

Efecto del tratamiento térmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos de dos especies de frijol del género *Vigna*

Mancera-Castro, P., González-Cruz, L., Hernández-Acevedo, L.B., Teniente-Martínez, G., Juárez-Goiz, J.M.S., Bernardino-Nicanor, A.*

Tecnológico Nacional de México – IT de Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Antonio García Cubas Pte. #600, Col. Fovissste, C.P. 38010, Celaya, Guanajuato, México.

* aurea.bernardino@itcelaya.edu.mx

RESUMEN

Las propiedades funcionales de las proteínas son de importancia en la industria alimentaria, ya que influyen en las características del alimento del cual forman parte y por ende en la aceptación del consumidor. Específicamente, las proteínas de las leguminosas son relevantes por su contenido de aminoácidos esenciales, sin embargo, no todos los géneros y especies de leguminosas han sido caracterizados, como es el caso del género *Vigna*. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos de *Vigna umbellata* y *Vigna unguiculata*. Los resultados indicaron que el tratamiento térmico no influyó en las propiedades de hidratación (capacidad de retención de agua y capacidad de absorción de agua), posiblemente debido a la solubilidad, ni en la capacidad de absorción de aceite. El pH 12 tuvo mayor actividad espumante, y el tratamiento hidrotérmico provocó una mayor estabilidad espumante a los 30 y 120 min. Acorde a los resultados obtenidos, el tratamiento térmico no genera cambios importantes en las características tecno-funcionales de los aislados proteínicos de las dos especies del género *Vigna*, sin embargo, el pH si es un parámetro de importancia en algunas propiedades.

Palabras clave: aislado proteínico, *Vigna unguiculata*, *Vigna umbellata*, propiedades tecno-funcionales.

ABSTRACT

The functional properties of proteins are essential in the food industry since they influence the characteristics of the food; they are a part of, therefore, consumer acceptance. Specifically, legume proteins are relevant for their content of essential amino acids. However, not all legume genera and species have been characterized, as is the case of the genus *Vigna*. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of heat treatment on the techno-functional characteristics of *Vigna umbellata* and *Vigna unguiculata* protein concentrates. The results indicated that the thermal treatment did not influence the hydration properties (water retention capacity and water absorption capacity), possibly due to solubility or oil absorption capacity. The pH 12 had higher foaming activity, and the hydrothermal treatment caused higher foaming stability at 30 and 120 min. According to the results obtained, the thermal treatment does not generate essential changes in the techno-functional characteristics of the protein isolates of the two species of the genus *Vigna*. However, pH is a critical parameter for some properties.

Keywords: Proteinic concentrate, *Vigna unguiculata*, *Vigna umbellata*, techno-functional properties.

INTRODUCCIÓN

Las características funcionales de las proteínas se definen como las propiedades físicas o químicas que afectan el comportamiento de las proteínas en los sistemas alimentarios durante el procesamiento, almacenamiento, preparación o consumo. Las propiedades de mayor interés en la industria alimentaria incluyen la solubilidad, capacidad de unirse al agua y aceite, formación de espuma, gelificación, espesamiento y unión al sabor; y estas propiedades funcionales están determinadas por la composición de aminoácidos, estructura y conformación de la proteína, así como las condiciones durante el procesamiento, como el pH, temperatura y las interacciones que ocurren entre las proteínas con otros componentes de los alimentos, como son las grasas y aceites, sales, carbohidratos y compuestos fenólicos (Boye *et al.*, 2010).

De acuerdo con el porcentaje de proteína los alimentos se pueden clasificar en harinas proteínicas (<65% de proteína en peso seco), concentrados proteínicos (>65% de proteína en peso seco) y los aislados proteínicos (>90% de proteína en peso seco) (Boye *et al.*, 2010). Las leguminosas tradicionalmente valiosas son consideradas harinas proteínicas, ya que proveen proteínas del 20-40% con un aporte de aminoácidos esenciales. Sin embargo, la familia Leguminosae es extensa con más de 18000 especies con más de 440 géneros, pero con la desventaja que no todos los géneros y especies han sido caracterizadas (Maphosa & Jideani, 2017). Como es el caso del género *Vigna*, el cual está conformado por más de 100 especies alrededor de todo el mundo, pero solo 9 o 10 especies han sido domesticadas (Tomooka *et al.*, 2014), entre estas especies se encuentra *Vigna unguiculata* y *Vigna umbellata*.

Vigna unguiculata, con nombres comunes de frijol vaquita, caupí o cowpea, es una leguminosa originaria y domesticada en África, sin embargo, su cultivo se ha extendido en Asia, Europa y América (Estrada Domínguez *et al.*, 2018; Lonardi *et al.*, 2019). En México, es una fuente importante de alimentos en comunidades rurales de los estados de Campeche, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Oaxaca, Tabasco, Veracruz, Yucatán y Tamaulipas (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2008). El contenido de proteína en semillas varía de acuerdo con la región y condiciones de crecimiento, pero se ha reportado del 24-26% proteína (Sheldon Naiker *et al.*, 2019). Chel-Guerrero *et al.* (2011) reportaron un contenido de proteína cruda de 82.8% de un concentrado de proteínas obtenido por precipitación isoelectrónica. González-Cruz *et al.* (2020) evaluaron el efecto del tratamiento hidrotérmico en el contenido de proteína de concentrados de proteínas por precipitación isoelectrónica, obteniendo 72.05 y 71.72 % proteína, para concentrado sin y con tratamiento térmico, respectivamente.

Vigna umbellata, conocido en el mundo como rice bean o red bean, y en México como frijol arroz (Scull *et al.*, 2013). Es una leguminosa nativa del sur y sudeste de Asia; sin embargo, se cultiva en limitadas extensiones en los trópicos de todos los continentes, como es Estados Unidos, Honduras, Brasil y México (Bisht y Singh, 2013; Scull *et al.*, 2013). El contenido de proteína se ha reportado entre 23.9% a 25.5% (Bhagyawant *et al.*, 2019). Ge *et al.* (2022) obtuvieron un aislado proteínico por precipitación isoelectrónica con un contenido de proteína de 90.57%. Se ha observado que el tratamiento térmico disminuye el contenido de proteína en concentrados proteínicos (61.25%) respecto al concentrado sin tratar (81.66%) (González-Cruz *et al.*, 2020).

Debido a lo anterior, el objetivo fue evaluar el efecto del tratamiento hidrotérmico sobre las características tecno-funcionales de concentrados proteínicos obtenidos por precipitación isoelectrónica de dos especies del género *Vigna*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las semillas de frijol vaquita (*Vigna unguiculata*) y frijol arroz (*Vigna umbellata*) colecta 2019 se obtuvieron en el municipio de Zacatlán, Puebla, con coordenadas geográficas 19°56'5'' latitud norte y 98°12'36'' latitud occidental.

Tratamiento hidrotérmico

Se empleó la metodología propuesta por González-Cruz *et al.* (2020). Un noche antes, 100 g de semillas de las dos especies se remojaron en agua destilada en relación 1:3 p/v, con la finalidad de hidratar las semillas y disminuir el tiempo de tratamiento., el cual fue de 2 horas en ebullición a 95°C. Posteriormente el frijol se secó a 45°C en un secador por convección de aire forzado durante 16 h. Después las semillas se molieron, tamizaron (malla No. 40) y se almacenaron en recipientes de vidrio herméticos a temperatura ambiente hasta su análisis.

Obtención de aislados proteínicos

Aislados proteínicos de harinas de frijol vaquita y frijol arroz con y sin tratamiento térmico fueron obtenidos con el protocolo de precipitación isoelectrica propuesto por Bernardino-Nicanor *et al.* (2000). La harina se dispersó en agua destilada en relación 1:20 p/v bajo agitación constante. Posteriormente se ajustó el pH al de máxima solubilidad de proteínas (12 para frijol arroz y 11.7 para frijol vaquita) con NaOH 0.1N, después la mezcla se mantuvo a 40°C en un baño de agua por 45 min, y luego se centrifugó a 6000 rpm por 30 min. Se desecho el precipitado, y al sobrenadante se ajustó el pH al de precipitación isoelectrica (4 para frijol arroz y 4.5 para frijol vaquita) con HCl 0.1N, posteriormente se aplicó otro ciclo de centrifugación con las mismas condiciones, el precipitado (aislado proteínico) se liofilizo, molió, tamizó (malla No. 40) y se almacenó en frascos de vidrio herméticos a temperatura ambiente.

Caracterización tecno-funcional

Solubilidad

Se preparó una disolución de aislado proteínico a una concentración de 0.16 mg/mL, se ajustó el pH a 9.0, 9.5, 10.0 y 12.0, y se mantuvo a 4°C por 18 h. Después la disolución se centrifugó, y al sobrenadante se midió el contenido de proteína soluble por el método de Bradford. La solubilidad se expresó como el porcentaje de proteína soluble presente en la disolución (Maruyama *et al.*, 1999).

Capacidad de retención de agua

Se prepararon dispersiones (1% p/v) de aislados proteínicos y se mantuvieron en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Luego se centrifugaron a 10000 rpm por 30 min. La capacidad de retención de agua (WHC) se calculó con la siguiente ecuación (Bernardino-Nicanor *et al.*, 2006):

$$WHC = \frac{m_{hip} - m_{tp} + m_{sp}}{m_{tp}} \times \delta \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde m_{hip} es la masa (g) de la fracción de proteína insoluble hidratada; m_{tp} es la masa (g) de la muestra; m_{sp} es el contenido de proteína soluble de la muestra; δ es la densidad del agua.

Capacidad de absorción de aceite/agua

Se determinó mediante el método propuesto por Beuchat (1997). En un tubo de centrifuga se dispersaron 0.5 g de aislado proteínico en 5 mL de aceite de maíz o 5 mL de agua destilada, y se mezclaron durante 30 segundos. Posteriormente los tubos se mantuvieron en agitación (10000 rpm) por 30 min a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, se realizó un ciclo de centrifugación a 3000 rpm por 15 min; se desechó el sobrenadante. La Ec. (2) se empleó para determinar la capacidad de absorción de aceite - OAC (g aceite/g muestra) o agua - WAC (g agua/g muestra):

$$WAC \text{ o } OAC = \frac{\text{Peso (g) del residuo} - \text{Peso (g) de la muestra}}{\text{Peso (g) de la muestra}} \quad \text{Ec. (2)}$$

Actividad espumante

Se preparó una suspensión al 1% p/v de aislado proteínico, la cual se ajustó a valores de pH entre 2 y 9, con NaOH 0.1N o HCl 0.1N. Se agitaron en un vortex a 10000 rpm durante 60 segundos a temperatura ambiente. La actividad espumante se calculó con la Ec. (3):

$$\text{Actividad espumante (\%)} = \frac{\text{Vol. (mL) final} - \text{Vol. (mL) inicial}}{\text{Vol. (mL) inicial}} \times 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

Estabilidad de la espuma a través del tiempo

Se siguió el procedimiento de la actividad espumante, con la modificación de que se realizaron mediciones de volumen de espuma remanente después de 30 y 120 min. Con la Ec. (4) se determinó la estabilidad de la espuma:

$$\text{Estabilidad (\%)} = \frac{\text{Vol. (mL) de la espuma después de 30 y 120 min}}{\text{Vol. (mL) inicial de la espuma}} \quad \text{Ec. (4)}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**Solubilidad**

En la industria de alimentos, la distribución de la solubilidad de concentrados y aislados proteínicos en un intervalo de valores de pH se puede considerar como un indicador de la funcionalidad de la proteína, ya que está directamente relacionada con muchas propiedades funcionales importantes, incluidas las propiedades de hidratación, capacidad y estabilidad de emulsificación, formación de espuma y gelificación (Ge *et al.*, 2022; Shevkani *et al.*, 2015).

Se ha reportado que la solubilidad de la mayoría de las proteínas de leguminosas es más alta a valores de pH ácidos bajos (pH < 4) y alcalinos altos (pH > 9). La solubilidad disminuye notablemente cerca del punto isoelectrico, generalmente entre pH 4 y pH 6 para la mayoría de las leguminosas (Boye *et al.*, 2010). En su punto isoelectrico, una proteína muestra el valor más pequeño de repulsión electrostática, por lo tanto, la proteína tendrá la solubilidad más baja y eventualmente precipitará. Hay aminoácidos que tienen carga positiva, negativa o neutra, cuando varios aminoácidos se combinan para formar proteínas, entonces cada carga de aminoácidos contribuirá a la carga total de la proteína. A un pH bajo, los aminoácidos estarán cargados positivamente, mientras que a un pH alto estarán cargados negativamente. A un pH de 4-5, los aminoácidos estarán en un estado dipolar, donde la solubilidad es mínima y la proteína se coagulará y sedimentará (Kusumah *et al.*, 2020).

En la Fig. 1 se muestran los resultados de la solubilidad en un rango de pH 9 a pH 12. Se observa una mayor solubilidad en pH's alcalinos comparado con pH's ácidos (datos no mostrados). También entre

las dos especies existe una diferencia en la solubilidad, esto debido a variaciones en el perfil y cantidad de las fracciones de globulinas y albuminas, que son las que se han reportado solubles en leguminosas (Barac *et al.*, 2015).

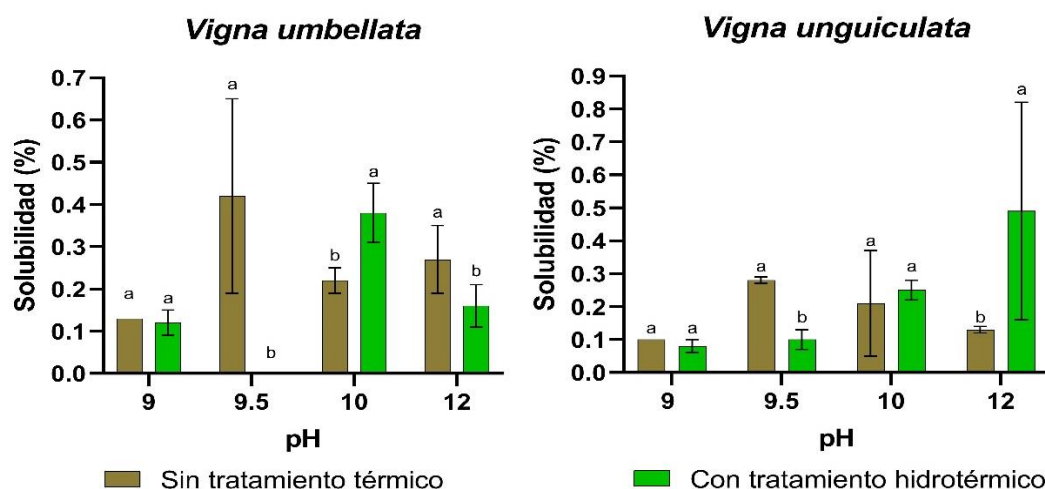


Figura 1. Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la solubilidad de los concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar ($n=3$). Letras diferentes por barra indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) por prueba t-student.

Capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC)

Las propiedades de hidratación, WHC/WAC se definen como la cantidad de agua que puede ser absorbida por gramo de proteína o aislado proteínico. La medición de estas propiedades tecnofuncionales es de importancia en la industria de alimentos. Es posible que los aislados que tienen valores de WHC/WAC bajos no puedan retener el agua de manera efectiva, mientras que los aislados que tienen valores de WHC/WAC altos pueden hacer que los productos alimenticios se vuelvan quebradizos y secos, especialmente durante el almacenamiento (Boye *et al.*, 2010).

En la Tabla I no se observan diferencias significativas ($p > 0.05$) en la capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC) entre los concentrados sin tratamiento y con tratamiento hidrotérmico en las dos especies de frijoles *Vigna*.

Tabla I. Efecto del tratamiento hidrotérmico en la capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de absorción de agua (WAC) de dos especies del género *Vigna*

Especie de frijol	WHC (mL agua/g muestra)		WAC (g agua/g muestra)	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
<i>V. umbellata</i>	150.53 \pm 1.67 ^a	150.43 \pm 1.05 ^a	14.01 \pm 0.40 ^a	14.24 \pm 0.39 ^a
<i>V. unguiculata</i>	147.24 \pm 1.65 ^a	146.61 \pm 1.96 ^a	14.50 \pm 0.11 ^a	14.44 \pm 0.22 ^a

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar ($n=3$). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ($p < 0.05$) por prueba t-student.

Los resultados se comportan de manera similar a lo reportado por Bühler *et al.* (2020) para concentrados proteínicos de semillas de Haba (*Vicia faba*) tratadas térmicamente con calor seco (75, 100, 120, 130, 150, 160 y 175 °C) por 60 min. No se encontraron cambios significativos en los valores

de WHC en concentrados de 75 y 100 °C respecto al concentrado control (sin tratamiento); sin embargo, a partir de 130 °C, los valores de WHC de los concentrados comienzan a incrementar. Los autores atribuyeron estos cambios debido a la solubilidad, ya que se conoce que la fracción de proteína soluble no presenta WHC, y a partir de los 130 °C la solubilidad comienza a disminuir incrementando la materia insoluble total.

Capacidad de absorción de aceite (OAC)

La capacidad de absorción de grasa o aceite (FAC o OAC), también denominada a veces capacidad de unión a grasa o aceite (FBC o OBC), se calcula como el peso o volumen de aceite absorbido por peso de proteína (Boye *et al.*, 2010).

En la Tabla II no se observan diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) en la capacidad de absorción de aceite entre los concentrados proteínicos sin tratamiento térmico y con tratamiento hidrotérmico en las dos especies de frijol.

Tabla II. Efecto del tratamiento térmico en la capacidad de absorción de aceite (OAC) de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Especie de frijol	OAC (g aceite/g muestra)	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
<i>V. umbellata</i>	12.33 ± 0.57 ^a	12.11 ± 0.56 ^a
<i>V. unguiculata</i>	12.21 ± 0.44 ^a	12.32 ± 0.35 ^a

Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar (n=3). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ($p < 0.05$) por prueba t-student.

Obatolu *et al.* (2007) no determinaron diferencias estadísticamente significativas en harina sin tratamiento y procesadas con tratamientos hidrotérmico, fermentación y asado. Los autores sugieren que la OAC no se ve muy afectada por el procesamiento.

Actividad espumante y estabilidad de la espuma a través del tiempo

Los índices más utilizados para evaluar las características espumantes son la expansión de espuma, la capacidad de formación de espuma y la estabilidad de la espuma en el tiempo. Las espumas cuando se utilizan proteínas se forman cuando estas macromoléculas se despliegan para formar una capa interfacial que mantiene las burbujas de aire en suspensión y evitar su colapso. En la industria alimentaria, la formación de espumas es de importancia en bebidas, mousses, coberturas batidas, entre otros (Boye *et al.*, 2010).

En la Fig. 2 se observa en las dos especies que la actividad espumante depende del pH, ya que el pH 10 mostró la menor actividad y el pH 12 la máxima actividad espumante, concluyendo que valores altos de pH alcalino tienen mayor actividad espumante. En la Tabla III se observa que los concentrados proteínicos con tratamiento hidrotérmico presentan mayor estabilidad de espuma a los 30 y 120 min, en los pHs de 10, 11 y 12.

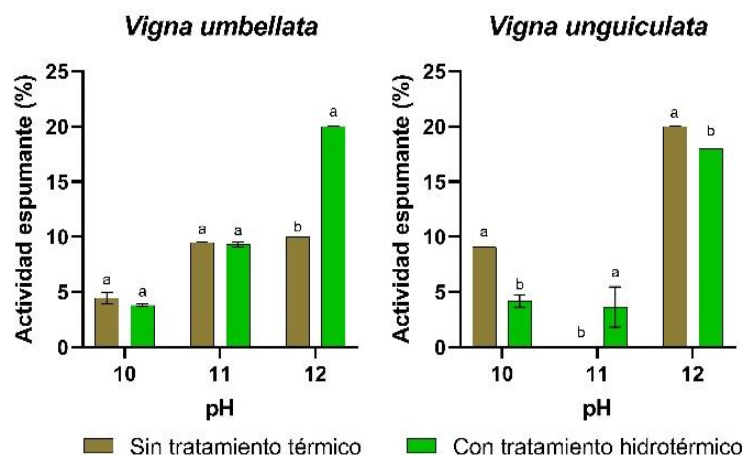


Figura 2. Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la actividad espumante de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar ($n=3$). Letras diferentes por barra indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) por prueba t-student.

Tabla III. Efecto del tratamiento hidrotérmico y del pH en la estabilidad de la espuma (30 y 60 min) de concentrados proteínicos de dos especies del género *Vigna*

<i>Vigna umbellata</i>				
pH	30 min		120 min	
	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico	Sin tratamiento térmico	Con tratamiento hidrotérmico
10	1.02 ± 0.06^a	1.03 ± 0.05^a	n.d.	1.00 ± 0.03^a
11	1.07 ± 0.03^b	1.25 ± 0.11^a	n.d.	1.15 ± 0.20^a
12	1.10 ± 0.05^a	1.16 ± 0.02^a	1.07 ± 0.05^b	1.14 ± 0.01^a
<i>Vigna unguiculata</i>				
10	1.04 ± 0.13^b	1.10 ± 0.15^a	1.05 ± 0.07^a	1.07 ± 0.18^a
11	1.13 ± 0.01^a	1.11 ± 0.01^b	1.09 ± 0.04^b	1.11 ± 0.01^a
12	1.07 ± 0.07^b	1.12 ± 0.14^a	1.07 ± 0.07^a	1.08 ± 0.16^a

Los resultados se expresan como la media \pm desviación estándar ($n=3$). Letras diferentes por fila presentan diferencia estadística significativa entre medias ($p < 0.05$) por prueba t-student. n.d.: no detectado.

Lo anterior, es debido a que los cambios conformacionales que pueden sufrir las proteínas durante la desnaturalización ácida o por calor pueden tener un efecto sobre la estabilidad de la espuma. Esto da como resultado una mayor exposición del área superficial que explica la gran variación en la capacidad de formación y estabilidad de la espuma (Nagmani & Prakash, 1997).

CONCLUSIÓN

El tratamiento térmico no tuvo una influencia significativa en las propiedades de hidratación (capacidad de retención de agua y capacidad de absorción de agua) ni en la capacidad de absorción de aceite. Sin embargo, el pH y tratamiento térmico modificaron la actividad y estabilidad espumante.

BIBLIOGRAFÍA

- Barac, M.B., Pesic, M.B., Stanojevic, S.P., Kostic, A.Z., & Bivolarevic, V. 2015. Comparative study of the functional properties of three legume seed isolates: adzuki, pea and soybean. *Journal of food science and technology*, 52(5), 2779-2787.
- Bernardino-Nicanor, A., Ortiz-Moreno, A., Martínez-Ayala, A.L., & Dávila-Ortiz, G. 2000. Guava seed protein isolate: Functional and nutritional characterization. *Journal of Food Biochemistry*, 25, 77-90.
- Beuchat, L. 1997. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 258-263.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43, 414-431.
- Bühler, J.M., Dekkers, B.L., Bruins, M.E., & Van Der Goot, A.J. 2020. Modifying faba bean protein concentrate using dry heat to increase water holding capacity. *Foods*, 9(8), 1077.
- Chel-Guerrero, L., Maldonado-Hoíl, M., Burgos-Pérez, A., Castellanos-Ruelas, A., & Betancur-Ancona, D. 2011. Functional and some nutritional properties of fan isoelectric protein isolate from Mexican cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Journal of Food and Nutrition Research*, 50(4), 210-220.
- Estrada-Dominguez, V., Márquez-Quiroz, C., De la Cruz Lázaro, E., Osorio-Osorio, R., & Sánchez-Chávez, E. 2018. Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata* L. Walp) con zinc: efecto en el rendimiento y contenido mineral. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(SPE20), 4149-4160.
- Ge, J., Sun, C.X., Sun, M., Zhang, Y., & Fang, Y. 2022. Introducing panda bean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi et Ohashi) protein isolate as an alternative source of legume protein: Physicochemical, functional and nutritional characteristics. *Food Chemistry*, 388, 133016.
- González-Cruz, L., Juárez-Goiz, J.M.S., Teniente-Martínez, G., Acosta-García, G., Flores-Martínez, N.L., & Bernardino-Nicanor, A. 2020. Structural changes in the proteins from two species of the genus *vigna* by effect of different treatments. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19, 333-347.
- Kusumah, S.H., Andoyo, R., & Rialita, T. 2020. Protein isolation techniques of beans using different methods: A review. En *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 443, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.
- Lonardi, S., Muñoz-Amatrián, M., Liang, Q., Shu, S., Wanamaker, S.I., Lo, S., ... & Close, T.J. 2019. The genome of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Plant Journal*, 98(5), 767-782.
- Lagunes-Espinoza, L.C., Gallardo-López, F., Becerril-Hernández, H., & Bolaños-Aguilar, E.D. 2008. Diversidad cultivada y sistema de manejo de *Phaseolus vulgaris* y *Vigna unguiculata* en la región de la Chontalpa, Tabasco. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(1), 13-21.
- Maphosa, Y., & Jideani, V.A. 2017. The Role of Legumes in Human Nutrition. En M. Chávarri Hueda. *Functional food-improve health through adequate food* (pp. 103-122). Croatia: InTech.
- 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 subunits. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 5278-5284.
- Nagmani, B., & Prakash, J. 1997. Functional properties of thermally treated legume flours. *International journal of food sciences and nutrition*, 48(3), 205-214.
- Obatolu, V.A., Fasoyiro, S.B., & Ogunsunmi, L. 2007. Processing and functional properties of yam beans (*Sphenostylis Stenocarpa*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 31, 240-249.
- Sheldon Naiker, T., Gerrano, A., & Mellem, J. 2019. Physicochemical properties of flour produced from different cowpea (*Vigna unguiculata*) cultivars of Southern African origin. *J. Food Sci. Technol.*, 56, 1541-1550.
- Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J.C. 2015. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 43, 679-689.

Tomooka, N., Naito, K., Kaga, A., Sakai, H., Isemura, T., Ogiso-Tanaka, E., Ise, K., & Takahashi, Y. 2014. Evolution, domestication and neo-domestication of the genus *Vigna*. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 12(S1), S168-S-171.