciones previamente analizadas, lo cual denota el efecto de la enzima y de la temperatura con el paso del tiempo con respecto a la conformación proteica del complejo.

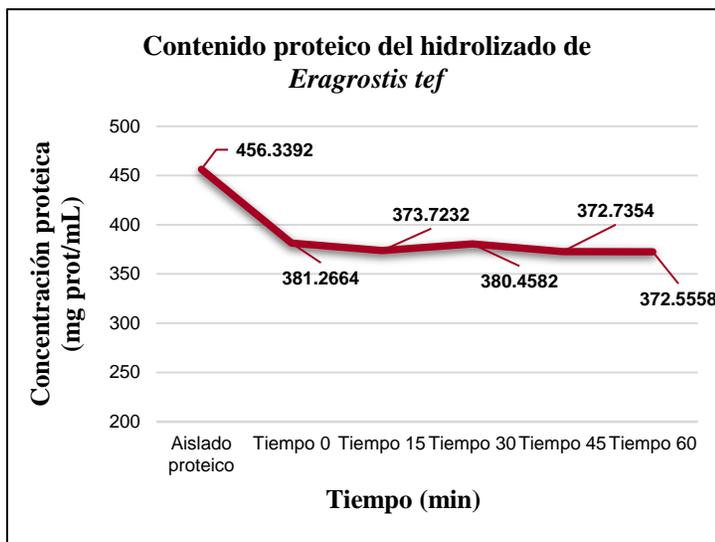


Figura 5. Concentración proteica del hidrolizado de teff empleando Alcalasa con respecto al tiempo

Por otro lado, en la Fig. 6 se muestra la determinación proteica utilizando la enzima Flavourzima, en la cual se puede apreciar que al inicio el contenido proteico fue de 428.4114 mg prot/mL y al transcurrir el tiempo se vuelve a reflejar una disminución, ya que a los 60 minutos de hidrolisis se reportó una concentración final de 374 mg prot/mL. De acuerdo con el estudio realizado por Nazate (2016), obtuvo un hidrolizado proteico de quinua empleando la enzima papaína con una relación enzima sustrato del 0.159 UA/g de proteína, a una temperatura de 65°C a pH 6.5, el cual tuvo una concentración proteica de 73.41%, lo cual denota la importancia de la selección enzimática para realizar los hidrolizados, donde una endoproteasa y una exoproteasa terminarán generando péptidos con diferente conformación y tamaño, a lo cual se le podrá atribuir su posible actividad biológica.

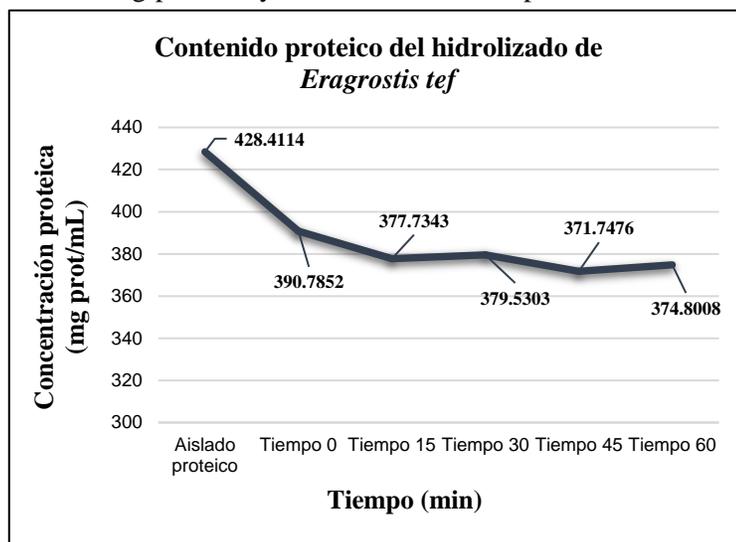


Figura 6. Concentración proteica del hidrolizado de teff empleando flavourzima con respecto al tiempo

El hidrolizado de soya realizado por Munive (2009) presentó un contenido de proteína del 80.28% siendo menor al encontrado en el aislado de soya (84.79%), mostrando una disminución en el contenido proteico la cual puede deberse a que el hidrolizado fue sometido a congelación antes de ser liofilizado.

Comparando con Munive (2009), la disminución de la concentración proteica en este trabajo puede deberse a lo mismo, ya que antes de realizar el hidrolizado, el aislado proteico se mantuvo en congelación para posteriormente liofilizarlo, por lo cual al momento de ajustar la temperatura óptima para la enzima existe la posibilidad de que algunas proteínas se desnaturalizaran.

Edwards (2019) menciona que las enzimas o proteasas más utilizadas para la hidrólisis enzimática de proteínas son la tripsina, quimiotripsina, pepsina y alcalasa, donde la especificidad de las enzimas afecta el tamaño, la composición de los aminoácidos libres y sus secuencias peptídicas, por lo que el uso de ellas puede influir en la bioactividad o en la naturaleza antioxidante de los hidrolizados resultantes.

Para la determinación de la actividad antioxidante se empleó el método DPPH, el cual consiste en que este radical posee un electrón desapareado de color azul-violeta que se decolora a amarillo pálido debido a la reacción en presencia de sustancias antioxidantes, midiendo la absorbancia a 517 nm (Ramos *et al.*, 2008).

En la Fig. 7 se muestran los valores obtenidos de captación de DPPH de la actividad antioxidante utilizando la enzima alcalasa, los cuales oscilan entre el 60 y 66%, registrando su valor más elevado a los treinta minutos después de agregar la enzima (tiempo 30) con un 66.61% en comparación con el BHT con un 89.84%. De acuerdo con Niño *et al.* (2019), la actividad antioxidante está relacionada con las secuencias peptídicas que se liberan durante la hidrólisis, debido a que entre más pequeño sea el péptido mayor actividad tendrá. También su actividad biológica puede estar relacionada con la composición de aminoácidos, el grado de hidrólisis y la distribución de los péptidos donantes de electrones capaces de reaccionar con los radicales libres para así poder convertirlos en productos más estables (Islam *et al.*, 2021).

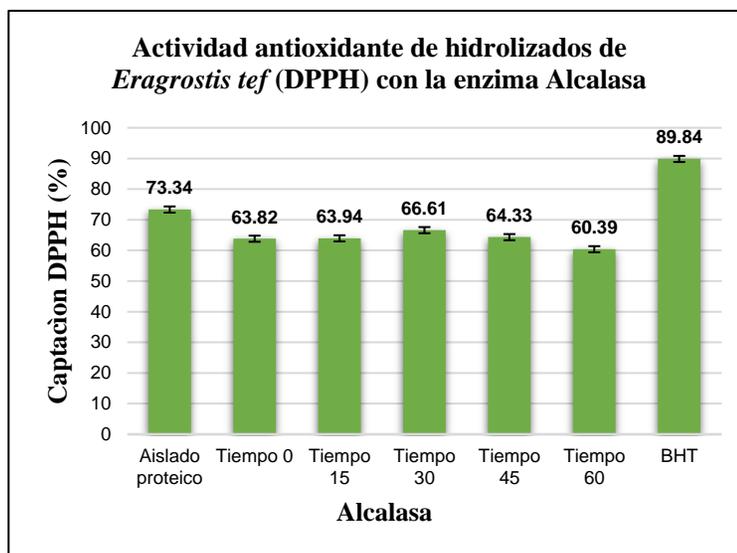


Figura 7. Actividad antioxidante de los hidrolizados de teff empleando la enzima alcalasa

Por otro lado, en la Fig. 8 se muestran los resultados obtenidos de la actividad antioxidante empleando la enzima flavourzima, en la cual se observa mayor actividad a los 45 minutos del proceso de hidrolisis presentando una captación del 66.61% en comparación al BHT. El porcentaje de captación varía de acuerdo con el tiempo de reacción observando valores entre el 58 y 66%.

En un estudio realizado por Niño *et al.* (2019) determinaron la actividad antioxidante del amaranto empleando el método DPPH. Para esto, utilizaron hidrolizados de amaranto realizados con las enzimas alcalasa y flavourzima resultando con una actividad antioxidante de 340.17 $\mu\text{mol ET/mL}$ y 281.92 $\mu\text{mol ET/mL}$ (μmol equivalente de Trolox por mililitro) respectivamente. En otro estudio realizado por Islam *et al.* (2021) se empleó el método DPPH en hidrolizados de proteína de musculo de tortuga empleando enzimas como flavourzima y alcalasa, dando como resultado un porcentaje de captación del 68.32% y 57.45% respectivamente, obteniendo así una mayor actividad con el uso de la flavourzima.

En base a los resultados de la Fig. 7 y 8, es evidente que existe una mayor captación del radical DPPH en el aislado proteico, lo cual indica que el aislado de teff posee una actividad antioxidante del 70-73%, siendo mayor a la obtenida por los hidrolizados que fue de 66.61%. Dicho comportamiento es similar a lo reportado por Cárdenas (2016) donde el aislado proteico de chíá presentó una actividad antioxidante del 95.98%.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación, se demostró que la hidrolisis enzimática favorece la producción de biopéptidos con potencial actividad antioxidante, destacando los hidrolizados obtenidos empleando flavourzima a los 45 minutos (66.61%), seguidos de la alcalasa a los 30 minutos de iniciada la hidrolisis (66.61%).

CONCLUSIÓN

Los productos proteicos provenientes de teff presentaron una buena actividad antioxidante por lo que se sugiere su utilización en la elaboración de alimentos funcionales empleándolos como aditivos en la industria agroalimentaria. Esto podría aumentar el valor nutricional de los mismos, trayendo consigo beneficios para la salud humana, además de conferir diversas propiedades tecnofuncionales en los productos elaborados.

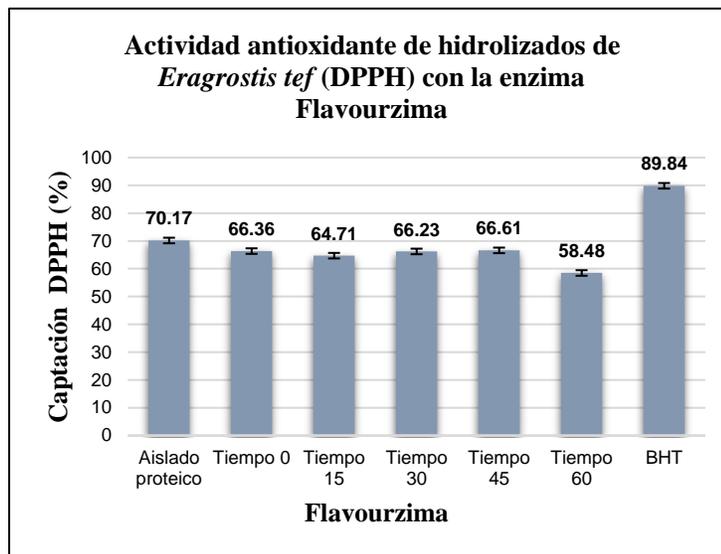


Figura 8. Actividad antioxidante de hidrolizados de teff empleando la enzima flavourzima

BIBLIOGRAFIA

- Abebe, W. (2015). El Tef: cultivo de interés en el desarrollo de alimentos: estudio de sus características y potencial industrial. Universidad de Valladolid. 11-19. Recuperado de <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/12341>
- Almazán, L., González, F., Mora, R., & Robles, M. (2016). Influencia del método desengrasado en las características fisicoquímicas y estructurales de aislados proteicos de cacahuete. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1(1): 91
- Baye, K. (2014). Teff: nutrient composition and health benefits. Working Paper 67 Ethiopian Strategy Support Program. Addis Ababa Ethiopia. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/266316373_Teff_Nutrient_Composition_and_Health_Benefits
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 42(2): 227-232.
- Cárdenas, M. (2016). Obtención de aislados proteicos de chía (*Salvia hispánica* L.) y evaluación in vitro de su digestibilidad gastrointestinal, actividad antiinflamatoria y antioxidante. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. 46. Recuperado de: <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23819/1/AL606.pdf>
- Chaparro, S., Tavera, M., Martínez, J., & Gil, J. (2014). Propiedades funcionales de la harina y de los aislados proteicos de la semilla de guanábana (*Annona muricata*). *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1): 152.
- Colunga, J. (2008). Estudio del tratamiento de la fruta de *Jatropha curcas* L para la obtención de aceite y co-productos. Tecnológico de Monterrey. Monterrey, Nuevo León. 44-46.
- Echeverría, S., Ramírez, B., Medina, C., Magaña, E., Torres, P., & Ledesma, A. (2020). Actividad antioxidante de harinas de amaranto obtenidas por extrusión y análisis parcial de su calidad proteica in vivo. *Biotecnia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 22(1): 25.
- Edwards, J. (2019). The physicochemical properties of soy protein hydrolysate and its formulation and stability with encapsulated probiotic. *Graduate Theses and Dissertations*.
- Herrera, F., Mares, E., Del Rincon, M., Ordoñez, Ñ., & León, M. (2016). Analisis proteómico preliminar de las proteínas de reserva de la semilla de chicayota (*Cucurbita argyrosperma sororia*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y tecnología de Alimentos*. 1(2): 432-433.
- Islam, M, Hongxin, W., Admassu, H., Mahdi, A, Chaoyang, M. & Wei, F. (2021). In vitro Antioxidant Cytotoxic and Antidiabetic Activities of Protein Hydrolysates Prepared from Chinese Pond Turtle (*Chinemys reevesii*) *Food Technology and Biotechnology*. 59 (3), 360–375.
- Ketema, S. (1997). Teff. *Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 12. Institute of plant genetics and crop plant research, Gatersleben/Int. plant genetic resources institute, (IPGRI) Rome Italy. 7-19. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/245268437_Tef_Eragrostis_tef_Zucc_Trotter
- Martínez, J., Medina, O., & Zambrano, R. (2011). Estudio fisicoquímico funcional de los aislados proteicos en semillas de maracuya (*Passiflora edulis* f). *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 9(1): 72.
- Munive, P. (2009). Elaboración de un suplemento alimenticio en polvo para consumo humano a partir de una mezcla de hidrolizado de soya y almidón de maíz. Escuela Politecnica Nacional. p. 68. Recuperado de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1666/1/CD-2258.pdf>
- Nazate, K. (2016). Obtención de proteína hidrolizada de quinua *Chenopodium quinoa* willd a partir de un aislado proteico. Universidad Técnica del Norte. Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/5314>
- Niño, A., Sebastian, J., Pérez, E., Añorve, J., Rodríguez, G., Jiménez, R., Bautista, M., & González, L. (2019). Actividad antioxidante de proteína de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) hidrolizada por alcalasa y flavourzyme. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4. 11.

- Qi, M.; Hettiarachchy, N., & Kalapathy, U. (1997). Solubility and emulsifying properties of soy protein isolates modified by pancreatin. *J. Food Sci.* 62(6): 1110-1115.
- Quelal, M., Nazate, K., Villacrés, E., & Cuarán, J. (2019). Obtención y caracterización de un hidrolizado proteico de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd). *Revista Enfoque UTE*, 10(2): 80-83.
- Ramos, E., Castañeda, B., & Ibañez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev. Acad Peru Salud.* 15(1). 43.
- Umaña, G., Restrepo, L., Lopera, C., S., & Gallardo, C., (2012). Caracterización de harina de teff (*Eragrostis tef*) como materia prima alternativa para panificados libres de gluten. *Vitae*, 19(1): 228.