

Información Tecnológica

Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos

Por **Javier Vioque, Raul Sánchez-Vioque, Justo Pedroche, María del Mar Yust y Francisco Millán***

Instituto de la Grasa. Avda. Padre García Tejero, 4, 41012-Sevilla. SPAIN.
e-mail: frmillan@cica.es

RESUMEN

Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados protéicos.

Se ha realizado una revisión sobre la obtención de concentrados y aislados protéicos vegetales y sus aplicaciones en alimentación humana. Se describen los tres métodos más comunes para la obtención de concentrados protéicos: extracción con agua, con tratamiento térmico o con soluciones hidroalcohólicas. También se describe los métodos más frecuentes de obtención de aislados protéicos, que incluyen en su segunda fase la precipitación isoelectrica de las proteínas o la recuperación mediante ultrafiltración de las mismas. Por último se citan las aplicaciones más importantes de los aislados en alimentación humana, como pueden ser nutricionales o funcionales.

PALABRAS-CLAVE: Aislado protéico – Aplicaciones – Concentrado protéico – Obtención.

SUMMARY

Production and uses of protein concentrates and isolates.

A review on the production of protein concentrates and isolates and their use in human foods has been carried out. The three methods usually used in the obtention of protein concentrates are described: extraction with water, with thermic treatment or with hydroalcoholic solutions. Also the most common methods used for the obtention of protein isolates are described, including isoelectric precipitation or protein recovery by ultrafiltration. Applications of protein isolates in human foods, such as nutritional or functionals, are also described.

KEY-WORDS: Production – Protein concentrate – Protein isolate – Uses.

La extracción del aceite de las semillas de plantas oleaginosas como soja, colza o girasol, da lugar a la generación de una gran cantidad, del orden de millones de Tn al año, de harina desengrasada. Dicha harina presenta entre sus componentes principales fibra y proteínas (Tabla I).

Actualmente esta harina desengrasada es utilizada como un subproducto de bajo valor añadido que es usado fundamentalmente para la alimentación del ganado. Sin embargo, los contenidos en proteínas de estos subproductos hacen interesantes el desarrollo de procesos de extracción de las mismas, para su utilización en otras aplicaciones, como en alimentación humana, incrementándose de esta manera el valor añadido de este subproducto.

Pero estas proteínas, debido fundamentalmente al proceso de extracción del aceite se encuentran fuertemente desnaturalizadas, por lo cual es necesario el desarrollo de procesos de extracción y mejora de las mismas.

En el presente trabajo se hace una revisión de los procesos de extracción de estas proteínas, es decir, la obtención de concentrados y aislados protéicos y el uso y aplicaciones de los mismos.

OBTENCIÓN DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE HARINA DESENGRASADA DE OLEAGINOSAS

La obtención de concentrados protéicos a partir de la harina desengrasada de oleaginosas tiene

Tabla I

Composición química de la harina desengrasada y del aislado protéico de girasol y garbanzo

	Garbanzo		Girasol	
	Harina desengrasada	Aislado protéico	Harina desengrasada	Aislado protéico
Humedad	8.1	5.5	9.7	4.1
Cenizas	3.4	4.1	4.9	1.0
Fibra	17.3	3.0	25.1	1.0
Proteína	22.7	83.4	31.2	97.0
Lípidos	1.4	1.0	6.1	0.3
Polifenoles	0.1	0.1	2.1	0.2
Azúcares solubles	2.6	0.2	3.8	0.2
Azúcares insolubles	47.1	3.0	8.0	0.3

como objetivo principal la eliminación lo más completa y selectiva posible de los compuestos solubles no proteicos presentes en la harina desengrasada. Como resultado se obtendrá un producto rico en azúcares insolubles y proteínas.

Tres son los métodos principales utilizados en la actualidad para la obtención de concentrados proteicos:

a) *Extracción de compuestos no proteicos mediante el uso de agua ajustada al punto isoelectrico de las proteínas.*

Este método, patentado por Sair en 1959 (Sair, 1959), permite la eliminación de la mayor parte de los compuestos antinutricionales, parte de las sales y de los compuestos nitrogenados no proteicos, aunque también son solubilizadas una fracción de las proteínas, principalmente albúminas. El método consiste en sucesivas extracciones con agua y centrifugaciones para separar la materia insoluble del sobrenadante en el que van disueltos los compuestos que se quieren eliminar. La extracción acuosa a pH controlado es poco desnaturizante para las proteínas, lo cual permite mantener las propiedades funcionales del producto, aunque algunos compuestos responsables de olores y sabores desagradables no son eliminados.

b) *Extracción de compuestos no proteicos con agua tras tratamiento térmico (McAnelly, 1964).*

Previo a la extracción con agua de los compuestos no proteicos, se efectúa una insolubilización de las proteínas tratando la harina desengrasada con vapor de agua a presión atmosférica. El vapor además va a permitir el arrastre de componentes volátiles responsables de olores y sabores desagradables como son los ácidos grasos de cadena corta y sus derivados oxidados. Sin embargo, se produce una intensa disminución de las propiedades interfaciales acuoso-oleosas y agua-aire, y también de la solubilidad. El calor prolongado también puede dar lugar al desarrollo de colores oscuros y sabores amargos como resultado de reacciones de Maillard. Las técnicas de extracción son idénticas a las usadas anteriormente.

c) *Extracción de compuestos no proteicos mediante soluciones hidroalcohólicas (Campbell et al., 1985).*

Ni el hexano usado en el desengrasado ni el agua son eficaces en la eliminación de ciertos compuestos que pueden ser responsables de malos olores y sabores del producto. Entre estos dos disolventes de polaridades tan dispares se encuentran las mezclas hidroalcohólicas, que permiten una adecuada extracción de compuestos tales como lípidos polares y sus productos de oxidación, fenoles, isoflavonas, esteroides, azúcares, etc. Además, las proteínas son generalmente poco solubles en mezclas agua-alcohol sobre todo si el alcohol representa más del 40% v/v (Kozłowska et al., 1977). En este

sentido, la utilización de mezclas hidroalcohólicas conlleva una disminución de la solubilidad de las proteínas respecto a la utilización del agua e incluso del alcohol puro (Smith et al., 1951). El etanol es generalmente el alcohol de elección en la preparación de concentrados mediante mezclas hidroalcohólicas. La técnica consiste en extraer a contracorriente la harina con mezclas de etanol al 50-70% v/v y secar posteriormente el producto (Campbell et al., 1985). El extracto puede ser destilado, para recuperar el alcohol que podría ser reutilizado disminuyendo así los costes. El porcentaje de etanol usado es crítico, ya que si es bajo la desnaturización de las proteínas se acrecienta, el alcohol es más difícil de recuperar por destilación y el secado del concentrado se hace más complicado. Por el contrario, con porcentajes muy elevados de etanol la extracción de azúcares es insuficiente.

La principal diferencia entre estos tres métodos radica en la marcada insolubilización de las proteínas que se produce en estos dos últimos procesos (Meyer, 1967). Los menores contenidos en oligosacáridos se consiguen con la extracción isoelectrónica (Eldridge et al., 1979), mientras que los porcentajes más bajos en lípidos se obtienen extrayendo con mezclas hidroalcohólicas (Clark y Proctor, 1994).

Sin embargo, las mejoras más recientes en la preparación de concentrados proteicos son las que conciernen a la mejora de sus características organolépticas mediante el procedimiento del triple disolvente, que consiste en extraer sucesivamente la harina con hexano, hexano-etanol y etanol-agua (Hayes y Simms, 1973; Howard et al., 1980).

OBTENCIÓN DE AISLADOS PROTEICOS DE HARINA DESENGRASADA DE OLEAGINOSAS

Aunque el concentrado proteico presenta unas mejores características químicas que la harina, como por ejemplo la mayor riqueza proteica, aun presenta contenidos elevados de otros componentes no deseados en el producto final. Entre estos compuestos se pueden destacar la fibra, los azúcares reductores, los fenoles, los lípidos y los glucosinolatos en el caso de la colza. La fibra (celulosa, hemicelulosa, lignina, sustancias pécticas, etc) es el componente mayoritario entre los no deseables y de gran importancia, por su abundancia en algunas fuentes proteicas como la torta de girasol desengrasada (Parrado, 1991). Debe ser eliminada para enriquecer el producto en proteína y facilitar su consumo por monogástricos. Los azúcares reductores pueden producir una pérdida de la calidad de la proteína, ya que reaccionan con las proteínas mediante la reacción de Maillard (Davies et al., 1998, Friedman, 1996), dando lugar a la formación de una base de Schiff y produciéndose una disminución en los contenidos de lisina, metionina y triptofano asimilable (Hurrell et al., 1983, Hurrell et al., 1985, Finot,

1982, Finot *et al.*, 1982). Conviene también reducir los contenidos en polifenoles por motivos nutricionales (Loomis, 1974), organolepticos (Cater y col, 1972) y por su poder inhibidor del crecimiento de microorganismos (Mikulasova y col, 1990; Hara, 1991). La presencia de lípidos residuales tras la extracción del aceite es muy negativa para el producto final. Pueden producirse reacciones de Maillard semejantes a las que ocurren entre azúcares reductores y determinados amino ácidos disminuyendo la biodisponibilidad de estos (Hidalgo *et al.*, 1992, Hamilton *et al.*, 1997). Además pueden asociarse a las proteínas de los aislados dando lugar a problemas de enranciamiento durante el procesado y almacenamiento de los mismos (Millán *et al.*, 1995). Por último, en el caso de la colza, los glucosinolatos e isotiocianatos son también compuestos tóxicos por los efectos tóxicos que provocan en el hombre y los animales (Gausserès *et al.*, 1996).

Así pues, el proceso de obtención de aislados proteicos supone una serie de etapas encaminadas a eliminar o disminuir los componentes no proteicos para conseguir un producto final con el 80-90% de proteínas (Tabla I). Este proceso se realiza mediante la sucesión de dos operaciones (Figura 1).

En la primera etapa, las proteínas son solubilizadas para separarlas del resto de los compuestos no solubles, principalmente glúcidos insolubles. El extracto obtenido contiene, además de las proteínas, el resto de compuestos solubles del concentrado proteico. Aunque muchas de las proteínas vegetales son solubles a pH próximos a la neutralidad, se prefiere extraer las proteínas a pH alcalinos para favorecer la solubilización de las proteínas desnaturizadas durante la preparación de los concentrados. Además, algunas proteínas, como las glutelinas, requieren pH iguales o superiores a 11 para poder ser extraídas.

La segunda etapa, tiene por objeto la concentración de las proteínas y sobre todo su purificación frente a otros compuestos. Para ello, hoy día dos son los procedimientos seguidos:

a) Precipitación isoelectrica de las proteínas y posterior separación de las mismas del resto de las moléculas solubles mediante centrifugación (Gonçalves *et al.*, 1997, Sánchez-Vioque *et al.*, 1999). El aislado es así recuperado selectivamente y se presenta en forma de crema insoluble concentrada. Tras lavar, con agua generalmente, y después de una nueva centrifugación, el aislado es secado directamente o previa neutralización. Las proteínas que quedan en el sobrenadante pueden ser recuperadas mediante un sistema de filtración por membranas (Figura 1) (Tzeng *et al.*, 1990, Xu *et al.*, 1994a).

b) Concentración proteica por ultrafiltración (Chakraborty, 1986). Con este método, las moléculas solubles no proteicas de bajo peso molecular atraviesan la membrana y constituyen el permeado,

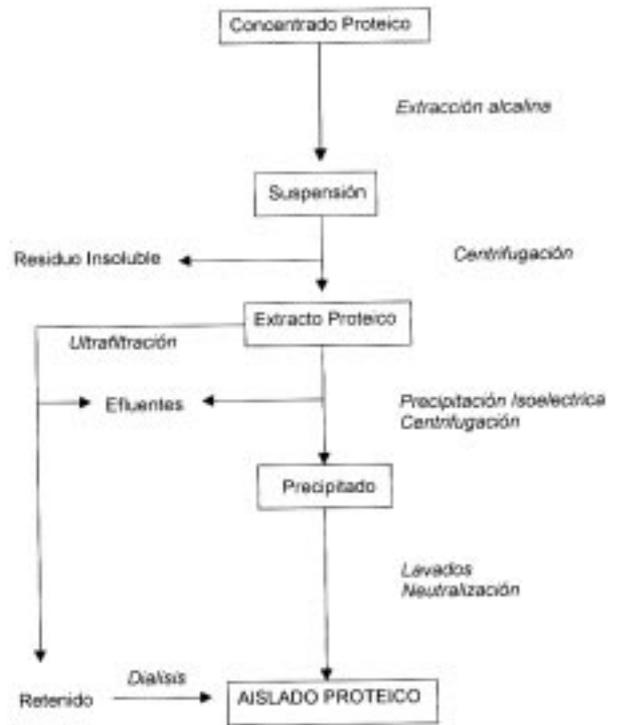


Figura 1
Elaboración de aislados proteicos a partir de harinas o concentrados proteicos mediante precipitación isoelectrica y ultrafiltración.

mientras que las proteínas son retenidas. La principal ventaja de esta alternativa es que permite recuperar no solo las proteínas insolubles en el pl sino también las solubles.

USOS Y APLICACIONES DE LOS AISLADOS PROTEICOS

Actualmente los aislados proteicos más extendidos son los de soja, ya que ofrecen ventajas económicas, nutricionales y funcionales manteniendo las cualidades sensoriales deseables necesarias para la aceptación por el consumidor (Wagner *et al.*, 1990, Nagano *et al.*, 1996, Henn *et al.*, 1998). Hoy día existen una gran variedad de aislados de soja disponibles comercialmente, diseñados específicamente para proporcionar las características deseadas según el alimento de que se trate. La mayoría de las aplicaciones tienen lugar en alimentos tradicionales que ya tienen establecidos una serie de parámetros de utilización y calidad. Para tener éxito en estos productos, los aislados deben mantener esta calidad. Esto quiere decir igual o similar color, sabor, aroma, textura y composición química y nutricional. Estos requerimientos, exigidos por el consumidor, determinan el grado de sustitución proteica. En los últimos años también se han producido aislados proteicos de otros cultivos como colza (Zhou *et al.*,

1990, Gonçalves *et al.*, 1997, Xu *et al.*, 1994b, Mahajan *et al.*, 1995), trigo (Hettiarachchy *et al.*, 1996, Ahmedna *et al.*, 1999), maíz (Lin *et al.*, 1987), garbanzo (Sánchez-Vioque *et al.*, 1999), girasol (Saeed *et al.*, 1988) o *Phaseolus* (Apostolatos 1984, Chau, C.-F. *et al.*, 1997) e incluso de cultivos menores como amaranto (Martínez *et al.*, 1996). Por último, las proteínas de los aislados pueden ser modificadas químicamente, como por ejemplo mediante acilación para mejorar determinadas propiedades como la solubilidad (Wanasundara *et al.*, 1997) o mediante desamidación ácida para mejorar otras propiedades funcionales (Mimouni *et al.*, 1994).

La mejora de la nutrición es la razón primera para el uso de los aislados en carnes magras, fórmulas infantiles, bebidas nutritivas para adultos y suplementos proteicos. Así, en productos de carne magra proporcionan beneficios a personas con un alto nivel de colesterol y triglicéridos en sangre, ya que, además de disminuir el contenido en grasas del producto, las proteínas vegetales tienen efectos beneficiosos en la reducción de los niveles de colesterol (Sautier *et al.*, 1986). Las fórmulas infantiles basadas en los aislados se elaboran para proporcionar una nutrición completa y las calorías especificadas a los niños alérgicos o que no pueden tomar leche de vaca, así como al resto de los niños. Las principales ventajas en las bebidas nutritivas para adultos son la flexibilidad de formulación y los efectos hipolipidémicos. Pero, en cualquier caso, igual que con los alimentos tradicionales, los beneficios nutritivos tienen que ir acompañados con una calidad funcional adecuada para que sean aceptados por el consumidor. Así, en un gran número de aplicaciones, los aislados proteicos vegetales se usan también por sus propiedades funcionales. Así, se emplean para aclarar el color, mejorar la textura de carnes de aves deshuesadas y para unir piezas intactas de músculos (Kolar *et al.*, 1985). También proporcionan textura a las salchichas, mejoran la funcionalidad de pates y mejoran la textura de los productos de panadería y pastas (Seyam *et al.*, 1983). Por último, también se han usado en el procesado de quesos (El-Sayed, 1997).

En conclusión, la disponibilidad en grandes cantidades de fuentes proteicas vegetales como la harina desengrasada de oleaginosas, junto con la tendencia a reducir la ingesta de proteínas animales, hace que en los últimos años se esté produciendo un gran desarrollo en los procesos de extracción y mejora de estas proteínas vegetales para su uso en alimentación humana. En este sentido, en los próximos años se va a producir un incremento en la disponibilidad de nuevas fuentes proteicas vegetales y en la transformación de estas para su aplicación con fines alimenticios muy concretos conformes a las demandas del mercado en alimentación especializada (infantil o clínica).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado con cargo al proyecto ALI98-0766.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmedna, M., Prinyawiwatkul, W., y Rao, R.M. (1999). Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1340-1345.
- Apostolatos, G. (1984). Protein isolate rich in methionine from the edible dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Food Technol.* **19**, 233-237.
- Campbell, M.F., Kraut, C.W., Yackel, W.C., y Yang, H.S. (1985). Soy protein concentrate. En *New protein foods*, vol. V. Eds. A.A. Altschul y H.L. Wilcke. Academic Press, Orlando.
- Cater, C.M., Gheyasuddin, S., y Mattil, K.F. (1972). The effect of chlorogenic, quinic and caffeic acids on the solubility and color of protein isolates, especially from sunflower seed. *Cereal Chem.* **49**, 508-514.
- Chakraborty, P. (1986). Coconut protein isolate by ultrafiltration. In *Food Engineering and Process Applications*. Eds. LeMeguer, M., y Jelen, P. Elsevier Applied Science Publishers. New York. vol. **2**, 308-315.
- Chau, C.-F., Cheung, P.C.K., y Wong, Y.-S. (1997). Functional properties of protein concentrates from three chinese indigenous legume seeds. *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2500-2503.
- Clark P.K. y Proctor, A. (1994). Effect of equilibrium oil extraction on the chemical composition and sensory quality of soy flour and concentrates. *JAOCS* **71**, 823-826.
- Davies C.G.A., Netto, F.M., Glassenap, N., Gallaher, C.M., Labuza, T.P. y Gallaher, D.D. (1998). Indication of the Maillard reaction during storage of protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2485-2489.
- Eldridge, A.C., Black, L.T., y Wolf, W.J. (1979). Carbohydrate composition of soybean flours, protein concentrates and isolates. *J. Agric. Food Chem.* **27**, 799-802.
- El-Sayed, M.M. (1997). Use of plant protein isolates in processed cheese. *Nahrung* **41**, 91-95.
- Finot, P.A. (1982). Nutritional and metabolic aspects of proteins modifications during food processing. In *Modification of proteins*. Eds. R.E. Feneey y J.R. Whitaker. *Am. Chem. Soc.* Washington D.C. 91-124.
- Finot, P.A., Magnenat, E., Guignard, G., y Hurrell, R.F. (1982). The behaviour of triptophan during «early» and «advanced» Maillard reactions. *Int. J. Nutr. Res.* **52**, 226-230.
- Friedman, M. (1996). Food browning and its prevention: an overview. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 631-653.
- Gausserés, N., Mahé, S. y Tomé, D. (1996). Les principales actions physiologiques des composés associés aux protéines végétales. En *Protéines Végétales*. Ed. B. Godon. Technique & Documentation Lavoisier, Paris.
- Gonçalves, N., Vioque, J., Clemente, A., Sánchez-Vioque, R., Bautista, J., y Millán, F. (1997). Obtención y caracterización de aislados proteicos de colza. *Grasas y Aceites* **48**, 282-289.
- Hamilton, R.J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F.B., y Pierce, H. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem.* **60**, 193-199.

- Hara, Y. (1991). Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria . *Agr. Biol. Chem. Tokyo* **55**, 1895-1897.
- Hayes, L.P., y Simms, R.P. (1973).-U.S. Patent 3734901.
- Henn, R.L., y Netto, F.M. (1998). Biochemical characterization and enzymatic hydrolysis of different commercial soybean protein isolates . *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3009-3015.
- Hettiarachchy, N.S., Griffin, V.K. y Gnanasambandam, R. (1996). Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ . *Cereal Chem.* **73**, 364-367.
- Hidalgo, F.J., Zamora, R., y Alaiz, M. (1992). Modifications produced on food proteins following interactions with oxidizing lipids. II. Mechanisms of oxidizing lipid-protein interactions . *Grasas y Aceites* **43**, 31-38.
- Howard, P.A., Campbell, M.F., y Zollinger, D.T. (1980). Water soluble vegetable protein aggregates . U.S. Patent 4234620.
- Hurrell, R.F., y Finot, P.A. (1985).-In Digestibility and amino acid availability in cereals and oilseeds. Eds. J.W. Finley & D.T. Hopkins. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, 236-239.
- Hurrell, R.F., Finot, P.A., y Ford, J.E. (1983). Storage of milk powders under adverse conditions. Losses of lysine and of other amino acids as determined by chemical and microbiological methods . *Br. J. Nutr.* **49**, 343-354.
- Kolar, C.W., Richert, S.H., Decker, C.D., Steinke, F.H., y Vander Zanden, R.J. (1985). Isolated soy proteins. En *New proteins food*. vol. 5. Eds. A.M. Altschul y H.L. Wilcke. Academic Press, New York.
- Kozłowska, H., Rutkowski, A., Borowski, J., Elkowicz, K. (1977). Effects of leaching and extraction conditions on activity of trypsin inhibitor in protein concentrates and isolates obtained from soybean . *Acta Aliment. Pol.* **3**, 427-432.
- Lin, C.S., y Zayas, J.F. (1987). Functionality of defatted corn germ proteins in a model system: fat binding capacity and water retention . *J. Food Sci.* **52**, 1308-1311.
- Loomis, W.D. (1974). Overcoming problems of phenolics in the isolation of plant enzymes and organelles . *Methods Enzymology* **31**, 528-554.
- Mahajan, A., y Dua, S. (1995). Functional properties of rapeseed protein isolates . *J. Food Sci. Technol.* **32**, 162-165.
- Martínez, E.N. y Añón, M.C. (1996). Composition and structural characterization of Amaranthus protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study . *J. Agric. Food Chem.* **44**, 2523-2530.
- McAnelly, J.K. (1964). Method for producing a soybean product and the resulting product . U.S. Patent 31422571.
- Meyer, E.W. (1967). Soy protein concentrates and isolates . International Conference of Soybean Protein Foods. United States Department of Agriculture, Agriculture and Research Service, p. 142.
- Mikulasova, M., Vodny, S., y Pekarovicova, A. (1990). Influence of phenolics on biomass production by *Candida utilis* and *Candida albicans* . *Biomass* **23**, 149-155.
- Millán, F., Alaiz, M., Hernández-Pinzón, I., Sánchez-Vioque, R., y Bautista, J. (1995). Study of neutral lipids of *Lupinus mutabilis* meal and isolates . *JAOCS* **72**, 467-471.
- Mimouni, B., Raymond, A.M., Merle-Desnoyers, A.M., Azanza, J.L., y Ducastaing, A. (1994). Combined acid deamidation and enzymatic hydrolysis for improvement of the functional properties of wheat gluten . *J. Cereal Sci.* **21**, 153-165.
- Nagano, T., Fukuda, Y., y Akasaka, T. (1996). Dynamic viscoelastic study on the gelation properties of b-conglycinin-rich and glycinin-rich soybean protein isolate . *J. Agric. Food Chem.* **44**, 3484-3488.
- Parrado, J. (1991). Desarrollo de un proceso enzimático para el aprovechamiento proteico de la harina de girasol desengrasada . Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Saeed, M., y Cheryan, M. (1988). Sunflower protein concentrates and isolates low in polyphenols and phytate . *J. Food Sci.* **53**, 1127-1131.
- Sair, L. (1959). Proteinaceous soy composition and method for preparing . U.S. Patent 2881076.
- Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J., y Millán, F. (1999). Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization . *Food Chem.* **64**, 237-243.
- Sautier, C., Flament, C., Doucet, C., y Suquet, J.P. (1986). Effects of eight dietary proteins and their amino acid contents on serum, hepatic and fecal steroids in the rat. *Nutr. Rep. Internat* **34**, 1051-1061.
- Seyam A.A., Banasik, O.J., y Breen, M.D. (1983). Protein isolate from Navy and Pinto beans: their use in macaroni products . *J. Agric. Food Chem.* **31**, 499-502.
- Smith, A.K., Johnsen, V.L., y Derges, R.E. (1951). Denaturation of soybean proteins with alcohol and with acetone . *Cereal Chem.* **28**, 325-333.
- Tzeng, Y.-M., Diosady, L.L., y Rubin, L.J. (1990). Production of canola protein materials by alkaline extraction, precipitation, and membrane processing . *J. Food Sci.* **55**, 1147-1151.
- Wagner, J.R., y Añón, M.C. (1990). Influence of denaturation, hydrophobicity and sulfhydryl content on solubility and water absorbing capacity of soy protein isolate . *J. Food Sci.* **55**, 765-770.
- Wanasundara P.K.J.P.D., y Shahid, F. (1997). Functional properties of acylated flax protein isolate . *J. Agric. Food Chem.* **45**, 2431-2441.
- Xu, L., y Diosady, L.L. (1994a). The production of chinese rapeseed protein isolates by membrane processing . *JAOCS* **71**, 935-939.
- Xu, L., y Diosady, L.L. (1994b). Functional properties of chinese rapeseed protein isolates . *J. Food Sci.* **59**, 1127-1130.
- Zhou, B., He, Z., Yu, H., y Mukherjee, K.D. (1990). Protein from double-zero rapeseed. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 690-694.