

Proteínas vegetales:

métodos de extracción, propiedades funcionales,
bioactivas y aplicaciones en alimentos

Y. I. Delgado-García* y J. I. Morales-Camacho

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

Correo electrónico: yolanda.delgadoga@udlap.mx • jocksan.morales@udlap.mx

RESUMEN

El uso de proteínas en la industria de alimentos, como ingrediente que mejore o aporte ciertas características sensoriales y nutricionales en los productos alimenticios, ha llevado al estudio de las propiedades tecnofuncionales y bioactivas de estos polímeros. Los métodos aplicados para producir proteínas modificadas que se pueden emplear de forma específica en ciertos productos bajo distintas condiciones de elaboración, y al mismo tiempo se aprovechen al máximo sus propiedades, también han sido explorados. Estas propiedades tecnofuncionales y bioactivas están en función de la estructura y conformación molecular de las proteínas, así como de los factores ambientales que las rodean. El objetivo de esta revisión es proporcionar información sobre las proteínas vegetales y su aplicación en alimentos, además del efecto que provocan las técnicas y condiciones de extracción e hidrólisis sobre la estructura molecular y propiedades funcionales y bioactivas de dichas proteínas.

Palabras clave: proteínas vegetales, extracción de proteínas, hidrolizados proteínicos, propiedades funcionales, propiedades bioactivas.

ABSTRACT

The use of proteins in the food industry as an ingredient that improves or provides certain sensory and nutritional characteristics in food products has led to the study of the techno-functional and bioactive properties of these polymers. The methods of obtaining applied to produce modified proteins that can be used specifically in certain products under different processing conditions, while at the same time taking full advantage of their properties, have also being studied. These techno-functional and bioactive properties are related to the structure and molecular conformation of the proteins, as well as the environmental factors that surround them. The objective of this review is to provide information on vegetable proteins and their application in food, in addition to the effect caused by the extraction and hydrolysis techniques and conditions on the molecular structure, functional and bioactive properties of these proteins.

Keywords: vegetable proteins, proteins extraction, protein hydrolysates, functional properties, bioactive properties.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se han cultivado poco más de 6,000 especies vegetales para producir alimentos, de las cuales solo 9 especies (caña de azúcar, maíz, arroz, trigo, papas, soya, el fruto de la palma de aceite, la remolacha y la yuca) representan más del 66 % de la producción total de cultivos (FAO, 2018), dejando fuera miles de especies con posible potencial como fuente de proteína alimentaria, la cual es importante en la dieta humana cuando se habla de nutrición. Así mismo, el encontrar nuevas proteínas vegetales ricas en aminoácidos esenciales es importante para la industria de alimentos, para poder utilizarlas en la preparación de alimentos balanceados nutricionalmente, e iguales en valor nutritivo que las proteínas de fuentes animales; así como en la sustitución de ingredientes para mejorar las características sensoriales y la estabilidad de los productos alimenticios, además de lograr responder a la demanda de una mejor nutrición y elevar la seguridad alimentaria mundial. Este interés por nuevas fuentes proteínicas ha llevado a un incremento en los estudios sobre el valor nutricional y las propiedades funcionales en proteínas aisladas de cereales, leguminosas, semillas oleaginosas, entre otras especies vegetales.

La extracción de proteínas de fuentes alimenticias puede realizarse por diversos métodos, sin embargo, suelen afectar la naturaleza y cantidad de proteína extraída. Estos métodos pueden emplear calor, cambios de pH, cambios en la fuerza iónica, solventes y filtros. Dichos factores afectarán la solubilidad, la composición y las características fisicoquímicas de los extractos. Cuando se realiza una extracción de la proteína presente en un alimento, se puede obtener el total de esta o separarla en fracciones o aislados dependiendo del método utilizado. También es posible obtener proteínas modificadas, a través de técnicas como la hidrólisis, que se puede desarrollar bajo condiciones químicas o enzimáticas.

La composición, estructura y propiedades fisicoquímicas de las proteínas están interrelacionadas, pues rigen su funcionalidad y actividad biológica en diferentes sistemas. Dicha funcionalidad,

a su vez es observada en el producto final del procesado de alimentos, y la actividad biológica en los beneficios que aporta a la salud humana. Por esto, la investigación de las propiedades funcionales y bioactivas de manera individual, junto con las mediciones de las propiedades fisicoquímicas de las proteínas, permiten correlacionar cada función y bioactividad con las especies proteínicas, su estructura, su composición y condiciones ambientales.

En la presente revisión se pretende proporcionar información sobre las proteínas vegetales y su aplicación en alimentos, además del efecto que provocan las técnicas y condiciones de extracción de dichas proteínas sobre la estructura molecular y sus propiedades funcionales y bioactivas.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Fuentes y características de las proteínas vegetales

Las proteínas vegetales son materiales útiles por ser seguras, altamente biocompatibles, nutritivas y de bajo costo, sin embargo, son deficientes en algunos aminoácidos esenciales. Las principales fuentes vegetales de proteína provienen de cereales, pseudocereales y leguminosas; aunque también ha habido investigaciones sobre otras fuentes como las especias, semillas, alfalfa y plantas comunes comestibles como las espinacas, sin embargo, las más estudiadas y usadas en la industria alimenticia son soya, garbanzo, frijol y cacahuate. Recientemente ha crecido el interés en los pseudocereales, tales como el amaranto, la quinua y el alforfón o trigo sarraceno por sus propiedades nutricionales (libres de gluten, alto contenido de proteínas y nutrientes esenciales) y funcionales. Además, estas especies tienen una gran adaptabilidad agroclimática, por lo que se han expandido a diferentes áreas geográficas (Alu'datt *et al.*, 2013; Mir, Riar y Singh, 2018; Piovesana *et al.*, 2018).

Las proteínas provenientes de fuentes vegetales se dividen en cuatro categorías: albúminas, globulinas, prolaminas y glu-

telinas, de acuerdo con su solubilidad en diferentes solventes, como agua, solución salina, alcohol y solución alcalina, respectivamente. Esta clasificación ayuda a entender las características nutricionales y funcionales de las plantas como fuente de alimento, por ejemplo, las proteínas que poseen los pseudocereales tienen un mejor balance de la composición de aminoácidos y valores biológicos más altos que los cereales. Se sabe que el trigo, como muchos otros cereales, tiene abundantes fracciones de prolaminas y glutelinas en su composición proteínica, las cuales juegan un papel tecnofuncional importante. En contraste, en la mayoría de las leguminosas, las fracciones proteínicas más abundantes en su composición son las albúminas y las globulinas; las mismas que predominan en los pseudocereales. En cuanto a la composición de aminoácidos, se puede encontrar mayores cantidades de lisina en los pseudocereales y leguminosas que en los cereales, ya que es el aminoácido limitante en estos últimos. También se encuentran proporciones superiores de aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína en los pseudocereales, en comparación con algunas leguminosas y cereales (Chen *et al.*, 2018; Janssen *et al.*, 2017; Mir *et al.*, 2018).

2. Extracción de proteínas vegetales

Las proteínas con frecuencia se encuentran en bajas concentraciones en el material biológico crudo, por eso es necesario aplicar procesos que permitan extraerlas con un alto rendimiento y pureza, y que al mismo tiempo mantengan su función biológica. Dependiendo de la pureza que se desee obtener de la proteína, se pueden aplicar diversas técnicas de prepurificación, como la filtración, centrifugación y precipitación con sulfato de amonio y/o solventes orgánicos, y series o combinaciones de sistemas de purificación de alta resolución basados en cromatografía. Los métodos más empleados para extraer, aislar o concentrar proteína son la precipitación por calor, precipitación isoeléctrica, extracción por solubilidad (método de Osborne) y los ya mencionados anteriormente (Franco-Vega, Palou, Ramírez-Corona y López-Malo, 2017; Lee, Khoiroh, Ooi, Ling y Show, 2017).

La extracción de proteínas puede inducir cambios en la conformación y/o estructura, y en algunos casos puede desnaturar (parcialmente), y de este modo afectar las propiedades tecnofuncionales, como es el caso de las propiedades espumantes y de formación de geles. La secuencia de Osborne es un método que fue desarrollado para extraer fracciones de proteínas de granos y semillas de manera secuencial y en función de su solubilidad en distintos medios; de esta manera se pueden clasificar las fracciones para el estudio posterior de sus propiedades funcionales, fisicoquímicas y su estructura. A partir de este método se han realizado diversos estudios profundos que establecen la relación estructura-función para poder entender las estructuras primaria, secundaria y terciaria de las proteínas y sus fracciones. Por otro lado, las propiedades tecnofuncionales de cualquier tipo de proteína pueden mejorarse con la aplicación de tratamientos enzimáticos, calentamiento moderado o fosforilación, o mediante la hidrólisis enzimática con proteasas para modificar las propiedades funcionales y bioactivas de las proteínas o sus fracciones (Janssen *et al.*, 2017).

2.1. Aislados proteínicos

Las proteínas son macronutrientes compuestos por aminoácidos y son necesarias para el crecimiento y función del cuerpo humano, y en general de los seres vivos. Las proteínas en sus fuentes naturales normalmente están acompañadas de otros componentes. En la obtención de aislados proteínicos se busca eliminar o disminuir los componentes no proteínicos para conseguir un producto final con la concentración más alta de proteínas posible, esta característica es la que diferencia a los aislados de otros productos proteínicos como las harinas y concentrados. Los aislados proteínicos tienen ciertas características que mejoran las propiedades sensoriales (color y sabor) y funcionales, por esta razón son utilizados como ingredientes en bebidas, productos texturizados o alimentos especializados. Sin embargo, para la obtención de los aislados de proteína de fuentes biológicas pueden utilizarse diversas técnicas (Adenekan, Fadimu, Odunmbaku y Oke, 2018; Damodaran y Parkin, 2017; Garba y Kaur, 2014).

2.1.1. Tratamientos de obtención

Existen varios métodos de extracción de proteínas para diferentes fuentes vegetales, entre estos métodos se incluyen factores como el pH, la temperatura, el tiempo de extracción y la proporción sólido/líquido que pueden afectar el rendimiento de extracción. Sin embargo, una buena técnica de obtención de los aislados asegura una proteína altamente purificada. Dentro de los tratamientos que se aplican para la obtención de proteínas se encuentra la precipitación alcalina isoelectrica, que es el método comúnmente aplicado en la industria de extracción de proteínas. También se pueden obtener aislados por precipitación con metanol, extracción con agua, extracción con sulfato de amonio, precipitación con acetona, precipitación salina, termocoagulación, ultrafiltración o tratamientos con altas presiones, entre otros. Las altas presiones se aplican, en general, para formar estructuras entre las proteínas, modificando así su composición nutricional o sabor. Su aplicación sobre las proteínas lleva al rompimiento de los enlaces hidrofóbicos e interacciones electrostáticas, provocando por lo tanto cambios en su conformación. El grado de modificación que puede sufrir una proteína en alguna de sus propiedades depende tanto del tratamiento de altas presiones aplicado, como del tipo de proteína, pH y fuerza iónica de esta (Adenekan *et al.*, 2018; Damodaran y Parkin, 2017; Deng *et al.*, 2014; Yin, Tang, Wen, Yang y Li, 2008; Janssen *et al.*, 2017).

La aplicación de tratamientos o pretratamientos en la obtención de aislados proteínicos, en los que se hacen cambios bruscos del pH pueden mejorar algunas propiedades como la formación y estabilidad de espumas, ya que se reduce la tensión en la interfase al desdoblar parcialmente las proteínas (Janssen *et al.*, 2017).

2.1.2. Efectos en la estructura y conformación de las proteínas

La aplicación de calor en la extracción de proteínas puede afectar sus propiedades funcionales y de conformación, por ejemplo, en el caso de proteínas de amaranto en condiciones alcalinas

y tratadas a 90 °C, la solubilidad disminuye porque la fracción de globulinas sufre agregación; a 70 °C la hidrofobicidad de la superficie disminuye; a 50 °C hay desdoblamiento parcial de la proteína porque se forman agregados de alto peso molecular. Estos cambios también son influenciados por el pH, pues a pH 9.0 la proteína es más sensible al calor que a pH 11.0. En la proteína 11S globulina de la quinua también se observa que el efecto del tratamiento térmico (100 °C) depende del pH, pues a pH 8.5 o 10.5 hay rompimiento de los enlaces disulfuro que conectan las subunidades ácidas con las básicas; mientras que a pH 6.5 los enlaces covalentes permanecen intactos. Sin embargo, en cualquier valor de pH hay incremento en la hidrofobicidad de la superficie de la proteína. Los cambios en las propiedades de la superficie que ocurren durante el tratamiento térmico en condiciones alcalinas pueden deberse a la desamidación de los residuos de glutamina y asparagina, o al incremento del contenido de los grupos SH libres que se generan (Janssen *et al.*, 2017).

El uso de altas presiones para la obtención de estructuras entre proteínas provoca una reducción del número de enlaces no covalentes, dando como resultado una proteína desdoblada parcialmente, esto se produce con el propósito de incrementar los niveles de grupos sulfhidrilo de los residuos de cisteína, para que estén más accesibles a las reacciones de intercambio entre dichos grupos y, por lo tanto, se formen las estructuras. Por otro lado, se ha visto que en las proteínas extraídas de alforfón aplicando tratamientos de inflado, la hidrofobicidad de la superficie se reduce (Janssen *et al.*, 2017).

2.2. Hidrolizados proteínicos

Los hidrolizados proteínicos son péptidos de diferentes tamaños y aminoácidos libres obtenidos de la extracción de una proteína al sufrir un ataque nucleofílico de una molécula de agua sobre el enlace peptídico, entre los grupos amino y el carboxilo del aminoácido adyacente, catalizado por una peptidasa, provocando el rompimiento (hidrólisis) del enlace peptídico. Los hidrolizados puede clasificarse en tres grupos según su aplicación determinada por el grado de hidrólisis, es decir, por el porcen-

taje de enlaces peptídicos rotos: hidrolizados con alto grado de hidrólisis, usados generalmente como suplementos nutricionales y en dietas médicas especiales; hidrolizados con varios grados de hidrólisis, empleados como saborizantes; e hidrolizados con bajo grado de hidrólisis y características funcionales mejoradas (Karami y Akbari-adergani, 2019; Wouters, Rombouts, Fierens, Brijs y Delcour, 2016).

2.2.1. Tratamientos de obtención

La hidrólisis de proteínas es una herramienta que se utiliza para modificar las propiedades funcionales, nutricionales y bioactivas de las proteínas nativas, la cual puede realizarse mediante procesos enzimáticos o químicos. En estos últimos se incluyen la hidrólisis ácida y la alcalina que tienen la desventaja de ser difíciles de controlar en comparación con la enzimática, ya que se desarrolla en condiciones menos extremas de pH y temperatura, evitando así la pérdida del valor nutricional de la proteína. Una desventaja que presenta el tratamiento con enzimas es que no son capaces de hidrolizarlas totalmente, pues van perdiendo su actividad. Las proteínas pueden ser susceptibles a la hidrólisis enzimática con proteasas digestivas debido a factores como su solubilidad, complejidad estructural y composición de aminoácidos; y en el caso de las vegetales, también por la presencia de inhibidores de proteasas específicos. También se puede realizar una hidrólisis limitada al obtener un grado de hidrólisis bajo, menor al 20 %; como pretratamiento para mejorar la capacidad de formar espumas y emulsiones de los hidrolizados (Agyei, Ongkudon, Wei, Chan y Danquah, 2016; Janssen *et al.*, 2017; Sáenz de Rodríguez, Medina, Moyano y Alarcón, 2011; Tavano, 2013).

El proceso de hidrólisis de las proteínas se lleva a cabo bajo ciertas condiciones físicas, como la aplicación de calor. Las variaciones en las condiciones de hidrólisis pueden mejorar el método tradicional de la solución de digestión; también se pueden aplicar métodos alternativos para la obtención de hidrolizados, un ejemplo de esto son las altas presiones hidrostáticas, que pueden aumentar los rendimientos y reducir los costos y tiempos de reacción. Otros métodos físicos de interés reciente son los

tratamientos con radiación, campos de pulsos eléctricos y ultrasonido (Kuan, Bhat, Patras y Karim, 2013; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo, Faria y Netto, 2009).

Dentro de las condiciones químicas que se necesitan para la obtención de los hidrolizados proteínicos, está el ajuste o modificación del pH, que es el factor principal que influye en el proceso, ya que puede alterar el grado de hidrólisis; como se observó en hidrolizados de quinua que tuvieron un bajo grado de hidrólisis a pH alcalino (Janssen *et al.*, 2017; Tiengo *et al.*, 2009). Algunos métodos de extracción semiindustriales que se han utilizado para obtener fracciones proteínicas se basan en el uso de detergentes como el SDS y condiciones alcalinas para la posterior digestión *in vitro* con enzimas como la alcalasa (Montone *et al.*, 2018).

Las condiciones biológicas que se pueden aplicar en el proceso de hidrólisis son las requeridas para simular la digestión gastrointestinal o para la proteólisis con enzimas de plantas o microorganismos. En el caso de la proteólisis gastrointestinal, se utiliza una o la combinación de enzimas digestivas como pepsina, tripsina, quimotripsina y pancreatina para degradar las proteínas de alimentos; por ejemplo, para la pepsina normalmente se lleva a cabo en soluciones con un pH de 2.5 a 37°C y con un tiempo de reacción de entre 2 y 12 horas. También pueden obtenerse hidrolizados a partir de la fermentación con microorganismos proteolíticos, por ejemplo, el *Lactobacillus plantarum* que ha sido utilizado para fermentar frijoles y obtener péptidos bioactivos. Sin embargo, la hidrólisis enzimática tiene más ventajas que la fermentación en la obtención de péptidos bioactivos, ya que es más rápida y puede controlarse; además, los parámetros se pueden optimizar para que siempre se obtenga la misma composición de péptidos y perfiles de pesos moleculares. La hidrólisis enzimática es el proceso más adecuado para la producción de péptidos con una funcionalidad específica (Agyei *et al.*, 2016; Montone *et al.*, 2018; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo *et al.*, 2009).

En el proceso de hidrólisis enzimática, la elección de la enzima es fundamental cuando se desea obtener péptidos

bioactivos, pues esta puede alterar la actividad biológica de los péptidos. Existen enzimas que pueden ser específicas o no al sitio activo, por lo que las enzimas utilizadas son diferentes para la hidrólisis de distintas proteínas o para la obtención de hidrolizados con características y propiedades funcionales determinadas. También se pueden utilizar enzimas menos específicas, pero tienen la desventaja de que se pierde la información precisa de los péptidos obtenidos que se podría conseguir con el uso de las enzimas específicas. Un ejemplo es el uso de la alcalasa, una enzima poco específica, pero en la hidrólisis de proteínas de soya, salvado de arroz y papa, los resultados del grado de hidrólisis han demostrado ser superiores respecto a otras enzimas probadas. No obstante, se ha visto que los hidrolizados producidos por tripsina tienen una actividad antioxidante más alta que los producidos por proteasas neutras o alcalinas (Piovesana *et al.*, 2018).

2.2.2. Efectos en la estructura y conformación de las proteínas

La hidrólisis de proteínas provoca la reducción del peso molecular, el incremento de los grupos ionizables en el medio (por la liberación proporcional de un gran número de grupos terminales de cadenas proteínicas, al número de enlaces peptídicos hidrolizados) y la exposición de grupos hidrofóbicos del centro de la proteína, que producen diferentes alteraciones en las interacciones ambientales de esta. Estos cambios dependen tanto de las condiciones ambientales como de las condiciones de la hidrólisis (especialmente la proteasa utilizada y el grado de hidrólisis desarrollado). El resultado de la hidrólisis es la transformación de las proteínas en un extracto de péptidos que contiene diferentes porcentajes de péptidos de diversas dimensiones, aminoácidos libres y moléculas intactas de la proteína nativa. Dependiendo del pH del medio, los grupos amino terminal y carboxilos liberados pueden estar en su forma protonada o disociada, lo que produce una alteración en las interacciones de la proteína con el medio, llegando incluso a cambiar el pH global del alimento. Las condiciones de la hidrólisis deben ser las adecuadas para que la funcionalidad de la proteína no se pierda, por ejemplo, cuando se aplica la hidrólisis enzimática limitada para optimizar la formación de espumas, se favorece la migración de proteínas en la interfase aire/agua y las hace más flexibles,

mejorando así los reordenamientos conformacionales en la interfase. La hidrólisis de las proteínas no solo afecta su estructura y conformación, sino también las propiedades de la matriz del alimento. Cuando se utilizan enzimas pueden observarse efectos positivos como la modificación de la calidad sensorial (como textura y sabor), el mejoramiento de la digestibilidad, la reducción del efecto alergizante o la liberación de los péptidos bioactivos. Por otro lado, el uso de la hidrólisis ácida puede llevar a la pérdida de componentes de las proteínas y/o generar compuestos con efectos nocivos a la salud humana. Igualmente, un protocolo de hidrólisis mal diseñado puede producir efectos sensoriales desagradables como la acumulación de péptidos con sabor amargo (Janssen *et al.*, 2017; Tavano, 2013; Tavano, Berenguer-Murcia, Secundo y Fernandez-Lafuente, 2018).

3. Propiedades tecnofuncionales de las proteínas

La utilización de proteínas en sistemas alimentarios depende de las propiedades fisicoquímicas y tecnofuncionales que posean, estas últimas corresponden a las funciones no nutricionales que determinan el desempeño/funcionamiento de las proteínas en una matriz alimentaria, tales como la solubilidad, la coagulación por calor, la estabilidad térmica, la actividad emulsionante, la capacidad de formar espumas y su estabilidad, y la formación de geles. Estas características tecnofuncionales vienen del equilibrio entre la estructura tridimensional nativa de la proteína y las continuas transiciones de su conformación estructural, dicho equilibrio conformacional se acopla regularmente a alteraciones en la estructura secundaria o terciaria de la proteína, y con su relación superficie-actividad. Sin embargo, las propiedades tecnofuncionales de las proteínas extraídas de alimentos pueden ser afectadas por las condiciones específicas de extracción, ya que pueden desencadenar cambios en la conformación de la proteína. En la tabla I se muestran algunos ejemplos de las propiedades tecnofuncionales que más destacan de los aislados o hidrolizados proteínicos obtenidos de distintas fuentes vegetales, aplicando diversos métodos de extracción (Tavano *et al.*, 2018; Janssen *et al.*, 2017; Carrazco-Peña *et al.*, 2013).

3.1. Solubilidad

La solubilidad de una proteína es determinada por interacciones electrostáticas e hidrofílicas, y puede mejorarse después de

Tabla I. Propiedades tecnofuncionales de proteínas de diversas fuentes vegetales extraídas por diferentes técnicas

Técnica de extracción	Propiedad(es) tecnofuncional(es)	Fuente vegetal	Referencia
Precipitación isoelectrónica	Absorción de agua, solubilidad en agua, actividad espumante	Soya y maíz	Soria-Hernández, Serna-Saldívar y Chuck-Hernández, 2015
	Solubilidad en agua, espumante	Soya verde	Brishiti <i>et al.</i> , 2017
	Solubilidad en agua y emulsionante	Semillas de kiwi	Deng <i>et al.</i> , 2014
	Solubilidad	Semillas de calabaza	Bucko, Katona, Popovic, Vastag y Petrovic, 2016
	Absorción de agua y aceite	Ajonjolí	Olasunkanmi, Omolayo y Olusegun, 2017
Precipitación isoelectrónica y tratamiento térmico	Estabilización de emulsiones	Chícharos	Peng <i>et al.</i> , 2015
Precipitación alcalina	Absorción de agua, estabilizante de emulsiones	Chía	López <i>et al.</i> , 2018
Precipitación alcalina y extracción salina	Emulsionante y estabilizante de emulsiones	Semillas de tomate	Sakar, Kamaruddin, Bentley y Wang, 2016
Extracción salina	Formación y estabilidad de espumas	Semillas de flor de Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	Mahgoub-Salah y Elbashir-Hayat, 2009
Precipitación alcalina con ultrasonido	Solubilidad y emulsionante	Semillas de uva	Zhou, Zhang, Liu y Zhao, 2011
	Retención de agua y aceite, emulsionante	Frijol del Ganxet	Lafarga, Álvarez, Bobo y Aguiló-Aguayo, 2018
Ultrasonido	Solubilidad, emulsionante y espumante	Semillas de Girasol	Malik, Sharma y Saini, 2017
	Solubilidad, emulsionante, espumante y fuerza del gel	Semillas de ciruela	Xue <i>et al.</i> , 2018
	Emulsionante y solubilidad	Soya, chícharo y arroz	O'Sullivan, Murray, Flynn y Norton, 2016
Altas presiones hidrostáticas	Solubilidad	Frijoles	Yin <i>et al.</i> , 2008
	Emulsionante	Soya	Manassero, Beaumal, Vaudagna, Speroni y Anton, 2018
		Camote	Khan, Mu, Sun, Zhang y Chen, 2015
	Emulsionante y espumante	Chícharo	Chao, Jung y Aluko, 2018

aplicar un proceso de hidrólisis, pero la mejora será proporcional al incremento de los nuevos grupos terminales amino y carboxilo producidos por la ruptura de los enlaces peptídicos. Esta propiedad puede servir de guía para la funcionalidad general de una proteína, debido a que se relaciona directamente con otras propiedades funcionales como la emulsionante y espumante en aislados proteínicos. Una de las características intrínsecas de las proteínas que puede influir en estas propiedades es la carga de su superficie, la cual se ve afectada por el pH del medio. Así, a valores de pH arriba o debajo del punto isoelectrico, la carga de las proteínas puede ser positiva o negativa, lo que favorece las repulsiones electrostáticas que llevan a un incremento en la solubilidad de las proteínas. Estudios reportan que la solubilidad de las proteínas de amaranto se reduce cuando son obtenidas en condiciones de fuerzas iónicas altas, pH alcalino y temperatura ambiente; aunque en general, la solubilidad de las proteínas de los pseudocereales es pobre en pH ácido, pero a pH alcalino alcanzan porcentajes de solubilidad de 50 hasta el 100 %. Algunas tecnologías como el ultrasonido (tabla I) pueden mejorar la solubilidad de proteínas poco solubles, como la de soya, chícharo y semillas de girasol (Chen *et al.*, 2018; Damodaran y Parkin, 2017; Janssen *et al.*, 2017; Shevkani Singh, Rana y Kaur, 2014).

3.2. Formación de geles

Las proteínas globulares tienden a formar geles en estructuras de red después de aplicar calor por arriba de la temperatura mínima de desdoblamiento de la proteína. Este fenómeno se ha visto en la globulina 11S del amaranto, en la cual se produce un incremento en los niveles de hidrofobicidad en su superficie, disminuyendo así su solubilidad y formando geles (Carrasco-Peña *et al.*, 2013). Los geles pueden formarse con una estructura ordenada si hay altas concentraciones de proteína. El peso molecular de las proteínas también interviene en las características de los geles formados, como la elasticidad, dureza, fracturabilidad y cohesividad. La estabilidad de los geles se debe a los puentes disulfuro formados del intercambio de grupos sulfhidrido/disulfuro de las reacciones de desnaturalización de las globulinas

y albúminas. Los enlaces no covalentes (puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas principalmente) también participan en la estabilización de los geles, pero en menor grado que los puentes disulfuro (Janssen *et al.*, 2017; Shevkani *et al.*, 2014).

3.3. Formación de emulsiones

La capacidad emulsionante es una de las propiedades funcionales más importantes que afecta la aplicación de las proteínas en la formulación de alimentos y, como se mencionó anteriormente, la carga de la proteína influye en esta propiedad, de manera que cuando la carga es nula, el péptido o proteína no puede moverse a la interfase, por eso deben permanecer fuera de su punto isoelectrico. En la formación y estabilidad de espumas, las proteínas actúan en la interfase como agentes activos de la superficie, gracias a su baja tensión y a que forman una película continua y altamente viscosa por medio de complejas interacciones moleculares. Además, de la misma manera que en la solubilidad y la formación de emulsiones, la carga de la proteína en determinado pH puede alterar la capacidad y estabilidad de las espumas formadas. El efecto del pH se ha observado con las proteínas de amaranto, en las que la actividad emulsionante es baja, cerca del punto isoelectrico; asimismo, hay mejor espumado y estabilidad de las espumas a pH 2.0 que a pH 8.0, debido a que las proteínas en pH ácido presentan rápida difusión y/o adsorción en la interfase aire/agua, y a que la película que forman es más viscoelástica y flexible. No obstante, la formación de emulsiones puede mejorarse si se aplica un pretratamiento térmico, para generar una desnaturalización parcial de las globulinas que llevará a la exposición de los grupos hidrofóbicos. El uso de ultrasonido también puede mejorar la capacidad emulsionante y la estabilidad de las emulsiones de algunas proteínas (tabla I) como la de chícharo y semillas de girasol, pues baja la tensión de la interfase. De igual manera, la aplicación de altas presiones hidrostáticas mejora las propiedades emulsionantes de las proteínas de camote, chícharo y soya para poder emplearlas en la industria (Chen *et al.*, 2018; Damodaran y Parkin, 2017; Janssen *et al.*, 2017; Shevkani *et al.*, 2014).

3.4. Aplicaciones en alimentos

Las aplicaciones de los aislados de proteínas vegetales en la formulación de alimentos como sustitutos de otros ingredientes pueden ayudar a mejorar sus características sensoriales, aunque esto no siempre es así, y se debe a que no poseen las mismas propiedades funcionales o no en el mismo nivel de funcionalidad, por ejemplo, el uso de la harina de pseudocereales como sustituto parcial de la de trigo para elaborar pan provoca que se debilite la fuerza de la red viscoelástica del gluten y la capacidad de atrapar gas. Sin embargo, la combinación de pseudocereales con arroz o almidón de papa para elaborar panes libres de gluten mejora el volumen específico del pan y la suavidad de la miga. El gluten de trigo también tiene la habilidad única de dar fuerza y viscoelasticidad a la masa de pastas y fideos; estas propiedades dan los atributos de apariencia, textura y calidad en la cocción característicos de las pastas; no obstante, es un reto lograr incorporar harinas de otras fuentes vegetales, y que las características y propiedades sensoriales de los productos finales sigan siendo iguales a la formulación original. En algunos estudios se probaron diferentes formulaciones de pastas, y se observó que, al fortificar la pasta con proteína aislada de alforfón, su calidad fue limitada, debido a la fracción proteínica insoluble en agua de la proteína añadida. Además, en pastas libres de gluten a partir de pseudocereales, se obtuvieron productos con menos firmeza y requerían tiempos de cocción más cortos que las pastas de trigo. Cuando se incluyó amaranto en la formulación de pasta a partir de arroz, el resultado fue el incremento en la solubilidad de la proteína, pero no hubo pérdidas durante la cocción. También se observaron efectos positivos en la firmeza de pastas extruidas a partir de amaranto y enriquecidas con arroz (Janssen *et al.*, 2017; Martínez, Ribotta, Añón y León, 2014).

Gracias a la capacidad de absorción de agua y aceite de las proteínas, los aislados proteínicos de diversas fuentes como soya o amaranto pueden utilizarse para la elaboración de salsas, sopas, masas, natillas y productos horneados para retener y mejorar los sabores, además de aportar cuerpo, espesamiento y viscosidad (Shevkani *et al.*, 2014). Los hidrolizados de soya y

maíz que tienen altos índices de solubilidad de agua y nitrógeno pueden ser utilizados en la elaboración de bebidas; los hidrolizados de soya con altos índices de absorción de agua funcionan bien como extensores para salchichas y embutidos; la harina de chícharo es buena opción como emulsionante para aderezos y otras formulaciones con alto contenido de grasa por su capacidad espumante y emulsionante (Soria-Hernández *et al.*, 2015). La proteína aislada de chía en condiciones alcalinas puede aplicarse como extensor o sustituto de carne en productos cárnicos o salchichas tipo emulsión por sus propiedades emulsionantes y su capacidad de absorción de agua y aceite (López *et al.*, 2018). Los aislados proteínicos de chícharo y arroz utilizados como extensores cárnicos en la elaboración de *nuggets* de pollo aumentaron el contenido de proteína y la capacidad de retención de agua del producto, también redujeron las pérdidas por cocción (Shoaib, Sahar, Sameen, Saleem y Tahir, 2018). Las proteínas aisladas de semillas de ciruela presentan buenas propiedades de formación de geles y emulsiones, por lo que resultan útiles en la elaboración de salchichas (Xue *et al.*, 2018). Las características físicas de la soya verde texturizada son muy similares a las de la soya comercial texturizada, por lo que funciona como su sustituto en este tipo de producto (Brishiti *et al.*, 2017).

4. Propiedades bioactivas de las proteínas

Las proteínas provenientes de plantas pueden mostrar propiedades protectoras de la salud porque participan en funciones fisiológicas y biológicas. Regularmente, las secuencias de aminoácidos están inactivas dentro de la proteína, pero al ser liberadas por hidrólisis, la bioactividad aparece. En los últimos años se ha mantenido una especial atención por los péptidos bioactivos, los cuales son fragmentos de proteínas compuestos por una cadena de 2 a 20 aminoácidos que tienen un efecto benéfico o influencia en funciones fisiológicas, como el tránsito intestinal, la absorción de nutrientes y efectos inmuno-modulatorios. Hay gran interés en la aplicación de péptidos bioactivos como auxiliares en tratamientos para enfermedades y padecimientos

como el cáncer, la diabetes y desórdenes inflamatorios (Algar y Mabesa, 2015; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo *et al.*, 2009).

Entre las bioactividades más importantes que han presentado los péptidos, están la antiproliferativa, antitumoral o anticancerígena, en las que los péptidos perturban sin especificidad la membrana de la célula cancerosa; la antimutagénica protege a las células de los agentes químicos que puedan dañarla genéticamente; la antiinflamatoria se observa mediante el bloqueo de los mediadores de inflamación en el organismo; la antimicrobiana puede funcionar como barrera de defensa contra hongos y bacterias; como opioide se presenta al inducir un efecto analgésico; la habilidad para unir metales como calcio, hierro, cobre y zinc se muestra al incrementar la solubilidad de estos; la actividad antioxidante se puede observar por mecanismos como atrapar radicales libres, donar electrones y/o unir metales; la antitrombótica se exhibe como anticoagulante o antiplaquetaria; la hipercolesterolémica que se asocia con la regulación de los niveles de colesterol a través de la reducción de la aciltransferasa colesterol coenzima A, entre otras. En la tabla II se muestran algunos ejemplos de las propiedades bioactivas mencionadas, que se presentan en los hidrolizados proteínicos obtenidos de distintas fuentes vegetales, aplicando diversos métodos de extracción (Hajfathalian, Ghelichi, García-Moreno, Sorensen y Jacobsen, 2018; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo *et al.*, 2009).

Estos efectos benéficos a la salud se han estudiado poco en péptidos derivados de proteínas de subproductos de frutas y vegetales. Sin embargo, las plantas pueden proveer una amplia variedad de compuestos bioactivos, por lo tanto, ofrecen grandes expectativas para el estudio de péptidos bioactivos. Algunas de las propiedades bioactivas que más han sido estudiadas, en relación con las propiedades estructurales de las proteínas y los péptidos, han demostrado que hay un alto grado de comportamiento estructura-actividad en péptidos bioactivos. De esta manera, se sabe que la estructura tridimensional de un péptido es influenciada por factores como la presencia de ciertos grupos funcionales y la naturaleza de los residuos de aminoácidos presentes, igual que en una proteína. También las características de la estructura secundaria, junto con la secuencia específica de aminoácidos son los factores de mayor importancia en la de-

terminación de las propiedades bioactivas de los péptidos. Otros parámetros estructurales que también son determinantes en la bioactividad son la presencia de las hélices peptídicas, la ciclación, la hidrofobicidad de la superficie, los momentos hidrofóbicos, la carga y tamaño de los dominios hidrofóbicos/hidrofílicos (Agyei *et al.*, 2018; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo *et al.*, 2009).

La actividad antihipertensiva se observa en los péptidos bioactivos que pueden inhibir la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la cual tiene un importante papel en la regulación de la presión sanguínea. El potencial antihipertensivo se debe a la composición de aminoácidos, la secuencia de la proteína y el método de obtención de los péptidos. En cuanto a su estructura, los péptidos se componen principalmente de cadenas con 2 a 12 aminoácidos, con altos contenidos de ácido glutámico y ácido aspártico, aminoácidos dicarboxílicos en la posición del nitrógeno terminal y residuos de aminoácidos de cadena ramificada como valina e isoleucina, y también de aminoácidos hidrofóbicos como triptófano, tirosina, fenilalanina o prolina en el carbono terminal. Estos péptidos bioactivos se han obtenido de diversas especies vegetales (tabla II) mediante métodos como la digestión gastrointestinal, hidrólisis enzimática y fermentación (Montone *et al.*, 2018; Piovesana *et al.*, 2018; Tiengo *et al.*, 2009).

Los péptidos antioxidantes generalmente están formados por cadenas de 3 a 6 aminoácidos y tienen un peso molecular más bajo que 1 kDa, se componen de residuos de aminoácidos hidrofóbicos, en particular por histidina, triptófano, fenilalanina, prolina, glicina, lisina, isoleucina y valina, como se reportó en péptidos derivados de proteínas de garbanzos. Las posiciones de los aminoácidos son importantes para que se presente la actividad antioxidante, un caso típico es la valina o leucina en la posición del nitrógeno terminal de péptidos que contienen prolina, histidina o tirosina, también en péptidos con lisina y serina-leucina / tirosina-leucina / prolina-leucina en el nitrógeno y carbono terminales, los cuales se han encontrado en péptidos de arroz, camote, garbanzo y maíz (tabla II). Estos péptidos se obtuvieron por métodos como la hidrólisis enzimática y fermentación (Montone *et al.*, 2018; Piovesana *et al.*, 2018).

Los péptidos con actividad opioide obtenidos de alimentos se llaman «exorfinas», para distinguirlos de los endógenos del

Tabla II. Propiedades bioactivas de hidrolizados proteínicos de diversas fuentes vegetales obtenidos por diferentes métodos

Técnica de extracción o hidrólisis	Propiedad(es) bioactiva(s)	Fuente vegetal	Referencia
Digestión gastrointestinal	Inhibidora de ECA ^a	Residuos de coliflor, okra	Montone <i>et al.</i> , 2018; Castillo, Angelia, Torio y Belina-Aldemita, 2017
	Antidiabética	Quinua	Piovesana <i>et al.</i> , 2018
	Antioxidante	Salvado de arroz, residuos de coliflor	Montone <i>et al.</i> , 2018; Piovesana <i>et al.</i> , 2018
Hidrólisis enzimática	Antioxidante, opioide, quelante de calcio, hipocolesterolémica, anticancerígena, antiobesidad, ansiolítica	Soya	Piovesana <i>et al.</i> , 2018
	Antioxidante, inhibidora de ECA, opioide, antimicrobiana	Maíz	
	Antioxidante, inhibidora de ECA, antimicrobiana, anticancerígena, antitrombótica, antiobesidad	Papa	
	Opioide y antimicrobiana	Trigo	Dhaval, Yadav y Purwar, 2016
	Anticancerígena	Quinua	
	Ansiolítica	Espinacas	
	Hipocolesterolémica, antioxidante, antitrombótica e inhibidora de ECA	Amaranto	Piovesana <i>et al.</i> , 2018; Tiengo <i>et al.</i> , 2009
	Antioxidante	Germen de trigo, semillas de cereza, semillas de durazno	Dhaval <i>et al.</i> , 2016
	Inhibidora de ECA	Frijoles, ajonjolí, brócoli, chícharos, espinaca, arroz, semillas de cereza, residuos de cebada de cervecería	
Fermentación con <i>Bacillus subtilis</i>	Antioxidante, inhibidora de ECA	Semillas de tomate	Piovesana <i>et al.</i> , 2018
Fermentación con <i>Lactobacillus plantarum</i>	Inhibidora de ECA	Soya	Singh y Vij, 2017
Altas presiones hidrostáticas	Antioxidante	Garbanzos, lentejas, camote	Piovesana <i>et al.</i> , 2018
	Inhibidora de ECA	Lentejas	
Precipitación con solventes	Antimicrobiana	Coco	Algar y Mabesa, 2015
		Semillas de pepino	Al-Akeel <i>et al.</i> , 2018

^aECA: enzima convertidora de angiotensina.

cuerpo humano. Su estructura es corta, de 4 a 8 aminoácidos, en los que se incluyen la tirosina en la región del nitrógeno terminal, precedido por un residuo de prolina y otro aminoácido aromático (fenilalanina o tirosina) en la tercera y cuarta posición del nitrógeno terminal. Algunas proteínas vegetales que presentan actividad opioide son el gluten, la gliadina, la hordeína y la zeína. En la espinaca y soya también se encontraron péptidos opioides, como se muestra en la tabla II (Piovesana *et al.*, 2018).

Otras actividades que se han estudiado en proteínas vegetales (tabla II) son la hipocolesterolémica o hipolipidémica de pseudocereales y leguminosas. Por otra parte, la actividad antimicrobiana se ha comprobado en bacterias gram-positivas y gram-negativas, hongos y virus a partir de proteínas de cereales. Esta actividad es producida por péptidos anfipáticos, con grandes cantidades de residuos de aminoácidos catiónicos e hidrofóbicos, los cuales son capaces de perforar y romper la membrana celular microbiana, llevándola a su muerte (Agyei *et al.*, 2018; Piovesana *et al.*, 2018).

4.1. Aplicaciones en alimentos

Las aplicaciones de los péptidos bioactivos son muy limitadas, ya que son de reciente descubrimiento y poco se ha usado a nivel industrial, debido a varios factores como los altos costos de operación, preocupaciones sensoriales, baja aceptabilidad en el mercado, un incierto potencial de efectos secundarios, entre otros. Sin embargo, la industria de alimentos es uno de los sectores clave para la producción y utilización de los péptidos bioactivos, ya que pueden ser empleados en la fortificación de productos etiquetados como funcionales o nutraceuticos. Según las propiedades que presenten en el área de posible aplicación, por ejemplo, los péptidos con actividad antimicrobiana y antioxidante podrían utilizarse como conservadores naturales para mantener la inocuidad y calidad de los alimentos, y los que tienen actividad antihipertensiva e inmunoestimuladora o inmunomoduladora servirían en la elaboración de alimentos nutraceuticos. No obstante, se presentan algunos retos en estas aplicaciones, como las complicaciones en las metodologías para asegurar la calidad, datos escasos sobre la biodisponibilidad y

su destino metabólico, y sabores amargos de los péptidos (Agyei *et al.*, 2016; Hajfathalian *et al.*, 2018).

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

En esta revisión se reveló que las plantas y sus semillas son una fuente con alto potencial para la extracción de proteínas, también que el estudio de su composición y propiedades funcionales, bioactivas y nutricionales es importante para poder determinar su aplicación en productos alimenticios. Además, la mayoría de las investigaciones realizadas sobre las diversas propiedades de las proteínas relaciona de alguna forma el efecto generado por su estructura, conformación, las condiciones y métodos de obtención sobre esas propiedades. De esta manera se demuestra en cada caso que estos factores son importantes cuando se quiere trabajar con una proteína específica y explotar alguna de sus propiedades.

El estudio de las proteínas vegetales seguirá siendo un tema de interés en la investigación científica porque aún hay mucho por explicar en relación con el comportamiento estructura-función/actividad, ya que existe una amplia variedad de plantas, semillas y subproductos comestibles que no se han estudiado, los cuales podrían ser una fuente alternativa de proteína alimentaria. Además, aún no hay aplicaciones comerciales en productos alimenticios de los péptidos bioactivos, por lo que este es otro campo que requiere ser tomado en cuenta para futuras investigaciones con aplicaciones en alimentos.

AGRADECIMIENTOS

Yolanda Isabel Delgado García agradece a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)—, por el financiamiento recibido para sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Adenekan, M. K., Fadimu, G. J., Odunmbaku, L. A. y Oke, E. K. (2018). Effect of isolation techniques on the characteristics of pigeon pea (*Cajanus cajan*) protein isolates. *Food Science and Nutrition*, 6, 146-152.
- Agyei, D., Acquah, C., Tan, K. X., Hii, H. K., Rajendran, S. R., Udenigwe, C. C. y Danquah, M. K. (2018). Prospects in the use of aptamers for characterizing the structure and stability of bioactive proteins and peptides in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(2), 297-306.
- Agyei, D., Ongkudon, C. M., Wei, C. Y., Chan, A. S. y Danquah, M. K. (2016). Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides. *Food and Bioprocess Processing*, 98, 244-256.
- Al-akel, R., Mateen, A., Alharbi, K. K., Alyousef, A. A., Al-Mandeel, H. M. y Syed, R. (2018). Purification and MIC analysis of antimicrobial proteins from *Cucumis sativus* L. seeds. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 121, 1-6.
- Algar, A. y Mabesa, L. B. (2015). Isolation and partial characterization of a low molecular weight antimicrobial protein from coconut (*Cocos nucifera* L.) milk. *International Food Research Journal*, 22(5), 1813-1816.
- Alu'datt, M. A., Al-Rabadi, G. J., Alli, I., Ereifej, K., Rababah, T., Alhmad, M. N. y Torley, P. J. (2013). Protein co-precipitates: A review of their preparation and functional properties. *Food and Bioprocess Processing*, 91(4), 327-335.
- Brishiti, F. H., Zarei, M., Muhammad, S. K. S., Ismail-Fitry, M. R., Shukri, R. y Saari, N. (2017). Evaluation of the functional properties of mung bean protein isolate for development of textured vegetable protein. *International Food Research Journal*, 24(4), 1595-1605.
- Bučko, S. D., Katona, J. M., Popović, L. M., Vaštag, Z. G. y Petrović, L. B. (2016). Functional properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate and hydrolysate. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 81(1), 35-46.
- Carrasco-Peña, L., Osuna-Castro, J. A., De León-Rodríguez, A., Maruyama, N., Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J. A. y Barba de la Rosa, A. P. (2013). Modification of solubility and heat-induced gelation of Amaranth 11S globulin by protein engineering. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(14), 3509-3516.
- Castillo, I. J. B., Angelia, M. R. N., Torio, M. A. O. y Belina-Aldemita, M. D. (2017). Antihypertensive property of the peptic and chymotryptic hydrolysates derived from the crude protein extract of okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] seeds. *International Food Research Journal*, 26(6), 2586-2592.
- Chao, D., Jung, S. y Aluko, R. E. (2018). Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 179-185.
- Chen, J., Mu, T., Zhang, M., Goffin, D., Sun, H., Ma, M. y Zhang, D. (2018). Structure, physicochemical, and functional properties of protein isolates and major fractions from cumin (*Cuminum cyminum*) seeds. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 685-701.
- Damodaran, S. y Parkin, K. L. (2017). *Fennema's Food Chemistry* (Fifth edition). Boca Raton, FL: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Deng, J., Sun, T., Cao, W., Fan, D., Cheng, N., Wang, B., ... y Yang, H. (2014). Extraction optimization and functional properties of proteins from kiwi fruit (*Actinidia chinensis planch.*) seeds. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1612-1625.
- Dhaval, A., Yadav, N. y Purwar, S. (2016). Potential applications of food derived bioactive peptides in management of health. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 22(3), 377-98.
- FAO (2018). *Biodiversidad para una agricultura sostenible. El trabajo de la FAO sobre el uso de la biodiversidad en la alimentación y la agricultura*. Recuperado el 28 de marzo de 2019: <http://www.fao.org/3/ca2227es/CA2227ES.pdf>
- Franco-Vega, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N. y López-Malo, A. (2017). Líquidos iónicos: una alternativa «verde» para procesos de extracción en la industria de alimentos. En: M. T. Jiménez-Munguía, F. Vegara-Balderas, E. Mani-López y M.E. Bárcenas-Pozos (Eds.). *Tendencias en la Ciencia de Alimentos. Temas selectos* (pp. 288-299). San Andrés Cholula: Editorial UDLAP.
- Garba, U. y Kaur, S. (2014). Protein isolates: production, functional properties and application. *International Journal of Current Research and Review*, 6(3), 35-45.
- Hajfathalian, M., Ghelichi, S., García-Moreno, P. J., Sorensen, A. D. M. y Jacobsen, C. (2018). Peptides: Production, bioactivity, functionality, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(18), 3097-3129.
- Janssen, F., Pauly, A., Rombouts, I., Jansens, K. J., Deleu, L. J. y Delcour, J. A. (2017). Proteins of amaranth (*Amaranthus spp.*), buckwheat (*Fagopyrum spp.*), y quinoa (*Chenopodium spp.*): a food science and technology perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 39-58.
- Karami, Z. y Akbari-adergani, B. (2019). Bioactive food derived peptides: a review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 535-547.
- Khan, N. M., Mu, T. H., Sun, H. N., Zhang, M. y Chen, J. W. (2015). Effects of high hydrostatic pressure on secondary structure and emulsifying behavior of sweet potato protein. *High Pressure Research* 35(2), 189-202.

- Kuan, Y. H., Bhat, R., Patras, A. y Karim, A. A. (2013). Radiation processing of food proteins- A review on the recent developments. *Trends in Food Science and Technology*, 30(2), 105-120.
- Lafarga, T., Álvarez, C., Bobo, G. y Aguiló-Aguayo, I. (2018). Characterization of functional properties of proteins from Ganxet beans (*Phaseolus vulgaris* L. var. *Ganxet*) isolated using an ultrasound-assisted methodology. *LWT- Food Science and Technology*, 98, 106-112.
- Lee, S. Y., Khoiroh, I., Ooi, C. W., Ling, T. C. y Show, P. L. (2017). Recent advances in protein extraction using ionic liquid-based aqueous two-phases systems. *Separation and Purification Reviews*, 46(4), 1542-2127.
- López, D. N., Ingrassia, R., Busti, P., Wagner, J., Boeris, V. y Spelzini, D. (2018). Effects of extraction pH of chia protein isolates on functional properties. *LWT- Food Science and Technology*, 97, 523-529.
- Mahgoub-Salah, E. O. y Elbashir-Hayat, Z. E. (2009). Proximate composition of Karkadeh (*Hibiscus sabdariffa*) seeds and some functional properties of seed protein isolate as influenced by pH and NaCl. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60(3), 183-194.
- Malik, M. A., Sharma, H. K. y Saini, C. S. (2017). High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 511-519.
- Manassero, C. A., Beaumal, V., Vaudagna, S. R., Speroni, F. y Anton, M. (2018). Calcium addition, pH and high hydrostatic pressure effects on soybean protein isolates -Part 2: Emulsifying Properties. *Food and Bioprocess Technology*, 11(11), 2079-2093.
- Martínez, C. S., Ribotta, P. D., Añón, M. C. y León, A. E. (2014). Effect of amaranth flour (*Amaranthus mateagazzianus*) on the technological and sensory quality of bread wheat pasta. *Food Science and Technology International*, 20(2), 127-135.
- Mir, N. A., Riar, C. S. y Singh, S. (2018). Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 170-180.
- Montone, C. M., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Piovesana, S., Chiozzi, R. Z. y Laganà, A. (2018). Characterization of antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides derived from cauliflower by-products by multidimensional liquid chromatography and bioinformatics. *Journal of Functional Foods*, 44, 40-47.
- Olasunkanmi, G. S., Omolayo, F. T. y Olusegun, O. T. (2017). Fatty acid profile, physic-chemical and functional properties of oil and protein isolate simultaneously extracted from sesame (*Sesamum indicum*) seed. *Annals. Food Science and Technology*, 18(1), 1-10.
- O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C. y Norton, I. (2016). The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids*, 53, 141-154.
- Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y. y Hua, Y. (2015). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 52, 301-310.
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Montone, C. M., Chiozzi, R. Z. y Laganà, A. (2018). Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3425-3444.
- Sáenz de Rodríguez, M. Á., Medina, E., Moyano, F. J. y Alarcón, F. J. (2011). Evaluation of protein hydrolysis in raw sources by digestive proteases of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) using a combination of an in vitro assay and sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis analysis of products. *Aquaculture Research*, 42(11), 1639-1652.
- Sakar, A., Kamaruddin, H., Bentley, A. y Wang, S. (2016). Emulsion stabilization by tomato seed protein isolate: Influence of pH, ionic strength and thermal treatment. *Food Hydrocolloids*, 57, 160-168.
- Shevkani, K., Singh, N., Rana, J. C. y Kaur, A. (2014). Relationship between physicochemical and functional properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 541-550.

- Shoaib, A., Sahar, A., Sameen, A., Saleem, A. y Tahir, A. T. (2018). Use of pea and rice protein isolates as source of meat extenders in the development of chicken nuggets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), 1-7.
- Singh, B. P. y Vij, S. (2017). Growth and bioactive peptides production potential of *Lactobacillus plantarum* strain C2 in soy milk: a LC-MS/MS based revelation for peptides biofunctionality. *LWT Food Science Technology*, 86, 293-301.
- Soria-Hernández, C., Serna-Saldivar, S. y Chuck-Hernández, C. (2015). Physicochemical and functional properties of vegetable and cereal proteins as potential source of novel food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 53(3), 269-277.
- Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1-11.
- Tavano, O. L., Berenguer-Murcia, A., Secundo, F. y Fernandez-Lafuente, R. (2018). Biotechnological applications of proteases in food technology. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 412-436.
- Tiengo, A., Faria, M. y Netto, F. M. (2009). Characterization and ACE-inhibitory activity of amaranth proteins. *Journal of Food Science*, 74(5), 121-126.
- Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K. y Delcour, J. A. (2016). Relevance of the functional properties of enzymatic plant protein hydrolysates in food systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 786-800.
- Xue, F., Zhu, C., Liu, F., Wang, S., Liu, H. y Li, C. (2018). Effects of high-intensity ultrasound treatment on functional properties of plum (*Pruni domesticae semen*) seed protein isolate. *Journal of Science Food and Agriculture*, 98(15), 5690-5699.
- Yin, S. W., Tang, C. H., Wen, Q. B., Yang, X. Q. y Li, L. (2008). Functional properties and in vitro trypsin digestibility of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolate: Effect of high-pressure treatment. *Food Chemistry*, 110(4), 938-945.
- Zhou, T., Zhang, T., Liu, W. y Zhao, G. (2011). Physicochemical characteristics and functional properties of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds protein. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(3), 635-641.