



Proteínas de leguminosas modificadas químicamente: estructura, funcionalidad y su aplicación en alimentos

L. Rosas-Ordoñez* y D. K. Baigts-Allende

*Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos
Correo electrónico: lizabeth.rosasoz@udlap.mx

RESUMEN

La funcionalidad de las proteínas como ingrediente emulgente, espumante, gelificante, entre otras características, ha permitido el desarrollo de productos alimenticios. Debido a cambios en hábitos alimentarios de los sectores poblacionales, como es el caso del veganismo, existe un creciente uso de proteínas vegetales, principalmente las de leguminosas. Una de las desventajas de estas proteínas es su limitada tecnofuncionalidad en comparación con las de origen animal. Una alternativa de mejora es la modificación de su estructura química, por medio de métodos como la acilación, desamidación, fosforilación, tiolación, glicosilación y el cambio de pH. Las ventajas que presentan algunos de estos métodos es que no requieren la adición de agentes externos, en otros, se usan reactivos seguros, además, tienen una alta eficiencia y bajos costos de implementación. El presente artículo de revisión aborda el uso de las proteínas de leguminosas modificadas químicamente y su efecto en las propiedades tecno-funcionales y aplicación en la formulación de alimentos.

Palabras clave: leguminosas, proteínas, modificación química, propiedades funcionales.

ABSTRACT

The protein functionality as emulsifying, foaming, gelling ingredient, among others has led to the development of food products. Because of an increase in population habits like veganism, an increase in the use of vegetal proteins is present, mainly legumes. A disadvantage of these proteins is their limited techno-functionality compared to those of animal origin. An improvement alternative is the modification of their chemical structure with methods like acylation, deamidation, phosphorylation, thiolation, glycosylation, and pH shift. They present advantages, such as the fact that they do not require the addition of reagents, the use of safe reagents, high efficiency, and low implementation costs. This review article addresses the use of chemically modified legume proteins and their effect on techno-functional properties and application in food formulation.

Keywords: legumes, proteins, chemical modification, functional properties.

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas representan una familia extensa de cultivos que producen semillas y que son consumidas por el ser humano. El empleo de las leguminosas para la alimentación está relacionado con distintos beneficios, como su capacidad para fijar el nitrógeno en el suelo, actividad prebiótica y antioxidante, disminución del riesgo a desarrollar diabetes tipo 2, disminución de la presión arterial, entre otros. Además, son una buena fuente de nutrientes para el organismo, principalmente de proteínas e hidratos de carbono complejos, también aportan ácidos grasos insaturados como la vitamina E y minerales (De Angelis *et al.*, 2021). Sus semillas han demostrado ser una fuente accesible y sustentable para la alimentación de la población mundial. Además, las preferencias de los consumidores actuales se han centrado en el cambio de alimentos de origen animal por los formulados con ingredientes de origen vegetal, debido a su preocupación por el sufrimiento y maltrato animal o por un interés en minimizar el impacto ambiental (Olmedilla-Alonso *et al.*, 2010).

Debido al alto contenido de proteína que presentan las leguminosas comparadas con otras fuentes vegetales, diversas investigaciones se han enfocado en la obtención y empleo de aislados proteicos. Además de su valor nutricional, estas son empleadas en el desarrollo de sistemas alimenticios, debido a que poseen propiedades tecno-funcionales como agentes emulgentes, formación de geles, incremento de la viscosidad, estabilización de sistemas, entre otros (Klost y Drusch, 2019; Rodríguez-Canto *et al.*, 2019).

Sin embargo, se ha encontrado que las proteínas vegetales presentan ciertas desventajas en comparación con las proteínas de origen animal. Entre sus limitaciones se encuentran una menor solubilidad acuosa, alta inestabilidad al cambio de pH, cambios significativos en su conformación por efecto de la fuerza iónica, modificación de la temperatura del medio, así como la presencia de sustancias antinutricionales, alérgenos o sabores desagradables. Es por ello que los trabajos de investigación han optado por la modificación de estas moléculas (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021).

La modificación de proteínas es un proceso por el que de forma intencional se cambia su estructura molecular y carga. Los

procesos pueden realizarse mediante técnicas físicas, químicas o enzimáticas. Las modificaciones químicas han sido empleadas durante varios años por su bajo costo de implementación, fácil ejecución y alta eficiencia. En esta clasificación se engloban reacciones como la acilación, desaminación, fosforilación, tiolación, glicosilación y cambios de pH. Anteriormente, se ha mostrado que las modificaciones químicas se utilizan para diversificar el uso de proteínas de soya, chícharo, garbanzo, frijol, lenteja, entre otras especies de leguminosas (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021).

El presente trabajo de revisión muestra el efecto estructural, fisicoquímico y funcional de las modificaciones químicas en diferentes proteínas de leguminosas para el desarrollo de productos alimenticios. Además, se describen las ventajas y desventajas del uso de cada tipo de modificación.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Proteínas de leguminosas

El uso de proteínas de origen vegetal siempre ha estado presente en la dieta humana. Sin embargo, actualmente se ha dado un incremento en su uso debido a que su cultivo es más abundante y relativamente económico en comparación con las proteínas de origen animal. Se estima que al consumir proteínas de origen vegetal se reduce hasta cien veces el consumo de agua en comparación al consumo de proteínas de origen animal. Como efecto de la explotación demográfica, las proteínas vegetales representan un reto para su uso y para la exploración de nuevas fuentes que permitan cumplir con las necesidades de la población. En la mayoría de los casos estas proteínas se obtienen de granos y semillas. En este contexto, las leguminosas representan un importante grupo de plantas de las cuales pueden aislarse proteínas vegetales (Day, 2013; Stone *et al.*, 2019).

Las leguminosas pertenecen a la familia *Fabaceae* (*Leguminosae*) que incluye árboles, arbustos y hierbas. Se caracterizan por la generación anual de vainas que contienen entre una y doce semillas; estas pueden presentar distintos colores, tamaños y formas, y se distinguen por la presencia de dos cotiledones (Didinger y Thompson, 2021).

Las semillas de leguminosas presentan un bajo contenido de lípidos y una buena cantidad de fibra dietética. Actualmente, las principales leguminosas de las cuales se obtienen proteínas vegetales son la soya, chícharo, garbanzo, lenteja, habas, frijoles y otras 150 especies comestibles de la familia (Olmedilla-Alonso *et al.*, 2010).

1.1. Estructura

Las leguminosas se caracterizan por presentar una mayor fracción de proteínas de almacenamiento conocidas como 11 S (legúmina o glicinina) y 7 S (vicilina o β -coglicina), estas proteínas son un tipo de globulina (figura 1). Ambas fracciones son capaces de formar estructuras cuaternarias (Schwenke, 2001). La 11 S tiene una estructura química en forma de hexámero conformado por unidades que interaccionan de forma no-covalente. Estas unidades a su vez están formadas por dos subunidades que se unen mediante puentes disulfuro. Una de las subunidades

puede encontrarse en bibliografía bajo el nombre de legúmina α , subunidad ácida o subunidad grande; se caracteriza por un peso de alrededor de 40 kDa. Mientras que la otra unidad se conoce como legúmina β , subunidad básica o subunidad chica, y pesa alrededor de 20 kDa (Jarpa-Parra *et al.*, 2014).

En el caso de la vicilina, su estructura es la de un trímero (Schwenke, 2001). Se ha reportado que este grupo de proteínas son deficientes en metionina y cisteína, lo que limita su capacidad para formar puentes disulfuro. El peso de sus subunidades se encuentra alrededor de los 30-80 kDa (Barac *et al.*, 2015).

Otra fracción proteica de las leguminosas son las lectinas. Estas son proteínas unidas a carbohidratos, que presentan una estructura de sándwich entre láminas β ; condición que ocasiona un ordenamiento extremadamente apretado. Esto permite que estas moléculas sean altamente estables tanto a tratamientos térmicos como a los procesos de digestión (Carbonaro *et al.*, 2015; Lagarda-Diaz *et al.*, 2017).

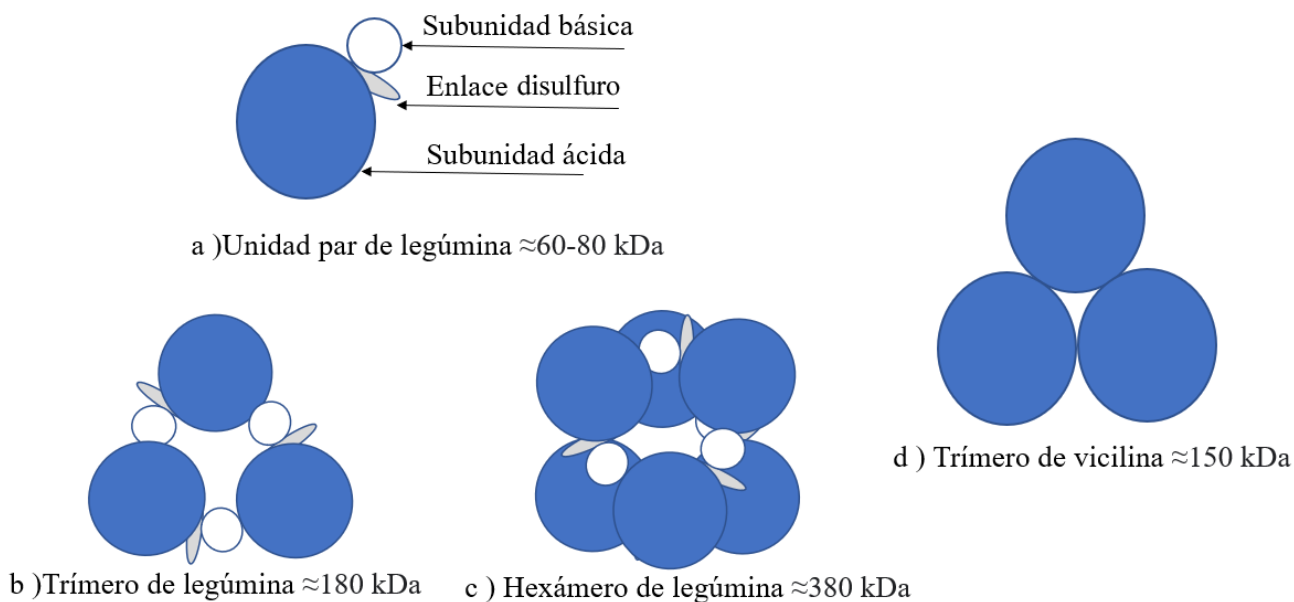


Figura 1.

Representación de la estructura cuaternaria de la legúmina y vicilina. Adaptada de Barac *et al.*, 2015.

1.2. Composición química

Para distintas especies de leguminosas se ha reportado que la legúmina está presente entre un 18 % y un 25 % del total, mientras la vicilina representa entre un 55 % y un 80 % (Aluko *et al.*, 2015; Stone *et al.*, 2019). Es posible encontrar entre un 10 % y 30 % de albúminas en las proteínas de leguminosas. Estas generalmente están conformadas por dos cadenas polipeptídicas que pesan de 1 a 9 kDa. Se caracterizan por su unión mediante enlaces disulfuro, por lo que se les ha relacionado con más del 50 % del total del azufre presente en las proteínas de leguminosas (Day, 2013).

1.3. Propiedades tecno-funcionales y térmicas

Las particularidades de la estructura y composición química de la legúmina y vicilina propician que sus propiedades funcionales sean distintas. Dada la presencia de puentes disulfuro que estabilizan la estructura cuaternaria de la legúmina, este grupo de proteínas tiene la capacidad de formar geles con firmeza y elasticidad diferentes a los que se obtienen con la vicilina. Mientras que la vicilina se caracteriza por propiciar interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (Day, 2013). Se ha reportado que la legúmina tiene una menor capacidad espumante y baja solubilidad (Cui *et al.*, 2020).

Asimismo, las propiedades térmicas de la vicilina y legúmina también son distintas. La primera presenta menores temperaturas de desnaturalización, lo que se debe a que la legúmina tiene una estructura más compacta estabilizada por los puentes disulfuro; esto incrementa su termorresistencia (Lafarga *et al.*, 2019). Elevadas temperaturas de desnaturalización se relacionan con un alto contenido de láminas β que estabiliza la estructura (Carbonaro *et al.*, 2015).

Por otro lado, en la vicilina las temperaturas de desnaturalización se han reportado entre 79.9 y 27 °C en distintas especies de leguminosas; mientras que para la legúmina se han encontrado entre 95.5 y 215 °C (la variación se debe al contenido de minerales, la humedad y la especie vegetal) (Ghribi *et al.*, 2015). Debido a que esta termorresistencia se relaciona con una conformación compacta de la legúmina y la vicilina es que, junto a otras proteínas vegetales, han sido clasificadas dentro de los alérgenos de origen vegetal, dado que son difíciles de digerir (Pauli, 2011). Pero a su vez, esa misma resistencia permite que

una fracción de las proteínas pueda mantenerse estable incluso durante el proceso de digestión. Esta particularidad se ha relacionado con un efecto benéfico de actividad protectora y de antiproliferación de cáncer en el colon (Carbonaro *et al.*, 2015).

1.4. Propiedades nutraceuticas y antimicrobianas

Varias proteínas de leguminosas presentan propiedades nutraceuticas. Las 7 S se han relacionado con la reducción del colesterol y triglicéridos, mientras que las 11 S se han descrito con actividad para bajar la presión arterial (Carbonaro *et al.*, 2015). Las lectinas han sido sugeridas como agentes terapéuticos para tratar la pancreatitis aguda. Además, han demostrado poseer una actividad antimicrobiana y antifúngica, como un método de defensa de las plantas contra especies fúngicas de *Fusarium*, *Colletotricum*, *Candida*, *Aspergillus*, *Trichoderma* y bacterias como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp., *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* sp. (Carbonaro *et al.*, 2015; Lagarda-Díaz *et al.*, 2017).

Todas las características que se describen para las proteínas de leguminosas pueden verse afectadas por las modulaciones intencionales a las que se sometan. Eso implica cambios en la conformación, composición, propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales.

2. Cambios en las propiedades funcionales de las proteínas por efecto de la modificación

Las propiedades tecno-funcionales de las proteínas permiten que puedan ser empleadas para la formulación de alimentos. Estas características fisicoquímicas afectan la interacción de estos biopolímeros con otros componentes tales como otras proteínas, carbohidratos, lípidos, gases, minerales, compuestos volátiles y agua (Day, 2013). La modificación de estas interacciones tiene lugar durante las etapas de procesamiento, almacenamiento, distribución y consumo de un alimento. Estas características tecno-funcionales comprenden una gran cantidad de propiedades.

Kinsella y Melachouris (1976) subdividen las propiedades tecno-funcionales en:

- a) Organolépticas, que incluyen el color, sabor, olor, textura y la sensación en la boca.

- b) Cinéticas, como la turbidez, suavidad o aspereza.
- c) De hidratación, como solubilidad, dispersabilidad, humectabilidad, absorción de agua, hinchazón, espesamiento, gelificación, retención de agua, etc.
- d) De superficie, como la formación de espuma, capacidad de formar emulsiones, formación de películas y unión con otros compuestos.
- e) Propiedades estructurales, como la cohesión, elasticidad, aspereza y masticabilidad.
- f) Propiedades de textura, que incluyen viscosidad, adhesión y reticulación cruzada.
- g) Propiedades de reología, como formación de masa, texturizabilidad, formación de fibras, agregación, pegajosidad, gelificación, etc.
- h) Otras propiedades, como la compatibilidad con aditivos, enzimas, etc.

La caracterización de estas propiedades en las proteínas modificadas permite evaluar el efecto y eficacia de algún método químico, físico o enzimático que module la estructura de la proteína y, por ende, afecte sus propiedades tecno-funcionales, lo que permite aplicarla en productos alimenticios específicos.

A pesar de que las proteínas animales han sido usadas por décadas debido a sus excelentes propiedades tecno-funcionales en el desarrollo de productos alimenticios, la introducción de nuevas fuentes proteicas ha llevado a la necesidad de su caracterización y optimización. En el caso de las proteínas vegetales, se ha estudiado la modificación de su estructura con la finalidad de mejorar sus propiedades en el sistema alimenticio o dirigirla mediante la modificación de sus grupos funcionales (Basak y Singhal, 2022).

2.1. Fosforilación

La fosforilación es una reacción que permite introducir un grupo fosfato a la cadena peptídica (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021).

La reacción puede llevarse a cabo con los residuos de aminoácidos que presentan grupos alquilo, anhídridos de ácido e hidroxilo de arilo (figura 2) (Hu *et al.*, 2019). Al introducir grupos fosfato a la proteína se incrementa la carga neta negativa y la repulsión proteína-proteína (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021). Para este método se utiliza el trimetafosfato de sodio (STMP por sus siglas en inglés), considerado como un aditivo seguro (GRAS) (Akharume *et al.*, 2021), el tripolifosfato de sodio (STP por sus siglas en inglés) y el oxiclorigenato de fósforo (POCl_3) (Akharume *et al.*, 2021).

Este método fue empleado por Lui *et al.* (2020) para la modificación de la proteína de chícharo, donde se vio un incremento en elementos de la estructura secundaria como las láminas β (de $24.59\% \pm 1.13\%$ a $28.08\% \pm 0.45\%$) y α -hélice (de $10.43\% \pm 0.18\%$ a $14.84\% \pm 0.32\%$). Este cambio estructural se ha relacionado con un incremento en la temperatura (de 77.30 a 78.67°C) y entalpía de desnaturalización (de 107.67 a 150.49 J g^{-1}), debido a que se presenta un mayor ordenamiento de la estructura, incrementando la actividad y la estabilidad emulgente (63.07% y 69.08% , respectivamente), la actividad espumante (114.28%) y la capacidad de ligar aceite (73.31%).

Por otro lado, se ha sugerido que la fosforilación puede afectar los enlaces disulfuro que estabilizan la estructura terciaria y cuaternaria de la proteína hasta provocar la desintegración de la estructura globular, como se evidenció en el estudio de Lui *et al.* (2020) sobre proteína de chícharo. Aunque esta tendencia no es necesariamente la misma en todas las proteínas. En el caso de la fosforilación de proteína de soya, se ha visto que conforme se incrementa el grado de sustitución, aumenta el peso molecular de la proteína por la formación de enlaces entre subunidades de la estructura cuaternaria.

La fosforilación también se ha relacionado con una disminución de aminoácidos expuestos y un efecto significativo en la hidrofobicidad superficial del aislado proteico de soya. Esto se debe a que la presencia de PO_4^{3-} afecta la carga superficial de la proteína y cómo esta interactúa con el agua y otras proteínas (Liu *et al.*, 2021). En el caso de la proteína de frijol de mungo sometido a este método, se observó una disminución de 2.2% de las α -hélice y de 4.7% de las láminas β , lo que resultó en un incremento de los giros β (de 40.9% a 48.1%) (Hadidi *et al.*, 2021). Lo anterior demuestra que al efectuar no solo este método de

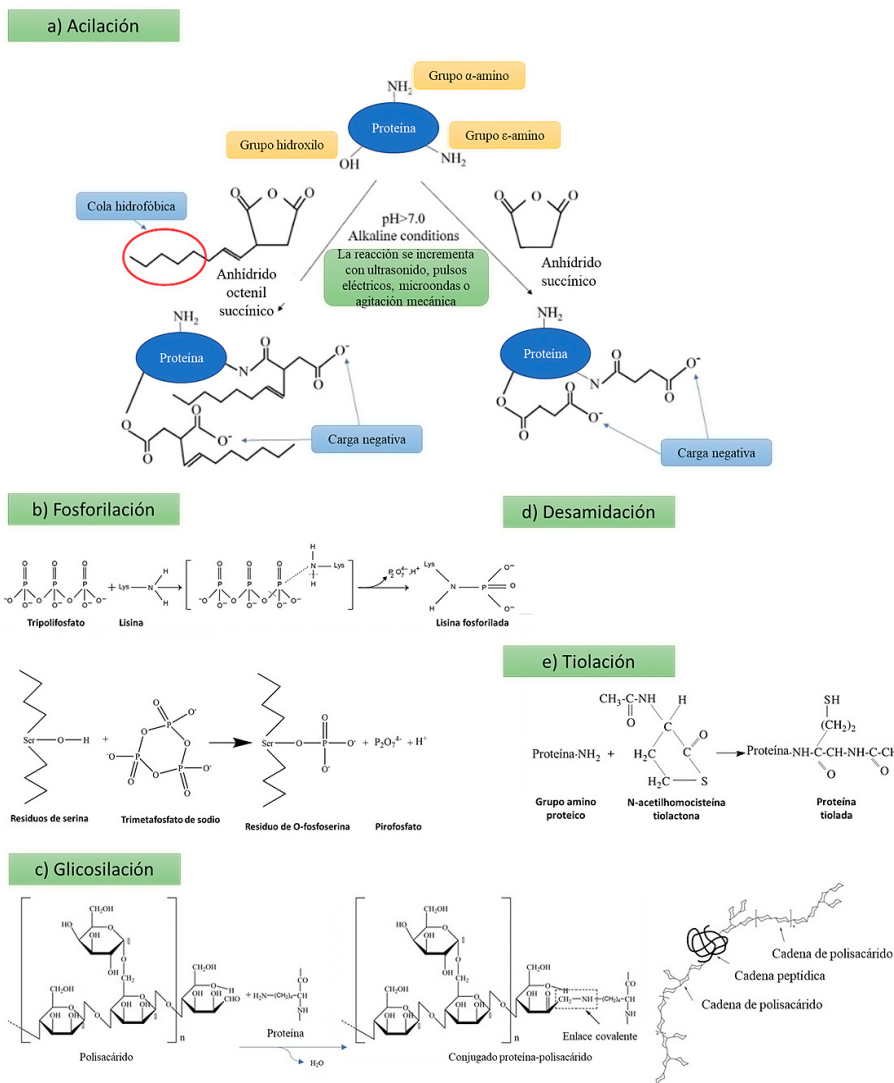


Figura 2.

Cambios químicos en las proteínas.

modificación, sino cualquier otro, es necesario realizar la caracterización de los cambios estructurales de las proteínas. Y es recomendable correlacionar el método y los cambios estructurales en los diferentes niveles de la configuración de la proteína (secundaria, terciaria y cuaternaria) para corroborar si estos cambios afectan significativamente las propiedades tecno-funcionales.

2.2. Acilación

La acilación ha demostrado ser una reacción exitosa en la modificación química de proteínas de leguminosas. Esta permite la sustitución de aquellos grupos amino con carga positiva por un residuo neutro, lo que se conoce como acetilación; o la sustitución en los grupos amino cargados negativamente como el

grupo succinilo en la succinilación, un grupo maleilo en la maleilación y un grupo citraconilo en la citraconilación (Schwenke, 2001). La reacción puede ocurrir en todos los grupos nucleofílicos de los residuos de aminoácidos, pero la mayor afinidad se encuentra en el grupo ε-amino de la lisina (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021). La succinilación es un proceso relativamente sencillo y fácilmente escalable.

Con el método de succinilación se propicia una disociación gradual de la estructura cuaternaria de las proteínas y un despliegue parcial de la cadena peptídica. Este fenómeno se logra con mayor eficiencia cuando entre el 85 % y 95 % de los grupos amino son acetilados, y la consecuente succinilación de los gru-

pos OH incrementa la repulsión electrostática de las cadenas. La separación de las subunidades expone a otros grupos de aminoácidos y modifica la hidrofobicidad de superficie, lo que afecta a las propiedades interfaciales (Schwenke, 2001). La diferencia en la solubilidad se debe a que en la succinilación se introducen cadenas polares más largas, generando un mayor cambio de la conformación y repulsión de la proteína. Otra investigación demostró que la succinilación de la proteína de haba afectó tanto la viscosidad como la hidrofobicidad de superficie, presentando cambios en sus propiedades interfaciales (actividad y estabilidad espumante y capacidad de formación de emulsiones en la tabla I) (Krause *et al.*, 1997; Schwenke *et al.*, 1998).

Tabla I. Propiedades tecno-funcionales de proteínas de leguminosas modificadas químicamente

Fuente vegetal	Método	Absorción de agua	Absorción de aceite	Actividad emulgente	Estabilidad emulgente	Capacidad espumante ⁶	Estabilidad espumante	Referencia
<i>Lathyrus clymenum</i> Chícharo	N/A	2.44 ± 0.17 ¹	3.31 ± 0.119 ²	25.0 ± 0.0 ⁵	N/D	N/D	N/D	Pastor-Cavada <i>et al.</i> (2010)
	N/A	3.93 ± 0.53 ¹	2.96 ± 1.23 ²	85.24 ± 5.88 ⁶	51.74 ± 12.07 ⁸	50 ± 7.14	0 ⁸	Liu <i>et al.</i> (2020)
	Fosforilación	2.22 ± 0.08 ¹	5.13 ± 1.34 ²	139.87 ± 6.18 ⁶	87.48 ± 2.42 ⁸	107.14 ± 7.14	22.14 ± 2.58 ⁸	
Chícharo (Vicilina)	No modificado	N/D	N/D	85 ± 3 ⁶	N/D	N/D	120 ± 1 ⁹	Pedrosa (1997)
	Glicosilación con lactosa	N/D	N/D	142 ± 7 ⁶	N/D	N/D	43 ± 3 ⁹	
	Glicosilación con glucosa	N/D	N/D	68 ± 3 ⁶	N/D	N/D	85 ± 1 ⁹	
	Glicosilación con galactosa	N/D	N/D	157 ± 3 ⁶	N/D	N/D	53 ± 2 ⁹	
Garbanzo (agua de cocción)	Modificación de pH 3.5	N/D	N/D	15.7 ± 0.0 ⁸	0.0 ± 0.0 ⁸	294 ± 1	78.3 ± 1.7 ⁸	Lafarga <i>et al.</i> (2019)
	Modificación de pH 5	N/D	N/D	55.6 ± 0.6 ⁸	40.2 ± 0.9 ⁸	264 ± 6	56.8 ± 3.2 ⁸	
	Modificación de pH 6.5	N/D	N/D	3.9 ± 0.0 ⁸	0.0 ± 0.0 ⁸	175 ± 7	3.4 ± 3.1 ⁸	

Tabla I. Propiedades tecno-funcionales de proteínas de leguminosas modificadas químicamente (continuación)

Fuente vegetal	Método	Absorción de agua	Absorción de aceite	Actividad emulgente	Estabilidad emulgente	Capacidad espumante ⁶	Estabilidad espumante	Referencia
Frijol mungo	No modificado	2.15 ¹	1.4 ²	65 ⁸	15 ⁸	110	N/D	El-Adawy (2000)
	Acetilación	2.50-2.60 ¹	1.60-1.65 ²	36-65 ⁸	16-23 ⁸	120-135	N/D	
	Succinilación	2.40-2.45 ¹	1.45-1.55 ²	14-62 ⁸	16-21 ⁸	125-130	N/D	
Frijol mungo	Succinilación	N/D	N/D	25-33 ⁶	28-33 ⁹	N/D	N/D	Charoensuk <i>et al.</i> (2018)
Lenteja	Modificación de pH 8-pH 9	N/D	N/D	N/D	N/D	550-560	81-78 ⁸	Jarpa-Parra <i>et al.</i> (2014)
Lenteja (globulina)	No modificada	1.1 ³	2.6 ⁴	54.1 ⁸	52.2 ⁸	85-87	37-77 ⁸	Singh-Bora (2002)
	Succinilación con 57.9 % de lisina sustituida	2.3 ³	2 ⁴	60 ⁸	57.9 ⁸	85-89	16-30 ⁸	
	Succinilación con 78.6 % de lisina sustituida	2.3 ³	2.2 ⁴	62.2 ⁸	58.8 ⁸	80-87.5	11-56 ⁸	
	Succinilación con 87.2 % de lisina sustituida	2.2 ³	2.2 ⁴	62.8 ⁸	57.5 ⁸	74.5-53	12-54 ⁸	
	Succinilación con 90.3 % de lisina sustituida	2.3 ³	2.2 ⁴	60.6 ⁸	54.4 ⁸	78-87	11-34 ⁸	
Chícharo	No modificada	1.28 ± 0.01 ¹	2.98 ± 0.22 ²	N/D	22 ⁹	15	4.33 ⁸	Shah <i>et al.</i> (2019)
	Succinilación con anhídrido succínico	1.04 ± 0.01 ¹	6.16 ± 0.09 ²	N/D	13 ⁹	32	27.59 ⁸	
	Succinilación con anhídrido octenil succínico	1.11 ± 0.03 ¹	2.69 ± 0.06 ²	N/D	5 ⁹	38	13.79 ⁸	

Tabla I. Propiedades tecno-funcionales de proteínas de leguminosas modificadas químicamente (continuación)

Fuente vegetal	Método	Absorción de agua	Absorción de aceite	Actividad emulgente	Estabilidad emulgente	Capacidad espumante ⁶	Estabilidad espumante	Referencia
Chicharo	Succinilación con anhídrido dodecenil succínico	1.00 ± 0.01 ¹	4.41 ± 0.16 ²	N/D	29 ⁹	40	26.67 ⁸	Shah <i>et al.</i> (2019)
Soya	Glicosilación/ glucosa por 2-4 h	N/D	N/D	0.49 - 0.58 ⁷	19.8-21.8 ⁹	47-54	9-16 ⁸	Li <i>et al.</i> (2019)
	Glicosilación/ glucosa por 5 h	N/D	N/D	0.68 ⁷	23.2 ⁹	55	16.5 ⁸	
	Glicosilación/ glucosa por 6 h	N/D	N/D	0.59 ⁷	22.5 ⁹	51	9.6 ⁸	
Soya	Cambio de pH en combinación con presión hidrostática	N/D	N/D	12.70-29.57 ⁶	21.32-35.06 ⁹	N/D	N/D	Tan <i>et al.</i> (2021)
Soya	No modificada	N/D	N/D	19.01-27 ⁶	13.14-16.30 ⁹	15-43.33	51.61-65.93 ⁸	Fu <i>et al.</i> (2021)
	Glicosilación con lactosa	N/D	N/D	43.53-98.87 ⁶	13.24-35.38 ⁹	30.67-79	61.87-87 ⁸	

(N/D) no determinado, gramos de agua absorbidos por g de muestra¹, gramos de grasa absorbidos por g de muestra², ml de agua por gramo de proteína³, ml de aceite por gramo de proteína⁴, porcentaje de grasa emulsionada en peso⁵, m² de grasa por gramo de proteína⁶, unidades de absorbancia⁷, porcentaje⁸, min⁹.

Los cambios mencionados pueden estar relacionados con modificaciones en la estructura secundaria de la proteína, como se demostró en el estudio de Shah *et al.* (2019). En dicha investigación, la succinilación aplicada en proteína de chícharo evidenció cambios importantes en los residuos de lisina, disminución de láminas β de 5.87 % a 2.74 %, 2.60 % y 1.50 %, al modificarse con anhídrido succínico (SA por sus siglas en inglés), anhídrido octenil succínico (OSA por sus siglas en inglés) y anhídrido dodecenil succínico (DDSA por sus siglas en inglés), respectivamente, cambios

de α-hélice (de 26.23 % a 19.64 %, 26.54 % y 16.15 %, al modificarse con SA, OSA y DDSA, respectivamente) y mayor presencia de láminas β antiparalelas (de 23.00 % a 27.50 %, 25.15 % y 27.60 %, al modificarse con SA, OSA y DDSA, respectivamente). Estos cambios conformacionales y la adición de los grupos con carga modifican la carga neta de la proteína, favoreciendo la formación de aglomerados. Además, las láminas β antiparalelas son más estables por un mayor número de puentes de hidrógeno que las paralelas. Ello hace más ordenada y compacta a la

proteína de chícharo, incrementando su temperatura de desnaturalización (de 64.13 °C a 65.67 °C, 65.37 °C y 73.15 °C cuando se emplea SA, OSA o DDSA, respectivamente), y modificando la entalpía de distinta forma dependiendo del reactivo utilizado (para la proteína sin modificar fue de 2.45 J/g, para la proteína modificada con SA de 2.26 J/g, con OSA de 3.43 J/g y con DDSA de 2.18 J/g).

Por otro lado, El-Adawy (2000) demostró que propiedades como la absorción de agua/aceite, formación de espuma y estabilidad espumante se ven favorecidas con la acetilación más que con la succinilación (tabla I). Esto debido a la incorporación de cargas negativas que despliegan y exponen residuos de aminoácidos hidrofóbicos de la proteína. Además, tanto la succinilación como la acetilación demostraron incrementar un 5 % la digestibilidad de la proteína de frijol de mungo, debido a que durante el proceso de modificación se disminuye la presencia de factores antinutricionales, como taninos e inhibidores de tripsina.

En el caso de la acetilación, esta reacción propicia la aglomeración de las subunidades, lo que se conoce como oligomerización. Esto se debe a un incremento de la hidrofobicidad de los monómeros, lo que favorece su unión mediante interacciones hidrofobas (Schwenke, 2001). Uno de los aminoácidos más susceptibles a la reacción de acetilación es la lisina; cuando se logra una modificación de 70 % a un 90 %, es posible obtener un incremento de la solubilidad (hasta un 25 %), así como de la capacidad de ligar agua/aceite (hasta un 15 %), la actividad y estabilidad espumante y capacidad de formación de emulsión (hasta un 48 % en la menor concentración del reactivo) (tabla I) (El-Adawy, 2000).

Las investigaciones mencionadas demuestran que el reactivo empleado, así como su concentración, tienen un efecto favorable en las propiedades funcionales y nutricionales. Pero un excesivo grado de modificación de los residuos de aminoácidos puede causar una disminución de las propiedades deseadas.

2.3. Método de glicosilación

Esta modificación también es conocida como glicación. El método es considerado de grado alimenticio porque usualmente no se requiere incorporar reactivos químicos diferentes a los azúcares

(Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021). La reacción consiste en la conjugación de un azúcar reductor que genera un enlace covalente con un grupo amino libre, ya sea de un aminoácido, un péptido o una proteína, mediante un calentamiento controlado en presencia de agua (figura 2) (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021).

La glucosilación es una de las técnicas de modificación química más empleada (por su grado alimentario), en especial con la proteína de soya. Esto es porque esta proteína es una de las fuentes comerciales de leguminosas más exploradas y empleadas alrededor del mundo. En la glucosilación de proteína de soya con glucosa se ha observado que al incrementar el tiempo de la reacción se genera un desplegamiento de la proteína. Lo anterior resulta en un cambio de estructura secundaria, debido a que se afectan las interacciones de puentes de hidrógeno que estabilizan las α -hélice, y a su vez produce un reacomodo de la estructura secundaria de láminas β , giros β , disminución de α -hélice de 26.34 % a 15.53 %, y un aumento de espirales al azar de 15.45 % hasta 28.36 % (Li *et al.*, 2019).

Es importante considerar que el despliegue de una parte de la cadena peptídica le permite una mayor flexibilidad para acomodarse en las interfaces de espumas o emulsiones. Lo anterior es la principal justificación para los cambios en las propiedades tecno-funcionales que se observaron en el estudio de Li *et al.* (2019); en el caso de la capacidad y estabilidad espumante, se observó un incremento de 44.9 % a 55.8 % y de 42 a 67 %, respectivamente; además, aumentó un 74 % de la actividad emulgente y un 118 % de la estabilidad espumante (tabla I). En el estudio de Fu *et al.* (2021) de glucosilación de la proteína de soya con lactosa se reportó un cambio en el arreglo estructural de la cadena peptídica; lo que dio como resultado una disminución de las α -hélice de 11.65 % a 9.9 % y láminas β pasando de 39.16 % a 32.41 %, mientras que se incrementaron las espirales al azar de 37.65 % a 39.89 % y los giros β de 11.52 % a 17.70 %. Ambas investigaciones demuestran que la glucosilación en proteína de soya produce la apertura tanto de las α -hélice como de las láminas β , lo que causa un aumento en la flexibilidad y la exposición de los grupos sulfhidrilo y de los residuos de aminoácidos hidrofóbicos que de forma nativa se encuentran en el interior de la

cadena peptídica; como consecuencia, se puede producir el desacoplamiento de las subunidades de las globulinas características de las leguminosas.

Fu *et al.* (2021) reportaron que los cambios en la flexibilidad de la proteína se relacionan con un incremento de un 128 % de la actividad emulgente con 2 mg de proteína de soya/mL de solución y un 258 % en la actividad espumante a una concentración de 10 mg de proteína de soya/mL de solución; así como un incremento del 70 % en la estabilidad emulgente y 58 % para la estabilidad de la espuma (tabla I).

Es preciso señalar que el grado de modificación dependerá del peso molecular y el tipo de azúcar reductor empleado en esta reacción. Como se demostró en la investigación de Liu *et al.* (2021) sobre la solubilidad de la proteína de soya (tabla I) glucosilada con distintos azúcares (D-alulosa, glucosa y fructosa), donde tanto el tipo de azúcar como el pH la afectaron. Es por ello que en pH neutro la proteína de soya glucosilada con fructosa presentó la mayor solubilidad, mientras que en pH alcalino la D-alulosa favoreció la solubilización. Los azúcares que presenten una mayor masa molecular incrementan el impedimento estérico, lo que disminuye su grado de glucosilación de las proteínas.

Estos estudios (Fu *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2019) demuestran las posibilidades de investigación donde se utilicen otros azúcares como dextrinas o galactomananos para valorar su efecto no solo en propiedades de superficie, sino en otras como la formación de geles, la incorporación de sustancias relacionadas con el sabor o el aroma e incluso el mejoramiento de la estabilidad de compuestos bioactivos o probióticos.

2.4. Cambio de pH

Desde hace décadas, se ha reportado que el cambio de pH del medio afecta la solubilización de las proteínas, debido a cambios en la carga neta, lo cual puede modificar la estructura y las interacciones proteína-proteína y proteína-medio. En condiciones de pH extremadamente básicos y ácidos, las proteínas son desnaturadas al grado de exponer sus grupos sulfhidrilo y cadenas hidrofóbicas. Entre los reactivos empleados para alcanzar los pH básicos se encuentran la urea, NaOH y NH_4OH . También se pueden

realizar modificaciones en condiciones ácidas con el uso de ácido clorhídrico. Estas modificaciones pueden ser utilizadas directamente en la proteína final o como un pretratamiento, debido a que incrementa la solubilidad en ciertas condiciones o promueve la precipitación (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021). El efecto que puede presentar sobre la cadena peptídica depende de las características de cada proteína (composición, carga neta, punto isoeléctrico, entre otros) y del rango de pH utilizado.

Un estudio realizado por Tan *et al.* (2021), donde la proteína de soya es modificada por pH y la aplicación de presiones hidrostáticas, reveló cómo los cambios de pH tienen un efecto sobre la estructura secundaria de la proteína. Se demostró que, conforme se acercan a un pH neutro, las estructuras α -hélice tienden a disminuir (en cada condición se presentó: pH 3 de 18.84 % a 19.02 %, pH 7 de 17.50 % a 17.64 %, pH 11 de 18.85 % a 21.20 %), las láminas β se incrementan (en pH 3 de 35.64 % a 36.65 %, pH 7 de 37.88 % a 38.99 %, pH 11 de 32.37 % a 35.57 %) y las espirales al azar disminuyen (pH 3 27.86 % a 28.18 %, pH 7 26.45 % a 27.26 %, pH 11 de 27.69 % a 28.99 %). Este cambio en la estructura secundaria es importante porque una menor cantidad de láminas β y un mayor contenido de giros α y espirales al azar hacen que la proteína sea más flexible, lo que favorece sus propiedades de superficie (formación de espumas y emulsiones) (tabla I) (Tan *et al.*, 2021).

Además, se ha demostrado que el cambio de pH durante el procesamiento de una proteína afecta sus propiedades tecnológicas. En la investigación de Li *et al.* (2020), al someter a distintos pH la proteína por un periodo de una hora y posterior neutralización, se observaron cambios en la solubilidad (en control 79.39 %, de pH 2 a 12 de 32.88 % a 89.87 %), en el tamaño de partícula (control 15.77 %, de pH 2 a 12 de 13.90 % a 19.54 %) y la hidrofobicidad de superficie (control 550 nm, de pH 2 a 12 de 300 a 2000 nm). En dicho estudio se reafirma que la menor solubilidad se presenta cuando las estructuras proteicas son más compactas y ordenadas, con cambios en el contenido de α -hélice (control 15.77 %, de pH 2 a 12 de 13.90 % a 19.54 %) y en la presencia de espirales al azar (control 40 %, de pH 2 a 12 de 39.28 % a 40.84 %). Dichos cambios afectan la disponibilidad

de los grupos sulfhidrido y de las regiones hidrofóbicas de la proteína. Este estudio evidenció que el uso del pH como tratamiento es una alternativa sencilla y accesible para modificar las propiedades tecno-funcionales. Por lo anterior, se sugiere analizar el efecto del tiempo, el tipo y la concentración de los reactivos en la conformación proteica, así como considerar investigar la optimización de los procesos para obtener la propiedad deseada y determinar cómo estos cambios se relacionan con su digestibilidad.

2.5. Otros métodos químicos de modificación

2.5.1. Tiolación

Para realizar la tiolación se emplean el anhídrido S-acetilmercaptosuccínico (S-AMSA) o el N-acetilhomocisteína (N-AHTL). Durante esta reacción se generan un grupo sulfhidrido terminal y enlaces isopeptídicos (figura 2), también puede promover la formación de complejos con otras moléculas, así como un incremento en la viscosidad del sistema en el que se utilice la proteína. Esta modificación requiere pH muy básico y largos periodos, siendo esta la principal razón por la que existen pocos estudios sobre su uso (Gaonkar y McPherson, 2016). Cabe mencionar que, al ser una de las modificaciones químicas menos empleadas, no existen suficientes estudios que sustenten su utilización, sin embargo, no se han reportado investigaciones que demuestren que los reactivos empleados o los residuos de su uso durante la modificación de proteínas representen un riesgo para la salud. Por lo tanto, existe la posibilidad de realizar futuros estudios para utilizar, optimizar y descartar este método.

2.5.2. Desamidación

En la reacción de desamidación se busca cambiar a los grupos amino de los aminoácidos polares sin carga por grupos carboxilo que incrementan la carga negativa neta de la proteína. Una de las

principales ventajas de esta modificación es que no se requieren condiciones extremas ni la adición de sustancias químicas. El método puede clasificarse según el tipo de tratamiento (ácido, alcalino y tratamiento de resina de intercambio catiónico). Se ha reportado que además de reducir el sabor amargo, esta modificación también puede disminuir la alergenicidad de algunas proteínas, por ejemplo, la de la gliadina en el gluten (Nikbakht-Nasrabadi *et al.*, 2021).

A pesar de que existen varias investigaciones centradas en su aplicación en proteínas de origen animal y otras fuentes vegetales, son nulos los trabajos enfocados en su uso para la modificación de proteínas de leguminosas. Ello demuestra la necesidad de investigación en esta área y método para validar la aplicación de dicha modificación en el mejoramiento de las propiedades tecno-funcionales de dichas proteínas.

Las futuras investigaciones pueden analizar el efecto que tiene esta y todas las modificaciones descritas en la biodisponibilidad de las proteínas, su actividad biológica, calidad nutricional y digestibilidad. La información que se genere propiciará una utilización más eficiente de las proteínas de leguminosas para la formulación de alimentos.

3. Aplicaciones en alimentos de proteínas de leguminosas modificadas

La modificación química de las proteínas afecta de manera importante a las propiedades tecno-funcionales, por lo que de la caracterización de estas depende su aplicación en alimentos. Existen diversos estudios que describen la aplicación directa en alimentos de proteínas modificadas por procesos físicos como la sonicación, tratamientos térmicos, entre otros (Hu *et al.*, 2019; Meurer *et al.*, 2020). Sin embargo, existen escasas investigaciones de proteínas modificadas químicamente que se apliquen directamente a la formulación de una matriz alimentaria.

Se ha aplicado la proteína de chícharo fosforilada para la sustitución de hasta un 20 % de la goma xantana empleada en la fabricación de una crema ligera en pastel *mousse* de mango, en donde se mostraron propiedades sensoriales semejantes al producto sin su incorporación (Liu *et al.*, 2020). Igualmente, se ha estudiado el uso de proteínas glucosiladas como emulgentes, ejemplo de ello es la investigación de aislado de proteína de cacahuate con dextrano o con maltodextrina (Lin *et al.*, 2017). También se ha sugerido el uso de la proteína de soya glucosilada como sustituto de grasa en productos lácteos de bajo contenido de lípidos (Liu *et al.*, 2021). Sin embargo, se debe considerar el realizar estudios donde se correlacione el grado de modificación, el tamaño de partícula y cambios en las propiedades sensoriales en los alimentos.

De igual manera, se ha investigado el uso de proteínas de leguminosas modificadas químicamente como material para la encapsulación de compuestos bioactivos. Por ejemplo, la proteína de garbanzo sometida a acilación y cationización fue empleada para encapsular ácido ascórbico y α -tocoferol. Así como la mezcla de proteína de soya con proteína de garbanzo glucosilada para la encapsulación de aceite de maíz (Sharif *et al.*, 2018). Asimismo, se ha estudiado la modificación por pH de la proteína de soya y su efecto en el (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG, el principal componente bioactivo del té verde); demostrando que al interactuar con la proteína de soya modificada se mejoró su biodisponibilidad *in-vitro* (26 % de EGCG solo, 27 % con el aislado de proteína, 32 % con el aislado tratado con cambio de pH 2 y 37 % con el aislado tratado con cambio de pH 12) (Yan *et al.*, 2021).

Las posibilidades del uso de las proteínas modificadas de leguminosas son diversas, demostrando una buena área de oportunidad para realizar estudios. En futuras investigaciones deben considerarse las características deseadas por los consumidores, la sustitución parcial o total de proteínas de origen animal u otro componente por proteínas modificadas. Esto puede represen-

tar una disminución en la cantidad de ingredientes utilizados o el mejoramiento de las características del alimento.

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

Las proteínas de leguminosas modificadas son una alternativa interesante para la formulación de alimentos al promover sus propiedades tecno-funcionales. El grado de modificación dependerá de distintos factores como los tiempos de reacción, pH, temperatura, concentración de sustrato o los reactivos empleados, así como la especie vegetal. Al modificar estos parámetros se generan cambios estructurales de las fracciones de proteínas en leguminosas (legúmina y vicilina); en estas modificaciones generalmente se emplean reactivos seguros. Sin embargo, aún falta realizar estudios sobre modificaciones como la tiolación y la desamidación en torno a su inocuidad y su aplicación en proteínas de leguminosas para la formulación de alimentos.

En general, para todos los métodos de modificación química, son necesarias futuras investigaciones centradas en su aplicación directa en productos alimenticios y que describan su efecto en la digestibilidad, junto con la correlación de propiedades sensoriales y la configuración estructural de las proteínas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) –hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)– por la beca de doctorado de Lizbeth Rosas Ordoñez.

REFERENCIAS

- Akharume, F. U., Aluko, R. E. y Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>
- Aluko, R. E., Girgih, A. T., He, R., Malomo, S., Li, H., Offengenden, M. y Wu, J. (2015). Structural and functional characterization of yellow field pea seed (*Pisum sativum* L.) protein-derived antihypertensive peptides. *Food Research International*, 77, 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.029>
- Aryee, A. N. A., Agyei, D. y Udenigwe, C. C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. En *Proteins in Food Processing*, segunda edición (pp. 27-45). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00003-6>
- Barać, M. B., Pešić, M. B., Stanojević, S. P., Kostić, A. Z. y Čabrilo, S. B. (2015). Techno-functional properties of pea (*Pisum sativum*) protein isolates-a review. *Acta Periodica Technologica*, 46, 1-18. <https://doi.org/10.2298/APT1546001B>
- Basak, S. y Singhal, R. S. (2022). Succinylation of food proteins, a concise review. *LWT*, 154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112866>
- Carbonaro, M., Maselli, P. y Nucara, A. (2015). Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties. *Food Research International*, 76(P1), 19-30. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.007>
- Charoensuk, D., Brannan, R. G., Chanasattru, W. y Chaiyasit, W. (2018). Physicochemical and emulsifying properties of mung bean protein isolate as influenced by succinylation. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 1633-1645. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1502200>
- Cui, L., Bandillo, N., Wang, Y., Ohm, J. B., Chen, B. y Rao, J. (2020). Functionality and structure of yellow pea protein isolate as affected by cultivars and extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 108(December 2019), 106008. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106008>
- Day, L. (2013). Proteins from land plants e Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1), 25-42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.005>
- De Angelis, A., Gasco, L., Parisi, G. y Danieli, P. P. (2021). A Multipurpose Leguminous Plant for the Mediterranean Countries: *Leucaena leucocephala* as an Alternative Protein Source: A Review. *Animals*, 11(8), 2230.
- Didinger, C. y Thompson, H. J. (2021). Defining nutritional and functional niches of legumes: A call for clarity to distinguish a future role for pulses in the dietary guidelines for americans. *Nutrients*, 13(4), 1100. <https://doi.org/10.3390/nu13041100>
- El-Adawy, T. A. (2000). Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mung bean protein isolate. *Food Chemistry*, 70(1), 83-91. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00079-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00079-0)
- Fu, G. M., Xu, Z. W., Luo, C., Xu, L. Y., Chen, Y. R., Guo, S. L., Wu, X. D., Wan, Y. (2021). Modification of soy protein isolate by Maillard reaction and its application in microencapsulation of *Limosilactobacillus reuteri*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 132(4), 343-350. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2021.06.007>
- Gaonkar, A. G. y McPherson, A. (2016). *Thiolation en Ingredient interactions: effects on food quality*. CRC Press. pp. 319-321.
- Ghribi, M. A., Gafsi, M. I., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H. y Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.021>
- Hadidi, M., Jafarzadeh, S. y Ibarz, A. (2021). Modified mung bean protein: Optimization of microwave-assisted phosphorylation and its functional and structural characterizations. *LWT*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112119>
- Hu, Z., Qiu, L., Sun, Y., Xiong, H. y Ogra, Y. (2019). Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate. *Food Hydrocolloids*, 96, 288-299. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.037>
- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J. y Chen, L. (2014). Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 461-469. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.035>
- Kinsella, J. E. (1976). Functional properties of proteins in foods: A survey. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7(3), 219-280. <https://doi.org/10.1080/10408397609527208>
- Klost, M. y Drusch, S. (2019). Functionalisation of pea protein by tryptic hydrolysis, characterisation of interfacial and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 86, 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.013>
- Krause, J. P., Krägel, J. y Schwenke, K. D. (1997). Properties of interfacial films formed by succinylated legumin from faba beans (*Vicia faba* L.). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 8(6), 279-286.
- Lafarga, T., Villaró, S., Bobo, G. y Aguiló-Aguayo, I. (2019). Optimisation of the pH and boiling conditions needed to obtain improved foaming and emulsifying properties of chickpea *aquafaba* using a response surface methodology. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 18, 100177. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100177>

- Lagarda-Díaz, I., Guzmán-Partida, A. M. y Vázquez-Moreno, L. (2017). Legume lectins: Proteins with diverse applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(6), 1242. <https://doi.org/10.3390/ijms18061242>
- Lin, D., Lu, W., Kelly, A. L., Zhang, L., Zheng, B. y Miao, S. (2017). Interactions of vegetable proteins with other polymers: Structure-function relationships and applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 130-144.
- Li, J., Wu, M., Wang, Y., Li, K., Du, J. y Bai, Y. (2020). Effect of pH-shifting treatment on structural and heat induced gel properties of peanut protein isolate. *Food Chemistry*, 325, 126921.
- Li, R., Cui, Q., Wang, G., Liu, J., Chen, S., Wang, X., Wang, X. y Jiang, L. (2019). Relationship between surface functional properties and flexibility of soy protein isolate- glucose conjugates. *Food Hydrocolloids*, 95, 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.030>
- Liu, J., Wan, Y., Ren, L., Li, M., Lv, Y., Guo, S. y Waqar, K. (2021). Physical-chemical properties and *in vitro* digestibility of phosphorylated and glycosylated soy protein isolate. *LWT*, 152, 112380. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112380>
- Liu, Y., Wang, D., Wang, J., Yang, Y., Zhang, L., Li, J. y Wang, S. (2020). Functional properties and structural characteristics of phosphorylated pea protein isolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 2002-2010. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14391>
- Meurer, M. C., De Souza, D. y Ferreira Marczak, L. D. (2020). Effects of ultrasound on technological properties of chickpea cooking water (*aquafaba*). *Journal of Food Engineering*, 265, 109688. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109688>
- Nikbakht-Nasrabadi, M., Sedaghat-Doost, A. y Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Olmedilla-Alonso, B., Farré-Rovir, R., Asensio-Vegas, C. y Martín-Pedrosa, M. (2010). Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad Dietética*, 14(2), 72-76.
- Pastor-Cavada, E., Juan, R., Pastor, J. E., Alaiz, M. y Vioque, J. (2010). Protein isolates from two Mediterranean legumes: *Lathyrus clymenum* and *Lathyrus annuus*. Chemical composition, functional properties and protein characterisation. *Food Chemistry*, 122(3), 533-538. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.002>
- Pauli, G. (2011). Allergènes végétaux alimentaires identifiés (en dehors de l'arachide). *Revue Française d'Allergologie*, 51(1), 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2010.06.009>
- Pedrosa, C., Trisciuzzi, C. y Ferreira, S. T. (1997). Effects of glycosylation on functional properties of vicilin, the 7S storage globulin from pea (*Pisum sativum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2025-2030. <https://doi.org/10.1021/jf960815k>
- Rodríguez-Canto, W., Chel-Guerrero, L., Fernández, V. V. A. y Aguilar-Vega, M. (2019). *Delonix regia* galactomannan hydrolysates: Rheological behavior and physicochemical characterization. *Carbohydrate Polymers*, 206, 573-582. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.028>
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., ... y Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants, a review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2-16.
- Schwenke, K. D. (2001). Reflections about the functional potential of legume proteins: A review. *Nahrung-Food*, 45(6), 377-381. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20011001\)45:6<377::AID-FOOD377>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20011001)45:6<377::AID-FOOD377>3.0.CO;2-G)
- Schwenke, K. D., Knopfe, C., Mikheeva, L. M. y Grinberg, V. Y. (1998). *Structural Changes of Legumin from Faba Beans (Vicia faba L.) by Succinylation*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(6), 2080-2086. <https://doi.org/10.1021/jf970984k>
- Shah, N. N., K.V., U. y Singhal, R. S. (2019). Hydrophobically modified pea proteins: Synthesis, characterization and evaluation as emulsifiers in eggless cake. *Journal of Food Engineering*, 255, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.03.005>
- Stone, A. K., Nosworthy, M. G., Chiremba, C., House, J. D. y Nickerson, M. T. (2019). A comparative study of the functionality and protein quality of a variety of legume and cereal flours. *Cereal Chemistry*, 96(6), 1159-1169. <https://doi.org/10.1002/cche.10226>
- Tan, M., Xu, J., Gao, H., Yu, Z., Liang, J., Mu, D., ... Zheng, Z. (2021). Effects of combined high hydrostatic pressure and pH-shifting pretreatment on the structure and emulsifying properties of soy protein isolates. *Journal of Food Engineering*, 306, 110622. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110622>
- Yan, S., Xu, J., Zhang, X., Xie, F., Zhang, S., Jiang, L., ... y Li, Y. (2021). Effect of pH-shifting treatment on the structural and functional properties of soybean protein isolate and its interactions with (-)-epigallocatechin-3-gallate. *Process Biochemistry*, 101, 190-198.
- Zhang, Q., Li, L., Lan, Q., Li, M., Wu, D., Chen, H., Liu, Y., Lin, D., Qin, W., Zhang, Z., Liu, J. y Yang, W. (2019). Protein glycosylation: a promising way to modify the functional properties and extend the application in food system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), 2506-2533.