



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MÉXICO**



FACULTAD DE QUÍMICA

**APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS NO TÉRMICAS A PROTEÍNAS
VEGETALES PARA SU FUNCIONAMIENTO COMO
EMULSIFICANTES PARA ALIMENTOS**

T E S I N A

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA

JUAN CARLOS MONROY GÓMEZ

ASESORA ACADÉMICA

DRA. ANDREA YAZMIN GUADARRAMA LEZAMA

CO-ASESOR

DR. DANIEL DIAZ BANDERA

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, MARZO 2024

ABREVIATURAS

PEF	Campo de Pulsos Eléctricos
2D-DBD	Descarga de barrera dieléctrica bidimensional
APPJ	Chorro de plasma a presión atmosférica
SPI	Aislado de proteína de soja
CAP	Plasma atmosférico frío
HPEF	Tratamiento de campos eléctricos de alta pulsación
PPC	Concentrado de proteína de chícharo
GC	Globulina de coco
HPH	Alta presión de homogenización
CP	Plasma frío
ACP	Plasma atmosférico
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
RFD	Descarga de radiofrecuencia
DBD	Descarga de barrera dieléctrica
GAD	Descarga de arco deslizante
GD	Descarga luminiscente
CD	Descarga de corona
EAI	Índice de actividad emulsionante
ESI	Índice de estabilidad emulsionante
US	Ultrasonido
PPI	Aislado de proteína de cacahuete
WG	Granos enteros
MW	Microondas
UVP	Proteína vegetal no convencional

ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	1
1. ANTECEDENTES	2
2. IMPORTANCIA DE LA TEMÁTICA	5
3. HIPÓTESIS	8
4. OBJETIVOS	10
5. JUSTIFICACIÓN	12
6. MÉTODOS Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN EMPLEADOS	15
7. DESARROLLO TEMÁTICO	
7.1 Características químicas de las proteínas	18
7.2 Características de las proteínas en los vegetales	20
7.3 Proteínas de origen vegetal	21
7.4 Proteínas en las leguminosas	21
7.5 Métodos de obtención de proteínas vegetales para su consumo y/o aplicaciones	24
7.6 Funcionalidad de las proteínas como emulsificantes aplicadas a productos alimenticios	26
7.7 Aplicación de tecnologías no térmicas para la modificación de las proteínas	28
7.7.1. Aplicación de plasma frio	28
7.7.2. Aplicación de pulsos eléctricos	30
7.7.3. Aplicación de tratamiento por ultrasonido	32
7.7.4. Aplicación de tratamiento por altas presiones hidrostáticas	
8. CONCLUSIONES Y REFERENCIAS	
9. REFERENCIAS	

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Efecto de la aplicación de plasma frío sobre las proteínas de origen vegetal	31
Tabla 2. Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos sobre las proteínas de origen vegetal	34
Tabla 3. Efecto de la aplicación del tratamiento por ultrasonido sobre las proteínas de origen vegetal	38
Tabla 4. Efecto de la aplicación del tratamiento por altas presiones sobre las proteínas de origen vegetal	41

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema de los cambios conformacionales provocados por el tratamiento de CP y su afectación en el sustrato	
Figura 2. Representación de una proteína en forma tridimensional y el mapa de contacto asociado a la interacción entre estructuras secundarias	20
Figura 3. Aislados proteicos sometidos a efectos de cizalla y temperatura	23
Figura 4. Proteínas vegetales texturizadas de baja humedad	25
Figura 5. Proteínas vegetales texturizadas de alta humedad	25
Figura 6. Esquema de tratamiento de plasma frío DBD y sus efectos en las proteínas de origen vegetal	30
Figura 7. Esquema de tratamiento de plasma frío aplicado a proteínas de origen vegetal	31
Figura 8. Ensamble para el tratamiento con pulsos eléctricos en proteínas de origen vegetal.	32
Figura 9. Esquema general del tratamiento de pulsos eléctricos aplicado en alimentos	32
Figura 10. Mecanismo de tratamiento por ultrasonido en proteínas de origen vegetal	37
Figura 11. Esquema de funcionamiento de unidad HPH para un producto líquido	40

RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo la compilación de los resultados obtenidos en la aplicación de tecnologías no térmicas como: pulsos eléctricos, ultrasonido, plasma frío y altas presiones, sobre las proteínas de origen vegetal y las leguminosas, para modificar sus propiedades funcionales como emulsificante. Se analizaron los resultados y se concluyó con base a las mejoras de propiedades funcionales de las proteínas por aplicación de las nuevas tecnologías. El alcance de este proyecto es únicamente del tipo documental, arrojando resultados favorables en los diferentes tipos de tratamiento, según la naturaleza propia de las proteínas empleadas para cada estudio.

El resultado de este trabajo muestra, que, para el caso del tratamiento mediante pulsos eléctricos, existe una diferencia en los efectos causados por las diferentes condiciones empleadas y el tipo de aislado en la capacidad emulsificante, mostrando que frecuencias y voltajes de medio a altos, potencializan la capacidad de los aislados mientras no se exceda la fuerza del tratamiento, puesto que la exposición prolongada a voltajes altos puede perjudicar dicha propiedad a causa de la afectación en su estructura molecular. Para el caso del tratamiento con ultrasonido se presenta una mayor estabilidad durante el proceso y una variación menor en los resultados cuando este se realiza a potencias y voltajes de medio a altos. Para el caso del aumento en la presión ejercida durante el tratamiento con HPH, se observó que este puede generar una estabilidad óptima en las emulsiones, sin embargo; el incremento debe ser estudiado según la naturaleza de cada proteína pues puede provocar efectos contrarios por la agregación de estas y la exposición de los grupos hidrófobos en la superficie de la mezcla. Finalmente, y para lo que refiere a los resultados arrojados para el tratamiento de plasma frío (CP) se encontró que la mayoría de los aislados y proteínas presentaron un aumento considerable en sus capacidades emulsionantes, considerando respuestas óptimas mediante tiempos de tratamiento bajos (2 a 10 minutos), el empleo de voltaje de

medio a altos y pH alcalino (10.0), con una única excepción en donde el único factor contraproducente fue la estructura molecular globular de la proteína.

Es así, que, con los resultados obtenidos mediante la recopilación de estudios enfocados a cada uno de los tratamientos, se concluye que el mejor de ellos es el derivado de la aplicación de plasma frío, debido a que muestra no solo un aumento de las propiedades emulsionantes en la mayoría de los aislados y proteínas analizadas, sino que, además, representa ser una técnica de costos aceptables que puede emplearse en la industria de los alimentos y que permite ser escalable a nivel industrial.

Cada uno de los tratamientos analizados en este documento pueden ser incorporados de manera efectiva, mientras se analicen de manera adecuada las condiciones de los tratamientos involucrados y de las características de los aislados de proteína sometidos a tratamiento.

Las tecnologías de tipo no térmicas, representan una alternativa sustentable y adecuada que permite potenciar el índice de la actividad emulsionante y el índice de estabilidad emulsionante, dependiendo de las características de las proteínas vegetales a procesar y de las condiciones de tratamiento empleadas para cada una de dichas tecnologías.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1. ANTECEDENTES

Con el uso de tecnologías no térmicas se ha logrado inhibir el crecimiento de microorganismos en alimentos y bebidas, logrando conservarlos por más tiempo con las características fisicoquímicas y de calidad deseadas, sin embargo; este tipo de tecnologías también se ha aplicado para hacer modificaciones estructurales en biomoléculas, tales como las proteínas, logrando con estas alterar su composición para potenciar alguna propiedad funcional. Tal es el caso de la aplicación de pulsos eléctricos, plasma frío, ondas de ultrasonido, sobre proteínas de origen vegetal y leguminosas para mejorar sus propiedades emulsificantes.

Li & Rajpurohit (2023) llevaron a cabo un estudio donde aplicaron pulsos eléctricos a leguminosas observando que la capacidad emulsificante de las proteínas extraídas estabiliza las gotas de aceite en alimentos vegetales emulsionados como los aderezos, salsas, análogos de la leche y análogos de la crema, a diferencia de sus análogos sin tratamiento por pulsos eléctricos.

Ren & Li (2022), descubrieron que la hidrólisis de la proteína de soja mediante proteasa extracelular obtenida por fermentación produjo un cambio en su estructura terciaria y en el grupo sulfhidrilo enmascarado, provocando una oxidación para formar enlaces disulfuro, promoviendo la formación de un emulsificante con mayor resistencia y textura.

Un estudio realizado por Bu, et al (2023), basado en la aplicación de plasma atmosférico frío (CAP), en donde se utilizaron métodos de chorro de plasma a presión atmosférica (APPJ), descarga de barrera dieléctrica bidimensional (2D-DBD) y descarga pulsada de nanosegundos en chícharos mostró una mejor desnaturalización de las proteínas, un aumento de la hidrofobicidad de la superficie, la formación de agregados solubles mediante enlaces disulfuro y cambios en las estructuras secundarias, lo cual y debido al aumento de la lámina β , contribuyeron a una mejora significativa en la emulsificación atribuidos a tamaños de gota relativamente pequeños y con una alta carga superficial.

Chen, et al (2023), obtuvieron como resultado del tratamiento de plasma atmosférico frío en la globulina de coco (CG), efectos asociados a la estructura y propiedades emulsionantes de las proteínas, arrojando una disminución del tamaño de partícula y un aumento en el contenido de grupos carbonilo y enlaces S-S, modificando la tensión interfacial y la hidrofobicidad superficial de manera positiva (aumentando su adsorción en la interfaz aceite agua) y por tanto su capacidad emulsificante.

Un estudio realizado por O'Sullivan, et al (2016), menciona que la aplicación de un tratamiento de ultrasonido a tres tipos de proteína vegetal: aislado de proteína de chícharo (PPI), aislado de proteína de soja (SPI) y aislado de proteína de arroz (RPI) a través de intensidades acústicas de $\sim 34 \text{ W cm}^2$ durante dos minutos, redujo el tamaño de todas las proteínas, con excepción del RPI, produciendo emulsiones con gotas submicrónicas en concentraciones $\leq 1\%$, mientras que en concentraciones $> 5\%$ en peso, las emulsiones produjeron gotas de tamaño micrométrico; lo cual reveló las ventajas de este método sobre proteínas no tratadas en su capacidad de reducción en la tensión superficial que mejoraron su propiedad de emulsificación.

Dehnad, et al (2024), menciona que la inducción de alta presión hidrostática para la modificación de proteínas vegetales es adecuada para proteínas de legumbres en donde las condiciones del tratamiento adecuadas son de 300 a 400 MPa, con lo cual se logra el mayor aumento en la solubilidad de los aislados. Este estudio también refiere que durante el análisis del índice de la actividad de la emulsión (EAI) que evalúa la capacidad de la proteína para adsorberse en interfaz y el índice de estabilidad de la emulsión (ESI) que estudia las características de la capa adsorbida formada, la aplicación de tratamiento por HHP mejora la EAI por el despliegue de proteínas y la exposición de los grupos hidrofóbicos junto con la formación de enlaces disulfuro pero disminuye su ESI, por lo que la capacidad como emulsificante para este tratamiento varía en función del grado de agregación molecular de las proteínas.

CAPITULO II

IMPORTANCIA DE LA TEMÁTICA

2.IMPORTANCIA DE LA TEMÁTICA

La industria alimentaria está experimentando una creciente demanda de productos veganos y vegetarianos, lo que ha llevado a un aumento en la producción y aplicación de proteínas de origen vegetal. Estas proteínas son una excelente alternativa a las proteínas de origen animal, ya que son más sostenibles, éticas y saludables. Sin embargo, las proteínas de origen vegetal presentan desafíos en cuanto a sus propiedades funcionales, especialmente en lo que respecta a su capacidad para formar y estabilizar emulsiones.

Una emulsión es una mezcla homogénea, de dos líquidos inmiscibles en presencia de un emulsionante. Una emulsión también puede ser semisólida como la mantequilla o margarina. Estas emulsiones son esenciales en la industria alimentaria, ya que brindan textura, sabor y apariencia deseables a muchos productos, como aderezos para ensaladas, mayonesas, salsas y panificaciones. En este contexto, la aplicación de tratamientos no térmicos en las proteínas de origen vegetal se vuelve fundamental para mejorar su capacidad emulsificante.

Estos tratamientos, como la aplicación de plasma frío, el sometimiento a altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos y ondas ultrasónicas permiten modificar la estructura de las proteínas, optimizando su funcionalidad sin la necesidad de someterlas a altas temperaturas. Por ejemplo, los pulsos eléctricos son capaces de romper las cadenas polipeptídicas, lo que resulta en una mayor exposición de los grupos hidrofílicos de las proteínas al medio acuoso, facilitando así la formación de emulsiones estables. Por otro lado, las ondas sonoras pueden generar vibraciones en las moléculas de proteína, lo que causa un aumento en la hidratación de las mismas.

Esto conduce a una mayor solubilidad de las proteínas en la fase acuosa y a una mayor capacidad de emulsificación. El aumento de la presión hidrostática también puede inducir cambios en la estructura de las proteínas, aumentando su capacidad emulsificante. Finalmente, el plasma frío es capaz de modificar la estructura

secundaria y terciaria de las proteínas vegetales, mejorando su capacidad emulsificante.

En resumen, la aplicación de pulsos eléctricos, ondas sonoras, altas presiones hidrostáticas y plasma frío es fundamental para mejorar la capacidad emulsificante de las proteínas de origen vegetal, ya que estas técnicas permiten modificar la estructura de las proteínas y optimizar su capacidad de emulsificación, lo que resulta en emulsiones más estables y de mayor calidad.

Es así, que la aplicación de este tipo de tecnologías es de gran importancia en la industria alimentaria, donde las proteínas vegetales son ampliamente utilizadas como ingredientes emulsionantes y en donde cada vez más la reducción de costos, el cuidado del medio ambiente y el incremento de la demanda de emulsiones representa un área de oportunidad y mejora continua en los procesos alimentarios.

CAPITULO III

HIPOTESIS

3.HIPÓTESIS

La aplicación de pulsos eléctricos, ultrasonido, plasma frío y altas presiones hidrostáticas en las proteínas de origen vegetal, tales como las leguminosas, producirá un aumento significativo en su capacidad emulsificante.

CAPITULO IV

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

- Analizar la aplicación de tecnologías no térmicas, tales como pulsos eléctricos, ultrasonido, plasma frío y presiones hidrostáticas altas en las proteínas vegetales, tales como las leguminosas para analizar su funcionalidad como emulsificantes en alimentos.

4.2 Objetivos específicos:

- Realizar una búsqueda bibliográfica y electrónica de las estructuras químicas de las proteínas presentes en las leguminosas y como estos pueden ser modificados por tratamientos de pulsos eléctricos, ultrasonido, plasma frío y presiones hidrostáticas altas.
- Reportar los trabajos realizados en la aplicación de pulsos eléctricos, ultrasonido, plasma frío y altas presiones hidrostáticas en las proteínas vegetales y leguminosas y sus mejoras en las propiedades fisicoquímicas y emulsificantes

CAPITULO V

JUSTIFICACIÓN

5. JUSTIFICACION

Las emulsiones son sistemas coloidales que consisten en la dispersión de pequeñas gotas de líquido en otro líquido inmiscible. Estas son ampliamente utilizadas en la industria de alimentos, ya que ayudan a mejorar la textura, estabilidad y apariencia de diferentes productos, tales como salsas, helados y productos de panadería. En este sentido, muchos de los emulsificantes utilizados actualmente están hechos a base de proteínas, las cuales juegan un papel crucial en la formación y estabilización de estas emulsiones y en la industria de los alimentos misma, presentándose como aditivos de diferente origen, capaces de potenciar y regular las propiedades de las emulsiones obtenidas.

Actualmente existe una creciente demanda de emulsificantes de origen vegetal debido a la preocupación por la salud, el cuidado del medio ambiente y por la sustitución de las proteínas de origen animal que representan un área de oportunidad en la industria de alimentos para la estabilización de mezclas a menor costo.

Las proteínas vegetales, provenientes de fuentes como legumbres, cereales y oleaginosas, son una alternativa interesante a los emulsificantes de origen animal. Sin embargo, su aplicación en la industria alimentaria se ve limitada debido a su baja estabilidad y funcionalidad. Por esta razón, diversos estudios se han enfocado a la aplicación de diferentes tratamientos como el de los pulsos eléctricos, ultrasonido y plasma frío en proteínas de origen vegetal que pueden ser una alternativa prometedora para obtener emulsificantes de alta calidad.

En los últimos años, la aplicación de tratamientos no térmicos se ha visto como una solución prometedora para mejorar las propiedades funcionales de este tipo de biomoléculas, incluyendo su capacidad como emulsificantes a través de descargas de energía eléctrica, aplicación de ondas sonoras y plasma frío, enfocados a alterar su estructura y por ende la funcionalidad de las proteínas de origen vegetal. Los pulsos eléctricos, por ejemplo, son descargas de corriente eléctrica de alta intensidad y corta duración aplicadas a un medio acuoso y que han demostrado que pueden modificar las propiedades estructurales y funcionales de las proteínas.

La aplicación de tratamientos como el ultrasonido, el plasma frío, las altas presiones hidrostáticas y el sometimiento a pulsos eléctricos genera un especial interés en la industria de alimentos, debido a los efectos provocados en la estructura de las proteínas en donde el aumento de la hidrofobicidad, la alteración de la formación en su cadena peptídica, el incremento de la tensión superficial y la disminución del tamaño de partícula, provocan la formación de emulsiones más resistentes y de mejor textura.

La aplicación de estos tratamientos se vislumbra como una estrategia efectiva para obtener emulsificantes de alta calidad, ya que pueden reestructurar la forma primaria, secundaria y terciaria de las proteínas, mejorando su capacidad para estabilizar y dispersar las fases acuosa y lipídica en una emulsión.

Sin embargo; aún se requieren investigaciones adicionales para comprender completamente los efectos de este tipo de tratamientos no térmicos en las propiedades estructurales y funcionales de las proteínas de origen vegetal, así como para optimizar los parámetros de tratamiento.

CAPITULO VI

MÉTODOS Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN EMPLEADOS

6. MÉTODOS Y TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN

El método empleado para la realización de esta tesina fue el método documental, el cual representa una herramienta ampliamente usada en la elaboración de proyectos escritos donde se pretende realizar una recopilación, análisis y síntesis de la información proveniente de fuentes documentales veraces como libros, artículos científicos, informes, entre otros. Este método es especialmente útil cuando se busca fundamentar teóricamente un tema de investigación, a través de la búsqueda y selección de documentos relevantes, en donde se puede obtener una visión completa y actualizada del estado del conocimiento en el área de estudio.

Con respecto a ello, para emplear el método documental de manera efectiva, fue importante emplear una técnica estructurada en la cual el primer paso fue definir claramente el tema de investigación y los objetivos de la tesina, lo cual auxilió a proveer el enfoque adecuado de la búsqueda de documentos en las áreas pertinentes. Posteriormente, se procedió a la búsqueda de fuentes documentales, en donde se realizó de forma específica la búsqueda de bases de datos académicas, bibliotecas digitales y otros recursos especializados para encontrar los documentos relevantes que aseguraran la calidad y confiabilidad de las fuentes seleccionadas.

Una vez recopilados los documentos, se procedió a realizar un análisis crítico de la información obtenida, lo que implicó identificar las ideas principales, comparar diferentes perspectivas y evaluar la validez de los argumentos presentados. Finalmente, se realizó la síntesis de la información recopilada, lo cual permitió organizar y estructurar los hallazgos de manera coherente y clara, a través de tablas comparativas para facilitar la comprensión y presentación de la información.

En resumen, el método documental representó ser una estrategia valiosa para la realización de esta tesina, ya que permitió fundamentar teóricamente el trabajo de investigación siguiendo los pasos mencionados y permitiendo obtener una visión completa y actualizada del área de estudio en cuestión.

CAPITULO VII

DESARROLLO TEMÁTICO

7. DESARROLLO TEMÁTICO

7.1. Características químicas de las proteínas

Las proteínas son compuestos orgánicos constituidos por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos que intervienen en diversas funciones vitales esenciales, como el metabolismo, la contracción muscular o la respuesta inmunológica, donde su componente principal es el nitrógeno.

Las moléculas de proteína son muy grandes y contienen miles de átomos; su estructura es extremadamente compleja. Gran parte de las proteínas intracelulares son enzimas, sustancias que regulan la rapidez con que se han de tener numerosas reacciones celulares (Santos, 2009).

Todas las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos, siendo lo que hace distinta a una proteína de otra, la secuencia de aminoácidos de la cual está hecha. El primer aminoácido tiene su grupo -NH₂ libre, por lo que se denomina amino-terminal (N-terminal) y el último residuo tiene su grupo -COOH libre, denominándose carboxi-terminal (C-terminal). Así se establecen el extremo N- terminal y C-terminal, con el que inicia y termina la secuencia de aminoácidos a lo cual se le denomina estructura primaria (Cardona, 2020).

La secuencia lineal de aminoácidos puede adoptar múltiples conformaciones en el espacio que se forma mediante el plegamiento del polímero lineal. Tal plegamiento se desarrolla en parte espontáneamente, por la repulsión de los aminoácidos hidrófobos por el agua, la atracción de aminoácidos cargados y la formación de puentes disulfuro y también en parte es ayudado por otras proteínas (Nelson & Cox, 2022). Por tanto, se pueden distinguir cuatro niveles de estructuración en las proteínas: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.

La estructura primaria viene determinada por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que

están enlazados. La estructura secundaria se establece por puentes de hidrógeno entre aminoácidos cercanos en la cadena polipeptídica, entre los grupos carbonilo (-CO-) y amino (-NH-). Existen dos tipos de estructura secundaria más frecuentes, la hélice α y la hoja plegada β . También existen los llamados giros, con estructura alfa o beta, que son secuencias cortas, que forman giros en la cadena polipeptídica que determinarán la estructura terciaria. La estructura terciaria, es el modo en que la cadena polipeptídica se pliega en el espacio, es decir, cómo se enrolla una determinada proteína (Cardona, 2020). La estructura terciaria de las proteínas se forma sobre la secundaria, al plegarse sobre sí misma originando una conformación globular o fibrilar y ocurre cuando existen atracciones entre láminas β y hélices- α (Nelson & Cox, 2022).

Esta estructura es específica para cada proteína y determinará su función en relación al agrupamiento de conjuntos denominadas dominios, que luego se articularán para formar la estructura terciaria definitiva. La estructura globular tiene forma de redondeada, y es la típica de las hormonas y enzimas. La estructura fibrilar se caracteriza por dar a la proteína forma de filamento, es la típica de las proteínas estructurales como la queratina y el colágeno (Cardona, 2020).

Como ya se ha mencionado, las proteínas no se componen, en su mayoría, de una única cadena de aminoácidos, sino que se suelen agrupar varias cadenas polipeptídicas (o monómeros) para formar proteínas multiméricas mayores. A esto se llama estructura cuaternaria de las proteínas, a la agrupación de varias cadenas de aminoácidos (o polipéptidos) en complejos macromoleculares mayores. Cada estructura proteica que integra una estructura cuaternaria constituye una subunidad, de modo que una proteína formada por dos subunidades constituye un dímero, por lo que se puede decir que muchas proteínas terciarias son capaces de unirse entre sí, formando una estructura cuaternaria (Pennacchiotti, 1998).

Por otro lado, las interacciones no covalentes de las proteínas representan un factor clave en el plegamiento y estabilidad de esta macromolécula, en donde las

interacciones que existen entre las estructuras secundarias contienen la información necesaria que determina el plegamiento final de la proteína (Molina, et al, 2017).

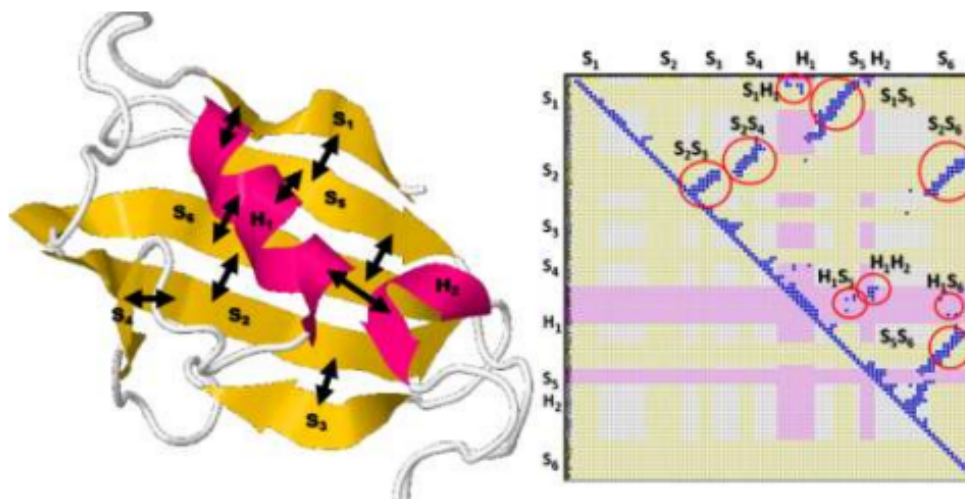


Figura 1. Representación de una proteína en forma tridimensional (izquierda) y el mapa de contacto asociado a la interacción entre estructuras secundarias (derecha) (Molina, et al, 2017).

7.2. Características de las proteínas en los vegetales

En los últimos años se ha visto un aumento considerable en el consumo de las proteínas vegetales debido a sus diversas funciones beneficiosas para la salud y amplias aplicaciones en la industria alimentaria.

Es por ello, que el estudio de las moléculas bioactivas tales como las proteínas vegetales se han perfilado en el campo de los alimentos como una de las áreas de mayor utilidad por representar ser una fuente sustentable para el consumo humano debido a las ventajas implicadas en contra parte con las proteínas de origen animal.

Es así, que las proteínas vegetales combinadas con otros polímeros comestibles se pueden utilizar para mejorar la calidad y el valor nutricional de los productos alimenticios mediante sistemas alimentarios más complejos en donde las interacciones entre los diferentes componentes tienen una influencia significativa en la estructura y funciones de los productos alimenticios.

Con respecto a ello, Lin et al (2017) menciona que las proteínas de origen vegetal interaccionan de formas diferentes con otros polímeros (como polisacáridos o proteínas animales) en diferentes condiciones, formando así una variedad de estructuras más complejas tales como redes dobles, texturas de mosaico y estructuras reticuladas, que originan diferentes impactos en las propiedades de los productos alimenticios finales y en sus aplicaciones (por ejemplo, sustitución de grasas o encapsulación de ingredientes bioactivos).

7.3. Proteínas de origen vegetal

Para el caso de las proteínas de origen vegetal, se ha visto que, durante la proteólisis, ocurre un proceso donde se liberan las secuencias de aminoácidos en forma de péptidos cortos (hidrolizado de proteínas) e antihipertensivos, los cuales pueden ayudar a controlar enfermedades fisiológicas derivadas de la presión arterial humana (Aluko, 2015) cuando son consumidas.

Se ha reportado que la proteína proveniente de la hierba quinua, ha comenzado a ganar popularidad gracias a su biodisponibilidad, calidad y composición adecuada de aminoácidos esenciales (Carpio et al, 2021).

7.4. Proteínas en las leguminosas

Las leguminosas son las plantas de las que se cosechan las legumbres que son un fruto formado por una vaina que encierra en su interior una semilla o una hilera de semillas, que se consumen secas. Las legumbres son uno de los alimentos más consumidos en el mundo y considerando sus ventajas nutricionales, se propone sensibilizar a la opinión pública para que formen parte de una producción de alimentos sostenible encaminada a lograr la seguridad alimentaria y la nutrición.

Se ha observado que las plantas constituyen una de las fuentes más abundantes de biomoléculas comestibles, como las proteínas, entre las que se pueden encontrar la legumina, la vicilina, convicilina, la albumina y la gliadina, en donde como explica Aluko (2015) “dentro de la estructura primaria de las proteínas se

encuentran incrustadas ciertas secuencias de aminoácidos que permanecen inactivas mientras la estructura permanezca intacta". La gran mayoría de estas proteínas es proveniente de las leguminosas.

Como lo mencionan Rivero, Carpio y Guadix (2021), actualmente la proteína de soya, avena y los chicharos son las más utilizadas como sustituto de las proteínas de origen vegetal, en las formulaciones alimenticias, ya que contienen aminoácidos esenciales en la proporción adecuada, a excepción de la metionina.

En este sentido, las leguminosas se caracterizan por tener proteínas con estructuras de tipo cuaternarias siendo en gran medida, las semillas de las leguminosas comestibles reconocidas como la principal fuente de proteínas de bajo costo en la dieta del hombre, ya que su contenido oscila de 20 a 40%, el cual es superior al de otros vegetales como los cereales que tienen entre un 7 y un 14%. De acuerdo a un estudio realizado por Soto-Zamora et al. (2018), las proteínas estructurales de las leguminosas están compuestas principalmente por cadenas polipeptídicas enrolladas en estructuras compactas, conocidas como dominios. Estos dominios pueden estar formados por un solo polipéptido o por la unión de varios polipéptidos que interactúan entre sí. Además, se ha observado que las proteínas de las leguminosas presentan una gran cantidad de puentes disulfuro, los cuales juegan un papel importante en la estabilidad y estructura tridimensional de las mismas (Soto-Zamora et al., 2018).

Schreuders et al (2019) hace referencia a que los aislados de proteína proveniente de los chícharos en combinación con el gluten del trigo resultan en materiales de morfología fibrosa mediante estructuración inducida por cizallamiento al ser tratados mediante calentamiento, lo cual, a su vez, origina materiales anisotrópicos, alterando su fibrosidad a diferentes rangos de temperatura. Esto indica que la asociación de los diferentes aislados produce estructuras de diferentes características que, dependiendo del tipo de chícharo utilizado, generan o propician propiedades fisicoquímicas que pueden utilizarse para diferentes aplicaciones alimenticias.

De la misma forma, Ramos et al (2022), realizaron un estudio donde se mostró que los aislados de proteína provenientes de los chícharos funcionan de manera óptima como análogos de carne fibrosa y que las características de textura, como la resistencia al corte, dependían fundamentalmente de la variación de las temperaturas empleadas en la extrusora.

Como se muestra en la figura 2, la retención de agua también representa una característica importante durante la observación de este tipo de estudios, ya que, en cierta medida, determina la capacidad estructural de los aislados y la funcionalidad de resistencia que poseen las uniones peptídicas para su futura aplicación en alimentos a través del tratamiento a diferentes temperaturas.

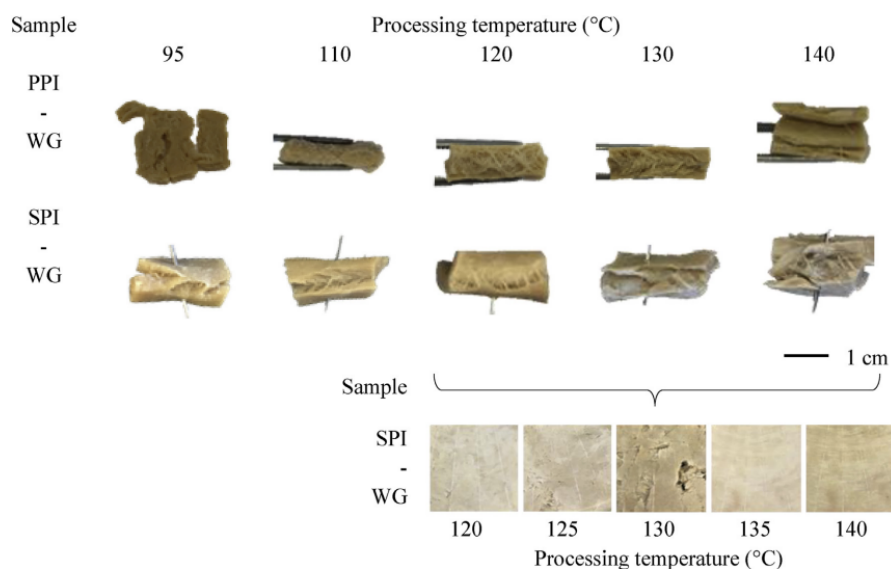


Figura 2. Aislados proteicos sometidos a efectos de cizalla y temperatura (Ramos, et al, 2022)

Aunado a ello, los aislados de chícharo y soja aumentan la masticabilidad y dureza de los análogos de la carne debido al aumento de la fuerza de sus enlaces peptídicos en su estructura a una red más extensa de enlaces cruzados de proteínas, lo que impacta en la retención del agua y, por ende, en la jugosidad del análogo (Ramos, 2022).

Esto puede considerarse, por tanto, que la estructura secundaria de los chícharos y otras fuentes de proteína vegetal, genera una fibrosidad más resistente que la creada por las proteínas de origen animal, pero con una menor retención de agua, lo cual limita hasta cierto punto su aplicación para cierto tipo de alimentos.

Sin embargo, en la industria de los alimentos el uso de aditivos basados en proteínas vegetales sigue en aumento y su uso la mayoría de las veces resulta en una aplicación en seco (polvos), por lo que depende del objetivo el uso de los aislados y de sus combinaciones entre ellos y entre otro tipo de macromoléculas.

Referente a ello, se ha comprobado que los cambios en las condiciones del proceso permiten la formación de estructuras anisotrópicas que varían en los resultados de sabor, estructura y texturas en las proteínas vegetales texturizadas que pueden adaptarse a diversos productos veganos o híbridos (Baune et al, 2022).

7.5. Métodos de obtención de proteínas vegetales para su consumo y/o aplicaciones

Las proteínas a su vez, pueden obtenerse mediante procesos de filtración por membrana, separación química o a través de procesos enzimáticos, entre los cuales el más empleado suele ser el secado por aspersión para producir polvos de proteína de suero estables (Zouari, 2020).

Finalmente, el tipo de proceso al cual es sometida la proteína durante su extracción permite mejorar la digestibilidad de las mismas y la disminución de sus propiedades alergénicas, en donde la funcionalidad de la cadena de péptidos provenientes de hidrolizados depende directamente de aspectos como el tamaño molecular, la estructura química y la secuencia específica de sus aminoácidos (Guerrero et al, 2012).

Para este caso, existen ejemplos como el de las proteínas vegetales texturizadas (TVP, Figuras 3 y 4) que se pueden definir como "texturizados" elaborados a partir de fuentes de origen vegetal y agua al pasar por una transformación de un material tipo polvo a un material estructurado sólido (Baune et al, 2022).



Figura 3. Proteínas vegetales texturizadas de baja humedad, A: seco. B: hidratado (Baune, et al, 2022)

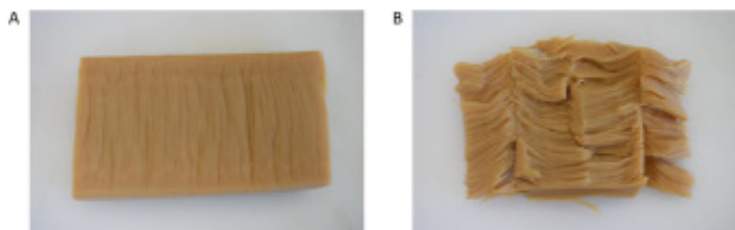


Figura 4. Proteínas vegetales texturizadas de alta humedad, A: textura exterior. B: textura interior (Baune, et al. 2022)

Como lo refieren Fang, et al (2024), los métodos de aislamiento de las proteínas vegetales deben ser seleccionados de manera adecuada con la finalidad de separar la proteína de la matriz celulósica, para lograr productos proteicos de alta pureza y que pueden ser extraídos mediante métodos químicos, bioquímicos, físicos y combinados.

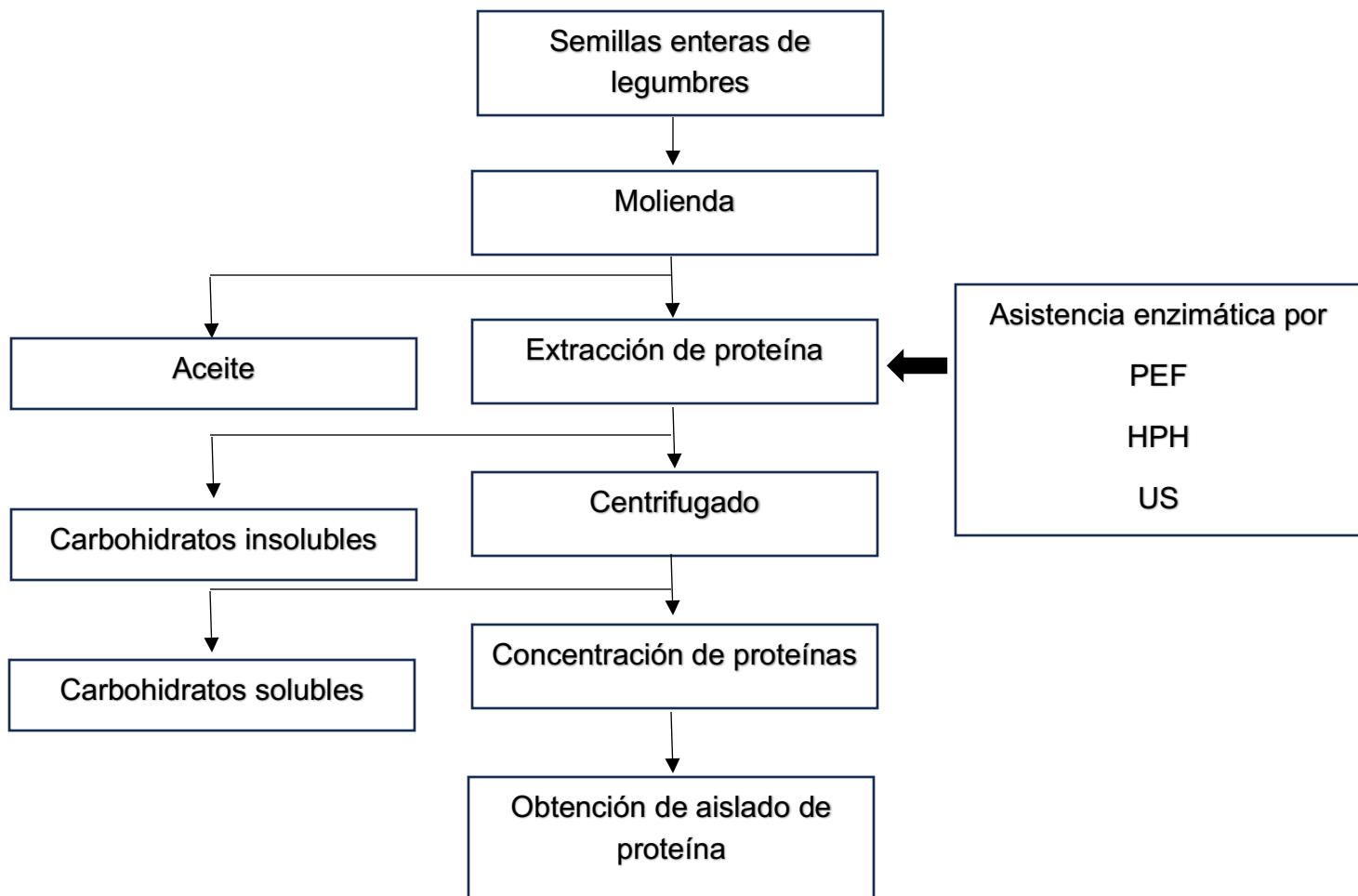
En este aspecto, el empleo de aislados de proteína de soja (Kaur et al, 2022) en conjunto con concentrado de proteína de leche y en adición a harina de trigo, es capaz de modificar las propiedades físicas y de textura de las mezclas, logrando obtener una coloración más oscura en el producto final (panadería) mediante un aumento de dureza, gomosidad y resistencia a la penetración.

Otro tipo de proteína de origen vegetal extraída, es la proveniente de la vegetación marina como materia prima para fines de uso y aplicación en suplementos y en la industria alimentaria, donde se ha podido observar que los valores más altos de proteína cruda (30.28-37.10%) pueden ser utilizados para dicho fin, sin mostrar alteración en la cadena de aminoácidos presente y sin una diferencia significativa en comparación a las proteínas extraídas en vegetación terrestre (Carranco et al, 2002).

Es por esto y aunado a que la tendencia de mercado se encuentra en incremento en búsqueda de mejores aportaciones funcionales y nutrimentales , que la exploración dirigida hacia la obtención de nuevas fuentes proteicas de origen vegetal también ha orillado a los científicos a utilizar métodos como el aislado de proteínas vegetales de especies inusuales, reciclar las partes vegetales restantes después de la cosecha y utilizar subproductos de la línea de procesamiento industrial, comúnmente conocido como proteína vegetal no convencional o también llamado UVP (Fang, et al, 2024).

En este punto, es importante entender que la utilización de las UVP (por ejemplo, las hojas de brotes de bambú) como un ingrediente alimenticio funcional, depende de la compresión y manejo integral de las características moleculares y estructurales de las proteínas involucradas y de su proceso de extracción.

A continuación, se muestra un diagrama general sobre el método de obtención de los aislados de proteína, en los cuales se consiguen generar subproductos como aceites y carbohidratos solubles e insolubles, los cuales son separados de la proteína a través de técnicas como la molienda, el centrifugado y el concentrado proteico en conjunto con la aplicación de tecnologías de tipo de no térmicas que provocan una asistencia enzimática al proceso.



En este aspecto, la obtención de las proteínas asistidas por métodos como el ultrasonido, refiere al uso de fenómenos como el de cavitación y corrientes de onda, los cuales durante su extracción mejoran la funcionalidad de las proteínas, logrando cambiar su estructura espacial y potenciando los efectos positivos de los procesos

enzimáticos, los cuales dependen de las condiciones de extracción y concentrado (Cheng, et al, 2022).

Un estudio realizado por Lee et al (2022) mostró que el uso de proteínas provenientes de los aislados de soja en combinación con los aislados de proteína de arroz, muestran características estructurales más débiles a las de la proteína proveniente de cárnicos, aunque con un mayor valor nutricional; mientras que el uso único de aislado de arroz supera al de soja en cuestión a la calidad del contenido de materia soluble durante la rehidratación.

Lo anterior deduce que la combinación de los aislados de proteína vegetal con otro tipo de macromoléculas, impacta de manera directa en la estructura de la cadena peptídica de los alimentos y por ello, es necesario realizar ensayos para determinar cuáles son las mejores opciones de sustitución para la industria alimentaria.

Otro de los aspectos importantes a considerar durante la extracción de las proteínas en los vegetales, se debe al proceso de dilución de la misma en agua, en donde los grupos polares y la carga de los aminoácidos residuales en la solución pueden hacer que la proteína también incremente su carga, por lo que procesos como el PEF pueden ayudar a promover un cambio enzimático durante la extracción de la proteína y la separación de los carbohidratos insolubles (Cheng, et al, 2022).

Es por ello que, aunque las proteínas de origen vegetal se presentan como una buena alternativa para la sustitución de proteínas de origen animal, estas son más susceptibles durante el procesamiento y el medio ambiente en el que se aíslan, lo que puede conducir al deterioro de la proteína y afectar así, propiedades funcionales primordiales como la solubilidad y, por tanto, algunas de sus aplicaciones en la industria de los alimentos (Duan et al, 2019).

7.6. Funcionalidad de las proteínas como emulsificantes aplicadas a productos alimenticios

Los alimentos a base de emulsiones representados por productos como helados, mantequilla, salchichas y productos lácteos son una parte integral de la dieta humana, siendo el principal elemento en su producción los emulsionantes, que generalmente están compuestos por moléculas anfifílicas que son tanto hidrofílicas como lipofílicas.

Con la creciente conciencia que se ha creado sobre la seguridad alimentaria y la creciente demanda de ingredientes naturales, el potencial de la proteína vegetal como biomacromolécula anfifílica en la emulsificación de alimentos ha recibido mucha atención por parte del área científica, como lo es en el caso de las proteínas ribosómicas (RP) que debido a su alta masa molecular y baja solubilidad, son difíciles de usar directamente como emulsionantes y por tanto, deben modificar su estructura para facilitar su estabilidad en la interfaz aceite-agua (Chen et al, 2023).

Las propiedades emulsificantes de las proteínas están relacionadas con su estructura química, que, a su vez, contribuye para la disminución de la tensión interfacial entre los compuestos hidrofóbicos e hidrofílicos, existiendo una mayor disposición de las moléculas para actuar en la interfase (Barrera, et al, 2007). De esta manera, las propiedades funcionales de las proteínas están estrechamente relacionadas a su hidrofobicidad superficial y de ella depende su capacidad para formar espumas o emulsiones. Cuando se hace alguna modificación en la estructura de alguna proteína sin cambiar la secuencia de los aminoácidos de su cadena principal, se obtienen cambios en la respuesta de las propiedades funcionales (Camarillo et al, 2012).

Una de las propiedades esenciales de la proteína para su uso como emulsionante es lo que se denomina como anfifilia instantánea o potencial, la cual, refiere a la posición y composición de los aminoácidos individuales a lo largo de la cadena polipeptídica con lo cual se determina la forma y posición de las partes (hidrofóbicas e hidrofílicas) en la estructura, lo que define dicho rasgo.

Esta característica, por ejemplo, permite a las proteínas de origen vegetal adsorber en su superficie a las gotas de aceite y reducir la tensión superficial de la mezcla, que como ya se ha mencionado, es originada por las propiedades fisicoquímicas de las proteínas que pueden influir en la adsorción y en la relación de la interfaz agua-aceite (Campelo et al, 2020).

Por otro lado, se ha observado que, aunque las proteínas vegetales prometen ser una fuente prometedora de emulsionantes naturales, estas aún carecen de un uso aplicado ampliamente, debido a que sus propiedades emulsionantes no son tan fuertes como las de origen animal (Lima et al, 2023).

Otros factores como la estructura de la proteína, la flexibilidad y el punto isoeléctrico pueden afectar la solubilidad e hidrofobicidad de la misma, alterando la tasa de reorganización estructural de la proteína adsorbida de la interfaz, que a su vez afecta el impedimento estérico entre las gotas alterando la estabilidad de la emulsión. La mayoría de las proteínas vegetales tienen estructuras rígidas, lo que también contribuye a menor solubilidad y limita su uso como ingredientes alimentarios (Perrone et al, 2023).

Finalmente, autores como Basak, S. y Annapure, U. (2022), mencionan que uno de los requisitos para que una proteína posea una buena capacidad emulsionante son las propiedades de tipo espumantes además de una absorción a la interfaz agua-aire o agua-aceite rápida, junto con la formación de una película cohesiva en la interfaz al interactuar con las moléculas vecinas.

7.7 Aplicación de tecnologías no térmicas para la modificación de las proteínas

La modificación de proteínas a través de procesos no térmicos se ha estudiado a lo largo de los años como una opción ecológica que ha mostrado no presentar efectos adversos en la calidad de los productos alimenticios.

Diversos estudios se han dedicado a aplicar diferentes tecnologías de tipo ecoinnovadoras para incrementar las propiedades funcionales importantes como la solubilidad o la anfifilicidad de las proteínas de origen vegetal, siendo las más aprovechadas en la actualidad el tratamiento con ultrasonido, el tratamiento con microondas, la aplicación de pulsos eléctricos, aplicación en plasma frío y altas presiones hidrostáticas (Duan et al, 2019).

Dentro de estas tecnologías no térmicas, las cuales pueden ser aplicadas en diferentes etapas del procesamiento y desarrollo de los alimentos, las condiciones de tratamiento son un punto clave para la obtención de resultados favorables, debido a que la variación en dichas condiciones puede afectar en forma positiva o negativa los compuestos bioactivos del alimento en cuestión (Barbosa-Cánovas, et al, 2021).

Estas tecnologías no térmicas, también buscan convertirse en una alternativa de los tratamientos convencionales, los cuales generalmente utilizan temperaturas altas o la aplicación de químicos, que terminan por perjudicar las características organolépticas y nutricionales del producto; siendo las tecnologías no térmicas enfocadas a la modificación de las proteínas, un proceso que está ganando gran terreno innovadoras como por su sustentabilidad, cuidado del medio ambiente y bajo consumo de recursos (Cheng, et al, 2022).

7.7.1. Aplicación de plasma frío (CP)

El tratamiento de plasma frío (CP) se refiere a una tecnología de procesamiento de tipo no térmica, originada inicialmente con el fin de aumentar la vida útil de los productos.

El plasma frío, conocido también como el cuarto estado de la materia, representa un gas parcialmente ionizado, el cual puede ser generado mediante electricidad, frecuencias de microondas y campos magnéticos, en donde la energía producida puede transformar los enlaces peptídicos dentro de las estructuras tridimensionales proteicas, conduciendo a agregaciones, polimerización y formación de enlaces disulfuros, alterando las capacidades emulsificantes de dichas proteínas (Acharjee, et al, 2023).

Dependiendo de las condiciones de presión ejercidas en el tratamiento, el plasma frío se puede categorizar como plasma atmosférico (ACP) y plasma de baja presión, siendo el primero, el generado a través de condiciones atmosféricas estándar que no implican la utilización de costosas cámaras de reacción y bombas para mantener la presión (Mollakhalili-Meybodi, et al, 2020).

En este sentido, la creación del plasma se origina mediante reacciones de disociación, ionización y excitación, en donde por medio de reacciones plasmáticas secundarias se generan especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS); propiciadas a través de diferentes dispositivos como el chorro de plasma, la descarga de radiofrecuencia (RFD), la descarga de barrera dieléctrica (DBD), la descarga de arco deslizante (GAD), la descarga luminiscente (GD) y la descarga de corona (CD); siendo los sistemas DBD los que se utilizan con mayor frecuencia, debido a su bajo costo y a la formación de plasma que ocurre entre sus electrodos, logrando que el oxígeno, el aire, el helio, el nitrógeno y el argón funcionen como gases portadores (Rout & Srivastav, 2023).

En la figura 5, se muestran los cambios producidos en el sustrato de una enzima, cuando actúan las especies reactivas ROS y RNS a través del tratamiento con CP.

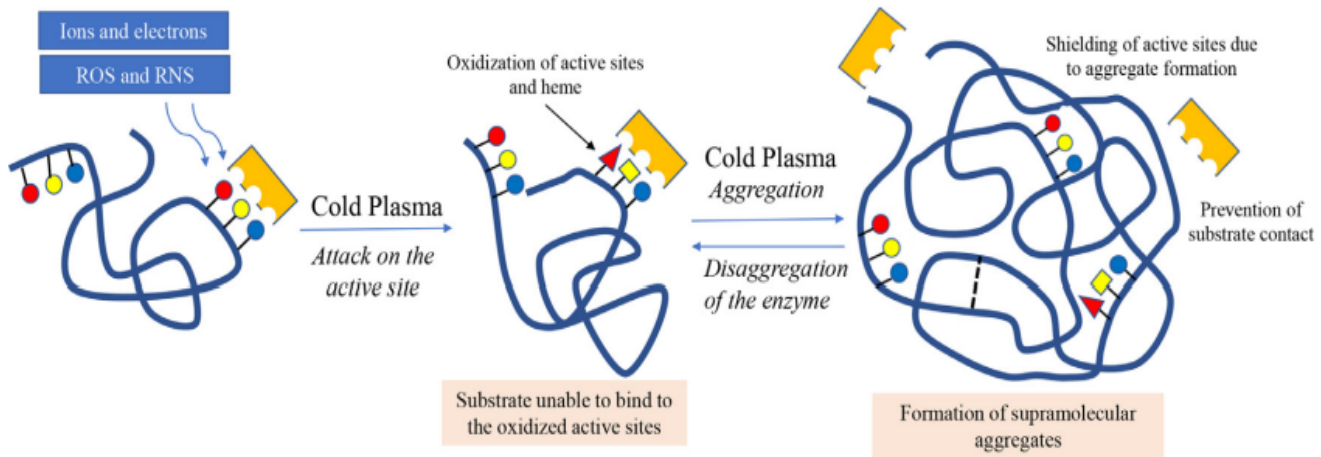


Figura 5. Esquema de los cambios conformacionales provocados por el tratamiento de CP y su afectación en el sustrato (Basak, S. y Annapure, S. 2022)

En la figura 6 se puede observar algunos de los efectos causados en el tratamiento de plasma frío sobre las proteínas vegetales cuando son sometidas a un dispositivo de DBD, siendo las principales características modificadas la solubilidad, su comportamiento interfacial, los cambios estructurales y las propiedades nutricionales; además de los cambios obtenidos en las enzimas, tales como el estado de agregación y segregación, los cambios estructurales y la activación e inactivación de las enzimas.

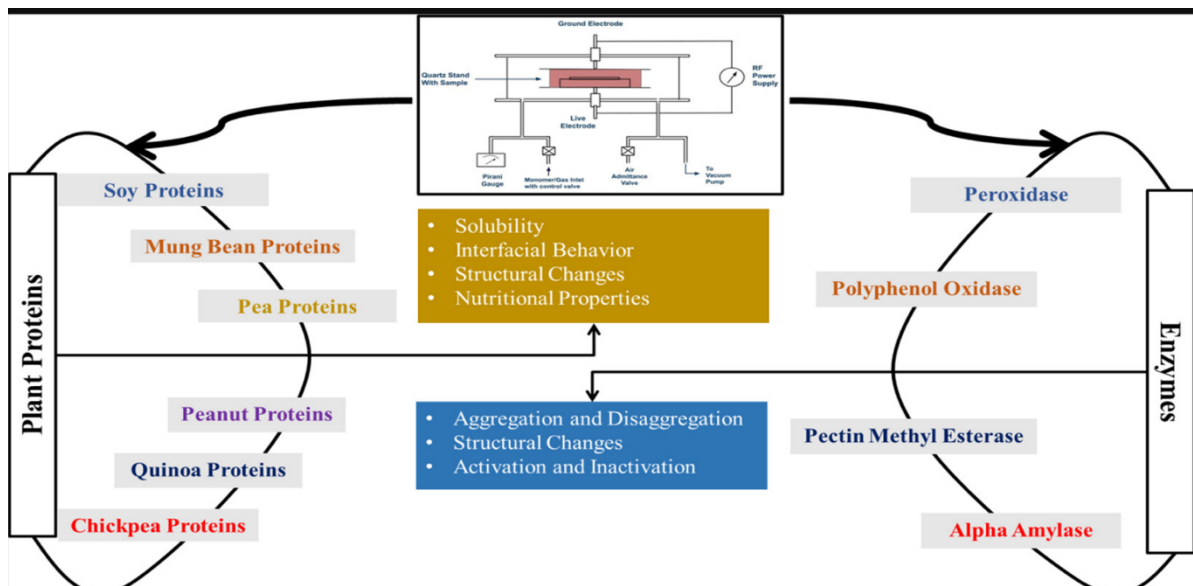


Figura 6. Esquema de tratamiento de plasma frío DBD y sus efectos en las proteínas de origen vegetal (Rout & Srivastav, 2023)

De igual manera, en la figura 6 se muestra un esquema de un equipo de plasma frio para la modificación químico-estructural de la proteína de chícharo, en donde se obtuvieron cambios en la estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas junto a una mejora en sus características funcionales.

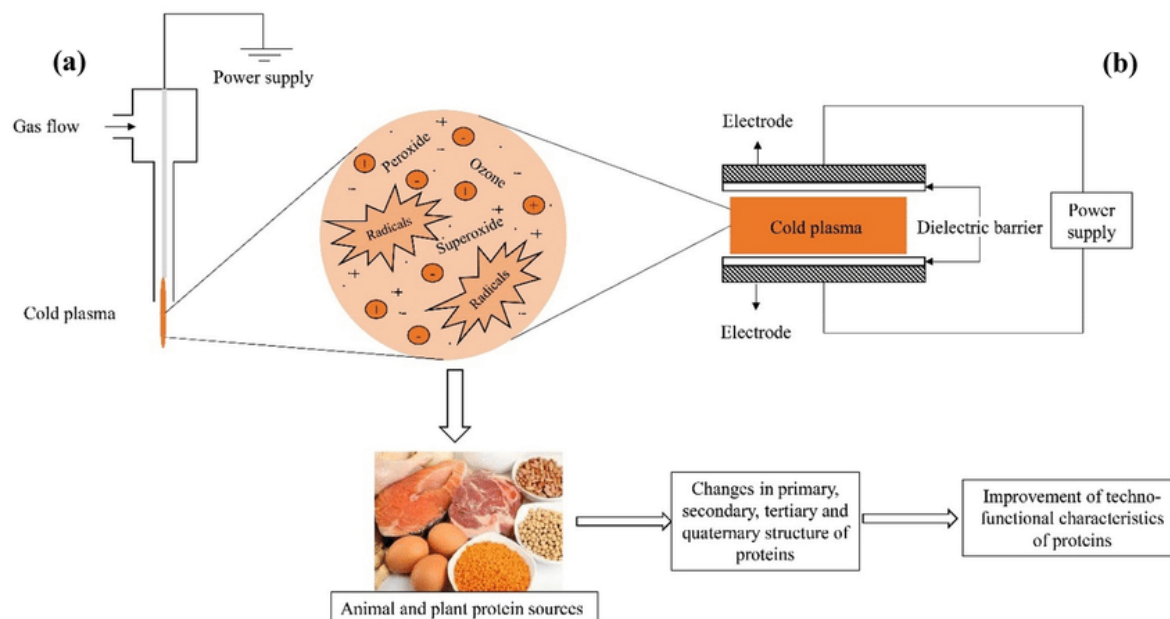


Figura 7. Esquema de tratamiento de plasma frio aplicado a proteínas de origen vegetal (Mollakhalili-Meybodi, et al, 2020)

En la siguiente tabla se pueden observar los resultados obtenidos en el tratamiento de plasma frio en proteínas de origen vegetal.

Tabla 1. Efecto de la aplicación de plasma frio sobre las proteínas de origen vegetal

Fuente proteica	Voltaje aplicado (kV o V)	Condiciones del tratamiento	Cambios observados en sus propiedades	Referencia
Aislado de proteína de germen de trigo	25 Kv	pH 10.0 5, 10, 20 y 40 min Dispositivo DBD	Aumento de la solubilidad conforme a aumento de pH.	

			Incremento del índice de actividad emulsionante (EAI) a pH 10.0 durante 5 min. Reducción del índice de estabilidad emulsionante (ESI) a exposiciones de tiempo mayor.	Abarghoel, et al, 2023
Aislado de proteína de soya (SPI)	18 kV 120 Hz 8.8 kV	pH alcalino (NR) 15 min 3 min 10 min	Aumento de la solubilidad Homogenización del tamaño de partícula Ligero aumento de la capacidad emulsificante, pero disminución en la estabilidad emulsionante	Sarafodin & Sotanzadeh, (2022)
Aislado de proteína de soya (SPI)	80 Hz	<5 min	Aumento de la solubilidad Aumento óptimo de la capacidad emulsificante, pero disminución en la estabilidad emulsionante	Zhang, et, al, (2020)
Aislado de proteína de cacahuete	35 V	2 min	Aumento de la solubilidad Aumento en la estabilidad de la emulsión	Ji, et al, (2020)
Aislado de proteína de chícharo (<i>Lathyrus sativus</i> L.)	9.4 kV 18.6 kV	30s 60s	Aumento de la tensión interfacial Aumento del estado de agregación Bajo poder emulsionante	Mehr & Koocheki (2020)
Proteína de linaza	50 Hz - 5 V	0-240 s	Aumento en la capacidad y estabilidad emulsificante	Yu, et al, (2020)

Gracias a los resultados mostrados en la tabla 1, es posible observar que el tratamiento de plasma frío en el aislado de proteína de germen de trigo a condiciones de pH de 10.0, mejoraron la solubilidad de la misma debido al aumento de la repulsión electrostática de sus moléculas, aunado a la ruptura superficial de las unidades proteicas y de la colocación de los grupos cargados en las cadenas de polipéptidos, los cuales expusieron los grupos más polares de la proteína, causando una fuerte interacción de los enlaces de hidrógeno; siendo así que después del tratamiento con CP, se logró un equilibrio de los grupos hidrofílicos e hidrófobos, además de la carga en los fragmentos proteicos, los cuales fueron los principales factores para el aumento de la solubilidad.

Así mismo, se logró observar una estabilidad óptima emulsificante (ESI) y un incremento del EAI del aislado de germen de trigo a un pH de 10.0 y un tiempo de 5 minutos de exposición al tratamiento, mostrando que, al incrementar el tiempo del mismo, se origina una reducción en ambos indicadores, atribuidos a la fragmentación de la proteína, debido a que las moléculas redujeron la actividad de tensión interfacial. De la misma manera, durante el tratamiento a 5 minutos de exposición, los grupos ROS interactuaron con la superficie de la proteína, aumentando la carga eléctrica de la superficie de la gota de aceite, de modo que el equilibrio hidrófilo/hidrófobo también aumentó el EAI.

Finalmente, para el caso del aislado de germen de trigo, el tratamiento con CP cambió la estructura secundaria (aumentando el contenido de lámina β y bobina aleatoria y disminuyendo el de la hélice α y el giro β) lo que provocó que la proteína tuviera una alta capacidad para reducir la tensión interfacial y así poder ser rápidamente absorbida en la interfaz aceite-agua.

Los resultados arrojados sobre la solubilidad del aislado de proteína de soya mostraron efectos favorables al realizar el tratamiento en un pH alcalino, originados por la formación de grupos ROS, los cuales expusieron ciertos grupos hidrófilos mejorando la interacción y unión de las moléculas de agua a la superficie de la proteína, generando un tamaño mucho más uniforme en las partículas. Sin embargo, se observó de la misma manera, que una exposición prolongada, provoca la acumulación (hacinamiento) de las micelas de la proteína debido a que se conducen mayores interacciones con el agua, reduciendo los sitios activos para la reacción.

Otro de los factores que contribuyeron al aumento de la solubilidad en SPI, se explica mediante el bombardeo de las especies reactivas producidas, las cuales crean sitios de actividad en la superficie de la proteína, originando cavidades en ella con la capacidad de romper los enlaces de hidrogeno entre proteínas de la interfaz proteína-proteína, por lo que se reducen las posibilidades de agregación y se mejoran las capacidades emulsificantes de la mezcla agua-aceite.

Además, se observa que el tratamiento de CP en la SPI a duración corta y baja frecuencia puede dar lugar a estructuras más flexibles, con capacidad de generar películas en la interfaz aceite-agua o aire-agua, sin embargo, esto provoca que la estabilidad de la

emulsión sea proporcionalmente inversa, debido al aumento del peso molecular en las reacciones de reticulación.

Caso similar sucede para el aislado de proteína de cacahuate, en donde a condiciones de 35 V durante 2 minutos, se obtuvo un aumento favorable en la estabilidad de la emulsión, producida por la disminución del diámetro micelar en la emulsión a tiempos menores de los 3 minutos, aumentando los sitios de reacción y una mayor capacidad de interacción con el agua.

De la misma forma y para el estudio en la proteína de linaza, se obtuvieron resultados favorables para la capacidad y la estabilidad emulsionante, en donde las interacciones entre la proteína y los ácidos fenólicos libres en la linaza, contribuyeron en la mejora de la actividad emulsionante gracias al aumento de la actividad interfacial siendo esto únicamente posible por la coexistencia de los ácidos fenólicos libres, de los oligómeros y del mucilago de la linaza.

Finalmente, y para el caso del aislado de proteína de chícharo, se observa que la aplicación de tratamiento de CP a altos voltajes, aumenta la tensión superficial, pero disminuye la capacidad emulsionante, atribuido al gran tamaño molecular de sus proteínas globulares, lo que limita su flexibilidad y capacidad para adsorberse rápidamente en la interfaz petróleo-agua, además de aumentar su estado de agregación.

7.7.2. Aplicación de pulsos eléctricos

La tecnología de aplicación de pulsos eléctricos es una de las técnicas no térmicas más empleadas en la industria de alimentos. Consiste en exponer al alimento a pulsos generados por campos eléctricos de alto voltaje y corta duración (que pueden ir desde los mili hasta lo microsegundos y de 1 a 8 KV/cm²), generando poros en la membrana celular (electroporación), lo cual a su vez induce el aumento de la permeabilidad, favoreciendo el paso de otros compuestos a la solución circundante y mejorando así la propiedad emulsificante de algunas proteínas (Vivanco, et al, 2021).

El tratamiento con PEF, consigue generar resultados basados en las condiciones de aplicación, en donde factores como la frecuencia de pulso, la forma de onda del pulso, las propiedades del material alimenticio, el tiempo de procesamiento y la intensidad del campo eléctrico, afectan la capacidad de procesamiento de la materia prima y de los aspectos fisicoquímicos y sensoriales de la misma (Cheng, et al, 2022).

Un estudio realizado por Li et al. (2020) demostró que la aplicación de pulsos eléctricos aislados a proteínas de origen vegetal, como la proteína de soja, aumenta su capacidad emulsionante en comparación con las proteínas no tratadas. Los pulsos eléctricos inducen la desnaturalización y reestructuración de las proteínas, lo que conduce a la formación de agregados proteicos más pequeños y homogéneos, lo que a su vez mejora la capacidad emulsionante de las proteínas.

Además, estudios adicionales han demostrado que los pulsos eléctricos pueden afectar las fuerzas intermoleculares que mantienen unidas a las proteínas, permitiendo una mejor dispersión en el sistema acuoso y, por lo tanto, estableciendo una interfaz más eficiente entre las fases acuosa y oleosa en una emulsión (Smith et al., 2018).

En la figura 7.2 se muestra un ensamble de tratamiento de pulsos eléctricos en proteínas de origen vegetal, mientras que en la figura 7.3 se muestra un esquema general del tratamiento de pulsos eléctricos aplicado en alimentos.

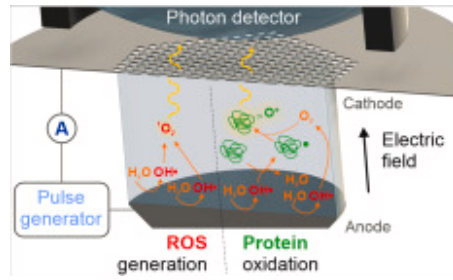


Figura 8. Ensamble para el tratamiento con pulsos eléctricos en proteínas de origen vegetal (Vahalová, et al, 2023).

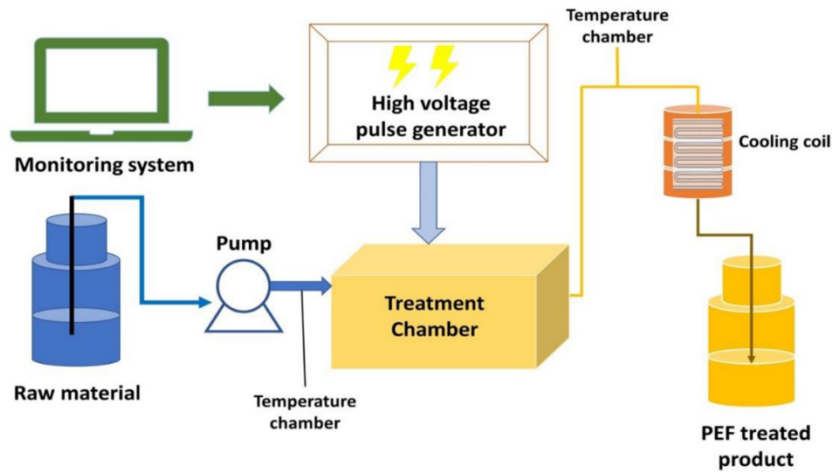


Figura 9. Esquema general del tratamiento de pulsos eléctricos aplicado en alimentos (Taha, et al, 2022)

Así pues, en primer lugar, el tratamiento con pulsos eléctricos puede alterar la estructura primaria de las proteínas, como la secuencia de aminoácidos, a través de la desnaturalización y reordenamiento de las cadenas polipeptídicas, lo cual ayuda a mejorar la textura de los alimentos y/o mezclas durante su procesamiento.

En segundo lugar, los pulsos eléctricos pueden inducir cambios en la estructura secundaria de las proteínas, como la conformación de alfa-hélice y beta-lámina, a través de interacciones electrostáticas y fuerzas de Van der Waals. Estos cambios estructurales pueden mejorar la capacidad de las proteínas para adsorber en la interfaz entre el agua y el aceite, formando una película protectora alrededor de las gotas de aceite y evitando su coalescencia (Zhang, 2017).

Además, los pulsos eléctricos pueden modificar la estructura terciaria de las proteínas, como las estructuras plegadas y globulares, a través de la ruptura y reorganización de los enlaces covalentes y no covalentes. Estos cambios

estructurales pueden influir en la interacción de las proteínas con otros componentes de la emulsión, como los lípidos y los sólidos dispersos, mejorando la estabilidad de la emulsión a largo plazo (Poulsen, 2019).

A continuación, se muestran algunos de los resultados obtenidos en investigaciones realizadas mediante tratamiento con PEF.

Tabla 2. Efecto de la aplicación de pulsos eléctricos sobre las proteínas de origen vegetal

Fuente proteica	Voltaje aplicado (kV o V)	Condiciones del tratamiento	Cambios observados en sus propiedades	Referencia
Aislado de proteína de soja	0-40 kV/cm	0-547 μ s con pulso de 2 ms de ancho y 500 pulsos por segundo (pps) en frecuencia de pulso	Disminución de la solubilidad y de la hidrofobicidad en la superficie	Li, et al, 2007
Proteína de canola	10-35 kV	Pulsos con frecuencia de 600 Hz y pulsos de ancho de 8 μ s.	Mejora en las propiedades emulsificantes	Liu, et al, 2011
Proteína de girasol	10-150 V/cm	Frecuencia de 5s a temperatura de 25-45°C	El tratamiento moderado a 20 V reduce la tensión interfacial en la solución proteína/agua	Suba,si, et al, 2021
Aislado de proteína de chícharo	5, 10 y 15 V	Frecuencias de 50 Hz y 20 kHz	Aumenta la hidrofobicidad	Chen, et al, 2022

Como se puede observar en la tabla anterior, la aplicación del tratamiento mediante pulsos eléctricos genera cambios significativos en la hidrofobicidad y en la tensión superficial de las proteínas, lo que puede implicar una mejora o una pérdida en la capacidad emulsificante de las mismas, dependiendo de las condiciones del tratamiento y de la naturaleza de la proteína en cuestión, como veremos a continuación.

Para el caso de la proteína de canola, es notable mencionar que la aplicación de pulsos con una frecuencia media y voltaje de medio a alto (10-35 kV con frecuencia

de 600 Hz y pulsaciones de 8 μ s), generan una mejora en las propiedades emulsificantes de la semilla; mientras que, para el caso del aislado de chícharo, este tipo de tratamiento a bajas frecuencias y voltajes (5, 10 y 15 V a frecuencias de 50 Hz), sólo consigue aumentar la hidrofobicidad de la proteína, lo cual implica una pérdida de su propiedad como emulsificante debido a la producción de inmiscibilidad que generan los grupos hidrófobos expuestos.

Por el contrario, el aislado de proteína de soja, disminuye la hidrofobicidad, pero sólo en la superficie, alterando en forma negativa la solubilidad de la misma y volviéndola poco miscible con el agua, lo que muestra un efecto no favorable para su condición emulsificante a un tratamiento de 0-40 kV/cm y 0-547 μ s con pulso de 2 ms de ancho y 500 pulsos por segundo (pps) en frecuencia de pulso.

Como se observa en los resultados arrojados para el caso de la proteína de girasol, el tratamiento con voltajes bajos y frecuencias medias (0.01-.15 KV/cm) aunado a su aplicación a temperatura, de ambiente a 45°C, el PEF genera una reducción en la tensión interfacial, lo que originaría una modificación favorable en la capacidad emulsificante de la proteína, debido a que la energía necesaria para poder romper la superficie de contacto entre ambas fases disminuye.

Es importante mencionar que, de los estudios analizados, únicamente el perteneciente a Liu, et al (2021), muestra un resultado concreto enfocado hacia la capacidad emulsificante de la proteína, mientras que el resto de ellos, si bien mencionan alteraciones fisicoquímicas importantes generadas en las muestras experimentales que pueden sustentar una mejora o una pérdida en dicha capacidad, no proporcionan conclusiones concretas sobre el poder emulsificante de las proteínas involucradas.

En relación a ello y como lo menciona Mirmoghtadaie (2015), el comportamiento de la hidrofobicidad a través del tratamiento con PEF está basado directamente en el incremento de las pulsaciones, el voltaje y la duración del mismo, ya que un incremento en estos parámetros provoca el despliegue molecular de las proteínas que genera la exposición de los grupos hidrofóbicos. Es así, que la hidrofobicidad de la proteína disminuye después de la aplicación del PEF a condiciones más duras

y prolongadas debido a la desnaturalización y agregación de las proteínas en los aislados analizados.

Aunado a ello, la formación de agregados de proteína más grandes, originados por los enlaces no covalentes, por sus interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y por los enlaces de hidrógeno en la molécula de proteína misma, produce cambios en la solubilidad e hidrofobicidad de la misma, en donde la capacidad emulsionante y la estabilidad de la emulsión incrementan gracias a la aplicación del tratamiento PEF con voltajes y tiempos mayores, mientras no se permita que este incremento de la fuerza en los parámetros provoque la agregación de las proteínas, por lo que dependerá de cada tipo de aislado y proteína vegetal las condiciones adecuadas para lograr mejoras en la capacidad emulsificante de cada una de ellas.

Finalmente, la variación en las condiciones del tratamiento mediante PEF, al generar un campo eléctrico de alta intensidad, entre los dos electrodos dada por la diferencia entre sus potenciales eléctricos, es capaz de alterar la estructura de la proteína y su subsecuente interacción con el soluto (Nasrabadi, et al, 2021), lo que puede aumentar la solubilidad de la proteína y en consecuencia, sus propiedades funcionales, tales como su poder emulsificante, el cual se origina a través de la modificación de la estructura secundaria y terciaria de la proteína mediante la alteración de las proporciones en las α -hélices y las β -ondas en la región amida I.

7.7.3. Aplicación de tratamiento por ultrasonido

El tratamiento por ultrasonido (US) consiste en la aplicación de ondas sonoras que viajan a través de un medio sólido, líquido o gaseoso, siendo las características del medio, las que influyen en como las ondas se propagan y como se perciben (Barbosa-Cánovas, et al, 2021).

En términos generales, el ultrasonido, es una onda mecánica, que debido a la variación en su frecuencia, puede ocasionar la vibración mecánica de las partículas cuando estas se propagan en el medio y que debido a la interacción ultrasonido-onda-medio, provoca una serie de cambios físicos y químicos, generando acciones de tipo mecánicas y de cavitación (Cheng, et al, 2022).

En este tipo de tratamiento, las ondas sonoras que atraviesan un medio fluido crean ondas de presión alternas que resultan en cavitación, un fenómeno físico que resulta en una alta presión y temperatura de 50MPa y 5000K, respectivamente, lo cual genera una serie de radicales libres que provocan modificaciones en la estructura enzimática para inactivarlas (Mayookha et al, 2023).

Como lo explican Barbosa-Cánovas, et al (2021), las ondas de ultrasonido se encuentran por encima del umbral de la audición humana (>14-20 kHz), pudiéndose clasificar según su frecuencia como bajas (20-100 kHz) y altas (5 a 10 MHz), siendo los ultrasonidos aplicados para la industria de los alimentos los clasificados como de baja intensidad (0.1-1 W/cm²) y de alta intensidad (10-1000 W/cm²), proporcionando información certera sobre los efectos en las propiedades fisicoquímicas de los alimentos como la firmeza, la madurez, el contenido de azúcar y la acidez para el primer caso, mientras que para las intensidades altas (usando bajas frecuencias y altas potencias) el ultrasonido se utiliza en la alteración de las propiedades fisicoquímicas, tales como la inactivación de los microorganismos.

Este tipo de tratamiento se utiliza en la actualidad y ha sido evaluado en algunas ocasiones, no sólo para evitar cambios producidos por las enzimas de los alimentos, sino también para mejorar el acomodo estructural de los mismos, así como de sus propiedades fisicoquímicas (Morandi, et al, 2023).

Algunas referencias como la de Cen et al (2021) hablan acerca de los resultados obtenidos en las proteínas de origen vegetal sobre las propiedades fisicoquímicas de las mismas, tales como la hidrofobicidad; mencionando que el efecto de este tratamiento puede reducir el tamaño de ciertas partículas agregadas durante una emulsión, logrando una mayor estabilidad.

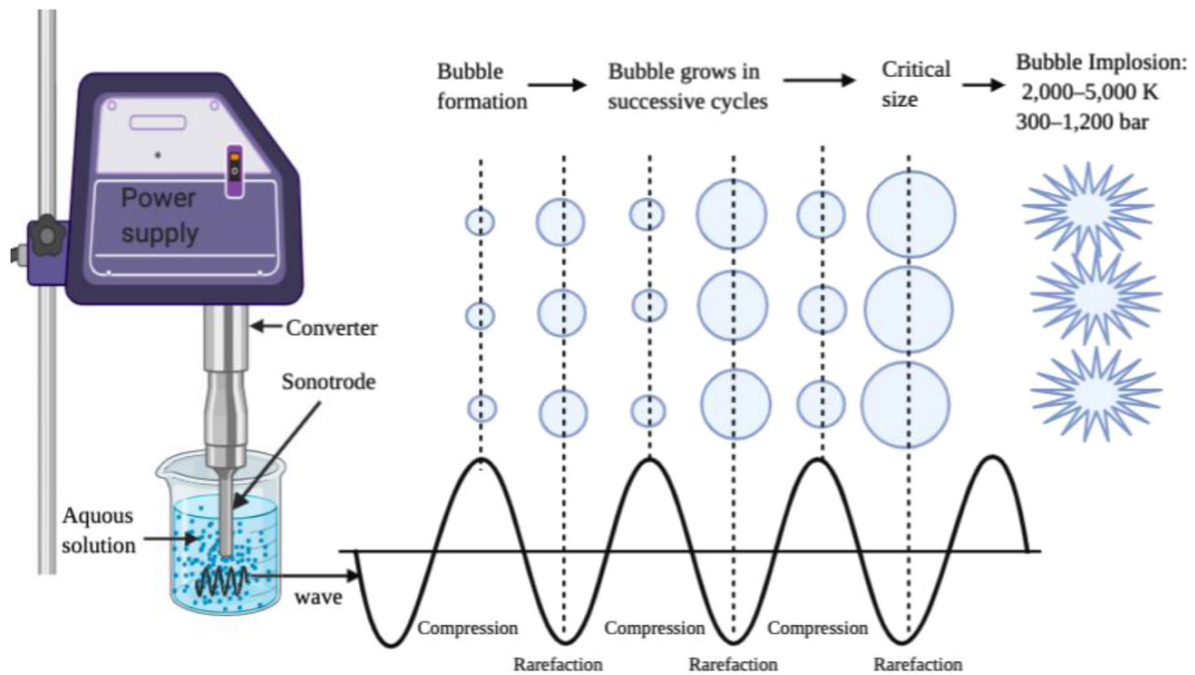


Figura 10. Mecanismo de tratamiento por ultrasonido en proteínas de origen vegetal (Rahman & Lamsai, 2021)

A continuación, se muestra una tabla con la comparación de los resultados obtenidos en diferentes estudios y los cambios observados en los diferentes tipos de fuente proteica

Tabla 3. Efecto de la aplicación del tratamiento con ultrasonido sobre las proteínas de origen vegetal

Fuente proteica	Voltaje aplicado (kV o V)	Condiciones del tratamiento	Cambios observados en sus propiedades	Referencia
Aislado de proteína de chícharo	57 a 60 W/cm ²	20 KHz con 50% de amplitud con pulsos de 5s/5 min Temperatura por debajo de los 35°C	Aumento de la solubilidad y disminución del tamaño de partícula	Sha, et al, 2022
Proteína de chícharo	34 W/cm ²	20 kHz con amplitud del 95% (aproximadamente 108 μm por 2 min)	Reducción del tamaño de la proteína y de su tamaño de agregación, disminución de la viscosidad intrínseca, del pH y ligera disminución del tamaño de gota en la emulsión	O'sullivan, et al., 2016
Proteína de soja	34 W/cm ²	20 kHz con amplitud del 95% (aproximadamente 108 μm por 2 min)	Reducción del tamaño de la proteína y de su tamaño de agregación, disminución de la viscosidad intrínseca, del pH y ligera disminución del tamaño de gota en la emulsión	O'sullivan, et al., 2016
Proteína de trigo	34 W/cm ²	20 kHz con amplitud del 95% (aproximadamente 108 μm por 2 min)	Estabilidad de la emulsión a largo plazo, disminución en el tamaño de gota, reducción en el tamaño de agregación. No presenta reducción significativa en peso molecular. Reducción en viscosidad intrínseca	O'sullivan, et al., 2016
Comino negro (<i>Nigella sativa</i>)	30, 60 y 90 W/cm ²	25 kHz con un tiempo de irradiación de 30, 45 y 60 min	Mejora la solubilidad y disminución del peso molecular de la proteína, mejorando su capacidad emulsificante.	Moghimi, et al., 2018

Al observar la tabla 2, se puede apreciar, que los tratamientos por método de ultrasonido generan variaciones en la solubilidad, peso molecular, tamaño de agregación y viscosidad de las proteínas vegetales, dependiendo de su naturaleza intrínseca.

Para tal efecto, Moghimi, et al (2018) nos muestra en su estudio realizado sobre el comino negro que el tratamiento a potencias medias (30, 60 y 80 W/cm²) con un voltaje de 25 KHz y tiempos de 30, 45 y 60 min, producen una mejora en la solubilidad de la proteína y una disminución del peso molecular, arrojando como conclusión una mejora en su capacidad emulsificante.

Por otra parte, O'sullivan, et al (2016), menciona una disminución en el tamaño de gota de la emulsión generada para el caso de la proteína de chícharo, de soja y de trigo, resultado de una reducción del tamaño de la proteína y de la disminución de la misma en su estado de agregación, además de la viscosidad intrínseca que permite una mejor miscibilidad en el estado proteína-solvente gracias al tratamiento con una potencia de 34 W/cm² y 24 KHz con amplitud del 95% durante 2 minutos.

De igual forma, en su estudio realizado, Sha, et al (2022), logró obtener un aumento de la solubilidad producida por la disminución del tamaño de partícula, conseguida a potencias de tratamiento medias (57-60 W/cm²), con la aplicación de un voltaje de 20 KHz, amplitud al 50% y una frecuencia de 5s durante 5 minutos de tratamiento, lo cual reduce la interacción de los grupos hidrófobos de la molécula proteica, siendo capaz de volverla más miscible en la interacción de la mezcla.

7.7.4. Aplicación de tratamiento por altas presiones hidrostáticas

La homogeneización a alta presión (HPH) es una tecnología de tipo no térmica durante la cual se pueden producir fuertes turbulencias, cavitación y cizallamiento hidráulico, generando cambios en el tamaño de las partículas y la conformación de las proteínas, lo cual mejora sus propiedades emulsificantes y obteniendo ventajas de un tiempo de procesamiento corto, costos bajos, alta eficiencia y mínima pérdida nutricional (Zhang et al., 2022).

El tratamiento por altas presiones provoca la modificación en las macromoléculas, tales como las proteínas, originada por la interrupción en sus interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, las cuales dependerán de la naturaleza de la proteína, del pH del medio, la concentración y la fuerza iónica; alterando su estado de agregación y su capacidad de desnaturalización las cuales también se ven influidas por el tipo de tratamiento aplicado derivado del nivel de presión, duración del tratamiento, y temperatura de presurización (Chapleau & de Lamballerie-Anton, 2003).

Butz, et al, (2002), mencionan que el tratamiento a altas presiones favorece la disociación de las proteínas oligoméricas y de los sistemas macromoleculares complejos, potenciando el despliegue de las cadenas proteicas, por lo cual las condiciones del tratamiento pueden favorecer o perjudicar las propiedades de las proteínas en los alimentos.

En la figura 7.5 se muestra el funcionamiento de una unidad de tratamiento de HPH para un producto líquido, el cual es sometido a cierta temperatura por medio de inyección, en donde a través de un tanque y de la ayuda de pistones, se ejerce la fuerza de presión necesaria capaz de procesar el producto y así, alterar sus propiedades estructurales y fisicoquímicas.

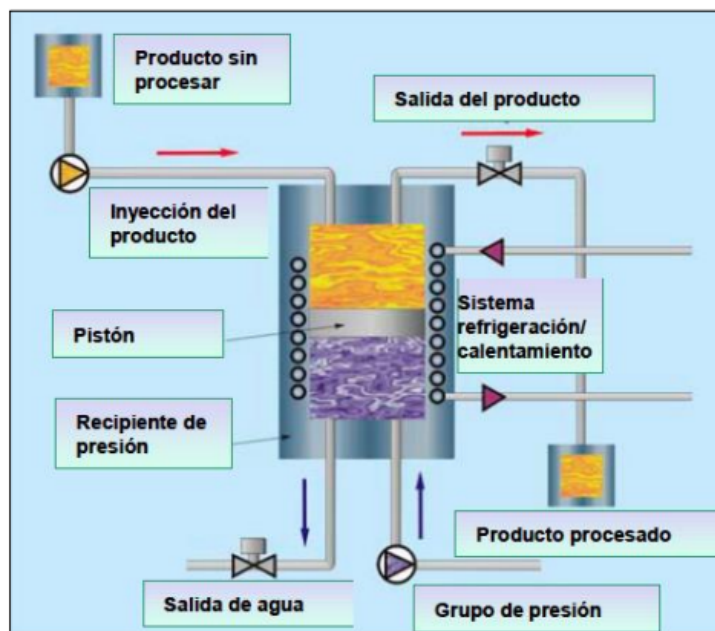


Figura 11. Esquema de funcionamiento de unidad de altas presiones hidrostáticas (HPH) para un producto líquido (Fernández, 2020)

A continuación, se muestran los resultados rescatados en el estudio del tratamiento a altas presiones y sus efectos en las proteínas y su poder emulsificante.

Tabla 4. Efecto de la aplicación del tratamiento a altas presiones

Fuente proteica	Presión aplicada (Pascales o bars)	Condiciones del tratamiento	Cambios observados en sus propiedades	Referencia
Proteína de altramuз	400 MPa	10 minutos a 10°C	Disminución del tamaño de gota en las emulsiones, mayor estabilidad en la emulsión. Disminución en la floculación de las gotas. Disminución de la solubilidad.	Chapleua & de Lamballerie-Anton 2003
Proteína de chufa (<i>Cyperus esculentus L.</i>)	100-140 MPa	Tratamiento previo de centrifugación de 6 h y enfriamiento posterior a baño de agua helada	Disminución de la viscosidad y la tensión aparente de la emulsión, disminución de la hidrofobicidad y aumento en la	Zhang, et al 2022

Los resultados de la tabla 3, muestran que el tratamiento a altas presiones (HPH) presenta diferentes cambios en las propiedades de las proteínas, derivado de las condiciones del tratamiento.

Para el caso de la proteína de altramuz, se observa que, a un tratamiento de 400 MPa durante 10 minutos a 10°C, las interacciones hidrofóbicas en las emulsiones preparadas fueron importantes debido a que, al no ser capaz de saturar por completo la superficie de tamaño de partícula, se logró disminuir el tamaño de gota en la emulsión y del nivel de floculación, producto de un cambio en las interacciones hidrofóbicas y eléctricas del medio.

Para el caso de la solubilidad, el tratamiento de HPH a las condiciones ya mencionadas hicieron que las proteínas perdieran una cuarta parte de su solubilidad, visualmente observado por el aumento de la opalescencia de la solución, mostrando que a un aumento de la presión ejercida (600 MPa), el estado de agregación de la proteína aumenta debido a la modificación de la estructura cuaternaria de la globulina, derivando en un nivel de adsorción en la solución A/A de tipo selectiva después de la presurización.

Por otra parte, los resultados del tratamiento de HPH en la proteína de almendra de tierra a un incremento de 100 a 140 MPa, disminuyó el contenido de lámina β en un 4.30%, lo que propició la agregación entre moléculas de proteína, haciendo que los sitios hidrofóbicos dentro de la molécula quedaran expuestos, mejorando la hidrofobicidad de la superficie.

De la misma manera, la disminución de las láminas β en la proteína, causada por el intenso cizallamiento y por la cavitación del HPH, mostró cambiar la estructura de la proteína de ordenada a desordenada, debido a la colisión entre las moléculas de proteína, lo que disminuyó el tamaño de partícula de la proteína, causando que esta se pudiese envolver uniformemente alrededor de las gotas de aceite, originando una mayor estabilidad en la fase agua-aceite.

Finalmente, al aumentar la presión de homogenización en la chufa logró una disminución de la viscosidad en la emulsión y en la tensión de corte, lo que aumentó la fluidez de la misma, debido a que las gotas de aceite tenían menos probabilidad de agregarse lo que indicó que a estas condiciones de HPH, la emulsión presenta una naturaleza de fluido pseudoplástico, cerca del newtoniano (viscosidad constante).

7.8. TENDENCIAS FUTURAS DE APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS NO TÉRMICAS PARA MODIFICAR LAS PROTEÍNAS VEGETALES COMO EMULSIONES

En la actualidad, la aplicación de tecnologías no térmicas en alimentos seleccionados está generando un impacto en la industria de los alimentos, debido a que, en muchos casos, estas tecnologías permiten la conservación de las propiedades nutricionales y de las características organolépticas del producto en cuestión (Barbosa-Cánovas, et al, 2021).

El estudio y aplicación de tratamientos como el plasma frío, las altas presiones hidrostáticas, el ultrasonido o la utilización de pulsos eléctricos, se presenta como una mejora en el procesamiento de los alimentos, debido a que procesos utilizados en la actualidad, tales como la ultra pasteurización o la esterilización, producen efectos, como la degradación de los antioxidantes, cambios en la actividad enzimática, además de promover la formación y acumulación de olores y sabores desagradables (Barbosa-Cánovas, et al, 2021).

El plasma frío (CP) se presenta como un método sostenible, que además de ser reconocido como un tratamiento respetuoso con el medio ambiente produce mejoras en la germinación de las semillas, la descontaminación de las superficies de contacto con los alimentos, la modificación de ingredientes alimentarios y la inactivación de las enzimas, logrando que la valorización de las proteínas vegetales se muestre como una alternativa adecuada mediante procesos ecológicos minimizando el desperdicio y reduciendo la utilización de solventes (Basak y Annapure, 2022).

De la misma forma, el tratamiento de los alimentos a través de altas presiones hidrostáticas, promete la posibilidad de generar alimentos con propiedades de alta calidad nutricional, mayor seguridad y mejor estabilidad en su vida útil; en donde se ha determinado que su funcionalidad emulsificante podría obtener mejores resultados, en compuestos de bajo peso molecular, en donde los enlaces covalente no se ven afectados por la presión y en las macromoléculas como las proteínas en

donde la presión favorece la disociación de proteínas oligoméricas, de sistemas macromoleculares complejos, además del despliegue de las cadenas proteicas.

Por otro lado, un estudio realizado por Liao et al. (2024), mostró que, aunque la probabilidad de toxicidad en emulsificantes es relativamente baja, muchos de los agentes emulsificantes utilizados actualmente en la industria, tales como el monooleato de sorbitán polioxietileno y el monoestearato de glicerol, pueden provocar cambios en el microambiente intestinal y provocar problemas como una mayor absorción de los alérgenos, por lo que la aplicación de las tecnologías no térmicas en emulsificantes proteicos se muestran como una alternativa sustentable para mejorar no sólo las interacciones del emulsionante con otros componentes, sino que además, podrían disminuir los problemas asociados a la salud humana.

Por otro lado, como lo mencionan Casanova, et al, (2022), los procesos que involucran la participación de proteínas como emulsificantes, son muy sensibles a condiciones adversas de pH, fuerza iónica y temperatura, por lo que tratamientos como el PEF y US pueden ayudar a mejorar la estabilidad de las emulsiones debido a la modificación de la estructura anfifílica en las proteínas y de su actividad superficial, volviéndolas lo suficientemente estables como para poder ser aplicadas en el procesamiento de productos como helados, mayonesas y quesos.

Por razones como estas, las tecnologías de tipo no térmicas para el tratamiento de proteínas como agentes emulsificantes, se presentan con tendencias en prácticamente todos los ámbitos de la industria alimentaria, pues como ya se ha mostrado, cada una de estas tecnologías origina resultados variados en relación a la capacidad y estabilidad emulsificante de los aislados, además de otros beneficios como el mantenimiento de las propiedades nutricionales, organolépticas y bioactivas de las mismas, lo que en el futuro podría acontecer en productos de una calidad mucho más certera, con mejores resultados en la salud de los consumidores y con la expansión de aplicaciones no sólo en términos de emulsiones, sino también, en otras características como la espumabilidad y la gelificación.

En la siguiente tabla, Caballero-Figueroa, et al (2023) presentan un comparativo de las tendencias actuales, en etapa de investigación y las perspectivas que se tienen con base en el estudio de cada una de las tecnologías de tipo no térmicas en el área de los alimentos.

Tecnología	Tipo de alimento	Aplicaciones actuales	Aplicaciones en desarrollo	Perspectivas
HHP	<ul style="list-style-type: none"> • Líquido • Sólido 	<ul style="list-style-type: none"> • Conservación de los alimentos. • Eliminación de los microorganismos. • Incremento de vida útil. • Modificación de la textura. • Incremento de la digestibilidad. 	<ul style="list-style-type: none"> • Recuperación de los compuestos bioactivos. • Aumento de la biodisponibilidad de los micronutrientes y los fitoquímicos. • Reducir el potencial alergénico • Preservar lípidos saludables. • Reducir el consumo de la sal. 	<ul style="list-style-type: none"> • Procesamiento de maquila por otros usuarios para disminuir los costos de inversión inicial. • Promover el uso generalizado para reducir los costos de producción. • Estudio de los efectos en materiales de embalaje. • Estudio de la posible transferencia de masa de los materiales de empaque a los alimentos.
Ultrasonido	<ul style="list-style-type: none"> • Líquido • Sólido 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracción de compuestos de interés. • Método antiespumante. • Emulsificación. • Facilitar la transferencia de masa. • Cambios en la estructura y propiedades. • Homogeneización. 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracción • Estudio de la sinergia de esta tecnología con otras: aceites esenciales, microondas, enzimas, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción de los costos de mantenimiento. • Investigación a nivel industrial de los aspectos de seguridad y posibles efectos adversos. • Estudio de la eficiencia energética para su industrialización. • Investigación de la implementación a escala industrial.
PEF	<ul style="list-style-type: none"> • Líquido • Semilíquido • Sólido 	<ul style="list-style-type: none"> • Pasteurización. • Extracción de los compuestos bioactivos. • Funcionalización de las moléculas. • Transición de equipos de nivel laboratorio a planta piloto y escala industrial. 	<ul style="list-style-type: none"> • Combinación con otras tecnologías. • Funcionalización de las biomacromoléculas 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción de los costos de los equipos. • Comprensión más profunda del mecanismo y del modelo de transferencia de masa.
Radiación ionizante	<ul style="list-style-type: none"> • Sólido • Líquido 	<ul style="list-style-type: none"> • Desinfestación. • Proceso de senescencia y maduración retardada. • Inactivación de los microorganismos y las esporas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio de los productos radiolíticos. • Estudios de funcionalidad. • Determinación de inocuidad a escala comercial. • Extracción de compuestos bioactivos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Promover la aceptación por parte del consumidor. • Efecto de los productos de radiólisis. • Reducir los efectos de la radiación en los lípidos. • Estudios de equivalencia de dosis, etiquetado, estándares. • Armonización de la legislación.
Plasma frío	<ul style="list-style-type: none"> • Sólido 	<ul style="list-style-type: none"> • Desinfección de las superficies en alimentos con superficie compleja. • Esterilización. • Inactivación de las enzimas. • Modificación de las propiedades hidrofílicas/hidrofóbicas. • Grabado o la deposición de películas delgadas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Efecto del tratamiento de plasma en frío sobre las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y nutricionales. 	<ul style="list-style-type: none"> • Estudio de escalamiento • Estudio de las interacciones plasma-matriz alimentaria. • Estudios de reproducibilidad de los resultados. • Estudios de inocuidad.

Al observar la tabla es posible darse cuenta que el estudio de las proteínas en los alimentos líquidos y sólidos enfocada hacia la modificación de la textura, la emulsificación, la funcionalización de las moléculas y la inactivación de las enzimas, se encuentra actualmente en estudio vigente; por lo que, la perspectiva a futuro en el tema de la aplicación de las tecnologías no térmicas marca un análisis mucho más profundo, orientado no sólo a la utilización misma de estas tecnologías si no que, además a otro tipo de aspectos vinculados y escalables en la industria de los alimentos tales como la reducción de costos, ahorro de recursos, cuidado del medio ambiente e incluso, la armonización de su legislación en México.

7.9 Legislación sobre la aplicación de tecnologías no térmicas y emulsificantes en alimentos

La legislación mexicana sobre la aplicación de tecnologías no térmicas en alimentos se encuentra principalmente en la Ley General de Salud y sus reglamentos, así como en normas específicas emitidas por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y el Reglamento de Control Sanitario de Servicios y Productos.

Para el caso de la aplicación de emulsificantes en bebidas no alcohólicas, el Reglamento de Control Sanitario de Servicios y Productos, estipula un uso permitido de los siguientes productos a las dosis mencionadas:

	MÁXIMO %
VIII.14.1. Diocil sulfosuccinato de sodio	0,001;
VIII.14.2. Aceite vegetal bromado	0,0015;
VIII.14.3. Éster de glicérido	0,01;
VIII.14.4. Diacetato hexa-isobutirato de sacarosa	0,03;
VIII.14.5. Carboximetil celulosa y su sal de sodio	0,5;
VIII.14.6. Alginatos y sus derivados	BPF;
VIII.14.7. Almidones modificados	BPF;
VIII.14.8. Carragenina	BPF;
VIII.14.9. Gomas naturales: Acacia, Tragacanto, Ghatti, Guar, Damar, Algarrobo y Xantano	BPF;
VIII.14.10. Lecitina y lecitina hidroxilada	BPF;
VIII.14.11. Metafosfato de sodio	BPF;
VIII.14.12. Mono y diglicéridos de ácidos grasos	BPF, y
VIII.14.13. Pectina o sus derivados	BPF.

Por otro lado, en el apartado XXI.1.5, el Reglamento de Control Sanitario dice que para el caso de los coadyuvantes aplicados en alimentos, estos no deben exceder los límites máximos de contaminantes señalados a continuación:

XXI.2.1. Arsénico no más de 3mg/kg;

XXI.2.2. Metales pesados, no más de 40mg/kg, y

XXI.2.3. Plomo, no más de 10 mg/kg.

Así mismo, la actualización de este documento, realizada el 8 de septiembre de 2022, menciona en su artículo 13 que “Para efectos de control sanitario de los productos y materias primas, la Secretaría, por escrito, podrá requerir a los interesados las especificaciones biológicas, químicas, físicas y nutrimentales de aquéllos, así como las técnicas de carácter general del proceso, las cuales podrán ser corroboradas por la propia Secretaría, la que garantizará la confidencialidad de los datos”.

Como se puede observar, la legislación mexicana únicamente contempla en su mayoría agentes emulsificantes obtenidos a partir de fuentes cárnicas o sintéticas y no establece normas propias para la regulación de procesos o tecnologías de tipo no térmicas como las mencionadas en este proyecto.

CAPITULO IX

CONCLUSIONES Y

SUGERENCIAS

8. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

- **Tratamiento con PEF**

El aislado de proteína de soja (PSI) muestra una respuesta casi nula en su capacidad emulsificante a condiciones de tratamiento con frecuencias y pulsaciones bajas causando una disminución en su nivel de solubilidad y un ligero decaimiento en su hidrofobicidad, pero únicamente en su superficie.

En la proteína de girasol el tratamiento con voltajes bajos, frecuencias medias y temperatura de 45°C logra disminuir la tensión interfacial, reduciendo el nivel de energía necesario para romper la superficie de contacto entre ambas fases, potenciando la capacidad emulsificante.

Para el caso del aislado de chícharo, el tratamiento de PEF a voltajes y frecuencias bajas sólo causa un aumento en la hidrofobicidad de la proteína, disminuyendo o nulificando su capacidad como emulsificante.

Para la semilla de canola, las condiciones de tratamiento a frecuencias medias y voltajes de medio a alto, logran influir directamente en sus propiedades como emulsificante.

Se concluye que el tratamiento con PEF presenta variaciones dependiendo de las condiciones del tratamiento y de la naturaleza de las proteínas analizadas, encontrándose que tratamientos con frecuencias y voltajes de medio a alto, potencializan la capacidad de los aislados en su propiedad como emulsificante, mientras estas condiciones no excedan la fuerza del tratamiento, ya que en ese caso, se produce un efecto adverso en la agregación de las proteínas y una afectación de su estructura molecular.

Se sugiere que, para este tipo de tratamiento, se deben emplear condiciones de nivel medio a alto para el caso de los aislados de soja, girasol y chícharo para

evaluar las condiciones adecuadas en las que estos obtienen una capacidad emulsificante óptima y aplicable en la industria de los alimentos.

- **Tratamiento con ultrasonido**

En el comino negro se obtuvieron resultados favorables mediante el tratamiento con potencias y voltajes de medio a altos, aumentando la solubilidad y disminuyendo el peso molecular de la proteína; lo que puede favorecer la miscibilidad entre fases.

En cuestión del tratamiento aplicado bajo las mismas condiciones para la proteína de soja, trigo y chícharo a potencias medias y voltajes altos, se observó una disminución en el tamaño de gota de la emulsión, resultado de la reducción del tamaño de la proteína y de su estado de agregación, mejorando la viscosidad intrínseca y permitiendo una mayor miscibilidad en el estado-solvente.

Finalmente, para el caso de la proteína de chícharo a condiciones de potencias mayores y voltajes altos, se obtiene un aumento de la solubilidad y una reducción del tamaño de partícula.

En conclusión, el tratamiento con ultrasonido presenta una mayor estabilidad durante el proceso y una variación menor en los resultados cuando este se realiza a potencias y voltajes de medio a altos.

Se sugiere continuar con el estudio de los diferentes aislados y proteínas a condiciones de voltaje medio a alto variables, con la finalidad de poder observar cuales son las condiciones más adecuadas en las que se desarrolla el potencial emulsificante de la manera más óptima.

- **Tratamiento con altas presiones**

El tratamiento mediante HPH a 400 Mpa en la proteína de altramuz logró una mejora significativa en la disminución del tamaño de gota en las emulsiones, provocando una mayor estabilidad en la fase agua-aceite, causada de igual forma por la disminución de la floculación de las gotas. Sin embargo, se observó que el incremento en la presión del tratamiento, provoca una ligera disminución de la solubilidad, mostrada por la opalescencia de la mezcla.

El tratamiento de 100 a 140 Mpa en la proteína de chufa, mostró que, entre un mayor aumento de la presión de homogenización, se obtienen emulsiones más estables y con comportamiento más cercano al fluido newtoniano (viscosidad constante) lo que mejora la fluidez, disminuye la tensión aparente y proporciona una estabilidad adecuada a la emulsión.

Se concluye que el aumento en la presión ejercida durante el tratamiento con HPH puede generar una estabilidad óptima en las emulsiones, sin embargo; el incremento debe ser estudiado según la naturaleza de cada proteína pues puede provocar efectos contrarios por la agregación de las proteínas y la exposición de los grupos hidrófobos en la superficie de la mezcla.

Se sugiere aplicar el estudio del tratamiento HPH en diferentes tipos de proteínas con un aumento de gradual en la presión y el tratamiento previo de las muestras (temperatura y homogenización) con la finalidad de observar las mejores condiciones en las que éstas logran alcanzar una estabilidad adecuada según su naturaleza intrínseca.

- **Tratamiento con Plasma frio (CP)**

El tratamiento mediante plasma frio en el aislado de proteína de germen de trigo a 25 kV, pH alcalino de 10.0 y un tiempo de 5 minutos, mostró lograr un aumento de la solubilidad de la proteína, aunado a un incremento en el índice de la actividad emulsionante (EIA). Sin embargo, también se observó que a un tratamiento de tiempos mayores (10y 20 minutos) el índice de estabilidad (ESI) se reduce debido a la fragmentación de la proteína y de la actividad de tensión superficial en las moléculas.

De la misma forma, en el aislado de proteína de soya (SPI) a voltajes altos y tiempos de tratamiento de 3 a 15 minutos, en un medio alcalino, originaron un aumento de la solubilidad, la homogenización del tamaño de partícula y por consiguiente un ligero aumento en la EAI, provocado por la formación de grupos ROS, los cuales expusieron ciertos grupos hidrófilos mejorando la interacción y unión de las moléculas de agua a la superficie de la proteína. En cambio, y de la misma forma que en el caso de la proteína de germen de trigo, se obtuvo una ligera disminución de la estabilidad emulsionante mientras mayor era el tiempo de exposición; esto derivado de la acumulación (hacinamiento) de las micelas de la proteína debido a que se conducen mayores interacciones con el agua, reduciendo los sitios activos para la reacción.

Para el caso del aislado de proteína de maní, se demostró que a un tratamiento con tiempo menores de 5 minutos y un voltaje aplicado de 80 Hz, se produce un aumento óptimo en la capacidad emulsionante, además de un aumento en el índice de estabilidad de la emulsión disminución del diámetro micelar en la emulsión a tiempos menores de los 3 minutos, aumentando los sitios de reacción y una mayor capacidad de interacción con el agua.

De manera similar, el tratamiento en la proteína de linaza arrojó resultados óptimos tanto para la capacidad emulsionante como para el índice de estabilidad emulsionante, a través de condiciones de 35V de aplicación durante 2 minutos y

favorecido por las interacciones entre los ácidos fenólicos libres de la proteína, los oligómeros y del mucilago de la linaza que aumentaron su actividad interfacial.

Finalmente, para el aislado de chícharo, los resultados del estudio arrojaron que el tratamiento a voltajes altos y tiempos cortos, únicamente se logra producir una elevación de la tensión interfacial, pero un aumento en el estado de agregación de la proteína, lo que disminuyó considerablemente su capacidad emulsionante y su flexibilidad en el medio provocado por su estructura globular.

En conclusión, el tratamiento con plasma frío se muestra con resultados óptimos a voltajes altos, pH alcalino y tiempos de exposición cortos (2-5 minutos).

Se sugiere continuar con el estudio de otro tipo de aislados de proteína a condiciones similares reportadas por la literatura, contemplando la composición estructural de las proteínas vegetales a analizar para ampliar el espectro de investigación y aprovechamiento de las capacidades y estabilidades emulsionantes de las mismas.

- **Conclusiones globales y sugerencias**

En vista de los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos analizados, se concluye de manera global que las tecnologías de tipo no térmicas, representan una alternativa sustentable y adecuada que permite potenciar el índice de la actividad emulsionante y el índice de estabilidad emulsionante, dependiendo de las características de las proteínas vegetales a procesar y de las condiciones de tratamiento empleadas para cada una de dichas tecnologías.

Así mismo, la utilización de subproductos como los UVP y de especies vegetales poco convencionales pueden contribuir al resultado y aprovechamiento de las tecnologías de tipo no térmicas, con las cuales se podrán escalar estos métodos hasta los procesos industriales en donde las mejoras de las capacidades emulsificantes de este tipo de proteína lograrán ser estudiadas para conseguir la estabilidad adecuada en los alimentos.

Se sugiere continuar con un estudio más profundo de las capacidades emulsificantes en las proteínas vegetales, alternando tiempos, voltajes, presiones y potencias dentro de los rangos óptimos visualizados en este documento con la finalidad de obtener resultados escalables en la industria alimentaria.

Además, se sugiere que, una vez obtenidos los resultados óptimos de cada una de las tecnologías analizadas en el presente documento, se revise más a fondo la legislación mexicana, referente a la utilización de aislados de proteína obtenidos de subproductos y de los UVP, aunado a lo referente a la aplicación de tecnologías no térmicas, ya que actualmente no se cuenta con gran información en esta área, que pueda respaldar de manera legal los avances y limitaciones de cada una de ellas.

CAPITULO IX

REFERENCIAS

9. REFERENCIAS

M. Bos et al. (2016). "Application of pulsed electric fields for protein structure modification: A review on the potential of electro-meat processing". *Trends in Food Science & Technology*, 57, 1-10.

G. Zhang. (2017). "Pulsed electric fields technology for the improvement of food proteins functionality: A review". *Trends in Food Science & Technology*, 69, 36-46.

M. Poulsen. (2019). "Effects of pulsed electric fields on the structure and functionality of food proteins: A review". *Trends in Food Science & Technology*, 93, 63-71.

Li, T., Zhang, M., Xu, D. y Li, J. (2020). Effect of pulsed electric fields on structural and physicochemical properties of soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, 288, (110182).

Smith, K. N., Mezzenga, R. & de Vries, R. J. (2018). Electric field-induced softening of proteins in non-native states. *The Journal of Physical Chemistry B*, 122(7), 1936-1946.

Rout, S., Srivastav, P. (2023). "Effect of cold plasma on the technological and functional modification of plant proteins and enzymes". *Innovative food science and emerging technologies*, volume 88.

Chen, W., Ding, Y., Ma, H., Zhao, Y. (2023). "Strategies to improve the emulsification properties of rice proteins as a promising source of plant-based emulsifiers: An updated mini-review". *Food Bioscience*, volume 53.

Carvalho, A., Lima, R., Perrone, I., Stephani, R. (2023). "Plant-based proteins: A review of factors modifying the protein structure and affecting emulsifying properties". *Food Chemistry Advances*. pp 1-59.

Santos, J. (2009). "Proteínas. Estructuras fascinantes". Colección: Las ciencias naturales y la matemática. 1° edición. Editorial Buenos Aires. pp 13-14.

Carpio, F., Guadix, E. y Rivero, J. (2021). "Identification of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from vegetable protein sources". *Food Chemistry*. 354 (129473), 1.

Campelo, P., Freitas-Silva, O., Mendoca, A. y Oliveira. (2020). "Potential use of vegetable proteins to reduce Brazil nut oil oxidation in microparticle systems". *Food Research International*. 1327 (109526), 1-2.

Duan, Y., Ma, H., When, C., Yao, H., Zhang, H., Zhang, J. y Zhou, J. (2019). "Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication". *Ultrasonics-Sonochemistry*. 53, 83-98.

Aluko, R. (2015). "Structure and function of plant protein-derived antihypertensive peptides". *Food Science*. 4, 44-50.

Gen, K., Feng, X., Gao, C., Tang, X. y Yu, X. (2021). "Effects of different vegetable oils and ultrasonicated quinoa protein nanoparticles on the rheological properties of Pickering emulsion and freeze-thaw stability of emulsion gels". 102 (103350).

Kaur, L., Mao S., Mu, T. y Singh, J. (2022). "Development and characterisation of plant and dairy-based high protein Chinese steamed breads (mantou): Physicochemical and textural characteristics". 2 (100102).

Ali, M., Attia, H., Briard-Bion, V., Gaucheron, F., Gaiani, C., Schuck, P., Triki, M. y Zouari, A. (2020). "Effect of pH on the physicochemical characteristics and the surface chemical composition of camel and bovine whey protein's powders". *Food Chemistry*. 333 (127514), 3-4.

Carranco, M.E., Castillo, R.M., Escamilla, A., Martínez, M., Pérez-Gil, F. y Stephan, E. (2002). "Composición química, extracción de proteína foliar y perfil de aminoácidos de siete plantas acuáticas". *Revista cubana de ciencia agrícola*. 36 (3), 248-258.

Molina, R., Quintana, J., Quintana, N. y Santiesteban-Oca, C. (2017). "Predictor de interacciones entre estructuras secundarias de proteínas". *Revista cubana de ciencias informáticas*. 11 (3), 105-113.

Agudelo, A., Guerrero, A., Muñoz, L., Paz, J. y Vargas, R. (2012). "Efecto de la desnaturalización térmica e hidrólisis química de proteínas sobre la cinética de hidrólisis enzimática". *Red de revistas científicas de América Latina*. 61 (5), 34-36.

Choi, I., Han, J., Lee, J., Oh, H. y Yoon, C. (2022). "Physico-chemical characteristics of rice protein-based novel textured vegetable proteins as meat analogues produced by low-moisture extrusion cooking technology". *LWT*. 157 (113056), 1-14.

Bodnár, I., Boom, R., Dekkers, B., Erni, P., Schreuders, F. y Van der Goot, A. (2019). "Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation". *Journal of Food Engineering*. 261, 32-39.

Li, L. y Ren, Y. (2022). "The influence of protease hydrolysis of lactic acid bacteria on the fermentation induced soybean protein gel: Protein molecule, peptides and amino acids". *Food Research International*. 156 (111284). 1-6.

Edelmann, J., Jouppila, K., Piironen, V., Katanen, K., Ramos, J., Sontag-Stromh, T. y Suhonen, H., (2022). "Fibrous meat analogues containing oat fiber concentrate and pea protein isolate: Mechanical and physicochemical characterization". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 77 (102954), 1-11.

Abd, A., Ishwarya, S., Khanashyam, A., Kothakota, A., Kutlu, N., Kumar, M., Mayookha, V., Pandiselvam, R., Panesar, P. y Rifna, E. (2023). "Ozone and cold plasma: Emerging oxidation technologies for inactivation of enzymes in fruits, vegetables, and fruit juices". *Food Control*. 144 (10999).

Li, Y. y Rajpurohit, B. (2023). "Overview on pulse proteins for future foods: ingredient development and novel applications". *Journal of future foods*, 3-4. 340-356.

Campos, P., Da Silva, D., Faria-Silva, L., Freitas, J., Gasparini, B., Morandi, B., Monciozo, M., Nobre, M. y Santos, B. (2023). "Impact of ultrasound processing on the nutritional components of fruit and vegetable juices". *Trends in Food Science & Technology*. Volume 138. 752-765.

Bu, F., Bruggeman, P., Chen, C., Feyzi, S., Kondeti, K., Mao, Q., Nayak, G. y P. Baraem (2023). "Investigation of novel cold atmospheric plasma sources and their impact on the structural and functional characteristics of pea protein". *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 83 (103248). 1-12.

Chen, Y., Fang, Y., Yang, T., Yao, M., Xiang, D. y Zhang, W. (2023). "Changes in structure and emulsifying properties of coconut globulin after the atmospheric pressure cold plasma treatment". *Food Hydrocolloids*. 136 (108289). 1-14.

Flynn, C., Murray, B., Norton, I. y O'Sullivan, J. (2016). "The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins". *Food Hydrocolloids*. Volume 53. 141-154.

Assadpour, E., Dehnad, D., Emadzadeh, B., Ghorani, B., Mahdi, S. y Yang, N. (2024). "The influence of high hydrostatic pressure on different properties of legume proteins with an emphasis on soy proteins; a comprehensive review": *Food Hydrocolloids*. 146 (109188). 1-15.

Song, T., Wang, L., Whang, X., Zhao, X. y Zhang, A. (2022). "Effects of high pressure homogenization on the structural and emulsifying properties of a vegetable protein: *Cyperus esculentus* L.". *LWT-Food Science and Technology*. 153 (112542). 1-7.

Ardiles, P., Castillo, D., Puente, L y Vivanco, D. (2021). "Tecnología emergente: Campo de pulsos eléctricos (PEF) para el tratamiento de alimentos y su efecto en el contenido de antioxidantes". *Revista chilena de nutrición*. Vol. 48 (4). 609-619.

Acharjee, A., Annapure, U., Dabade, A. y Kahar, S. (2023). "Effect of atmospheric pressure non-thermal pin to plate cold plasma on structural and functional properties of pea protein isolate". *Journal of Agriculture and Food Research*. 14 (100821). 2-9.

Cifra, M., Havelka, D., Kolivoska, V., Vahalová, P., Vanecková, E., y Zakar, T. (2023). "Biochemiluminescence sensing of protein oxidation by reactive oxygen species generated by pulsed electric field". *Sensors and Actuators B: Chemical*. 385 (133676).

Aadil, R., Abdul-Malek, Z., Ahmad, M., Arshad, R., Bekhit, A., Buntat, Z., Jusoh, Y., Manzoor, M., Munir, A. y Roobab, U. (2020). "Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective". *Trends in Food Science & Technology*. 104. 1-13.

Chen, F., Ma, K., Sun, X., Zhang, L. y Zhu, T. (2023). "Correlationship between self-assembly behavior and emulsion stabilization of pea protein-high methoxyl pectin complexes treated with ultrasound at pH 2.0". *Ultrasonics Sonochemistry*. 100 (106596).

Chapleau, N. y de Lamballerie-Anton, M. (2003). "Improvement of emulsifying properties of lupin proteins by high pressure induced aggregation". *Food Hydrocolloids*. (17). 273-280.

Fernández, M. (2020). “Aplicación de altas presiones hidrostáticas en el desarrollo de un producto panificable con bajo índice glucémico y alta capacidad antioxidante”. Facultad de Medicina de Valladolid. Universidad de Valladolid. Trabajo de fin de grado. 01-50.

Mollakhalili-Meybody, N., Korshidian, N., Nematollahi, A. y Yousefi, M. (2021). “Effect of atmospheric cold plasma treatment on technological and nutrition functionality of protein in foods”. *European Food Research and Technology*. Springer. 01-16.

Rout, S. y Srivastav, P. (2023). “Effect of cold plasma on the technological and functional modification of plant proteins and enzymes”. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. Volume 88 (103447).

Abarghoel, M., Goli, M y Shani, S. (2023). “Investigation of cold atmospheric plasma effects on functional and physicochemical properties of wheat germ protein isolate”. *LWT*. Volumen 177 (114585). 1-9.

Barbosa-Cánovas, G., Candoğan, F., Guadarrama-Lezama, A., Pokhrel, P. y Yildiz, S. (2021). “Nonthermal Processing Technologies for Stabilization and Enhancement of Bioactive Compounds in Foods”. *Food Engineering Reviews*. Spring Nature. 14:63-99.

Basak, S. y Annapure, S. (2022). “Recent trends in the application of cold plasma for the modification of plant proteins - A review”. *Future Foods*. 100119- 1-17.

Zhang, Q., Cheng, Z., Zhang, J., Nasiru, M.M., Wang, Y., Fu, L., 2020. “Atmospheric cold plasma treatment of soybean protein isolate: insights into the structural, physicochemical, and allergenic characteristics”. *J. Food Sci.* 86 (1), 68–77.

Sharafodin, H., Soltanizadeh, N., 2022. “Potential application of DBD Plasma Technique for modifying structural and physicochemical properties of Soy Protein Isolate”. *Food Hydrocoll.* 122, 107077

Ji, H., Dong, S., Han, F., Li, Y., Chen, G., Li, L., Chen, Y., 2018. "Effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein". *Food Bioproc. Tech.* 11 (2), 344–354

Mehr, H.M., Koocheki, A., 2020. "Effect of atmospheric cold plasma on structure, interfacial and emulsifying properties of Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein isolate". *Food Hydrocoll.* 106, 105899

Mehr, H.M., Koocheki, A., 2021. "Physicochemical properties of Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein nanoparticles fabricated by cold atmospheric-pressure plasma". *Food Hydrocoll.* 112, 106238

Yu, X., Huang, S., Nie, C., Deng, Q., Zhai, Y., Shen, R., 2020b. "Effects of atmospheric pressure plasma jet on the physicochemical, functional, and antioxidant properties of flaxseed protein". *J. Food Sci.* 85 (7), 2010–2019

Butz, P., Edenharder, R., Fister, H., García, Fernández, Merkel, C. y Tauscher, B. (2022). "Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment". *Food Research International.* 35. 295-300.

Liao, B., Luk, P., Kwok, K., Wong, K., Wu, M. y Xia, I. (2024). "Food emulsifiers increase toxicity of food contaminants in three human GI tract cell lines". *Food and Chemical Toxicology.* 185 (114499).

Casanova, F., Gomaa, M., Taha, A., Jonikaitė-Švėgždienė, J., Jurkūnas, M., Šimonis, P. y Stirkė, A. (2022). "Pulsed electric field-assisted glycation of bovine serum albumin/starch conjugates improved their emulsifying properties". *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* 82 (103190).

Caballero-Figueroa, E., Escamilla-García, M, Hernández, H. y Terrés, E. (2023). “Revisión sobre las tecnologías emergentes no térmicas para el procesamiento de alimentos”. TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas. (1405-888X).

Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios (2022). Secretaria de Salud. Diario Oficial.

https://www.google.com/search?q=reglamento+de+control+sanitario+de+productos+y+servicios&oq=reglamento+de+control+&gs_lcrp=EgZjaHJvbWUqBwgBEAAYgAQyBggAEEUYOTIHCAEQABiABDIHCAIQABiABDIHCAMQABiABDIHCAQQABiABDIHCAUQABiABDIHCAYQABiABDIHCAcQABiABDIHCAgQABiABDIHCAkQABiABNIBCDQwMzZqMGo3qAIAAsAIA&sourceid=chrome&ie=UTF-8

Cheng, Y., Dai, C., Dabbour, M., He, R., Ma, H., Mintah, B., Pan, J., Xu, H. y Zhang, Z. (2022). “Effects of nonthermal physical processing technologies on functional, structural properties and digestibility of food protein: A review”. Journal of Food Processing Engineering. 1-16.

Fang, B., Chen, B., Peng, Z. y Rao, J. (2024). “Unconventional sources of vegetable proteins: technological properties”. Current Opinion in Food Science. 57 (101150).