

## Propiedades funcionales del aislado proteínico de dos variedades de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus*).

Teniente-Martínez, G., González-Cruz, L., Hernández-Galván, A.N., Juárez-Goiz, J.M.S., Bernardino-Nicanor, A.\*

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica. Av. Tecnológico y A. Gracia Cubas 600, C.P. 38010, Celaya, Guanajuato, México.

\* [aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx](mailto:aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx)

### RESUMEN:

Las leguminosas son utilizadas como alimentos esenciales, no sólo por su bajo costo, sino por su aporte a la nutrición humana, así como los beneficios a la salud que han mostrado tener, principalmente por su contenido en compuestos nutraceuticos, utilizados para el control de enfermedades crónico degenerativas, tales como enfermedades cardiovasculares, hipertensivas, cancerígenas, entre otras. Aun cuando el género *Phaseolus* ha sido muy estudiado, al ser muy extenso algunas de sus variedades aún no han sido caracterizadas, es por ello que, en el presente trabajo, se realizó el análisis de las propiedades funcionales de aislados proteínicos de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus*) negro y morado, lo cual permitirá dar un conocimiento más extenso de sus propiedades. Los resultados indicaron que el frijol ayocote negro presentó mejores características funcionales en comparación con el frijol morado, obteniendo mayor solubilidad en pH's alcalinos (93.3%), propiedad que influyó directamente en las demás propiedades funcionales en ambas variedades. Tomando en cuenta los resultados, los aislados proteínicos tanto del frijol negro como morados, podrían ser utilizados como ingredientes en la elaboración de alimentos..

### ABSTRACT:

Legumes are used as essential foods, not only because of their low cost, but also because of their contribution to human nutrition, as well as the health benefits they have shown, mainly due to their content in nutraceutical compounds, used to control diseases chronic degenerative, such as cardiovascular diseases, hypertensive, carcinogenic, among others. Even though the genus *Phaseolus* has been studied, being very extensive some of its varieties have not been characterized yet, that is why, in the present work, the functional properties of protein isolates of bean (*Phaseolus coccineus*) were analyzed black and purple, which will give a more extensive knowledge of its properties. The results indicated that the black ayocote bean presented better functional characteristics in comparison with the purple beans, obtaining greater solubility in alkaline pH's (93.3%), a property that directly influenced the other functional properties in both varieties. Taking into account the results, protein isolates of both black and purple beans could be used as ingredients in food processing..

### Palabras clave:

*Phaseolus coccineus*, solubilidad, frijol ayocote, aislado proteínico.

### Key words:

*Phaseolus coccineus*, solubility, ayocote bean, protein isolate.

**Área:** Cereales, leguminosas y oleaginosas,

## INTRODUCCIÓN

Las leguminosas son de gran importancia desde diferentes puntos de vista; en la agricultura, su relevancia radica en su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico por medio de simbiosis, (Allen and Allen, 1981), desde el punto de vista nutricional, las leguminosas son fuente importante de nutrientes y compuestos nutraceuticos (Zulet y Martínez, 2001). También se consideran importantes desde el punto de vista económico y cultural en nuestro país.

Las principales leguminosas cultivadas en México para el consumo humano son: chícharo, fríjol, alubia, garbanzo, habas, ejote, lentejas, cacahuete, y soya, las cuales son fuente importante de proteínas, hidratos de carbono, lípidos, fibra, minerales y vitaminas (SAGARPA, 2015). Por otra parte, se sabe que las proteínas de las

leguminosas son relativamente bajas en aminoácidos azufrados como metionina, cisteína y triptófano, pero presentan alto porcentaje de lisina (Duranti *et al.*, 1997).

Las investigaciones recientes se han enfocado en las proteínas de las leguminosas ya que han mostrado que no sólo desempeñan un papel importante como fuente de energía, estructural, protección, almacenamiento, etc., sino que también pueden desempeñar un papel nutracéutico (Kostyra, 1996). Específicamente, la proteína del frijol ayocote, que ha mostrado tener dichas propiedades atribuidas principalmente a su contenido de péptidos bioactivos, con capacidad anticancerígena, antioxidante y antihipertensiva, (Teniente-Martínez, 2014) sin embargo aún no se ha hecho una caracterización de aislado proteínico, es por ello que es el objetivo de este trabajo evaluar la funcionalidad de aislado proteínico de dos variedades de frijol ayocote (negro y morado).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Solubilidad

Se realizó por el método de Maruyama *et al.*, (1999) con algunas modificaciones, utilizó una disolución de proteína ( $0.16\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), se ajustó a diferentes valores de pH, se mantuvo a  $4^{\circ}\text{C}$  por 18 h. Se centrifugó y se midió la cantidad de proteína en el sobrenadante utilizando el método de Bradford (1976). La solubilidad se expresó como un porcentaje del total de la proteína presente en la muestra.

### Capacidad de retención de agua (WHC) del aislado

Se realizó de acuerdo a lo descrito por Bernardino–Nicanor, 2005. Donde se utilizó la preparación de las muestras proteínicas al 1% (p/v) del aislado del frijol de ayocote morado y negro en agua destilada. Las dispersiones preparadas en tubos de centrifuga se colocaron en un agitador mecánico durante 1 h a temperatura ambiente (alrededor de  $20^{\circ}\text{C}$ ). Se centrifugó a 10000 rpm por 30 min a  $15^{\circ}\text{C}$ .

La capacidad de retención de agua, es la diferencia de masa entre el precipitado que se obtiene después de la centrifugación y la proteína pesada a la cual se le resta previamente la proteína disuelta en el sobrenadante que fue determinado por el método de Bradford (1976). Este valor por la masa inicial de la proteína que se pesó para realizar la determinación y por la densidad de agua a la temperatura del experimento, se obtienen la capacidad de retención de agua de la proteína, WHC. Los cálculos se realizaron utilizando la Ec. (1)

$$\text{Ecuacion 1.} \quad \text{WHC} = \frac{m_{hip} - m_{tp} + m_{sp}}{m_{tp}} \delta$$

Dónde:

$m_{hip}$  = masa de la fracción de proteína insoluble hidratada

$m_{tp}$  = masa de la proteína total de la muestra

$m_{sp}$  =  $m_s$  (masa de la muestra)

$m_{sp}$  = Contenido de proteína soluble en la muestra

$\delta$  = densidad del agua

### Determinación de la capacidad de adsorción de aceite

Para llevar a cabo la determinación se utiliza la técnica de Beauchat, 1997. 0.5g de muestra en 5 mL de aceite, se mezclaron durante 30 segundos en un vortex, se dejó reposar a temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ) por 30 min, se centrifugó por 15 min a 3000 rpm, se retiró el sobrenadante, se pesó el tubo que contiene la muestra. Para obtener el dato de la absorción se utilizó la Ec. (2).

$$\text{Ecuacion 2.} \quad \text{IAC} = \frac{\text{PRC} - \text{PMS}}{\text{PMS}}$$

Dónde:

IAC= Índice de adsorción de aceite (g de aceite/g de muestra)

PRC= Peso del residuo de centrifugación

PMS= Peso de la muestra seca

### Determinación de la capacidad de adsorción de agua

Para la determinación de adsorción de agua se empleó la metodología reportada por Beauchat, 1997. 0.5 g de muestra en 5mL de agua destilada, se mezclaron durante 30 segundos, en un vortex, dejando reposar a temperatura ambiente (20°C) por 30 min, se centrifugó por 15 min a 3000rpm, se retiró el sobrenadante, se pesó el tubo que contenía la muestra. Para obtener la adsorción de agua se utilizó la Ec. (3):

$$\text{Ecuacion 3.} \quad IAA = \frac{PRC}{PMS}$$

Dónde:

IAC=Índice d adsorción de agua (g de agua/g de muestra)

PRC= Peso del residuo de centrifugación

PMS= Peso de la muestra seca

### Actividad y estabilidad emulsificante

Se realizó de acuerdo a Yasumatsu *et al.*, (1972). 0.35g de muestra en 5 mL de agua destilada, la suspensión se agito por 1 min en un vortex, ajustando a diferentes pH's (2,4,6,8 y 10) con HCl 0.1N o NaOH 0.1 N, posteriormente se adicionaron 5 mL de aceite y la mezcla se agito por 1 min en el vortex a 1200 rpm , pasando este tiempo la muestra se centrifugó a 1300 rpm por 5 min, se midió el volumen de la emulsión formada durante la agitación, se reportó como porciento de actividad de emulsión (%AE). Con la Ec. (4).

$$\text{Ecuacion 4.} \quad \%AE = \frac{\text{Vol. de la capacidad de emulsion}}{\text{Vol. Total}} \times 100$$

Para la determinación de la estabilidad de la emulsión se utilizó los mismos tubos empleados en la evaluación de %AE.

Los tubos se colocaron a baño maría a 80 °C por 30 min, se centrifugaron a 1300 rpm durante 5 min, y después se midió el volumen de la emulsión resultante y se calculó el porciento de estabilidad de emulsión (%EEM) con la Ec. (5).

$$\text{Ecuacion 5.} \quad \%EEM = \frac{\text{Vol. de emulsion despues del tratamiento termico}}{\text{Vol. de emulsion antes del tratamiento termico}} \times 100$$

### Actividad de espumante

La actividad espumante (AES) se determinó por el método descrito por Puski (1975). Se preparó una suspensión al 1% (p/v) de proteína las cuales fueron ajustadas a valores de pH entre 2 y 9, con NaOH 0.1 N y HCl 0.1 N). Se agitaron en un vortex a 10000 rpm durante 60 segundos a temperatura ambiente (20°C). La actividad espumante se determinó según la Ec. (6) propuesta por Haque y Kito (1983).

$$\text{Ecuacion 6.} \quad Aes = \frac{\text{Vol. total después de la agitacion}}{\text{Volumen inicial} - 1} \times 100$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## Solubilidad

Los resultados obtenidos indicaron que la solubilidad de la proteína fue en los pH's alcalinos (Tabla 1), que a medida que se el pH era mayor también aumentaba el porcentaje de solubilidad, siendo así que el pH de 12 es el que tuvo la mayor solubilidad de proteína (85%). Este resultado es muy similar al obtenido para la máxima solubilidad de las proteínas para el punto isoeléctrico (pH 11.8) (Teniente-Martínez *et al.*, 2016). Por otra parte, también se encontró que los pH's ácidos hay una baja solubilidad y en algunos casos fue nula (datos no reportados), lo cual es debido probablemente a que el punto isoeléctrico de la proteína se encuentra ubicado a pH 4.

**Tabla 1.** Solubilidad de los aislados proteínicos de frijol ayocote negro y morado

<i>Phaseolus coccineus</i>	Solubilidad %				
	pH8	pH9	pH10	pH11	pH12
<b>Negro</b>	2.5941 <sup>a</sup> ± 1.304	12.056 <sup>a</sup> ±8.156	39.422 <sup>a</sup> ± 4.010	53.699 <sup>b</sup> ± 5.542	93.374 <sup>a</sup> ± 14.27
<b>Morado</b>	1.2500 <sup>a</sup> ± 0.352	16.815 <sup>a</sup> ± 5.137	53.965 <sup>a</sup> ±8.459	76.358 <sup>a</sup> ±2.959	88.427 <sup>a</sup> ± 7.560

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa.  $P \leq 0.05$

Los resultados obtenidos para el frijol ayocote negro y morado fueron similares a los reportados para aislados proteicos de soya (*Glycine max*), chicharos (*Vigna unguiculada* L.) y habas (*Vicia faba*) (Solsulsky and Mc Curdy 1987), mostrando la mayor solubilidad a un pH 11, y la menor o nula solubilidad en pH's ácidos. Porras en el 2010, reportó que a pH's ácidos (pH 4) en las leguminosas; *Lupinus albus*, *Lupinus splendens* Rose y *Lupinus sp.*, obtuvo la más baja solubilidad (0.09, 2.32 y 0.315% respectivamente). Este comportamiento es atribuido a la cercanía del pH con el punto isoeléctrico de las proteínas en las leguminosas (Boye *et al.*, 2010).

## Capacidad de retención de agua (WHC) del aislado

Los resultados muestran que, ambas variedades no presentan diferencia estadísticamente significativa (Tabla 2), lo que indica que ambas variedades tienen la capacidad de retener la misma cantidad de agua, es decir, presentan la misma proporción de grupos hidrofílicos en la superficie de su estructura. Las interacciones proteína-agua se efectúan por medio de los aminoácidos polares de naturaleza catiónica, aniónica o no aniónica y cada uno de ellos tiene diferente capacidad de retención de agua, siendo mayor, cuando el aminoácido se encuentra en forma ionizada; razón por la cual la retención de agua está influenciada por el pH (Badui, 2006). Esto implica que las estructuras secundarias y terciarias juegan un papel importante en la capacidad de retención de agua de una proteína, debido a que los grupos hidrofílicos deben estar expuestos al exterior en contacto con el agua para que sea efectiva la interacción (González-Quijada, 1999).

**Tabla 2.** Capacidad de retención de agua de aislados proteínicos de frijol ayocote

<i>Phaseolus coccineus</i>	WHC (mL de agua *g <sup>-1</sup> de muestra)
<b>Negro</b>	11.2551 <sup>a</sup> ± 0.66
<b>Morado</b>	10.9903 <sup>a</sup> ± 0.40

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa.  $P \leq 0.05$

El valor de WHC de los aislados proteínicos de frijol ayocote es superior al reportado para frijol común y la soya, (4.3 mL de agua \*g<sup>-1</sup>) (Gandhi *et al.*, 2000), al igual que para soya tratada térmicamente a 21°C y a 70°C, obteniendo valores de (2.65 y 3.71 mL de agua \*g<sup>-1</sup> de aislado) (González-Quijada, 1999). Los resultados obtenidos para el frijol ayocote abre la posibilidad para que los aislados proteínicos puedan ser incorporados en la

elaboración de productos alimenticios, como pan, productos cárnicos (salchichas, jamón, etc.), productos lácteos, entre otros. Puesto que los aislados proteínicos tienen algunos aminoácidos esenciales que podrían complementarse con los otros productos.

### Capacidad de absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite de los aislados proteínicos mostraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3), siendo superior el frijol negro en un 2.5 % con respecto al morado.

La capacidad de absorción de aceite de los aislados proteínicos de frijol ayocote es superior a la reportada para aislados proteínicos de frijol Gran Norteño (0.57 g aceite\*g de muestra<sup>-1</sup>) (Sathe and Salunkje 1981), y otras leguminosas como la soya, chicharos y habas (1.03, 0.98 y 1.78 g aceite\*g<sup>-1</sup> muestra respectivamente) (Sosulski and Mc Curdy 1987), lo cual indica que la proteína del frijol ayocote presenta mayor contenido de compuestos lipofílicos en su estructura que las otras leguminosas como lo pueden ser la lenteja y garbanzo (2.40 g aceite \*g de muestra<sup>-1</sup> y 3.01 g aceite \*g de muestra<sup>-1</sup>) que presentan capacidades mayores a las de la soya (1.03) (González-Quijada, 1999), esto debido al tipo de aminoácidos presentes en la materia prima, los cuales son más lipofílicos, comparados con los presentes en la soya. (Flores *et al.*, 2016)

**Tabla 3.** Capacidad de adsorción de aceite de aislados proteínicos de frijol negro y morado

<i>Phaseolus coccineus</i>	Capacidad de absorción de aceite (g de aceite*g de muestra <sup>-1</sup> )
<b>Negro</b>	17.7876 <sup>a</sup> ± 0.37
<b>Morado</b>	15.2138 <sup>b</sup> ± 0.93

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa. P ≤ 0.05

### Capacidad de absorción de agua

Los resultados obtenidos de la capacidad de absorción de agua (Tabla 4) fueron muy similares a los obtenidos para la absorción de aceite. El aislado proteínico de frijol negro presentó, 3.5% más capacidad de absorción de agua que el frijol morado, lo cual podría indicar que la proteína del frijol negro presenta un mejor equilibrio entre sus grupos lipofílicos e hidrofílicos que la proteína del frijol morado; puesto que la funcionalidad de una proteína depende de la estructura de la molécula, como lo es en el caso de la soya, esta tiene presencia de grupos lipofílicos e hidrofílicos los cuales facilitan su asociación con grasa y aceite, sus propiedades pueden variar según el método de obtención (Means and Feeney, 1998; L'hocine *et al.*, 2006; Horneffer *et al.*, 2007).

**Tabla 4** Capacidad de absorción de agua de aislados proteínicos de frijol ayocote negro y morado

<i>Phaseolus coccineus</i>	Capacidad de absorción de agua (g de agua*g <sup>-1</sup> de muestra)
<b>Negro</b>	17.9200 <sup>a</sup> ± 0.29
<b>Morado</b>	14.5336 <sup>b</sup> ± 0.37

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa. P ≤ 0.05

La capacidad de absorción de agua de los aislados proteínicos de frijol ayocote negro y morado es superior a la reportada para otras leguminosas como; soya, chicharos y habas, las cuales mostraron valores de 2.65, 2.52 y 2.16 g de agua\*g<sup>-1</sup> de muestra a 21°C (Sosulski and Mc Curdy 1987).

Es importante mencionar que la temperatura es un factor determinante, ya que se ha observado que altera las propiedades funcionales de los aislados, de tal manera que, al realizar el análisis a 70°C, se obtienen valores superiores (3.71, 2.97 y 2.34 g de agua\*g<sup>-1</sup> muestra) a los obtenidos a 21°C, lo cual es atribuido a la

desnaturalización que sufre la estructura proteínica por efecto de la temperatura, lo que provoca el aumento en la cantidad de agua absorbida al incrementar las zonas de interacción hidrofílica (Sosulski and Mc Curdy 1987). Por otra parte, los aislados proteínicos de frijol ayocote mostraron mayor capacidad que la reportada para harina de *Lupinus albus*, *lupinus splendens* Rose y *lupinus sp* (2.57, 2.60, 2.21 g de agua\* $g^{-1}$  de muestra) analizadas a 25°C (Boye *et al.*, 2010).

### Actividad y estabilidad emulsificante

Los datos de actividad y estabilidad emulsificante se reportaron únicamente para los pH's 7 y 8 para ambas variedades de frijol de ayocote (Tabla 5), ya que a pH's de 2, 4 y 6 no hubo generación de emulsión, mientras que a pH's de 9 a 11, la suspensión se gelatinizó, es por ello que se considera que el aislado proteínico de frijol ayocote no es un agente emulsificante adecuado cuando es utilizado en esos intervalos de pH., sin embargo, es importante destacar que la poca emulsión formada presenta una estabilidad superior al 80% para ambos casos. El comportamiento anterior podría ser atribuido a la baja solubilidad de las proteínas en los pH's ácidos, lo cual puede disminuir la capacidad de emulsificación, debido a que estas macromoléculas adoptan una estructura compacta que impide el desdoblamiento y adsorción en la interface (Ferreira *et al.*, 2007).

**Tabla 5** Actividad y estabilidad emulsificante de aislados proteínicos de frijol ayocote negro y morado

<i>Phaseolus coccineus</i>	%AE		%EEM	
	pH7	pH8	pH7	pH8
<b>Negro</b>	33.591 <sup>a</sup> ±3.340	20.619 <sup>a</sup> ± 9.615	96.152 <sup>a</sup> ±2.440	96.051 <sup>a</sup> ±11.582
<b>Morado</b>	32.536 <sup>a</sup> ±3.140	22.209 <sup>a</sup> ±5.422	89.967 <sup>a</sup> ± 4.618	87.897 <sup>a</sup> ±7.944

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa.  $P \leq 0.05$ , AE Actividad Emulsificante, EEM; Estabilidad de la Emulsión

### Actividad espumante

Como todas las propiedades funcionales de las proteínas, la solubilidad se encuentra estrechamente relacionada a la actividad espumante (Sathe *et al.*, 1982), lo cual se corrobora al observar que a pH's alcalinos (8-12) existe mayor solubilidad y por lo tanto la capacidad de espuma es mayor, mientras que a pH's ácidos la solubilidad y la capacidad espumante es menor e incluso en algunos casos es nula (Tabla 6).

**Tabla 6** Actividad espumante de aislados proteínicos de frijol de ayocote negro y morado

Valores de pH's	Actividad espumante %	
	Frijol negro	Frijol morado
<b>5</b>	22.4 <sup>a</sup> ±1.7142	22.8 <sup>a</sup> ±1.2958
<b>6</b>	26.1 <sup>a</sup> ±0.6479	26.1 <sup>a</sup> ±0.6479
<b>7</b>	26.5 <sup>a</sup> ±0.6479	27.3 <sup>a</sup> ±0.6479
<b>8</b>	27.2 <sup>a</sup> ±1.2958	28.0 <sup>a</sup> ±1.1222
<b>9</b>	29.9 <sup>a</sup> ±0.6479	31.0 <sup>a</sup> ±0.6479
<b>10</b>	54.9 <sup>a</sup> ±2.2444	54.9 <sup>a</sup> ±2.2444
<b>11</b>	58.3 <sup>a</sup> ±1.1222	57.6 <sup>a</sup> ± 1.7142
<b>12</b>	67.696 <sup>a</sup> ±4.5354	66.5 <sup>a</sup> ±3.9411

\*Letras iguales entre filas indica que no hay diferencia significativa.  $P \leq 0.05$

## CONCLUSIÓN

La mejor solubilidad de los aislados proteínicos de frijol ayocote negro y morado se obtuvo a pH's alcalinos, siendo el frijol negro el que presentó mayor solubilidad. Además se encontró que las propiedades funcionales de absorción de agua, absorción de aceite, capacidad espumante y capacidad emulsificante, se ven influidas directamente por la solubilidad del aislado proteínico, generando los mayores valores a pH's alcalinos.

## AGRADECIMIENTOS:

Se agradece el apoyo financiero otorgado por el Tecnológico Nacional de México para el desarrollo del proyecto 6244.17-P.

## BIBLIOGRAFÍA

**Allen, O., & Allen, E., 1981.** The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. London; Macmillan Publishers Ltd.; Madison, Wisconsin, USA: University of Wisconsin Press.

**Badui-Dergal, S., 2006.** Química de los alimentos. Cuarta edición. México: PEARSON EDUCACIÓN.

**Bernardino-Nicanor, A., Scilingo, A.A., Añon, A.C., Dávila- Ortíz, G., 2005.** Guava seed storage protein. Fractionation and characterization. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology, 53, 3613-3617.

**Beuchat, L., 1997.** Functional and electrophoretic characteristics of succynalated peanut flour proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry , 25., 258-263.

**Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, M., Mondor, M., Farnworth, E., Rajamohamed, S.H., 2010.** Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric preprecipitation technological. Food Research International, 43,537-548.

**Bradford, M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.

**Chove, B. G., Grandison ,A.S., Lewis, M.J., 2007.** Some functional properties of fractionated soy protein isolates obtained by microfiltration. Food Hydrocolloids,21(8)., 1379-1388.

**Duranti, M. and Gius, C., 1997.** Legume seeds: Protein content and nutritional value. Field Crops Res,53, 31-45.

**Fennema, O., 1996.** Food Chemistry. New York, USA: Marcel Dekker, Inc New York 3<sup>o</sup> Editions, cap. 6.

**Ferreira, J.C., Kuskoski, E.M.,Bordignon-Luiz ,M.T., Barrera-Arellano, D., Fett R., 2007.** Propiedades emulsificantes y espumantes de las proteínas de harina de cacahuate (*Arachis hypogaea* Lineau). GRASAS Y ACEITES, 58 (3), 264-269.

**Gandhi, A. P., Khare, S. K. and Jha, K., 2000.** Preparation and characterization of protein isolates from soymeal. Journal of Food Science and Technology; 37, 624-626.

**Gonzalez-Quijada, M., 1999.** Caracterización fisicoquímica y valoración nutricional y funcional de in aislado proteínico obtenido de la semilla de ebano- *Pithecellobium flexicaule*(Benth). Universidad Autonoma de NUEvo Leon, 59-124.

**Haque, Z., Kito, M., 1983.** Lipofilization of as1-casein. 2. Conformational and functional effects. . J. Agric. Food Chem.,31, 1231-1237.

**Horneffer, V., Foster, T.J., Velikov, K.P., 2007.** Fast characterization of industrial soy protein isolates by direct analysis with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. . Journal of Agricultural and Food Chemistry 55 (26):, 10505–10508.

**Kostyra, H., 1996.** Food protein-evolution and antinutrients on nutritional value of legume diet. COST98,1 by Bardocz S, Gelancser E and Puszrai A. European commission Directorate General XIL, Brussels,86-89.

- L'hocine, L., Boye J.I. and Arcand, Y., 2006.** Composition and functional properties of soy protein isolates prepared using alternative defatting and extraction procedures. *Journal of Food Science* 71 (3):, C137–C145.
- Maruyama, N., Sato, R., Wada, Y., Matsumura, Y., Goto, H., Okuda, E., Nakagawa, S., Utsumi, S., 1999.** "Structure-physicochemical function relationships of soybean beta-conglycinin constituent subunits." *J Agric Food Chem* 47(12):, 5278-84.
- McWatters, K. H. and Holmes, M.R. 1979.** Salt Concentration,pH, and Flour Concentration Effects on Nitrogen Solubility and Emulsifying Properties of Peanut Flour. *J.Food Sci.* 44,, 765-769.
- McWatters, K.H. and Cherry, J.P., 1977.** Emulsification, Foaming and Protein Solubility Properties of Deffated Soybean, Peanut, Field Pea and Pecan Flours. *J. Food Sci.*42, 1444-1447.
- Means, G.E. and Feeney, R.E., 1998.** Chemical modifications of proteins: a review. *Journal of Food Biochemistry* 22(5): , 399 - 426.
- Porras-Saavedra, J., 2010.** Caracterización del proceso de obtención de aislados de proteína de *Lupinus silvestres* del estado de Hidalgo. Instituto Politécnico Nacional: 44-54.
- Puski, G., 1975.** Modification of functional properties of soy proteins by proteolytic enzyme treatment. *Cereal Chem*, 54., 655-664.
- SAGARPA. 2015.** Leguminosas, el alimento de todos. México
- Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K., 1981.** Functional properties of the Great Northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: Emulsion, foaming, viscosity, and gelation properties. *J.Food Sci.*46, 71-75.
- Sathe, S.K., Desphande, S.S. and Salunkhe, D.K., 1982.** Functional properties of lupin seed (*Lupinus mutabilis*) proteins and protein concentrates. *J.Food Sci.*47, 491-497.
- Sosulski, F.W. and McCurdy,A.R., 1987.** Fuctionality of flours , protein fractions and isolares from field peas and faba bean. *J.Food Sci.*52(4), 1010-1014.
- Teniente- Martínez, G., González-Cruz, L.,Cariño-Cortés,R.,Bernardino-Nicanor, A., 2016.** Caracterización de las proteínas del frijol de ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) *Investigacion y Desarrollo en Ciencia y Tecnologia de Alimentos*:1(1), 2-6.
- Wen, R.G., Xian-Sheng, W., Jian-Gui, L., HAO. M., 2009.** Physicochemical and processing functional properties of proteins from two chinise chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal of Food Processing and Preservation*,34(4), 574-595.
- Yatsumatsu, K., Sawda, K., Moritaka, S., Mikasi, M., Tada, J., Wada, T. y otros., 1972.** Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem*, 36., 719-727.
- Zulet, M.A. y Martínez, J.A., 2001.** Dieta Mediterránea: legumbres y colesterolemia. *Rev. Chil. Nutr.* 28,312-320.