



Universidad Pública de Navarra
Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y
BIOCIENCIAS**

***NEKAZARITZAKO INGENIARITZAKO ETA BIOZIENTZIETAKO GOI
MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA***

**EFEECTO DE LAS ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS (400 MPA
DURANTE 5, 10 Y 15 MINUTOS) SOBRE LAS PROPIEDADES
FUNCIONALES DE LA OVOALBÚMINA**

presentado por

Marta Mozún Úriz *(e)k*

aurkeztua

**GRADO EN INNOVACIÓN DE PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTARIOS
*GRADUA ELIKAGAI PROZESU ETA PRODUKTUEN BERRIKUNTZAN***

Agosto, 2020 / 2020, *Abuztua*

RESUMEN

En los últimos años las altas presiones hidrostáticas han servido para sustituir a los tratamientos térmicos ya que pueden reducir la carga microbiana de los alimentos sin alterar algunas de las propiedades que los tratamientos térmicos modifican como las propiedades sensoriales y nutricionales. Se ha comprobado que las altas presiones pueden modificar la estructura de las proteínas lo que conlleva cambios en las propiedades funcionales de estas.

Por otro lado, la ovoalbúmina es una de las proteínas de mayor interés para la industria alimentaria por sus propiedades nutricionales y funcionales donde destaca la capacidad de absorción de agua y de aceite, la capacidad espumante, el índice de solubilidad, la actividad emulsionante y la gelificación por calor.

El objetivo de la revisión bibliográfica es estudiar cómo afectan las altas presiones a la estructura de las proteínas y cómo estos cambios pueden modificar las propiedades funcionales de proteínas de origen animal y vegetal.

Por otro lado, se ha realizado un estudio experimental que tiene como objetivo determinar el efecto de presiones de 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos sobre las propiedades funcionales de la ovoalbúmina. El tratamiento de altas presiones a 400 MPa incrementa la capacidad de absorción de agua y de aceite siendo el efecto más pronunciado con tratamientos cortos (5 minutos). Sin embargo, la solubilidad disminuye cuando las muestras se someten a altas presiones siendo más pronunciado en el menor tiempo (5 minutos). El resto de propiedades no se vieron afectadas tras los tratamientos a 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos. Las altas presiones apenas modifican la capacidad de gelificación de las muestras.

Palabras clave: ovoalbúmina, proteína, estructura, altas presiones y propiedades funcionales.

ABSTRACT

In the last few years, high hydrostatic pressure have been used to replace heat treatment as high pressures can allow the reduction of the microbial load of the food without the disruption of some properties that heat treatments can modify, such as sensory and nutritional properties. It has been acknowledged that high pressures can transform protein structures causing functional changes on them.

On the one hand, ovalbumin is one of the most interesting protein to food industry due to its nutritional and functional properties highlighting the water and oil absorption capacity, foaming capacity, solubility, emulsifying activity and gelification.

The aim of the bibliographic review is to study how high pressures affect on protein structures and how these can remodel functional properties of animal and vegetal proteins.

On the other hand, an experimental study has been done in order to determine the effect of 400 MPa pressure during 5, 10 and 15 minutes on functional properties of ovalbumin. The high pressure treatment at 400 MPa increases water and oil absorption capacity, the effect is being more pronounced with the short treatment (5 minutes). However the solubility decreases when the samples are subjected to high pressures, being more pronounced in the shortest time (5 minutes). The rest of the properties were not affected after the treatments at 400 MPa for 5, 10 and 15 minutes. The high pressures hardly modify the gelling capacity of the samples.

Key words: ovalbumin, protein, structure, high pressure and functional properties.

Índice

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | Introducción | 1 |
| 1.1. | Importancia de las proteínas en el consumo humano y en la industria alimentaria.... | 1 |
| 1.2. | Utilización de las altas presiones en la industria alimentaria | 2 |
| 1.2.1. | Efecto de las altas presiones sobre las proteínas..... | 3 |
| 2. | Objetivos | 4 |
| 3. | Diseño experimental | 5 |
| 4. | Materiales y métodos | 6 |
| 4.1. | Revisión bibliográfica | 6 |
| 4.2. | Aplicación, tratamiento y conservación de las muestras..... | 6 |
| 4.2.1. | Preparación de la dispersión | 6 |
| 4.2.2. | Tratamiento de altas presiones..... | 6 |
| 4.2.3. | Liofilización de las muestras..... | 7 |
| 4.3. | Propiedades funcionales | 7 |
| 4.3.1. | Capacidad de absorción de agua (CAA) y de aceite (CAAc) | 7 |
| 4.3.2. | Capacidad espumante (CE) y estabilidad de la espuma (EEs) | 8 |
| 4.3.3. | Índice de solubilidad en agua (ISA) | 8 |
| 4.3.4. | Actividad emulsionante (AE) y estabilidad de la emulsión (EEm) | 8 |
| 4.3.5. | Gelificación | 9 |
| 4.3.6. | Análisis estadísticos..... | 9 |
| 5. | Resultados | 10 |
| 5.1. | Revisión bibliográfica | 10 |
| 5.1.1. | Efecto de las altas presiones sobre la estructura, los grupos sulfhidrilo y la hidrofobicidad de las proteínas..... | 10 |
| 5.1.2 | Efecto de las altas presiones sobre las propiedades funcionales de las proteínas.... | 12 |
| 5.2. | Resultados experimentales | 14 |
| 5.2.1. | Caracterización de las muestras de ovoalbúmina nativa | 14 |
| 5.2.2. | Efecto del tiempo de tratamiento sobre las propiedades funcionales de muestras presurizadas a 400 MPa | 15 |
| 6. | Conclusiones..... | 19 |
| 7. | Bibliografía | 20 |

Índice de tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Codificación de muestras para evaluación de propiedades funcionales de ovoalbúmina | 5 |
| Tabla 2. Propiedades funcionales de ovoalbúmina nativa | 14 |
| Tabla 3. Efecto de la gelificación sobre la gelificación para ovoalbúmina sin presurizar | 15 |
| Tabla 4. CAA y CAAC en muestras tratadas a 400 MPa durante 0, 5, 10 y 15 minutos | 15 |
| Tabla 5. CE y EEs en muestras tratadas a 400 MPa durante 0, 5, 10 y 15 minutos. | 16 |
| Tabla 6. Índice de solubilidad en muestras de proteína control y tratadas durante 5, 10 y 15 minutos por altas presiones a 400 MPa..... | 17 |
| Tabla 7. Actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión en muestras de proteína control y tratadas durante 5, 10 y 15 minutos por altas presiones a 400 MPa | 17 |
| Tabla 8. Gelificación de la proteína a 4, 6 y 8 % de concentración. | 18 |

Índice de ilustraciones

| | |
|---|----|
| Ilustración 1. Estructura de las proteínas (National Human Genome Research Institute, n.d.) .. | 1 |
| Ilustración 2. Estado nativo (dcha.) y estado desnaturalizado (izda.) de una proteína (González, n.d.) | 2 |
| Ilustración 3. Presión isostática sometida sobre un cuerpo (Pradas Baena & Moreno Rojas, 2016) | 2 |
| Ilustración 4. Esquema del diseño experimental empleado..... | 5 |
| Ilustración 5. Equipo de altas presiones Stansted Iso-Lab Fluid Power LTD, Inglaterra..... | 6 |
| Ilustración 6. Equipo liofilizador LyoBeta 25, Telstar, España | 7 |
| Ilustración 7. Aminoácido cisteína (González, n.d.)..... | 10 |
| Ilustración 8. Estructura terciaria globular de una proteína (González, n.d.) | 10 |

1. Introducción

1.1. Importancia de las proteínas en el consumo humano y en la industria alimentaria

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas lineales de aminoácidos unidos entre sí mediante enlaces peptídicos. Se organizan en cuatro niveles desde el punto de vista estructural (*Ilustración 1*). La estructura primaria es la secuencia de aminoácidos que es la que diferencia unas proteínas de otras. Algunos de estos aminoácidos son esenciales (como la leucina, metionina, arginina y valina entre otros) y se obtienen a través de la dieta ya que nuestro cuerpo no es capaz de sintetizarlos. Los alimentos que tienen aminoácidos esenciales son los huevos, la carne, los lácteos y algunos vegetales. Estos aminoácidos realizan funciones estructurales, enzimáticas, transportadoras, defensivas, hormonales, de reserva... La estructura secundaria es el plegamiento que la cadena polipeptídica adopta, la terciaria es la disposición tridimensional de todos los átomos que componen la proteína y la cuaternaria es la estructura que adopta una proteína que tiene de más de una cadena polipeptídica (Luque Guillen, 2011).

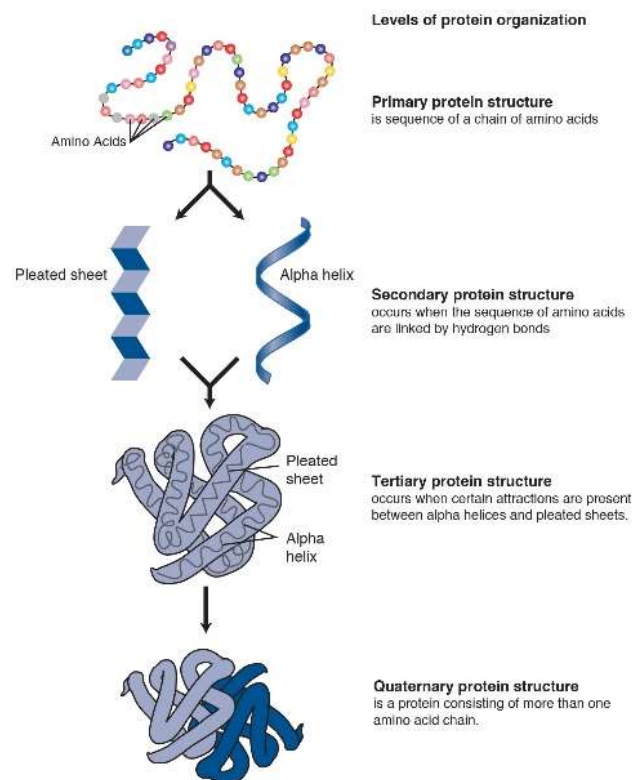


Ilustración 1. Estructura de las proteínas (National Human Genome Research Institute, n.d.)

Por otro lado, las proteínas son de gran interés para la industria alimentaria (IA) por sus propiedades funcionales. Éstas, son las propiedades físicas y químicas de las proteínas que repercuten en las características de los alimentos como por ejemplo la solubilidad, la actividad emulsionante y la gelificación entre otras. Dichas propiedades pueden verse sin embargo afectadas por la fácil desnaturalización de las proteínas debido a la ruptura de los puentes de hidrógeno (*Ilustración 2*). La desnaturalización puede producirse por tratamientos térmicos, por variaciones del pH (Luque Guillen, 2011) y por tratamientos de altas presiones cuando se someten a presiones superiores a 400 MPa (Pradas Baena & Moreno Rojas, 2016). En algunos

casos este proceso puede ser reversible y la proteína puede volver a su conformación original una vez se ha desnaturalizado (Naderi et al., 2017). La desnaturalización provoca cambios en otras propiedades funcionales a parte de la solubilidad, como la capacidad para estabilizar emulsiones o espumas o producir geles (Queirós et al., 2018).

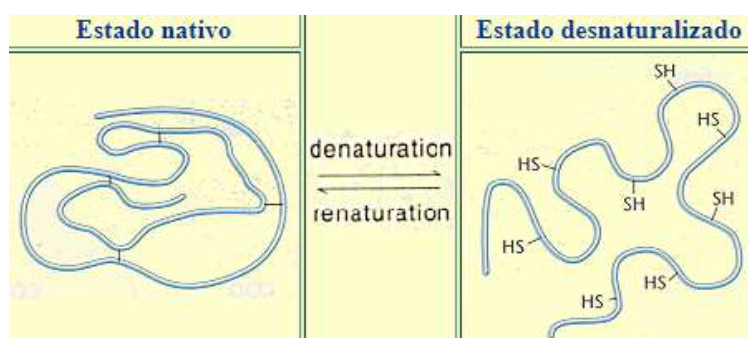


Ilustración 2. Estado nativo (dcha.) y estado desnaturalizado (izda.) de una proteína (González, n.d.)

Una de las proteínas de mayor interés para la industria alimentaria es la ovoalbúmina, proteína mayoritaria (54 %) en la clara de huevo y que se utiliza para formular muchos productos alimenticios por sus propiedades nutricionales y funcionales (Naderi et al., 2017). Sus propiedades funcionales más importantes son: la capacidad de absorción de agua y aceite, la capacidad espumante, el índice de solubilidad, la capacidad emulsionante y la gelificación.

1.2. Utilización de las altas presiones en la industria alimentaria

Las altas presiones son tratamientos que consisten en someter a una presión de entre 100 y 1000 MPa productos envasados herméticamente en envases flexibles (para evitar la rotura) donde la presión se transmite por medio de un fluido (generalmente agua). En la aplicación de este proceso se sigue el principio isostático, que consiste en un tratamiento uniforme y constante a todo el producto independientemente de su tamaño, su forma o su composición, donde se aplica la presión sobre las partículas líquidas de los alimentos (*Ilustración 3*). Por este principio se puede asegurar que nunca habrá partes del producto más tratadas que otras (Lee & Koo, 2019).

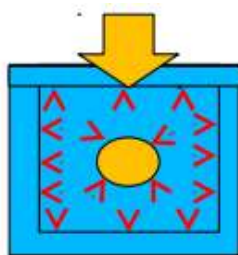


Ilustración 3. Presión isostática sometida sobre un cuerpo (Pradas Baena & Moreno Rojas, 2016)

La principal utilización de las altas presiones en la industria alimentaria es la reducción de la carga microbiana (Bello et al., 2014) lo que, junto con su capacidad para inactivar enzimas, consigue aumentar la vida útil de los alimentos reduciendo el uso de aditivos. Además, se conservan las características del producto fresco manteniendo tanto las propiedades sensoriales como las nutricionales (Pradas Baena & Moreno Rojas, 2016).

Por lo comentado anteriormente, esta tecnología puede sustituir a la pasteurización con un consumo de energía menor. Además, puede reducir el uso de aditivos alimentarios, potenciar la

mejora de la digestibilidad, reducir la alergenicidad y mejorar los componentes alimenticios que tienen beneficios para la salud (Huang et al., 2020). Por otro lado, las altas presiones pueden romper enlaces y modificar las propiedades de moléculas de alto peso molecular como almidones y proteínas, y así provocar cambios estructurales. Uno de los inconvenientes de esta tecnología es el elevado coste del equipo.

1.2.1. Efecto de las altas presiones sobre las proteínas

Las altas presiones afectan a la estructura de las proteínas y por tanto pueden modificar las propiedades funcionales que dependen entre otros factores (como el tipo de proteína, concentración, pH...) de la conformación estructural. Los cambios en la estructura de las proteínas por la ruptura de enlaces conllevan cambios en las propiedades funcionales debidos los cambios en las interacciones intramoleculares e intermoleculares (Pradas Baena & Moreno Rojas, 2016). Estos cambios en la estructura pueden aumentar el número de grupos hidrófobos expuestos al exterior de la proteína, incrementando la hidrofobicidad de la superficie (Queirós et al., 2018) y dependen del tipo de proteína y del tratamiento que se le aplique.

Por otro lado, la ruptura de enlaces disulfuro intramoleculares y la disminución de la polimerización del compuesto alergénico como consecuencia de los tratamientos de altas presiones, pueden reducir la alergenicidad, una cara de gran interés para determinados grupos de población (Naderi et al., 2017).

2. Objetivos

Los objetivos del presente trabajo son los siguientes:

1. Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el efecto del tratamiento de altas presiones sobre la estructura y las propiedades funcionales de las proteínas.
2. Estudiar el efecto de tratamientos de 5, 10 y 15 minutos a 400 MPa sobre las propiedades funcionales de la ovoalbúmina.

3. Diseño experimental

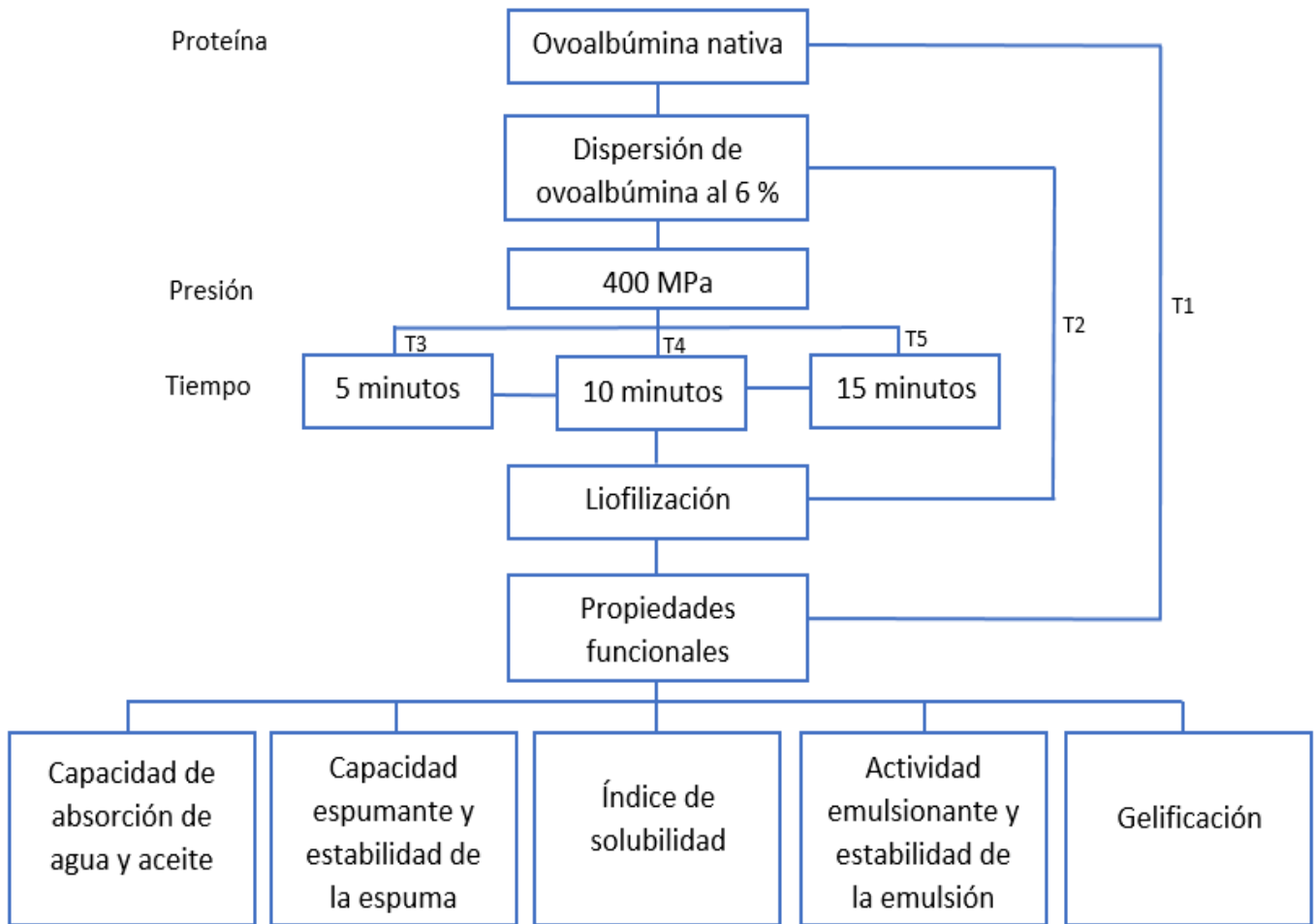


Ilustración 4. Esquema del diseño experimental empleado

En la *Tabla 1*, se muestra la codificación de cada tratamiento.

Tabla 1. Codificación de muestras para evaluación de propiedades funcionales de ovoalbúmina

| Codificación | Tratamiento |
|---------------------|---|
| T1 | Proteína nativa |
| T2 | Proteína no presurizada liofilizada |
| T3 | Proteína presurizada a 400 MPa durante 5 minutos liofilizada |
| T4 | Proteína presurizada a 400 MPa durante 10 minutos liofilizada |
| T5 | Proteína presurizada 400 MPa durante 15 minutos liofilizada |

4. Materiales y métodos

4.1. Revisión bibliográfica

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica con ayuda de la herramienta Sirius que proporciona la biblioteca de la UPNA, con la que se ha profundizado sobre los efectos que tienen las altas presiones en la estructura y las propiedades funcionales de proteínas alimentarias tanto de origen animal como vegetal.

4.2. Aplicación, tratamiento y conservación de las muestras

4.2.1. Preparación de la dispersión

Se prepararon dispersiones al 6 % (p/p) en agua destilada de ovoalbúmina en polvo, (contenido de proteína > 80 %, pH entre 6,5 y 8,5 y 4,5 % de carbohidratos, Tecnoalimentación HELA S.L., España). Para ello la dispersión se homogeneizó mediante un agitador magnético (FisherBrand, Italia) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez la proteína estaba disuelta en el agua destilada, se envasaron 300 ml de la disolución en bolsas Zip eliminando las burbujas de aire. A su vez, éstas se envasaron en bolsas de polipropileno a vacío (97 %) con un sellado de 3 segundos para realizar el proceso de altas presiones.

4.2.2. Tratamiento de altas presiones

Las muestras se trataron a una presión de 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos con un equipo de altas presiones Stansted Iso-Lab Fluid Power LTD, Inglaterra (*Ilustración 5*) cuyo cilindro tiene 6,5 cm de diámetro y 22 cm de altura. El fluido utilizado para transmitir la presión fue una mezcla de agua con propilenglicol USP (1:4, v/v).



Ilustración 5. Equipo de altas presiones Stansted Iso-Lab Fluid Power LTD, Inglaterra

El tratamiento de altas presiones se dividió en 3 fases: 1ª hasta llegar a 133 MPa donde se mantuvo 5 segundos, 2ª hasta llegar a 266 MPa donde se mantuvo otros 5 segundos y la 3ª hasta llegar a los 400 MPa donde se mantuvo el tiempo de tratamiento (5, 10 o 15 minutos). La despresurización se realizó a la máxima velocidad.

4.2.3. Liofilización de las muestras

Se liofilizó cada tratamiento en el liofilizador LyoBeta 25, Telstar, España (*Ilustración 6*) donde se adicionó los 600 ml de cada tratamiento en una bandeja diferente. El espesor final en cada bandeja fue de 0,36 cm. La liofilización se llevó a cabo con las siguientes condiciones: congelación a -45 °C durante 2 horas, secado primario a 15 °C durante 15 horas y secado secundario a 25 °C durante 3 horas. Se obtuvo una humedad aproximada de 4,5 % (en base húmeda) en todas las muestras por lo que se verificó que la liofilización se realizó correctamente.



Ilustración 6. Equipo liofilizador LyoBeta 25, Telstar, España

La proteína liofilizada se envasó herméticamente en bolsas plásticas y se conservó a temperatura ambiente hasta su utilización. La cantidad de proteína obtenida en cada tratamiento fue de 32-34 g.

4.3. Propiedades funcionales

4.3.1. Capacidad de absorción de agua (CAA) y de aceite (CAAc)

Tanto la capacidad de absorción de agua (CAA) como la de aceite (CAAc) se determinaron con el método de Beuchat (1977). Para ello, se pesaron 0,5 g de proteína tratada en un tubo de centrifuga (Oak Ridge Centrifuge Tube, Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) y se mezclaron con 5 g de agua destilada. Posteriormente, se agitó el tubo durante 30 segundos con ayuda de un vórtex y se dejó reposar la muestra durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se centrifugó durante 30 minutos a 3000 rpm. Con ayuda de una balanza se pesó el sobrenadante obtenido. Con la ecuación 1, se calculó la capacidad de absorción de agua:

$$CAA \left(\frac{\text{g de agua}}{\text{g de proteína}} \right) = \frac{\text{Peso del agua añadida (g)} - \text{Peso del sobrenadante (g)}}{\text{Peso de proteína (g)}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

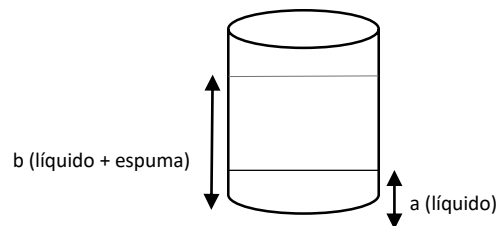
Para determinar la capacidad de absorción de aceite se realizó el mismo método, pero se adicionó aceite de girasol en vez de agua destilada.

4.3.2. Capacidad espumante (CE) y estabilidad de la espuma (EEs)

Se determinó la capacidad espumante mediante el método de Paredes-Lopez et al. (1991). Se prepararon 10 ml de disolución proteica al 1% (p/v) en frascos de 50 ml de capacidad y, con la ayuda de una regla, se midió la altura del líquido (a). La disolución se agitó a 11000 rpm durante dos minutos (Ultra turrax) y se volvió a medir la altura total del líquido y la espuma generada (b) después de la homogeneización. Para calcular la estabilidad de la espuma, se volvió a medir la altura del líquido y la espuma (b) pasados 30 minutos y se aplicó la misma fórmula.

Para calcular la capacidad espumante y la estabilidad de la espuma se utilizó la ecuación 2.

$$CE (\%) = \frac{b-a}{a} \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$



4.3.3. Índice de solubilidad en agua (ISA)

El índice de solubilidad de la proteína se determinó mediante el método de Anderson et al (1996). Para ello, se pesaron 0,5 g de proteína en tubos de centrifuga y se adicionaron 6 g de agua destilada. Después, se colocaron las muestras en un baño María con agitación a 25 °C durante 30 minutos. Pasado este tiempo, se centrifugó a 5000 rpm durante 20 minutos. Por último, se colocó el sobrenadante en un platillo de aluminio y se secó en estufa a 90 °C durante una hora y media hasta que el peso fue estable. Para calcular el índice de solubilidad se utilizó la ecuación 3.

$$ISA (\%) = \frac{\text{Peso seco del sobrenadante (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 3})$$

4.3.4. Actividad emulsionante (AE) y estabilidad de la emulsión (EEm)

Para determinar la actividad emulsionante y la estabilidad de la emulsión de las muestras se siguió el método de Pearce & Kinsella (1978). Se prepararon 5 ml de disolución al 3 % (p/v) en un frasco de 50 ml. Después, se agregaron 2,5 ml de aceite de girasol obteniendo así una relación 2:1 (agua: aceite). Se homogeneizó la mezcla con ayuda del Ultra Turrax a 11000 rpm durante 90 segundos. Después, se diluyó 1 ml de la emulsión en un matraz aforado de 250 ml con agua destilada. Se midió la absorbancia a 500 nm con ayuda de un espectrofotómetro. Finalmente, se guardaron las muestras a 4 °C durante 24 horas y se volvió a medir la absorbancia.

Para determinar la actividad emulsionante se utilizaron las ecuaciones 4 y 5:

$$T = 2,303 \times \frac{A}{l} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

- T es la turbidez
- A es la absorbancia a 500 nm
- l es el paso óptico de la cubeta (0,01 m)

$$AE = 2 \times T \times \frac{r}{c \times \theta} \text{ (Ecuación 5)}$$

Donde:

- r es el factor de dilución (0,004)
- c es el peso de la proteína por unidad de volumen antes de la emulsión (0,03 g)
- θ es el volumen de la fracción de aceite (0,33 ml)

Para calcular la estabilidad de la emulsión se utilizó la ecuación 6:

$$EE_m = \frac{T \times \Delta t}{\Delta T} \text{ (Ecuación 6)}$$

Donde:

- T es la turbidez a tiempo 0
- Δt es el intervalo de tiempo (24 h)
- ΔT es el cambio de turbidez durante el periodo de 24 h

4.3.5. Gelificación

Siguiendo el método de Circle et al. (1964), se prepararon 50 ml de disoluciones de proteína tratada y sin tratar en agua destilada con concentraciones al 4, 6 y 8% (p/v). Cada solución se dispuso en dos botes de 20 ml y se introdujeron en un baño María a 70 °C durante 15 minutos. Pasado ese tiempo, se sacaron y se dejaron enfriar a temperatura ambiente durante 30 minutos. Tras su almacenamiento 24 horas a 4 °C, se midió la gelificación invirtiendo los frascos y comprobando si goteaban o no.

4.3.6. Análisis estadísticos

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con ayuda del programa IBM SPSS Statistics Versión 25 software (IBM Corp. USA). Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante pruebas de comparación múltiple post hoc de Tukey con un nivel de confianza del 95 % considerando que hay diferencias significativas en p-valores menores que 0,05.

5. Resultados

5.1. Revisión bibliográfica

5.1.1. Efecto de las altas presiones sobre la estructura, los grupos sulfhidrilo y la hidrofobicidad de las proteínas

En estudios sobre las altas presiones donde se analizaron varios alimentos, se comprobó que las altas presiones pueden desplegar y disociar las estructuras secundaria y terciaria de proteínas de los alimentos a partir de 200 MPa y la cuaternaria a partir de 150 MPa, esto se debe a que las altas presiones afectan a los enlaces no covalentes (iónicos, enlaces hidrófobos y de hidrógeno). Sin embargo, la estructura primaria permanece estable (Bello et al., 2014).

Un grupo sulfhidrilo (SH) es un átomo de azufre unido a un átomo de hidrógeno mediante un enlace covalente. Estos grupos SH se encuentran en las cadenas laterales del aminoácido cisteína (*Ilustración 7*) y de forma nativa están enterrados en el interior de las proteínas (Van der Plancken et al., 2007). Cuando un grupo SH reacciona por oxidación (Van der Plancken et al., 2007) con otro grupo SH de otra cisteína, los átomos de hidrógeno se liberan y se pueden formar el enlace disulfuro que permite el plegamiento de la proteína (González, n.d.). Los grupos SH junto con los enlaces disulfuro (S-S) ayudan a mantener la estructura terciaria de las proteínas (*Ilustración 8*). Ambos tienen un papel muy importante en la conformación, estabilidad y propiedades funcionales de las proteínas. Las altas presiones pueden causar cambios en la estructura de las proteínas lo que provoca cambios en la cantidad de grupos SH libres. Presiones de hasta 300 MPa pueden favorecer el despliegue de proteínas aumentando la cantidad de grupos SH disponibles o libres. Sin embargo, para valores de presión superiores a 300 MPa, la cantidad de grupos SH libres no cambia o incluso disminuye, esto se debe a una mayor tendencia a la agregación de proteínas (Queirós et al., 2018).

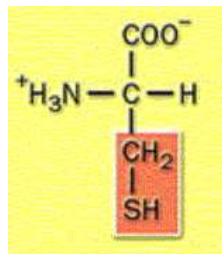


Ilustración 7. Aminoácido cisteína (González, n.d.)

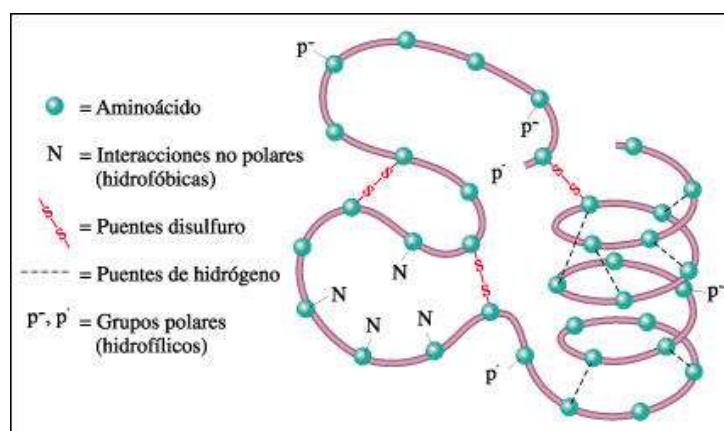


Ilustración 8. Estructura terciaria globular de una proteína (González, n.d.)

La hidrofobicidad superficial está relacionada con la exposición de cadenas laterales de aminoácidos aromáticos que son apolares. Cuanto mayor es la cantidad de grupos hidrófobos expuestos mayor es la hidrofobicidad superficial. Las altas presiones conllevan un aumento de la hidrofobicidad superficial debido a la exposición de estas cadenas apolares que poseen las proteínas de forma nativa en su interior (Queirós et al., 2018).

En general, los cambios en la estructura de las proteínas están relacionados con modificaciones en las características de las proteínas (gelificación, capacidad emulsionante y espumante, solubilidad...) y dependen del tipo de proteína con el que se esté trabajando, las condiciones del tratamiento (presión y tiempo) a las que se sometan las muestras y otros factores como la concentración y condiciones del medio, principalmente su pH (Bello et al., 2014).

En estudios realizados con la proteína del caracol de mar (*Haliotis rufescens*) se ha comprobado que las altas presiones (200, 300, 400 y 500 MPa durante 5 min) cambian su estructura secundaria independientemente de la presión que se aplique. La estructura intermolecular de las láminas β se rompió a 200 MPa que conllevó a la formación de láminas β intramoleculares (Cepero-Betancourt et al., 2020). En las proteínas musculares de *Seriola lalandi*, se produjeron cambios en la estructura secundaria. En este caso, disminuyeron las α -hélice mientras que aumentaron las láminas β al tratar las muestras a presiones entre 450-550 MPa durante 3 y 4 minutos a 15 °C. Se demostró que las altas presiones provocaron cambios en las interacciones hidrofóbicas y en los enlaces de hidrógenos debidos a estos cambios en la estructura (Larrea-Wachtendorff et al., 2015).

En proteína de colza (He et al., 2014) y en proteína de soja (Wang et al., 2008) tratadas a presiones de 200 MPa aumentaron la cantidad de grupos sulfhidrilo libres respecto a la muestra de proteína nativa por la exposición de estos grupos que estaban enterrados en el interior. Sin embargo, en las muestras tratadas a presiones mayores (400 y 600 MPa), se vio una disminución progresiva a causa del tratamiento de altas presiones que podría deberse a la formación de enlaces disulfuro y agregados entre proteínas. Sin embargo, Van der Plancken et al. (2005) comprobaron que en clara de huevo sometida a altas presiones (desde 100 hasta 700 MP) los grupos SH fueron altos hasta presiones de presiones de 500 MPa. A partir de los 500 MPa comenzaron a bajar el número de grupos SH, aunque seguía habiendo grupos SH que no habían participado en la oxidación para formar puentes disulfuro.

En la proteína del boniato, las altas presiones (250, 400 y 550 MPa) afectaron a la estructura secundaria y se desplegaron las cadenas de proteínas lo que llevó a la formación de polímeros de mayor peso conforme mayor era la presión. Se demostró que la hidrofobicidad aumentó de 250 a 550 MPa en muestras con pH 3, 6 y 9 (Zhao et al., 2018). En la proteína de soja, tratada a 200 y 400 MPa, se produjo el despliegue de las globulinas, exponiendo los grupos hidrófobos y dando lugar a la agregación y pérdida de solubilidad. La hidrofobicidad y solubilidad de las muestras tratadas está relacionada con la concentración de proteína de la muestra (Wang et al., 2008). Los resultados de He et al. (2014) también demostraron que en soja tratada a presiones desde 200 a 600 MPa la hidrofobicidad también aumentó lo que conllevó a una disminución de la solubilidad.

La ovoalbúmina es una fosfoglicoproteína monomérica (peso molecular 45kDa) (Naderi et al., 2017) rica en cisteína y metionina (Ibarz et al., n.d.) que tiene cuatro grupos sulfhidrilo y un enlace disulfuro enterrados en el interior de la proteína (Naderi et al., 2017). Es una proteína globular cuya estructura tridimensional está compuesta por un 41 % de la molécula helicoidal, un 34 % lámina β , un 12 % giros β y un 13 % de espirales aleatorias (Naderi et al., 2017). La alta hidrofobicidad de la ovoalbúmina nativa puede deberse a que es rica en metionina que es un

aminoácido hidrófobo (González, n.d.). Savadhooki et al. (2016) realizaron un estudio donde se analizó ovoalbúmina mediante colorimetría diferencial de barrido y espectroscopía infrarroja. Se comprobó que en muestras sólidas al 80 % sometidas a altas presiones de 600 MPa durante 15 minutos, la conformación de las proteínas se mantuvo. En cambio, en las muestras acuosas sometidas al mismo tratamiento se vio un cambio irreversible y en muestras semisólidas, las proteínas estaban parcialmente alteradas. Con este estudio se concluyó que el cambio en la estructura de las proteínas se debió al reordenamiento de enlaces sulfhidrilo y disulfuro enterrados en el núcleo de la ovoalbúmina. Galazka et al. (2000) comprobaron que a presiones superiores a 400 MPa, la hidrofobicidad de la superficie de ovoalbúmina había aumentado.

5.1.2. Efecto de las altas presiones sobre las propiedades funcionales de las proteínas

Efecto de las altas presiones sobre la capacidad de absorción de agua y de aceite

La capacidad de absorción de agua y de aceite son propiedades de las proteínas relacionadas con su mayor o menor capacidad para interactuar con cada uno de estos componentes. Esta interacción se debe a la exposición provocada por el despliegue de aminoácidos polares de las proteínas que hacen que interactúen mejor con el agua (Kurpiewska et al., 2019).

Debido a la alta hidrofobicidad de la ovoalbúmina, la capacidad de retención de agua es baja si se conserva la estructura secundaria esto se debe a que los grupos polares se encuentran enterrados en la proteína nativa, lo que les impide interactuar con el agua (Savadkoobi et al., 2016).

Capacidad espumante y estabilidad de la espuma

La capacidad espumante es la aptitud de algunos alimentos para formar espumas. Esta propiedad está relacionada con el cambio de la estructura terciaria de la proteína por efecto de las altas presiones (Li et al., 2011) y depende la proteína que se utilice.

Li et al. (2011) comprobó que, en proteínas de aislado de soja sometidas a altas presiones con tratamientos de 200-300 MPa durante 5 y 15 minutos, la capacidad espumante aumentó, pero, sin embargo, en tratamientos a mayor presión (400 y 500 MPa), disminuyó. Las mismas conclusiones se obtuvieron en un estudio con proteína de guisante donde se trataron a presiones de 200, 400 y 600 MPa. A mayor presión y concentración de proteína, los impactos fueron negativos en la formación de espumas (Chao et al., 2018).

Sin embargo, en un estudio donde se compararon las propiedades funcionales del huevo sometido a tratamientos térmicos y con altas presiones, se comprobó que las altas presiones (700 MPa) daban lugar a claras de huevo con mejores propiedades espumantes (Naderi et al., 2017).

Índice de solubilidad

La solubilidad es la capacidad de una sustancia para formar mezclas homogéneas en un líquido. Al igual que en otras propiedades, la solubilidad de una proteína depende del tipo que sea, la concentración, el tratamiento que se le aplique, el pH, adición del calcio (Queirós et al., 2018)...

Wang et al. (2008) demostraron que las altas presiones incrementan gradualmente la solubilidad en la proteína de soja entre las presiones de 200 a 600 MPa (Wang et al., 2008). Además, el pH afectó a la solubilidad de las proteínas de soja tratadas que fue más alta en muestras con pH 6,8

que a pH 3 en tratamientos entre 200 y 500 MPa durante 15 minutos. Esto se debe a que las proteínas están más cerca del punto isoeléctrico (Li et al., 2011). La adición de calcio disminuyó la solubilidad de una bebida de melocotón con proteínas de soja y desestabilizó la bebida, pero al someterlas al tratamiento de altas presiones y sin calcio (600 MPa durante 15 minutos), la bebida fue más soluble y se estabilizó (Manassero et al., 2019).

En un estudio realizado sobre la clara de huevo, se comprobó que presiones entre 250 y 400 MPa llevan a la pérdida de solubilidad de las proteínas por la formación de agregados (Naderi et al., 2017).

Actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión

Es la propiedad que tienen algunas proteínas para formar y estabilizar emulsiones (dispersiones de un líquido en otro no miscible con él). Las proteínas con estructura abierta (efecto de las altas presiones) ayudan a formar y estabilizar emulsiones porque interaccionan los grupos hidrofóbicos expuestos con las gotas de aceite, que también son hidrófobas (Chao et al., 2018).

La aplicación de las altas presiones sobre muestras de proteína de soja, disminuyó la capacidad emulsionante en las muestras conforme aumentó la presión del tratamiento (desde 200 hasta 500 MPa) (Li et al., 2011). En un estudio sobre la proteína de guisante se comprobó que el pH está muy relacionado con la capacidad emulsionante. Se mejoró la formación y estabilidad de las emulsiones con muestras a pH 3 (el tamaño de gota de la emulsión fue más pequeño y por ello más estable) tratadas a 600 MPa (Chao et al., 2018).

Un estudio donde se analizó la eficiencia y estabilidad de la emulsión de ovoalbúmina sometida a presiones entre 200 y 800 MPa, estas propiedades fueron similares con el tratamiento de 200 y 400 MPa. Con el tratamiento con el de 600 MPa mejoraron y en el de 800 MPa volvieron a disminuir (Galazka et al., 2000).

Gelificación

Es la capacidad para formar geles que se debe al establecimiento de una red tridimensional de proteínas debido al despliegue parcial de las proteínas globulares. Las altas presiones producen un despliegue en la estructura de las proteínas y por ello, se forman geles en muestras de proteínas tratadas a altas presiones (Queirós, Saraiva, & Lopes da Silva, 2017).

Se ha comprobado que en clara de huevo fresca tratada a 400 MPa no gelifica (Strohalm et al., 2000), pero la ovoalbúmina suele gelificar en tratamientos de 500-600 MPa dependiendo en parte de las condiciones del tratamiento.

En geles formados con ovoalbúmina (15% p/p) sometida a altas presiones se comprobó que las interacciones hidrofóbicas son claves para la gelificación de las proteínas ya que se producen interacciones proteína-proteína. Los geles formados por calor tienen una estructura más densa que los geles formados por tratamientos de altas presiones pero ambos tuvieron una resistencia mayor de lo esperada (Ngarize et al., 2005).

5.2. Resultados experimentales

5.2.1. Caracterización de las muestras de ovoalbúmina nativa

En la *Tabla 2*, se muestran los resultados obtenidos de las propiedades funcionales sobre la ovoalbúmina nativa.

Tabla 2. Propiedades funcionales de ovoalbúmina nativa

| Propiedades funcionales | Ovoalbúmina nativa |
|----------------------------------|--------------------|
| CAA (g de agua/g de proteína) | 0,82 ± 0,11 |
| CAAc (g de aceite/g de proteína) | 2,05 ± 0,26 |
| CE (%) | 41,67 ± 6,38 |
| EEs (%) | 31,67 ± 8,39 |
| ISA (%) | 56,88 ± 2,95 |
| AE (m ² /g) | 132,97 ± 5,05 |
| EEm (min) | 168,80 ± 86,70 |

Capacidad de absorción de agua y de aceite

En la *Tabla 2*, se observa que la capacidad de absorción de agua (CAA) fue de 0,82 ± 0,11 g de agua/g de proteína nativa. La capacidad de absorción de agua para ovoalbúmina en general es baja a comparación de otras proteínas globulares por tratarse una proteína hidrófoba (Savadkoohi et al., 2016).

La capacidad de absorción de aceite (CAAc) de proteína nativa fue de 2,05 ± 0,26 g de aceite/g de proteína (*Tabla 2*).

Capacidad espumante y estabilidad de la espuma

La capacidad espumante (CE) fue en la proteína nativa obtuvo unos valores medios de 41,67 ± 6,38 % como se puede comprobar en la *Tabla 2*. El huevo es un buen agente espumante. Las fuerzas mecánicas como el batido, producen la desnaturalización de las proteínas donde parte del aire queda entre las proteínas formando esta textura.

La estabilidad de la espuma (EEs) durante 30 minutos fue del 31,67 ± 8,39 % (*Tabla 2*).

Índice de solubilidad

La muestra nativa presentó valores de solubilidad de 56,88 ± 2,95 % como se puede ver en la *Tabla 2*. Esta propiedad está relacionada con lo comentado en la CAA ya que al ser una proteína muy hidrófoba la solubilidad también es baja.

Actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión

También se muestra en la *Tabla 2*, la actividad emulsionante (132,97 ± 5,05 m²/g) y la estabilidad de la emulsión (168,80 ± 86,70 min) de la ovoalbúmina nativa. La desnaturalización de la proteína hace que los grupos hidrófobos se expongan y estos interaccionen con las gotas de aceite de la emulsión. Contra más pequeñas son las gotas más estable es la emulsión.

Gelificación

En la *Tabla 3*, se muestran los resultados de la gelificación por calor a diferentes concentraciones de ovoalbúmina nativa.

Tabla 3. Efecto de la gelificación sobre la gelificación para ovoalbúmina sin presurizar

| Muestra | 4 % | 6 % | 8 % |
|---------|-----|-----|-----|
| Nativa | XX | ✓✓ | ✓✓ |

Como se observa en la *Tabla 3*, tras el tratamiento con calor, ninguna de las dos repeticiones gelificó al 4 %. Al 6 % sí que gelificaron, por ello, el porcentaje de gelificación estuvo entre el 4 y el 6 %.

5.2.2. Efecto del tiempo de tratamiento sobre las propiedades funcionales de muestras presurizadas a 400 MPa

Capacidad de absorción de agua y de aceite

En la *Tabla 4*, se muestran los resultados obtenidos para la CAA y CAAC en muestras de ovoalbúmina para la muestra control y las tratadas a 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos.

Tabla 4. CAA y CAAC en muestras tratadas a 400 MPa durante 0, 5, 10 y 15 minutos

| Tiempo (min) | CAA (g agua/g proteína) | CAAC (g aceite /g proteína) |
|--------------|-------------------------|-----------------------------|
| 0 | 0,21 ± 0,13 A | 6,39 ± 0,06 AB |
| 5 | 0,56 ± 0,01 B | 7,48 ± 0,09 C |
| 10 | 0,42 ± 0,07 AB | 6,64 ± 0,25 B |
| 15 | 0,39 ± 0,20 AB | 6,26 ± 0,04 A |

Los valores representan la media (n=4) ± la desviación estándar. Letras mayúsculas diferentes indican, para cada propiedad, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos de tratamiento.

La CAA se vio afectada por el tratamiento de altas presiones. Se produjo un incremento significativo con el tratamiento de 5 minutos respecto a la control, aunque se redujo conforme aumentó el tiempo de tratamiento (10 y 15 minutos) a 400 MPa, dicho factor no afectó significativamente a las muestras tratadas. Esta tendencia descendente con el aumento de tiempo de tratamiento se puede deber a que ha aumentado la cantidad de grupos hidrófobos expuestos.

Como se observa en la *Tabla 4*, la CAAC aumentó significativamente con el tiempo de tratamiento de 5 minutos mientras que para tiempos de tratamiento mayores (10 y 15 minutos) disminuyó significativamente conforme aumentó el tiempo de tratamiento a 400 MPa.

Ávila (2019) estudió las propiedades funcionales de la ovoalbúmina tratada por altas presiones a una concentración de disolución del 12 %. Ávila (2019) comprobó que para la CAA hubo diferencias significativas entre los diferentes tiempos de tratamiento y se vio una tendencia ascendente conforme aumentó el tiempo de tratamiento a 400 MPa desde los 2,57 hasta los 3 g agua/g de proteína. Sin embargo, en este estudio la tendencia fue descendente además de haberse obtenidos valores menores (desde 0,56 hasta 0,39 g agua/ g de proteína). En la CAAC,

Ávila (2019) no observó diferencias significativas entre las muestras tratadas durante 5, 10 y 15 minutos. Sin embargo, con el aumento de tiempo de tratamiento se vio una tendencia descendente desde los 3,41 hasta 3,07 g de aceite/g de proteína. En este estudio la tendencia también fue descendente pero los valores obtenidos para la CAAC fueron el doble que los que obtuvo Ávila (2019). La concentración afectó tanto a la CAA como a la CAAC, siendo mejor la CAA con una concentración al 12 %. Al contrario que la CAAC que tuvo resultados óptimos con una concentración al 6 %.

Capacidad espumante y estabilidad de la espuma

En la *Tabla 5*, se muestran los valores obtenidos para la CE y EEs de ovoalbúmina control y presurizada a 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos.

Tabla 5. CE y EEs en muestras tratadas a 400 MPa durante 0, 5, 10 y 15 minutos.

| Tiempo (min) | CE (%) | EEs (%) |
|--------------|------------------|-----------------|
| 0 | 173,35 ± 25,91 A | 93,27 ± 27,32 A |
| 5 | 170,00 ± 28,02 A | 56,67 ± 25,82 A |
| 10 | 155,00 ± 19,15 A | 58,33 ± 22,03 A |
| 15 | 186,67 ± 28,28 A | 60,00 ± 12,17 A |

Los valores representan la media (n=4) ± la desviación estándar. Letras mayúsculas diferentes indican, para cada propiedad, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos de tratamiento.

En la CE no se observaron diferencias significativas, aunque tendió a disminuir entre el tiempo de tratamiento de 5 a 10 minutos y aumentó en el de 15 minutos. Las muestras no tratadas por presurización tuvieron una CE de 173,35 ± 25,91 %.

En la *Tabla 5* se observa que, a pesar de no haber diferencias significativas entre las muestras, la EEs aumentó conforme aumentó el tiempo de tratamiento. A pesar de este incremento, las altas presiones no mejoraron la EEs ya que la muestra control obtuvo valores mayores (93,77 ± 27,32 %).

En el estudio de Ávila (2019) sobre la ovoalbúmina concentrada al 12 %, se vieron diferencias significativas entre los tiempos de tratamiento a 400 MP en la CE. Los resultados mostraron que hubo una tendencia descendente con el aumento de tiempo de tratamiento (desde 191,09 a 171,45 %). En este estudio se observa como disminuyó la CE (entre el tiempo de tratamiento de 5 y 10 minutos) y luego aumentó (en el tratamiento de 15 minutos). Aunque la EEs no tuvo efectos significativos, se vio una tendencia ascendente desde un 84,70 a un 88,54 % (Ávila, 2019), que fueron valores más altos que los registrados en este estudio a pesar de que también tendió a aumentar la EEs (desde 56,67 ± 25,82 hasta 60,00 ± 12,17 %). La CE fue similar en ambos estudios, pero en el estudio de Ávila (2019) la CE tuvo mejores resultados con el menor de los tiempos de tratamiento (5 minutos) y la EEs también fue mejor en ese estudio. Se concluye que con un mayor porcentaje de proteína la CE y la EEs mejoraron (Ávila, 2019).

Estos resultados concuerdan con las conclusiones de Li et al. (2011) donde se comprobó que a presiones altas (400-500 MPa) la capacidad espumante disminuyó.

Índice de solubilidad

En la *Tabla 6*, se muestran los resultados del índice de solubilidad (ISA) obtenidos para muestras control y tratadas durante 5, 10 y 15 minutos a tratamientos de altas presiones (400 MPa).

Tabla 6. Índice de solubilidad en muestras de proteína control y tratadas durante 5, 10 y 15 minutos por altas presiones a 400 MPa

| Tiempo (min) | ISA (%) |
|--------------|-----------------|
| Control | 83,18 ± 1,56 C |
| 5 | 67,23 ± 8,58 A |
| 10 | 70,01 ± 3,62 AB |
| 15 | 80,12 ± 4,53 BC |

Los valores representan la media (n=4) ± la desviación estándar. Letras mayúsculas diferentes indican, para cada propiedad, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos de tratamiento.

En la *Tabla 6*, se muestran los resultados obtenidos para el ISA donde se vieron diferencias significativas con una tendencia ascendente conforme aumentó el tiempo de tratamiento a 400 MPa, pero sin embargo donde mayor ISA se detectó fue en la muestra control (83,18 ± 1,56 %). Las altas presiones redujeron la solubilidad.

En el estudio sobre la ovoalbúmina al 12 %, los valores de ISA disminuyeron significativamente desde 65,66 hasta 54,77 % conforme aumentó el tiempo de tratamiento (Ávila, 2019). En este estudio aumentó el ISA conforme más tiempo de tratamiento se aplicó a las muestras además de tener mayores valores que en el estudio de Ávila (2019). Por tanto, la concentración de ovoalbúmina afectó al ISA mejorando los resultados obtenidos para una concentración menor (6 %) respecto al estudio con una concentración de proteína mayor (12 %).

Los resultados obtenidos para el ISA coinciden con el estudio de Naderi (2017) sobre la clara de huevo. Se comprobó que las presiones entre 250 y 400 MPa disminuyeron la solubilidad de las proteínas. En este estudio se comprobó que el ISA más alto se detectó en la muestra sin presurizar (83,18 ± 1,56 %). Se puede concluir que el tratamiento de altas presiones (400 MPa) no ha tenido beneficios sobre el ISA en ovoalbúmina.

Actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión

La *Tabla 7*, muestra la actividad emulsionante y la estabilidad de la emulsión para la muestra sin presurizar y para los tiempos de 5, 10 y 15 minutos de ovoalbúmina tratada a 400 MPa.

Tabla 7. Actividad emulsionante y estabilidad de la emulsión en muestras de proteína control y tratadas durante 5, 10 y 15 minutos por altas presiones a 400 MPa

| Tiempo (min) | AE (m ² /g) | EEm (min) |
|--------------|------------------------|-----------------|
| Control | 134,31 ± 6,59 A | 85,71 ± 21,55 A |
| 5 | 135,61 ± 9,96 A | 68,21 ± 17,77 A |
| 10 | 142,28 ± 4,48 A | 55,32 ± 11,84 A |
| 15 | 147,63 ± 1,46 A | 81,14 ± 46,09 A |

Los valores representan la media (n=4) ± la desviación estándar. Letras mayúsculas diferentes indican, para cada propiedad, diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos de tratamiento.

Aunque no se han encontrado diferencias significativas, los resultados de la *Tabla 7* muestran que la aplicación de los tratamientos de altas presiones aumentaron la AE con el aumento de tiempo de tratamiento y redujeron la EEm de la proteína respecto hasta los 10 minutos y se produjo un incremento de esta propiedad hasta los 15 minutos.

La aplicación de las altas presiones en soluciones más concentradas (12 %) tratadas a 400 MPa, redujeron significativamente la AE desde 99,98 hasta 84,02 m²/g y la EEm desde 47,87 hasta 31,41 minutos con el aumento de tiempo de tratamiento (Ávila, 2019). En la dispersión al 6 %, no se observaron diferencias significativas para la AE ni para la EEm. La AE tuvo una tendencia ascendente conforme aumentó el tiempo de tratamiento y la EEm disminuyó hasta el tratamiento de 10 minutos y aumentó en el de 15 minutos. La EEm disminuyó en el estudio de proteína concentrada al 12 % siendo los resultados la mitad que los de este estudio (al 6 %). La concentración de proteína tuvo mejoras para la AE y EEm ya que, con menor cantidad de proteína, se obtuvieron mejores resultados.

Gelificación

En la *Tabla 8*, se muestran los resultados obtenidos para la gelificación de la muestra control y las muestras tratadas a 400 MPa durante 5, 10 y 15 minutos.

Tabla 8. Gelificación de la proteína a 4, 6 y 8 % de concentración.

| Muestra Concentración | 4 % | 6 % | 8 % |
|-------------------------|-----|-----|-----|
| Control | XX | ✓✓ | ✓✓ |
| 5 min | XX | ✓✓ | ✓✓ |
| 10 min | XX | ✓✓ | ✓✓ |
| 15 min | XX | ✓X | ✓✓ |

Como se observa en la *Tabla 8*, las muestras control, las tratadas durante 5 minutos y las tratadas durante 10 minutos gelificaron entre el 4 y 6 % y las muestras tratada durante 15 minutos gelificaron al 6 % de concentración.

La concentración de ovoalbúmina al 12 % del estudio de Ávila (2019) también tuvo diferencias respecto a este estudio. El punto de gelificación por calor para la proteína al 12 % fue: del 6 % para el tratamiento de 5 minutos, y entre el 4 y el 6 % para las muestras tratadas durante 10 y 15 minutos (Ávila, 2019). Por lo que se puede concluir que este estudio obtuvo mejores resultados porque la cantidad de proteína necesaria para que gelifique la proteína por calor fue menor (entre el 4 y el 6 %) que en el de Ávila (2019).

La gelificación no tuvo apenas diferencias respecto a la muestra control excepto la proteína tratada 15 minutos que requirió un 6 % de proteína para gelificar por calor.

6. Conclusiones

De la búsqueda bibliográfica de este Trabajo Fin de Grado se concluye que:

- Las altas presiones modifican la estructura cuaternaria de las proteínas con presiones alrededor de los 150 MPa y la terciaria y secundaria con presiones superiores a los 200 MPa dependiendo del tipo de proteína, las condiciones del tratamiento y del medio.
- Los grupos sulfhidrilo (SH) y los enlaces disulfuro de las proteínas tienen un papel importante en el mantenimiento de la estructura terciaria. El efecto de las altas presiones sobre los grupos SH pueden modificar la estructura y favorecer a partir de niveles altos la formación de puentes disulfuro y la agregación.
- Las altas presiones pueden exponer los grupos hidrófobos de los aminoácidos aromáticos que en su forma nativa se encuentran enterrados en el interior de la proteína.
- La capacidad de absorción de agua y aceite depende en gran medida de la hidrofobicidad de la proteína y de las condiciones de las altas presiones.
- Los tratamientos a presiones más bajas (200-300 MPa) pueden aumentar las propiedades espumantes. Sin embargo, a presiones más altas (400-500 MPa) y tiempos prolongados las propiedades espumantes se reducen por la formación de agregados.

De los resultados experimentales de este Trabajo Fin de Grado se concluye que:

- Las altas presiones a 400 MPa durante tiempos de tratamiento de 5, 10 y 15 minutos han tenido efectos significativos en algunas propiedades (la capacidad de absorción de agua y de aceite y la solubilidad) para ovoalbúmina.
- La capacidad de absorción de agua y de aceite tuvieron sus mejores resultados con el tratamiento a 400 MPa durante 5 minutos.
- Por el contrario, para el índice de solubilidad el tratamiento de 5 minutos a 400 MPa que fue donde más se redujo dicha propiedad.
- Para la capacidad espumante, estabilidad de la espuma, la actividad emulsionante y la estabilidad de la emulsión, las altas presiones no tuvieron efectos significativos.
- La gelificación con proteína tratada por altas presiones apenas tuvo diferencias respecto a la proteína no presurizada.

7. Bibliografía

- Anderson, R.A.; Conway, V.F.; Pfeifer, V.F. & Griffin, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll – and extrusion – cooking. *Plant Foods Hum. Nutr.* v. 30, p. 163 -16
- Ávila, R. (2019). Efecto del tratamiento de altas presiones hidrostáticas sobre la alergenicidad, propiedades funcionales y características del gel en proteínas de ovoalbúmina y soja. *Universidad Pública de Navarra*.
- Bello, E., Martínez, G., Ceberio, B., Rodrigo, D., & López, A. (2014). High Pressure Treatment in Foods. *Foods*, 3(3), 476–490. <https://doi.org/10.3390/foods3030476>
- Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 25, p. 258 - 261.
- Cepero-Betancourt, Y., Opazo-Navarrete, M., Janssen, A. E. M., Tabilo-Munizaga, G., & Pérez-Won, M. (2020). Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on protein structure and digestibility of red abalone (*Haliotis rufescens*) muscle. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 60(June 2019), 102282. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102282>
- Chao, D., Jung, S., & Aluko, R. E. (2018). Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45(October 2017), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.10.014>
- Circle, S.J.; Meyer, E.W. & Whitney, R.W. (1964). Rheology of soy protein dispersions: Effect of heat and other factors on gelation. *Cereal Chem* v. 41, p. 157.
- Galazka, V. B., Dickinson, E., & Ledward, D. A. (2000). Effect of high pressure on ovalbumin-polysaccharide interactions. *High Pressure Research*, 19(1–6), 125–130. <https://doi.org/10.1080/08957950008202545>
- González, J. M. (n.d.). *Curso de biomoléculas*. Universidad Del País Vasco. <http://www.ehu.eus/biomoleculas/index.htm>
- He, R., He, H. Y., Chao, D., Ju, X., & Aluko, R. (2014). Effects of High Pressure and Heat Treatments on Physicochemical and Gelation Properties of Rapeseed Protein Isolate. *Food and Bioprocess Technology*, 7(5), 1344–1353. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1139-z>
- Huang, H. W., Hsu, C. P., & Wang, C. Y. (2020). Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.10.002>
- Ibarz, A., Sangronis, E., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (n.d.). *Gels Induced By High Hydrostatic Pressure*. 191–201.
- Kurpiewska, K., Biela, A., Loch, J. I., Lipowska, J., Siuda, M., & Lewiński, K. (2019). Towards understanding the effect of high pressure on food protein allergenicity: β -lactoglobulin structural studies. *Food Chemistry*, 270(May 2018), 315–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.104>

- Larrea-Wachtendorff, D., Tabilo-Munizaga, G., Moreno-Osorio, L., Villalobos-Carvajal, R., & Pérez-Won, M. (2015). Protein Changes Caused by High Hydrostatic Pressure (HHP): A Study Using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 222–230. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9107-1>
- Lee, N. Y., & Koo, J. G. (2019). Effects of high hydrostatic pressure on quality changes of blends with low-protein wheat and oat flour and derivative foods. *Food Chemistry*, 271(January 2018), 685–690. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.171>
- Li, H., Zhu, K., Zhou, H., & Peng, W. (2011). Effects of high hydrostatic pressure on some functional and nutritional properties of soy protein isolate for infant formula. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(22), 12028–12036. <https://doi.org/10.1021/jf203390e>
- Luque Guillen, M. V. (2011). Estructura Y Propiedades de las Proteínas. *Bioquímica Médica*, 5, 1–162.
- Manassero, C. A., Speroni, F., & Vaudagna, S. R. (2019). High hydrostatic pressure treatment improves physicochemical properties of calcium- and soybean protein-added peach juice. *Lwt*, 101(November 2018), 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.021>
- Naderi, N., House, J. D., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2017). Effects of High Hydrostatic Pressure Processing on Hen Egg Compounds and Egg Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 707–720. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12273>
- Ngarize, S., Adams, A., & Howell, N. (2005). A comparative study of heat and high pressure induced gels of whey and egg albumen proteins and their binary mixtures. *Food Hydrocolloids*, 19(6), 984–996. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.12.008>
- National Human Genome Research Institute. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Protein>
- Paredes, L.; Ordorica, F. & Olivares M.R. (1991). Chickpea Protein Isolates: Physicochemical, Functional and Nutritional Characterization. *Journal of Food Science*, v. 56(3), p. 726-729.
- Pearce, K. N. & Kinsella J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *J. Agric. Food Chem.* v.26, p. 716–723.
- Pradas Baena, I., & Moreno Rojas, J. M. (2016). Aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas en la Industria Alimentaria. *Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de Andalucía, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera*, 1–18.
- Queirós, R. P., Saraiva, J. A., & da Silva, J. A. L. (2018). Tailoring structure and technological properties of plant proteins using high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(9), 1538–1556. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1271770>
- Savadkoohi, S., Bannikova, A., Mantri, N., & Kasapis, S. (2016). Structural properties of condensed ovalbumin systems following application of high pressure. *Food Hydrocolloids*, 53, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.021>
- Strohalm, J., Novotna, P., Houska, M., Kyhos, K., Vavreinova, S., Gabrovská, D., & Rysova, J.

- (2000). Influence of high pressure treatment on rheological and other properties of egg white. *High Pressure Research*, 19(1–6), 137–143. <https://doi.org/10.1080/08957950008202547>
- Van der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. E. (2007). Foaming properties of egg white proteins affected by heat or high pressure treatment. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1410–1426. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.013>
- Wang, X. S., Tang, C. H., Li, B. S., Yang, X. Q., Li, L., & Ma, C. Y. (2008). Effects of high-pressure treatment on some physicochemical and functional properties of soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 22(4), 560–567. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.01.027>
- Zhao, Z. K., Mu, T. H., Zhang, M., & Richel, A. (2018). Chemical Forces, Structure, and Gelation Properties of Sweet Potato Protein as Affected by pH and High Hydrostatic Pressure. *Food and Bioprocess Technology*, 11(9), 1719–1732. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2137-y>