

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA



“FORMACIÓN DE CONJUGADOS DE MAILLARD BASADOS EN
COMPLEJOS PROTEÍNA DE CALABAZA-INULINA Y EVALUACIÓN
DE SUS PROPIEDADES FUNCIONALES”

TESIS

Para obtener el grado de Maestra en Biotecnología

P R E S E N T A

Carolina Estudillo Márquez

Matrícula: 2233801424

Correo electrónico: anilorac_cem@hotmail.com

Director

Dra. Angélica Román Guerrero

Asesores

Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter

Dr. Juan Carlos Cuevas Bernardino

Jurado:

Presidente: Dra. Yenizey Merit Álvarez Cisneros

Secretario: Dra. María Eva Rodríguez Huevo

Vocal: Dra. María Aurora Pintor Jardines

Vocal: Dra. Ofelia Sandoval Castilla

Iztapalapa, Ciudad de México

11 de noviembre de 2025.

La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), con la referencia 001465.

Ciudad de México, a 11 de noviembre de 2025.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis:

“FORMACIÓN DE CONJUGADOS DE MAILLARD BASADOS EN COMPLEJOS
PROTEÍNA DE CALABAZA-INULINA Y EVALUACIÓN DE SUS PROPIEDADES
FUNCIONALES”

Que presentó

Carolina Estudillo Márquez

Comité tutorial:

Director: Dra. Angélica Román Guerrero _____

Asesor: Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter _____

Asesor: Dr. Juan Carlos Cuevas Bernardino _____

Jurado:

Presidente: Dra. Yenizey Merit Álvarez Cisneros _____

Secretario: Dra. María Eva Rodríguez Huevo _____

Vocal: Dra. María Aurora Pintor Jardines _____

Vocal: Dra. Ofelia Sandoval Castilla _____

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción	1
2. Antecedentes	4
2.1. Reacción de Maillard (RM)	4
2.1.1. Etapas de la RM	4
2.2. Condiciones que influyen en la RM	6
2.3. Características funcionales obtenidas a partir de la RM	8
2.3.1. Estabilidad térmica	8
2.3.2. Viscosidad	8
2.3.3. Formación y estabilidad de emulsiones	9
2.4. Biopolímeros con características funcionales	9
2.4.1. Proteína de semilla de calabaza (PC)	9
2.4.2. Inulina	10
2.5. Emulsiones	11
2.6. Investigaciones similares previas	13
3. Justificación	15
4. Objetivos	16
4.1. Objetivo general	16
4.2. Objetivos particulares	16
5. Hipótesis	16
6. Materiales y métodos	17
6.1. Estrategia experimental	17
6.2. Materiales	17
6.3. Preparación y acondicionamiento de biopolímeros para la formación de conjugados	

PC-Inu	18
6.4. Cuantificación de azúcares reductores en conjugados PC-Inu	18
6.5. Análisis de la producción de compuestos de Maillard	18
6.6. Producción de melanoidinas en conjugados PC-Inu	19
6.7. Medición de potencial ζ	20
6.8. Difracción de Rayos X (XRD)	20
6.9. FTIR de conjugados PC-Inu	21
6.10. Evaluación de tensión interfacial	21
6.11. Reología	21
6.12. Evaluación de la capacidad emulsificante de conjugados PC-Inu	22
6.13. Microscopia óptica de emulsiones	22
6.14. Análisis estadístico	22
7. Resultados	24
7.1. Contenido de azúcares reductores	24
7.2. Producción de compuestos de Maillard en conjugados PC-Inu	25
7.3. Concentración de melanoidinas de conjugados	29
7.4. Potencial zeta (ζ) de conjugados PC-Inu	30
7.5. Difracción de rayos X de los conjugados	33
7.6. Espectroscopía FTIR	34
7.7. Tensión interfacial de conjugados PC-Inu	36
7.8. Comportamiento reológico de conjugados	38
7.9. Capacidad emulsificante	42
7.10. Morfología de emulsiones	43

8. Conclusiones	45
9. Referencias	47
10. Anexos	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de la reacción de Maillard.	5
Figura 2. Evaluación de la formación de compuestos de Maillard a 304 y 420 nm (A-D) e <i>I_p</i> (E-F) en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	27
Figura 3. Valores de potencial ζ de PC, Inu y de los conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	31
Figura 4. Difractogramas de rayos X de los conjugados PC-Inu (relación másica 1:1) tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	33
Figura 5. Espectroscopía FTIR de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	36
Figura 6. Tensión interfacial de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	37
Figura 7. Propiedades viscoelásticas y de flujo de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	40
Figura 8. Capacidad emulsificante de conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	43
Figura 9. Micrografías ópticas de conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido de azúcares reductores no formados en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	25
Cuadro 2. Contenido de melanoidinas en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	30
Cuadro 3. Parámetros cinéticos de primer orden de la producción de melanoidinas a lo largo del tiempo en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	30
Cuadro 4. Parámetros del modelo de ley de potencia a PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).	41

Resumen

A nivel mundial, se ha planteado la necesidad de desarrollar ingredientes específicos que faciliten su uso en el diseño de distintos productos alimenticios. Por lo tanto, la implementación de tratamientos convencionales (temperatura o ultrasonido) para potencializar sus propiedades se ha convertido en una de las alternativas de novedad. Actualmente existe un gran interés por el estudio de los sistemas de administración y transporte de compuestos nutraceuticos; entre ellos, la formulación de emulsiones mediante conjugados como emulsificantes. Por lo que el presente estudio tuvo como objetivo establecer las condiciones de formación de conjugados de Maillard a partir de proteína de semilla de calabaza (PC) e inulina de agave (Inu), mediante la aplicación de un proceso térmico y otro de ultrasonido, así como la caracterización de sus propiedades tecnofuncionales como agentes emulsificantes. La reacción de Maillard (RM) comprende un conjunto complejo de reacciones para la formación de los llamados conjugados de Maillard, que comienzan con la unión covalente entre los grupos amino de las proteínas y los compuestos carbonílicos de los azúcares reductores de los polisacáridos, y conducen a la formación de polímeros que dan color marrón, conocidos como melanoidinas. Dichos conjugados pueden mejorar algunas propiedades tecnofuncionales, entre las que destacan las propiedades gelificantes, estabilizantes y emulsificantes. La RM se logra a partir de la aplicación de calor y la presencia de humedad, por lo tanto, se indujo la RM en mezclas PC-Inu a través de un proceso térmico en dos condiciones de temperatura (80 y 90 °C), así como un proceso de ultrasonido de igual manera a distinto porcentaje de amplitud (60 y 80%, respectivamente) con la finalidad de generar los conjugados; ambos procesos con un tiempo de exposición de 60 min. La formación de los conjugados se llevó a cabo empleando 3 relaciones másicas (2:1, 1:1 y 1:2) en las que se monitoreó la formación de la

RM mediante la concentración de azúcares reductores liberados tras la reacción. Los resultados mostraron que, en ambos procesos de inducción, la presencia de azúcares reductores fue menor en la proporción 1:1; por lo tanto, se continuó trabajando con dicha proporción para la caracterización de los conjugados de Maillard. Posteriormente, se analizó la producción de componentes intermediarios (compuestos de Amadori) y finales (melanoidinas) de la RM en conjugados PC-Inu mediante espectrofotometría, se midió la intensidad de pardeamiento mediante colorimetría y se cuantificó la concentración de melanoidinas con el método de Lambert-Beer durante los primeros 5 días posteriores a la formación de los conjugados (almacenados a 4°C). También, se evaluaron las características estructurales mediante FTIR y Difracción por rayos X, así como sus propiedades fisicoquímicas, como el potencial ζ , la tensión interfacial y la reología. Finalmente, se formaron emulsiones con los conjugados PC-Inu como fase continua y aceite de canola como fase dispersa, y se evaluaron la capacidad emulsificante y la morfología. Los conjugados mostraron un incremento sustancial en la producción de compuestos intermedios y finales de la RM, así como un mayor índice de pardeamiento a lo largo del tiempo. Exhibieron una producción de melanoidinas de 5.288-5.426 g/L, así como valores absolutos de potencial ζ superiores (-17.5 a -22.0 mV), por efecto de los procesos de formación de los conjugados y en comparación a la muestra control (-12.17 mV). Se observaron comportamientos diferenciados tanto en las características estructurales como en las propiedades interfaciales y reológicas, debido al tipo de tratamiento empleado para la formación de los conjugados de Maillard. Por último, los conjugados PC-Inu mostraron porcentajes de emulsificación altos de 29.17 a 46.67 % con tamaños de gota diversos (59.26-133.82 μm). Los conjugados formados a partir de proteína de semilla de calabaza e

inulina mediante un proceso térmico o de ultrasonido para inducir la RM presentan propiedades funcionales interesantes, los cuales permiten que dichos conjugados puedan ser utilizados como agentes emulsionantes y posiblemente tener aplicaciones en el área de alimentos, cosmética y/o farmacéutica.

Abstract

Worldwide, there has been a call for the development of specific ingredients that facilitate their use in the design of different food products. Therefore, the implementation of conventional treatments (temperature or ultrasound) to enhance their properties has become one of the novel alternatives. Currently, there is great interest in the study of nutraceutical compound administration and transport systems, including the formulation of emulsions using conjugates as emulsifiers. Therefore, the objective of this study was to establish the conditions for the formation of Maillard conjugates from pumpkin seed protein (PC) and agave inulin (Inu) through the application of a thermal process and an ultrasound process, as well as to characterise their techno-functional properties as emulsifying agents. The Maillard reaction (MR) comprises a complex set of reactions for the formation of so-called Maillard conjugates, which begin with the covalent bond between the amino groups of proteins and the carbonyl compounds of reducing sugars in polysaccharides, and lead to the formation of brown-coloured polymers known as melanoidins. Such conjugates can improve certain techno-functional properties, notably gelling, stabilising and emulsifying properties. RM is achieved through the application of heat and the presence of moisture, therefore, RM was induced in PC-Inu mixtures through a thermal process at two temperature conditions (80 and 90 °C), as well as an ultrasound process at different amplitude percentages (60 and 80%, respectively) in order to generate the conjugates; both processes with an exposure time of 60 min. The formation of conjugates was carried out using three mass ratios (2:1, 1:1 and 1:2), in which the formation of RM was monitored by measuring the concentration of reducing sugars released after the reaction. The results showed that, in both induction processes, the presence of reducing sugars was lower in the 1:1 ratio; therefore, work continued with this

ratio for the characterisation of Maillard conjugates. Subsequently, the production of intermediate (Amadori compounds) and final (melanoidins) components of RM in PC-Inu conjugates by spectrophotometry, the browning intensity was measured by colorimetry, and the concentration of melanoidins was quantified using the Lambert-Beer method during the first 5 days after the formation of the conjugates (stored at 4°C). In addition, structural characteristics were evaluated using FTIR and X-ray diffraction, as well as physicochemical properties such as ζ potential, interfacial tension, and rheology. Finally, emulsions were formed with PC-Inu conjugates as the continuous phase and canola oil as the dispersed phase, and the emulsifying capacity and morphology were evaluated. The conjugates showed a substantial increase in the production of intermediate and final RM compounds, as well as a higher browning index over time. Exhibited a melanoidin production of 5.288-5.426 g/L, as well as absolute values of ζ potential higher (-17.5 to -22.0 mV), due to the effect of the conjugate formation processes and in comparison to the control sample (-12.17 mV). Differentiated behaviours were observed in both structural characteristics and interfacial and rheological properties, due to the type of treatment used for the formation of Maillard conjugates. Finally, PC-Inu conjugates showed high emulsification percentages ranging from 29.17 to 46.67 % with varying droplet sizes (59.26–133.82 μm). Conjugates formed from pumpkin seed protein and inulin using a thermal or ultrasound process to induce MR have interesting functional properties, which allow these conjugates to be used as emulsifying agents and possibly have applications in the food, cosmetics and/or pharmaceutical industries.

1. Introducción

Las interacciones proteína-polisacárido son bien conocidas por su importante papel en la estructura y estabilidad de diversos productos alimenticios procesados. La formación de conjugados proteína-polisacárido, puede lograrse mediante la interacción covalente generada a través de la reacción de Maillard entre grupos amino de proteínas y grupos carbonilo de polisacáridos sin la adición de agentes químicos (Naik et al, 2021; Pirestani et al., 2018).

La reacción de Maillard se ha utilizado para crear conjugados proteína-polisacárido, ya que dichos conjugados han mostrado una solubilidad y una capacidad emulsionante excepcionales, caracterizadas por una mayor actividad superficial y una mayor estabilización de la emulsión (Chailangka et al., 2024). La reacción de Maillard puede mejorar la estabilidad térmica de las proteínas. Además, el tipo de carbohidrato utilizado puede afectar la tecnofuncionalidad de los conjugados. Generalmente, los polisacáridos con una cadena larga son más beneficiosos para las propiedades emulsionantes y estabilizadoras de los conjugados debido al mayor impedimento estérico y al espesor de la capa interfacial contra la agregación molecular inducida por calor, mientras que los azúcares reductores con un menor peso molecular son más reactivos y requieren un tiempo más corto (Wu et al., 2021).

En la reacción de Maillard, los grupos amino de las proteínas participan en una reacción covalente con agentes reductores de grupos carbonilo. Las principales condiciones para esta reacción son el pH alcalino, la temperatura moderada, la presencia de grupos amino y agentes reductores (Masoumi et al., 2023). La formación de enlaces covalentes entre polisacáridos y proteínas en una interfaz aceite-agua puede mejorar la resistencia de las emulsiones a cambios ambientales, como alteraciones del pH, la fuerza iónica o la

temperatura (Chen et al., 2022). Estos atributos, contribuyen a mejorar la estabilidad durante el almacenamiento de las emulsiones con aplicaciones alimentarias (Nooshkam & Varidi, 2020).

Por otro lado, los productos generados a partir de la reacción de Maillard pueden exhibir algunas propiedades específicas como la actividad antioxidante en sistemas alimentarios, a través de varios mecanismos como la quelación de iones metálicos, la rotura de cadenas de radicales, la degradación del peróxido de hidrógeno o la eliminación de RO's, la conjugación de péptidos proteicos (bioactivos potenciales) con azúcares reductores, puede dar como resultado componentes antioxidantes y nutraceuticos con diversas aplicaciones, incluida la creación de alimentos funcionales que promueven la salud (Nooshkam & Madadlou, 2018).

Recientemente, los emulsionantes novedosos derivados de las interacciones entre proteínas y polisacáridos han recibido gran atención. Los conjugados anfifílicos resultantes pueden anclarse firmemente a la interfaz aceite-agua mediante la región hidrófoba de las proteínas, formando una capa viscoelástica, mientras que la región de los polisacáridos puede proporcionar una fuerte barrera estérica contra la floculación y la coalescencia. En comparación con un único tipo de emulsionante, los conjugados de Maillard producidos en condiciones controladas presentan buena solubilidad, eficiencia de encapsulación, capacidad emulsionante y estabilidad (Kan et al., 2021).

A su vez, las tendencias alimentarias actuales indican un incremento sustancial en la demanda de los consumidores de alimentos con mayor valor nutricional, que promuevan la salud y mejoren las funciones fisiológicas del cuerpo; en este sentido, el uso de compuestos oleosos puede satisfacer dichos requerimientos. No obstante, tecnológicamente, la utilización de sustancias lipofílicas, como los aceites, tienen una capacidad restringida para

incorporarse en diversas formas de matrices alimentarias, particularmente en vehículos a base de agua debido a su escasa solubilidad e hidrofobicidad. Por lo tanto, para que puedan ser utilizados, se debe llevar a cabo un proceso de emulsificación, el cual consiste en emulsionar un material central, que suele ser un lípido, con una solución densa de material de pared, como proteínas o polisacáridos (Wangkulkool et al., 2023).

Con lo anterior, el presente trabajo pretende investigar nuevas alternativas de formación de conjugados de Maillard a partir de proteína de semilla de calabaza e inulina que tengan características funcionales mejoradas y una mayor capacidad emulsificante.

2. Antecedentes

2.1. Reacción de Maillard

La reacción de Maillard (RM) es una reacción química no enzimática que desempeña un papel importante en la formación de sabor y aroma en los alimentos, y que ocurre a altas temperaturas. Mientras se someten a una compleja serie de reacciones, los azúcares reductores reaccionan con los grupos amino libres de las proteínas de los alimentos para formar distintas estructuras denominadas glicoconjugados; además, en una reacción adicional, pueden formarse otros productos de la RM. En comparación con los métodos de reacción no covalentes, el proceso inducido por la RM puede alterar de forma irreversible las estructuras de proteínas y de polisacáridos. Por lo tanto, estas interacciones son más atractivas como enfoque novedoso para la modificación de proteínas, ya que son espontáneas y no requieren aditivos químicos. Además, los glicoconjugados pueden aumentar potencialmente la funcionalidad de los alimentos (Naik et al., 2021; Li et al., 2019). No obstante, la RM también puede formar productos finales de glicación avanzada, incluido 5-hidroximetilfurfural (HMF), acrilamida y otros productos de la RM en un estado no controlado que puede afectar la salud, sin embargo, la formación de productos finales de glicación avanzada se puede evitar si esta reacción se controla (Wei et al., 2018).

2.1.1. Etapas de la RM

A continuación, se presentan de forma resumida las etapas de la RM (Figura 1). La reacción comienza con la formación de una base de Schiff inestable mediante la condensación del grupo carbonilo de un azúcar reductor con un grupo amino libre de una proteína, para luego reorganizarse en productos estables de Amadori derivados del azúcar inicial. De acuerdo con el pH del sistema polisacárido-proteína, los productos de reacción de Amadori sufren un proceso de enolización 1,2 (a $\text{pH} < 7$) para formar furfural a partir de

pentosas o hidroximetilfurfural a partir de hexosas, o bien, una vía de enolización 2,3 (a pH > 7) para producir reductonas y productos de fisión como diacetilo, piruvaldehído y acetol (Nooshkam et al., 2020; Du et al., 2018; Troise & Fogliano, 2013).

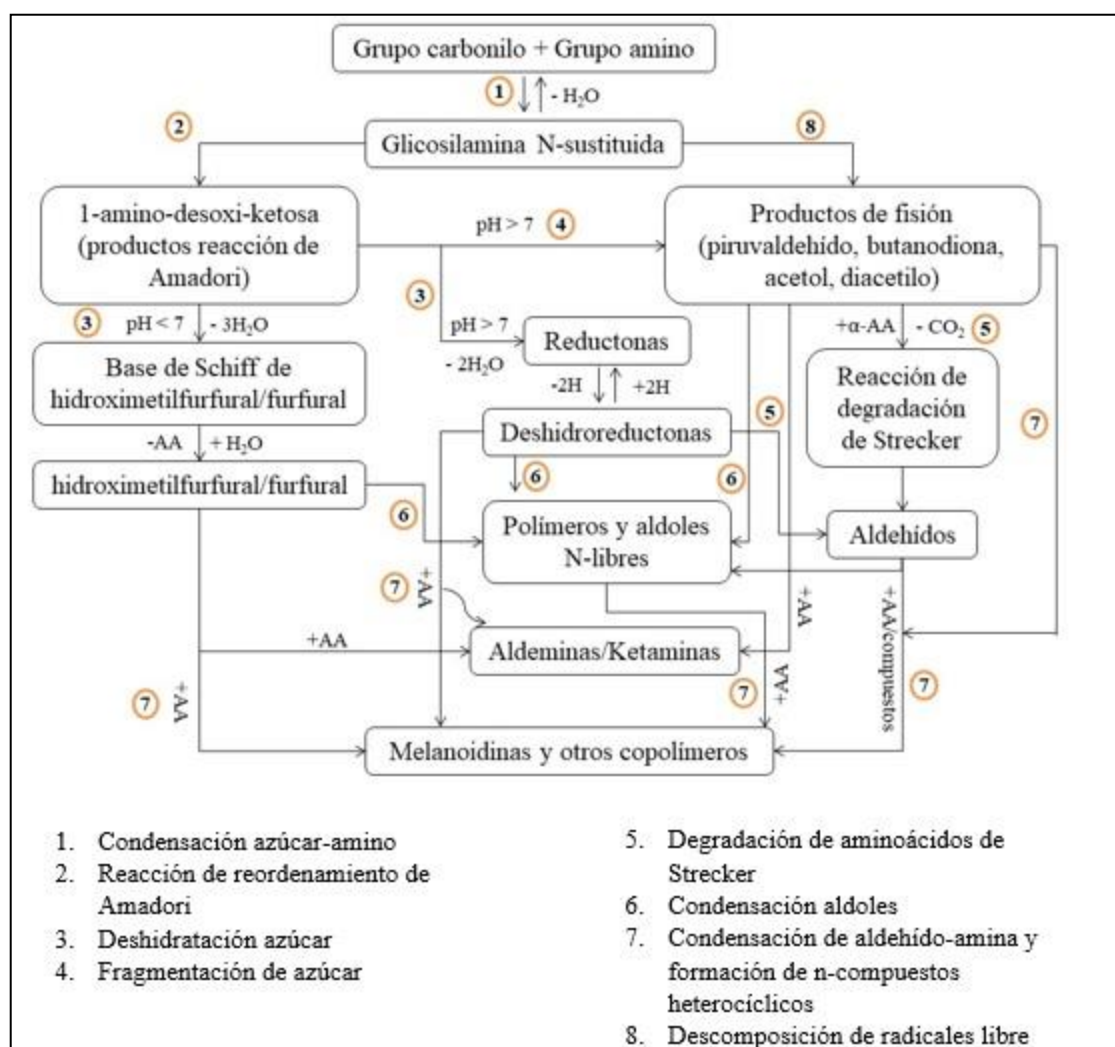


Figura 1. Esquema general de la reacción de Maillard. **Fuente:** Naik et al. (2021).

Por su parte, algunos compuestos obtenidos pueden sufrir procesos de reorientación para formar melanoidinas y productos colorantes de bajo peso molecular. También, la fragmentación de los productos Amadori, la base de Schiff y los azúcares conduce a la formación de compuestos dicarbonílicos más reactivos que, a su vez, pueden influir en el sabor, como los aldehídos de Strecker (Nooshkam et al., 2020; Tuohy et al., 2006). A

diferencia de las primeras etapas, se observa un alto grado de complejidad en las etapas finales y avanzadas de la RM, lo que da como resultado compuestos versátiles con estructuras químicas y mecanismos poco conocidos (de Oliveira et al., 2016).

En términos de la preparación de conjugados proteína-carbohidrato, el objetivo es obtener productos conjugados en las primeras etapas de la reacción para preservar la funcionalidad deseada. Por otro lado, se deben evitar las reacciones de las etapas avanzadas para minimizar la formación de productos de glicación, que son los principales responsables del mal sabor, la toxicidad y la pérdida nutricional y funcional de las proteínas (Doost et al., 2019).

2.2. Factores que influyen en la RM

La RM, al ser una combinación de diversas reacciones, está influenciada por diferentes condiciones en las que cada factor puede influir en la reacción individual de manera diferente (Zeng et al., 2017). De acuerdo con Liu et al. (2020) algunos de los factores que pueden influir en la RM son los siguientes:

- Tipo de aminoácido

La RM evoluciona de manera distinta según los tipos de aminoácidos. La velocidad de reacción es la más alta para las aminas, seguida de los aminoácidos y la más baja para las proteínas. Leucina e isoleucina combinados con glucosa, producen diferentes sabores en la RM. Por su parte, tirosina, serina y alanina producen aroma a caramelo en las mismas condiciones (Wei et al., 2020; Ambigaipalan et al., 2015).

- Azúcares

Los azúcares reductores son sustratos esenciales para la RM; distintos tipos de azúcares reductores participan a distintas velocidades debido a sus estructuras. La reactividad de los

azúcares reductores en la RM, por orden de importancia, es la siguiente: monosacáridos > disacáridos, pentosas > hexosas y aldehídos > cetonas (Guo et al., 2010).

- pH

Dado que las diferentes etapas de la RM se catalizan por distintos ácidos y bases, dicha reacción se ve afectada por el pH. En distintas investigaciones se ha identificado que, cuando el pH se encontraba entre 3 y 9, la velocidad de la reacción de pardeamiento aumentaba con el aumento del pH (Han et al., 2018). A su vez, cuando las condiciones eran ácidas ($\text{pH} \leq 3$), el grado de reacción de pardeamiento disminuyó ligeramente, lo que acentuó con la reducción del pH (Žilić et al., 2016).

- Temperatura y tiempo

Cuando la temperatura de reacción es alta en el sistema, la velocidad de reacción se acelera rápidamente, lo que conlleva a la formación de una gran cantidad de productos finales, como melanoidinas, o incluso carcinógenos (Kchaou et al., 2018). Por otro lado, si la temperatura es baja en demasía, la reacción no solo será lenta, sino que también afectará la formación de sustancias aromáticas, sin lograr el efecto deseado (Wei et al., 2019). En lo que respecta al tiempo, si la reacción se realiza en un periodo corto, el rendimiento de los productos de reacción será bajo. Con el aumento del tiempo de reacción, el contenido de productos en el sistema aumenta y, en consecuencia, el tipo de productos también aumenta (Kchaou et al., 2019).

- Contenido de agua

El agua presente en los alimentos y su contenido pueden afectar la RM. Se ha informado que el contenido de agua en un intervalo de 30-75 % es favorable para que la reacción ocurra; por otro lado, la velocidad de reacción aumenta con el aumento del contenido de agua en dicho intervalo (Davidek et al., 2008).

2.3. Características funcionales obtenidas a partir de la RM

2.3.1. Estabilidad térmica

La estabilidad térmica es analizada en el sector alimentario para determinar la resistencia de las proteínas a altas temperaturas, con la finalidad de evaluar el daño que pueden ocasionarle en cuanto a su estabilidad (posible precipitación y pérdida de la estructura) junto con una disminución del valor nutricional (de Oliveira et al., 2016). La RM se ha utilizado con éxito para mejorar la estabilidad térmica de las proteínas (Chen et al., 2019; Pirestani et al., 2017), al impedir las interacciones proteína-proteína intermoleculares y proteger la estructura nativa de dichas proteínas mediante un tratamiento térmico.

Por su parte, los polisacáridos podrían aumentar la estabilidad térmica de las proteínas conjugadas mediante repulsiones estéricas y electrostáticas, evitando así la agregación de moléculas de proteínas desplegadas durante la RM (Liu et al., 2019). Este comportamiento puede ser favorable en emulsiones de aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés) estabilizadas con conjugados proteína-polisacárido, en las que la alta estabilidad térmica del propio conjugado aumentaría la estabilidad de congelación y descongelación de las emulsiones correspondientes y ampliaría su aplicación como emulsionante eficaz en productos alimenticios (Zhang et al., 2019).

2.3.2. Viscosidad

Se ha informado de que la RM puede influir de manera considerable en la viscosidad de las soluciones proteicas. De acuerdo con Hiller & Lorenzen (2010), la conjugación de proteínas con distintos polisacáridos (glucosa, lactosa, dextrano y pectina) mejoró la viscosidad de la solución, principalmente debido a la mejora del impedimento estérico y de la retención de agua, atributos del conjugado proteína-polisacárido obtenido.

Martinez-Alvarenga et al. (2014), a su vez, observaron que en conjugados WPI-maltodextrina el coeficiente de consistencia (k) aumentó a medida que el grado de glicación lo hacía, lo que evidencia el efecto espesante del grado de glicación en las soluciones, como resultado del mayor volumen hidrodinámico de la molécula de proteína. En otro estudio, se encontró que la reacción de calentamiento de Maillard fue capaz de aumentar significativamente la viscosidad de la solución de alginato-albúmina de suero bovino al doble, en comparación con la solución de proteína y polisacárido no calentada, lo que podría ser un factor predominante en la adaptación de diferentes soluciones de liberación de nutracéuticos (Khoder et al., 2019).

2.3.3. Formación y estabilidad de emulsiones

La glicación mediante la RM de proteínas con polisacáridos ha mostrado ser una estrategia prometedora para potencializar las características emulsionantes de muchas proteínas; el polisacárido restante, presente en la conjugación, proporciona una fuerte repulsión estérica entre las gotitas de la emulsión, y la proteína se adhiere a la superficie de dichas gotas (Feng et al., 2016). La capacidad mejorada de formación de emulsión de las proteínas después de la conjugación se debe principalmente al incremento de la solubilidad de las proteínas, la concentración eficaz y la notable movilidad en la fase acuosa. Además, los cambios conformacionales en la estructura de las proteínas derivados de la RM proporcionan estructuras más flexibles con una migración y adsorción más rápidas a la interfaz aceite-agua, en contraste con las proteínas no conjugadas (O'Mahony et al., 2017).

2.4. Biopolímeros con características funcionales

2.4.1. Proteína de semilla de calabaza (PC)

La calabaza (*Cucurbita pepo*) es un cultivo que aporta semillas oleaginosas tropicales y pertenece a la familia de las Cucurbitáceas; se cultiva principalmente para consumo y uso

medicinal (Lalnunthari et al., 2019). Además, contienen una amplia variedad de nutrientes y nutraceuticos que mejoran el estado físico del corazón, los huesos, entre otras funciones. Se ha reportado que contienen fitoesteroles, compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos insaturados y minerales como potasio, magnesio y calcio, además son una rica fuente de proteínas nutricionalmente bien equilibradas (Das et al., 2022; Dotto & Chacha, 2020). El contenido de proteína de las semillas de calabaza se encuentra aproximadamente entre el 36.5 y 54 % en muestras desgrasadas (Pham et al., 2017; Lalnunthari et al, 2019).

Las proteínas de las semillas de calabaza constan de cuatro fracciones: albúmina, globulina glutelina y prolamina, que desde el punto nutricional son proveedores de aminoácidos esenciales, importantes para la salud humana (Pham et al., 2017). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la proteína de semilla de calabaza posee un perfil de aminoácidos importante como requisito esencial para niños y adultos. Por otro lado, se ha demostrado que la proteína de semilla de calabaza tiene algunas características específicas como una buena digestibilidad y propiedades funcionales entre las que destacan la solubilidad, propiedades emulsionantes y propiedades espumantes (Du et al., 2022; Sert et al., 2022; Gao et al., 2021). Por su parte, Vinayashree & Vasu (2021) mencionan que las proteínas obtenidas de las semillas de calabaza también pueden presentar actividades farmacológicas, como actividad anticancerígena, antidiabética y antioxidante, características importantes que lo convierte en un buen candidato como ingrediente funcional innovador para su aplicación en formulaciones alimentarias.

2.4.2. Inulina

La inulina es una mezcla de polisacáridos formados por varias unidades de fructosa unidas por enlaces β (2-1) y que terminan en una molécula de glucosa. Se representa químicamente como α -D-glucopiranosil- β -D-fructofuranosil(n-1)-D-fructofuranosidasas.

Esta fibra es producida naturalmente por las plantas y se utiliza como almacenamiento de energía. La inulina presenta una amplia utilización en diversos campos, como el farmacéutico y el alimentario, según la longitud de la cadena (Bhanja et al., 2022a).

En general, la inulina es considerada una fibra dietética, soluble y de baja caloría, que puede utilizarse como sustituto de azúcar y grasas en la industria alimentaria, debido a su naturaleza gelificante (Yousefi et al., 2018). Además, algunos de los beneficios para la salud del consumo de inulina incluyen la prevención del cáncer, la diabetes y la obesidad (Petkova et al., 2022), así como mejorar la mineralización ósea en adolescentes (Cortes et al., 2022). Una de sus propiedades más conocidas es su actividad prebiótica compatible con la microbiota intestinal (Bhanja et al., 2022b; Chen et al., 2020).

Por otra parte, en algunos estudios se ha mencionado que la formación de complejos mediante la interacción de la inulina con proteínas presenta mejores propiedades funcionales, como la gelificación y/o la emulsión (Li et al., 2023; Wang et al., 2020). Con todo a lo antes mencionado, la inulina puede considerarse un alimento funcional por sus múltiples propiedades benéficas, lo cual lo hace un candidato idóneo para su uso en conjugados de Maillard y su potencial aplicación en la industria de los alimentos.

2.5. Emulsiones

Una emulsión se forma a partir de dos líquidos inmiscibles, en la que un líquido se dispersa en forma de gotitas en una fase continua de un segundo líquido. Dichos sistemas no son termodinámicamente estables y se separarán rápidamente, a menos que se agreguen componentes interfacialmente activos, como tensioactivos moleculares pequeños, polímeros anfifílicos o partículas sólidas, con el fin de formar capas que proporcionen estabilidad cinética a las formulaciones (Øye et al., 2023). Tradicionalmente, el aceite y el agua se han utilizado como componentes básicos de los sistemas de emulsión alimentaria.

Estos componentes pueden formar tres tipos de emulsiones: aceite en agua (O/W), agua en aceite (W/O) y agua en aceite en agua (W/O/W), siendo las emulsiones de aceite en agua las más comunes (Kumar et al., 2022).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, las cuales tienden a separarse en dos fases inmiscibles a través del tiempo. La capa interfacial formada por los emulsionantes adsorbidos en la interfaz aceite-agua juega un papel importante en la estabilidad de la emulsión. Las propiedades de esta capa interfacial de las gotas de aceite se han considerado uno de los puntos de inflexión que influyen en la estabilidad de una emulsión, un motivo esencial para el estudio de coloides a utilizar y su relación con el sector de ciencia y tecnología de los alimentos (Cai et al., 2023).

Las emulsiones pueden sufrir distintos mecanismos físicos de desestabilización como la coalescencia, el cremado o la floculación. No obstante, una forma de extender la estabilidad física de dichas emulsiones puede consistir en la adición de biopolímeros estructurados (Hong et al., 2023). Las interacciones proteína-polisacárido tienen la propiedad de formar enlaces covalentes, lo que permite que estos complejos puedan incorporarse a sistemas emulsionantes, formando capas interfaciales robustas en las que las biomoléculas se dispersan en la fase continua, generando repulsiones estéricas y, por ende, brindando una mayor estabilidad. Además, permite un menor uso de biopolímeros, logrando, por otro lado, una mayor resistencia a factores físicos y ambientales, como cambios de temperatura, presión, pH, etc. (Mc Clements, 2004), así como incrementar las propiedades emulsionantes, lo que se pretende al utilizar conjugados de Maillard.

2.6. Investigaciones similares previas

A continuación, se presentan algunas investigaciones documentadas sobre la formación de complejos conjugados proteína-polisacárido mediante RM y su aplicación para la estabilización de emulsiones.

Autores	Investigación	Principales hallazgos
Parandi et al. (2024)	Se evaluó la capacidad de conjugados de Maillard a partir de proteína hidrolizada de ajonjolí (PHA) y goma arábica (GA) en la encapsulación y estabilización de antocianinas.	- Los complejos de Maillard PHA-GA retuvieron más del 90% de las antocianinas después de 90 días. - Bajo condiciones gastrointestinales simuladas, la liberación se relantizó. - Exhibieron buenas propiedades como material de pared para la encapsulación de antocianinas.
Kan et al. (2023)	Se evaluó el efecto de una emulsión estabilizada con conjugados de Maillard a partir de aislado de proteína de suero (APS) y de goma arábica (GA) sobre la microbiota intestinal.	- Los conjugados APS-GA mostraron cambios de color, perfiles de aroma, interacciones entre los biopolímeros y variaciones en la estructura. - Permitieron la estabilización de una emulsión, modulando su composición y la abundancia de la microbiota intestinal.
Masoumi et al. (2023)	Se evaluó el efecto de los conjugados, obtenidos mediante la interacción entre	- Se observaron interacciones hidrofóbicas en los conjugados CS-AA, con una

el caseinato de sodio (CS) y el ácido
ascórbico (AA), sobre sus propiedades
fisicoquímicas y su estabilidad en
emulsiones Pickering.

reducción de grupos amino.

- Los conjugados mejoraron la estabilidad
física y oxidativa de las emulsiones
formuladas.
-

3. Justificación

El uso de tecnologías emergentes, como el tratamiento térmico o la aplicación de ultrasonido, con el fin de potencializar las propiedades de los materiales estructurantes de interés, se ha convertido en una de las alternativas innovadoras en el ámbito del quehacer científico. A su vez, la demanda de proteínas alimentarias ha aumentado en los últimos años a medida que los consumidores se vuelven más conscientes de la necesidad de una ingesta saludable. En consecuencia, la búsqueda y el uso de nuevas proteínas de origen vegetal para la fabricación de productos complejos han atraído considerable atención.

Otro factor importante son las regulaciones actuales, ya que el uso de algunos aditivos implica ciertas características, como que su consumo sea seguro, que respondan eficazmente a una necesidad tecnológica (formación de gel, estabilizante, emulsionante, por mencionar algunos) y que, además, aporten algún beneficio al consumidor. Por tal motivo, la utilización de sistemas de asociación entre proteínas y polisacáridos (proteína de semilla de calabaza-inulina) puede ser una alternativa para cumplir con la legislación y, sobre todo, favorecer su uso para funciones específicas en el diseño de distintos productos.

Las investigaciones sobre los beneficios para la salud asociados con el uso y consumo de materiales estructurantes de origen natural, en este caso proteínas y polisacáridos, con propiedades funcionales de interés, ha aumentado el desarrollo de tecnologías innovadoras con potencial aplicación; es por ello, que la utilización de proteína de semilla de calabaza como uno de los componentes para la formación de conjugados mediante la aplicación de un tratamiento térmico convencional u otro asistido por ultrasonido para la inducción de la reacción de Maillard se convierte en una alternativa prometedora para la estabilización de emulsiones.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

- Determinar las condiciones de formación de conjugados de Maillard formulados a partir de complejos de proteína de semilla de calabaza-Inulina (PC-Inu) mediante la aplicación de un tratamiento térmico convencional y otro asistido por ultrasonido y caracterizar sus propiedades funcionales como agentes emulsificantes.

4.2. Objetivos particulares

- Establecer las condiciones de formación de conjugados de Maillard derivados del complejo PC-Inu mediante la aplicación de un tratamiento térmico convencional y otro asistido por ultrasonido.
- Realizar la caracterización fisicoquímica y la actividad superficial de los conjugados de Maillard PC-Inu.
- Evaluar la capacidad emulsificante de los conjugados de Maillard PC-Inu para la encapsulación de aceite de canola.

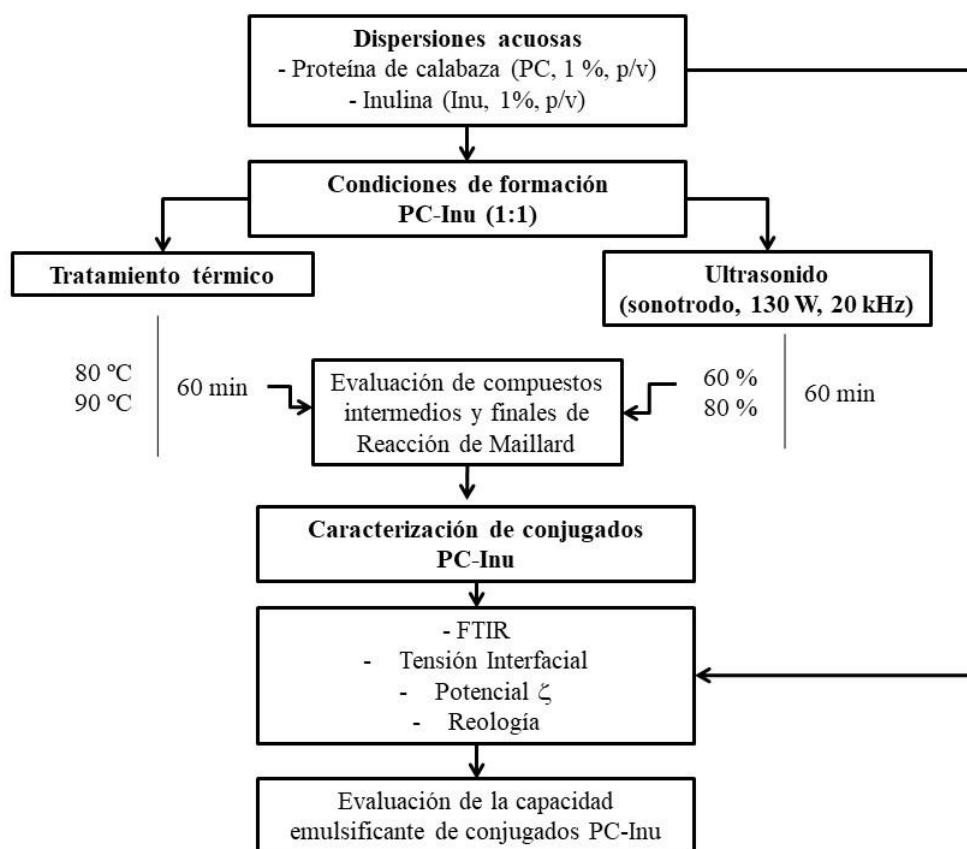
5. Hipótesis

La aplicación de procesos controlados, tanto para un tratamiento térmico convencional como para uno asistido por ultrasonido, en la formación de complejos de proteína de calabaza-inulina (PC-Inu), permitirá la formación de conjugados de Maillard con propiedades fisicoquímicas y actividad superficial adecuadas para su uso como agente emulsificante.

6. Materiales y Métodos

6.1. Estrategia experimental

Para la realización de este trabajo de investigación se siguió la estrategia experimental que se muestra a continuación:



6.2. Materiales

El aislado de proteína de semilla de calabaza (PC; > 70% de proteína) fue adquirido de Amfher Foods S. A. de C. V. La inulina de agave (Inu; GP: 20-22) marca Organic Inulin Powder fue obtenida de Vaserco S. de R.L. de C.V. (Jalisco, México). Aceite de canola (Capullo®; Estado de México, México). Hidróxido de sodio (NaOH) grado analítico obtenidos en Merck S. A. de C. V. (Sigma Aldrich). En todos los casos se utilizó agua destilada.

6.3. Preparación y acondicionamiento de biopolímeros para la formación de conjugados PC-Inu

Se formuló una solución acuosa de proteína de semilla de calabaza (PC; 1%, p/v); se mantuvo en agitación constante durante 1 hora, posteriormente, se refrigeró a 4 °C durante 24 h adicionales, con el fin de asegurar su hidratación completa. Asimismo, se preparó una solución acuosa de inulina de agave (Inu; 1%, p/v), mantenida en agitación constante durante 1 h y refrigerada durante 24 h. Posteriormente, se realizaron mezclas PC-Inu a distintas relaciones másicas (1:2, 1:1 y 2:1) y a cada uno se le aplicaron durante 60 min dos tratamientos de formación distintos: temperatura (T; 80 y 90 °C) o ultrasonido con una pulsación (US; 60 y 80% de amplitud).

6.4. Cuantificación de azúcares reductores en conjugados PC-Inu

Se prepararon tres relaciones másicas de PC-Inu (2:1, 1:1 y 1:2) con la finalidad de determinar en qué proporción se observó un mayor efecto de los procesos de acondicionamiento en la RM. Se cuantificó la cantidad de azúcares reductores presentes en conjugados PC-Inu mediante análisis espectrofotométrico a 540 nm. Brevemente, se mezcló 1 mL de muestra con 1 mL de reactivo DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), seguido de un calentamiento en agua a ebullición (>93 °C) durante 5 min. Posteriormente hubo un tiempo de reposo-enfriamiento (25 °C) de 20 min, previo a la lectura. El contenido de azúcares reductores de los conjugados se calculó con base en una curva estándar previamente obtenida con fructosa (Wang et al., 2024b).

6.5. Análisis de la producción de compuestos de Maillard

Para evaluar la formación de los conjugados de Maillard, las muestras se monitorearon durante 5 días, a 4 °C. Para ello, 3 mL de muestra se colocaron en una celda para espectrofotómetro, registrándose los valores de absorbancia a 304 y 420 nm,

correspondientes a la formación de compuestos de Amadori y melanoidinas, así como de compuestos intermedios y finales de la RM. Las mediciones se realizaron con un espectrofotómetro VE-5600UV (Velab®, México) utilizando agua desionizada como blanco (Zha et al., 2019).

También, se evaluó el pardeamiento de las muestras debido a la formación de los conjugados de Maillard PC-Inu. Se determinó durante los primeros 5 días de almacenamiento mediante un colorímetro precalibrado (NH310, 3NH Technology, China) con iluminación difusa y una geometría de visualización de 0 grados para obtener valores CIE $L^*a^*b^*$. El equipo se calibró con un mosaico blanco estándar. El índice de pardeamiento (I_p) se calculó mediante las ecuaciones descritas por Liang et al. (2018):

$$I_p = \frac{100 \times (x - 0.31)}{0.17}$$

$$x = \frac{a^* + 1.75 \times L^*}{5.645 \times L^* + a^* - 3.012 \times b^*}$$

Donde a^* es la coordenada del eje de color verde-rojo, b^* es la coordenada del eje de color azul-amarillo y L^* corresponde a la luminosidad.

6.6. Producción de melanoidinas en conjugados PC-Inu

La producción de melanoidinas de las distintas muestras, se cuantificó según el método descrito por Ruelas et al. (2023). Con los datos obtenidos en la sección 6.5. a 420 nm se aplicó la ecuación de Lambert-Beer para determinar la concentración de melanoidinas presentes en cada conjugado:

$$A = \epsilon bC$$

Donde A es la absorbancia de la solución (L), ϵ es el coeficiente de extinción específico de las melanoidinas (L/g·cm), b es la longitud de la celda del espectrofotómetro (cm) y C es la concentración de melanoidinas (g/L).

Mediante el desarrollo de una curva patrón estándar, se determinó previamente el valor del coeficiente de extinción específico ($\epsilon = 0.552$ L/g·cm).

La cinética de producción de melanoidinas a través del tiempo en conjugados PC-Inu se evaluó mediante modelos de reacción de orden cero y primer orden, representados por (Chailangka et al., 2024):

$$\text{Orden cero} \rightarrow [M] = [M_0] - kt$$

$$\text{Primer orden} \rightarrow \ln \left[\frac{M}{M_0} \right] = -kt$$

Donde M_0 y M representan la concentración de melanoidinas en el día inicial y después de t días de almacenamiento; k corresponde a la constante de velocidad.

6.7. Medición de potencial ζ

Los valores de potencial ζ , tanto de las dispersiones de PC, inulina y de los conjugados PC-Inu, se determinaron de acuerdo con la metodología descrita por Masoumi et al. (2023). Las muestras recién preparadas fueron analizadas mediante dispersión dinámica de luz (DLS) con un Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Reino Unido). Las muestras se diluyeron al 1/10 en agua destilada.

6.8. Difracción de Rayos X (XRD)

Se realizó la técnica de difracción de rayos X para determinar la estructura cristalina o amorfa de los conjugados PC-Inu, de acuerdo con la metodología descrita por Hussain et al. (2024). Las muestras previamente liofilizadas (-60 °C) fueron colocadas en un soporte de vidrio plano y se obtuvieron difractogramas con un ángulo de difracción de 4 a 50°, un

tamaño de paso de 0.2° y una velocidad de barrido de 0.4° por min. Se utilizó un difractómetro de rayos X Kristaloflex D500 con radiación de tubo de Cu ($\lambda = 0.154$ nm) el cual fue calibrado a un voltaje de 34 kV y 19 mA.

6.9. FTIR de conjugados PC-Inu

Previamente las muestras (PC, inulina y conjugados PC-Inu) fueron secadas en estufa a 55°C durante 24 h, y posteriormente fueron analizadas mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) utilizando un espectrofotómetro FTIR Spectrum 100 (Perkin Elmer, Waltham, MA, EE. UU.) acoplado a un accesorio ATR, en la región de $4000\text{--}600\text{ cm}^{-1}$, con una resolución de 4 cm^{-1} (Pirestani et al., 2018).

6.10. Evaluación de tensión interfacial

La tensión interfacial dinámica se determinó según lo descrito por Cuevas-Bernardino et al. (2016), con algunas modificaciones. Los distintos tratamientos de los complejos PC-Inu, inicialmente fueron filtrados con ayuda de una membrana de $0.45\text{ }\mu\text{m}$ de tamaño de poro (Millipore Co., Milford, NH, EE. UU.). Posteriormente, se evaluó el mecanismo de adsorción interfacial de los complejos PC-Inu en la interfaz aceite-agua a lo largo del tiempo. Se utilizó un medidor de ángulo de contacto óptico (OCA-20) con un accesorio de gota pendiente (Dataphysics Instruments GmbH, Filderstadt, Alemania) en modo dinámico para medir la tensión interfacial a temperatura ambiente ($25 \pm 1.0^\circ\text{C}$). Cada uno de los tratamientos, respectivamente, fue colocado en la jeringa y, en seguida, se vertió una gota en aceite de canola. Se evaluó la modificación de la tensión interfacial durante 3600 s.

6.11. Reología

Todas las mediciones reológicas se realizaron con un reómetro Physica MCR 300 (Physica Mebtechnik GmbH, Stuttgart, Alemania), con una geometría cono-plato (diámetro 50 mm y ángulo de 2°). Se realizaron barridos de frecuencia entre 0.01 y 100 Hz a una

deformación del 1 %. También se obtuvieron curvas de flujo (viscosidad aparente) a velocidades de corte de 0.01-100 s⁻¹ (Sun et al., 2019). Las curvas de flujo resultantes se ajustaron al modelo de Ley de Potencia (Ostwald de Waale) de acuerdo a la ecuación:

$$\mu = K \cdot \dot{\gamma}^{n-1}$$

Donde μ corresponde a la viscosidad aparente, K al índice de consistencia de flujo, γ a la velocidad de corte y n al índice de comportamiento de flujo.

6.12. Evaluación de la capacidad emulsificante de conjugados PC-Inu

La capacidad emulsificante (CE) se identificó según lo descrito por Sánchez-Mendoza et al. (2017) con algunas modificaciones. Se mezclaron 20 mL de solución de complejos PC-Inu con 20 mL de aceite de canola, utilizando un homogenizador Ultra-Turrax T50 basic a 10 500 rpm durante 60 s. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 1 300 rpm durante 5 min. El porcentaje de emulsificación se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%CE = \frac{\text{Volumen de la capa emulsionada (mL)}}{\text{Volumen total antes de la centrifugación (mL)}} \times 100$$

6.13. Microscopia óptica de emulsiones

Las emulsiones formuladas se observaron con un microscopio óptico Olympus BX45 (Olympus Corp. Japón) a una magnificación de 10x. Se utilizó una cámara digital Moticam 2300, de 3.0 M Pixel (Motic Inc. Ltd. China) para describir la morfología de las gotitas presentes en la emulsión (Du et al., 2024).

6.14. Análisis estadístico

Las pruebas se realizaron por triplicado. El análisis de la información obtenida en las distintas etapas de la experimentación, se mediante un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA). Se aplicó una prueba de Tukey para la comparación de medias ($p \leq 0.05$), en los

casos pertinentes. Los datos fueron analizados con el software estadístico Minitab 18.0 (Minitab Inc., State College, PA, USA).

7. Resultados

7.1. Contenido de azúcares reductores

La estimación del contenido de azúcares reductores en las distintas relaciones másicas (2:1, 1:1 y 1:2) de las muestras PC-Inu, se utilizó como análisis complementario para confirmar la formación de conjugados por efecto de la RM, ya sea mediante la aplicación de un proceso térmico o de ultrasonido, según corresponda. En el Cuadro 1 se observa la concentración de azúcares reductores en cada tratamiento, según las distintas relaciones másicas formuladas. Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos y sus respectivas proporciones ($p \leq 0.05$). En general, los conjugados PC-Inu formados en una relación másica 1:1 presentaron un menor contenido de azúcares reductores que los demás conjugados. Los conjugados formados mediante la aplicación de un proceso térmico mostraron que un aumento de la temperatura (de 80 a 90 °C) incrementó la concentración de azúcares reductores; el tratamiento PC-Inu_{T80} presentó la menor concentración de azúcares reductores y es significativamente diferente de los demás tratamientos ($p \leq 0.05$). Tanto PC-Inu_{T80} como PC-Inu_{T90} mostraron valores inferiores de la concentración de azúcares reductores en comparación con el control PC-Inu_{control} ($p \leq 0.05$). En caso contrario, al incrementar el porcentaje de amplitud (de 60 a 80 %) en conjugados realizados mediante proceso de ultrasonido, la concentración de azúcares reductores se vio disminuida, siendo PC-Inu_{US80} quien mostró los valores más bajos. Asimismo, PC-Inu_{US80} mostró concentraciones inferiores a PC-Inu_{control} en proporciones 1:1 y 1:2. El posible desencadenamiento de la RM permitió favorecer la interacción entre PC e Inu para la formación de conjugados; en otras palabras, a menor concentración de azúcares reductores mayor rendimiento para la formación de conjugados Maillard, y posiblemente una mayor producción de productos intermedios y finales de la reacción. Con los resultados obtenidos,

se eligió la proporción 1:1 como base para la formulación y la caracterización de conjugados PC-Inu.

De acuerdo con Tena et al. (2025), el contenido de azúcar de una muestra es un indicador importante en el proceso de pardeamiento, ya que la presencia de azúcares reductores contribuye a la RM. Por ello, estos mismos autores afirman que una reducción en el contenido de azúcares reductores indica un mejor proceso de la RM. Esto es consistente con los resultados obtenidos en esta investigación.

Cuadro 1. Contenido de azúcares reductores no formados en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

Tratamientos	Concentración (g/L)		
	2:1	1:1	1:2
PC-Inu_{Control}	0.262±0.004bC	0.223±0.003cC	0.399±0.005aB
PC-Inu_{T80}	0.169±0.005aD	0.041±0.012cE	0.122±0.010bD
PC-Inu_{T90}	0.183±0.014cD	0.252±0.008bB	0.289±0.005aC
PC-Inu_{US60}	0.521±0.005aA	0.446±0.012cA	0.469±0.006bA
PC-Inu_{US80}	0.415±0.040aB	0.185±0.018cD	0.275±0.001bD

Letras minúsculas diferentes en filas y letras mayúsculas diferentes en columnas significan diferencias significativas entre valores ($p \leq 0.05$).

7.2. Producción de compuestos de Maillard en conjugados PC-Inu

Uno de los mecanismos para el posible reconocimiento de las distintas etapas ocurridas en la RM es mediante las mediciones de absorbancia a 304 nm, esto con la finalidad de identificar los productos tempranos que ocurren durante la reacción, es decir, puede representar los productos de la base de Schiff, siendo un indicador de los productos intermedios de la RM. Por otro lado, los productos avanzados de la RM (melanoidinas), el componente principal de la característica de pardeamiento, pueden monitorearse mediante

mediciones de absorbancia a 420 nm (Li et al., 2024; Zhong et al., 2019; Spotti et al., 2019).

En la Figura 2 (A-D) se observa la producción de compuestos intermedios y finales de la RM por efecto de la aplicación de un proceso térmico o de ultrasonido en complejos PC-Inu. A 304 nm, PC-Inu_{T80} mostró valores de absorbancia superiores, seguidos de PC-Inu_{T90} y muy por debajo de PC-Inu_{control} (Figura 2A). En la Figura 2C se observan los resultados obtenidos a 420 nm, en los que PC-Inu_{T90} mostró un incremento superior de absorbancia durante los 5 días evaluados en comparación a los demás tratamientos. De igual manera, PC-Inu_{US60} mostró un comportamiento superior a PC-Inu_{US80} y PC-Inu_{control} a 304 nm (Figura 2B). También, a 420 nm se observó el mismo comportamiento en los conjugados con proceso térmico; no obstante, fue PC-Inu_{US80} quien presentó valores de absorbancia más altos (Figura 2D). Estos resultados proporcionan indicios de que la formación de compuestos intermediarios ocurrió en primera instancia, seguida de la formación de melanoidinas por efecto de la aplicación de un proceso de inducción, ya sea térmico o de ultrasonido. Asimismo, la mayoría de los productos de la RM en los complejos PC-Inu se generaron el primer día y, posteriormente, hubo un incremento gradual hasta el día 5. Zha et al. (2019) reportaron comportamientos similares en complejos de proteína aislada de chícharo-goma arábica.

En general, la aplicación de un proceso térmico a mezclas PC-Inu resulta una estrategia positiva para la formación de conjugados de Maillard, al evidenciarse la aparición de productos intermedios y finales de la RM. Sin embargo, dichos conjugados, aunque tuvieron una producción ascendente en los primeros 5 días de formación, fueron inferiores a los obtenidos con el proceso de ultrasonido; por lo tanto, aparentemente, la aplicación de ultrasonido tuvo una mayor influencia en la ocurrencia de la RM.

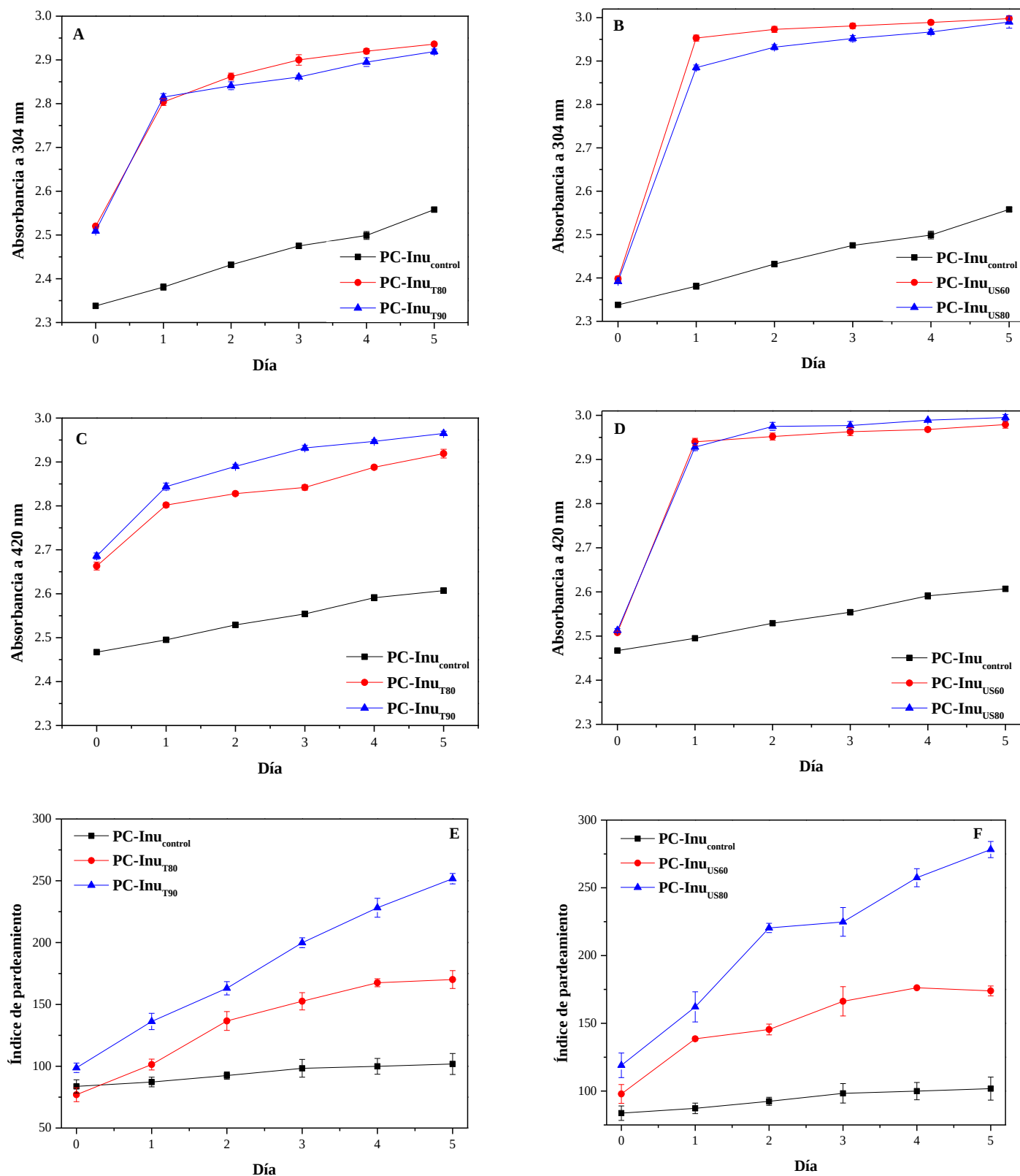


Figura 2. Evaluación de la formación de compuestos de Maillard a 304 y 420 nm (A-D) e *Ip* (E-F) en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

De acuerdo con lo informado por Martínez-Alvarenga et al. (2014), el índice de pardeamiento (I_p) se considera un parámetro analítico calculado como indicador del desarrollo del color durante el proceso de la RM. La intensidad de pardeamiento se mide como un índice progresivo de la RM, ya que la producción tardía de los compuestos intermedios y finales es la que provoca el desarrollo de un color marrón (Spotti et al., 2014).

El I_p de los distintos conjugados PC-Inu formados, aumentó con el tiempo (Figura 2E-F). PC-Inu_{T90} mostró un mayor pardeamiento, seguido por PC-Inu_{T80} y PC-Inu_{control}, respectivamente (Figura 2E). La interacción de las proteínas o de sus grupos funcionales que interactúan con la contraparte y los azúcares reductores, en presencia de agua libre y a altas temperaturas, conduce al oscurecimiento de las mezclas debido a la formación de compuestos como las melanoidinas, responsables del desarrollo del color (Kan et al., 2023). Para los conjugados formados mediante ultrasonido (Figura 2F), se observó que los valores de I_p más altos se alcanzaron en PC-Inu_{US80} hasta los 5 días, seguidos por PC-Inu_{US60} y PC-Inu_{control} ($p \leq 0.05$). Este comportamiento, tanto en conjugados generados mediante aplicación de temperatura como de ultrasonido, es consistente con los valores de absorbancia a 304 y 420 nm, respectivamente. Además, se observó que la velocidad de la RM disminuyó gradualmente y luego se estabilizó. No obstante, los conjugados PC-Inu formados mediante un proceso térmico mostraron un índice de pardeamiento gradual y menor en comparación con los conjugados PC-Inu en los que se aplicó un proceso de ultrasonido.

Un I_p alto indica que se está produciendo la RM; sin embargo, se debe evitar una coloración excesiva, para evitar variaciones de apariencia en posibles aplicaciones (Parandi et al., 2024).

7.3. Concentración de melanoidinas de conjugados

Las melanoidinas son compuestos complejos, de alto peso molecular y de color marrón que se forman durante la RM. Son responsables del color y el sabor de los alimentos cocinados; se han asociado con propiedades promotoras de la salud, como efectos antioxidantes, antimicrobianos y prebióticos. Estos compuestos absorben la luz a 420 nm y su concentración puede estimarse mediante la ley de Lambert-Beer (Tena et al., 2025).

El Cuadro 2 muestra el contenido de melanoidinas producido a través del tiempo en los distintos conjugados formulados. Se observó que PC-Inu_{US80} y PC-Inu_{US60} fueron los tratamientos que predominaron en la producción de melanoidinas, alcanzando una producción máxima aproximada de 5.40 g/L al cabo de 4 días, sin cambios significativos en tiempos más largos ($p > 0.05$). Por otro lado, los conjugados obtenidos mediante un proceso térmico también mostraron un comportamiento ascendente y gradual en la producción de melanoidinas a lo largo de los días; PC-Inu_{T90} presentó una mayor producción de melanoidinas en los conjugados tratados térmicamente. Al evaluar dichos comportamientos, se puede deducir que, aunque ambos procesos, tanto térmico como de ultrasonido, permitieron que la RM fuera promotora de la formación de conjugados PC-Inu, el proceso de ultrasonido fue quien permitió una mayor producción de melanoidinas, considerando el día de formación de los conjugados y los días consecuentes a su almacenamiento.

El incremento en la producción de melanoidinas en los primeros 5 días después de realizados los procesos de temperatura y ultrasonido, respectivamente, son consistentes con los resultados observados en el índice de pardeamiento y los comportamientos de absorbancia reportados en la Figura 2, mostrando así la importancia en el uso eficaz de

procesos de acondicionamiento emergentes para la aplicación de la RM en la formación de complejos conjugados.

Cuadro 2. Contenido de melanoidinas en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

Días	Concentración de melanoidinas a través del tiempo (g/L)					
	0	1	2	3	4	5
PC-Inu_{T80}	4.824±0.016fB	5.076±0.009eD	5.123±0.007dD	5.149±0.011cC	5.232±0.007bD	5.288±0.018aD
PC-Inu_{T90}	4.866±0.013fA	5.152±0.014eC	5.236±0.009dC	5.312±0.011cB	5.339±0.007bC	5.371±0.009aC
PC-Inu_{US60}	4.543±0.005cD	5.326±0.015bA	5.348±0.015bB	5.367±0.017aA	5.376±0.006aB	5.396±0.014aB
PC-Inu_{US80}	4.552±0.006dC	5.304±0.015cA	5.389±0.017bA	5.392±0.017bA	5.414±0.004aA	5.426±0.013aA

Letras minúsculas diferentes en la misma fila y letras mayúsculas diferentes en la misma columna significan diferencias significativas entre valores en $p \leq 0.05$.

Por otro lado, el incremento de la concentración de melanoidinas en conjugados PC-Inu durante los primeros 5 días de almacenamiento, se ajustó adecuadamente al modelo cinético de primer orden, observándose coeficientes de regresión de hasta 0.98, tal y como se muestra en el Cuadro 3. El tiempo de almacenamiento, los componentes utilizados para la formación de los conjugados, así como el tipo de tratamiento aplicado (temperatura o ultrasonido) pudieron influir en la producción de melanoidinas.

Cuadro 3. Parámetros cinéticos de primer orden de la producción de melanoidinas a lo largo del tiempo en conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

	Primer Orden	
	k (día ⁻¹)	R^2
PC-Inu_{T80}	0.010	0.97
PC-Inu_{T90}	0.010	0.94
PC-Inu_{US60}	0.003	0.98
PC-Inu_{US80}	0.005	0.79

7.4. Potencial zeta (ζ) de conjugados PC-Inu

El estudio del potencial zeta (ζ) puede utilizarse como parámetro indicador de la magnitud de las fuerzas repulsivas electrostáticas entre partículas, desempeñando un papel crucial en la estabilidad coloidal de las suspensiones (Masoumi et al., 2023; Ren et al., 2021). La Figura 3 muestra la variación del potencial zeta de PC, de Inu y de los distintos complejos PC-Inu. PC-Inu_{T80} y PC-Inu_{T90} mostraron valores de potencial ζ más negativos y similares ($p > 0.05$) en comparación a PC-Inu_{control}, así como con los biopolímeros individuales (Figura 3A). A su vez, en la Figura 3B se observa que los conjugados PC-Inu formados mediante aplicación de ultrasonido exhibieron valores aún más negativos, y que PC-Inu_{US80} fue quien mostró un valor de potencial ζ más negativo (-22.00 ± 0.55 mV). Este comportamiento coincide con lo reportado por Parandi et al. (2024), quienes además mencionan que valores más negativos en los conjugados demuestran una mayor estabilidad de las muestras para futuras aplicaciones.

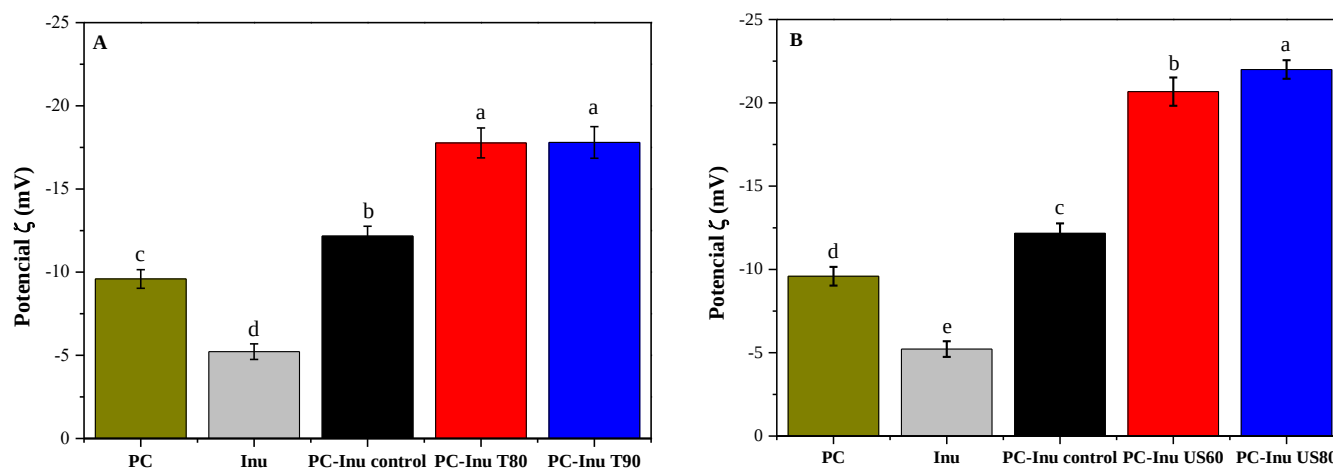


Figura 3. Valores de potencial ζ de PC, Inu y de los conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

De acuerdo con Huang et al. (2020) una reducción en las cargas netas de la proteína durante la ocurrencia de la RM puede ser atribuible a la participación de los grupos cargados con NH_3^+ lo que conlleva a la formación de enlaces covalentes. En otras palabras, dicho comportamiento puede aplicarse a la interacción covalente entre los grupos carbonilo de los aminoácidos con carga positiva, lo que conduce a una disminución de la carga neta del complejo formado (Masoumi et al., 2023).

Zhu et al. (2023) hacen referencia a que un incremento negativo de los valores de potencial ζ puede ser generado debido al proceso de glicosilación, mecanismo por el cual se forman agregados de proteína/azúcar mediante la interacción de un grupo aldehído/cetona con un grupo amino en la proteína, formando una estructura llamada base de Schiff, seguida de una serie de reacciones en cascada que conducen a la formación de agregados covalentes (Mateescu et al., 2021), conformando así los conjugados de Maillard y aumentando así la fuerza de repulsión intermolecular. Asimismo, el aumento del valor absoluto del potencial ζ puede reflejar la exposición de cargas negativas en la cadena polipeptídica, lo cual se ve facilitada por la interacción covalente entre PC e Inu (Meng et al., 2023). Cuando los conjugados formados son aplicados para diseñar emulsiones, un aumento en los valores negativos de potencial ζ facilita la obtención de una mayor repulsión electrostática alrededor de las gotas, evitando así su coalescencia. Además, la mayor repulsión electrostática beneficia la protección del conjugado contra la agregación y la sedimentación, asegurando así su estabilización en la interfaz aceite-agua (Wang et al., 2024a).

7.5. Difracción de rayos X de los conjugados

La difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) es considerada una técnica no destructiva de gran utilidad para el estudio de las características estructurales de las biomoléculas. Mediante el análisis de XRD se puede determinar si una molécula es naturalmente cristalina o amorfa (Hussain et al., 2024). De acuerdo con el patrón de comportamiento de los difractogramas obtenidos (Figura 4), los distintos conjugados mostraron picos similares en la región de 2θ , lo que sugiere que las muestras presentan una naturaleza amorfa, independiente del tratamiento térmico o de ultrasonido.

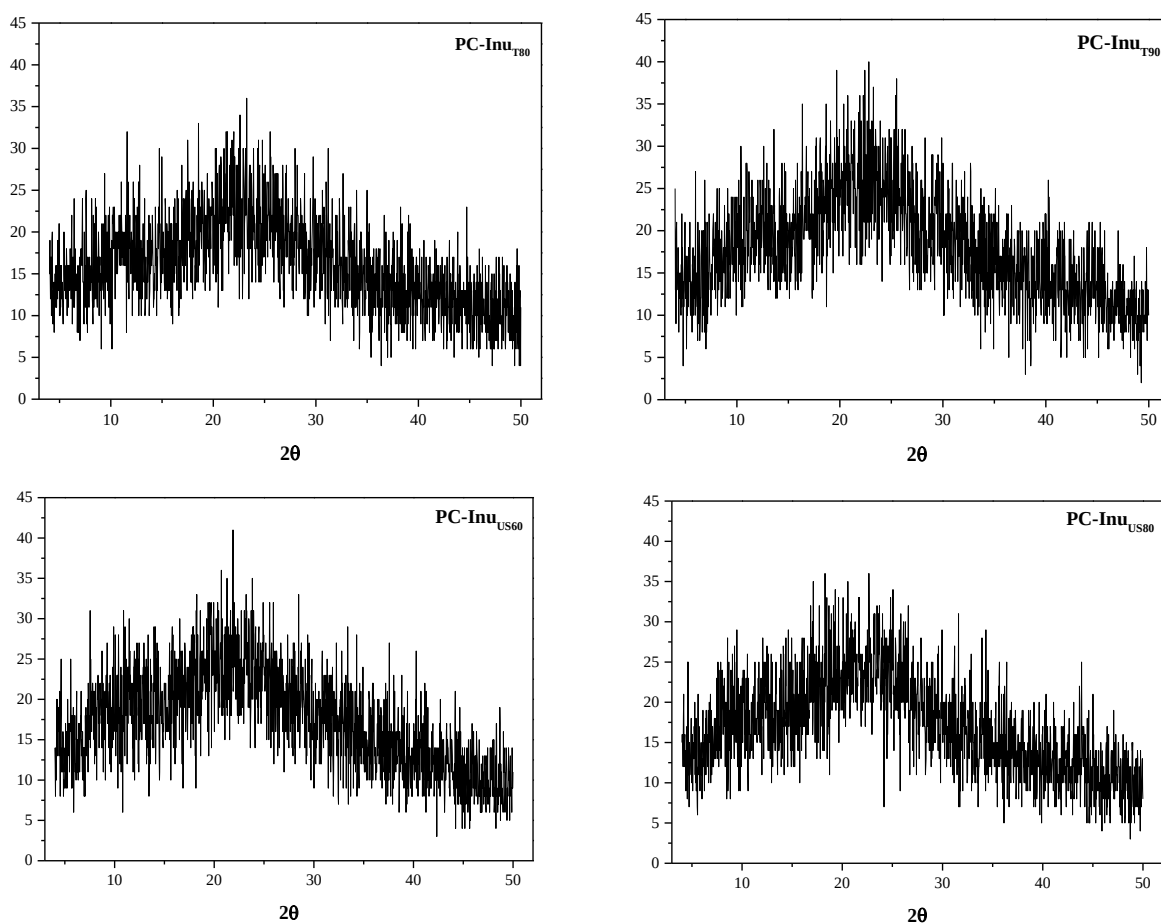


Figura 4. Difractogramas de rayos X de los conjugados PC-Inu (relación másica 1:1) tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

La conjugación entre proteínas y polisacáridos permite el mejoramiento de la movilidad de la cadena polimérica dentro de la proteína; por lo tanto, una mayor movilidad podría interferir con la disposición de la cadena proteica, lo que conlleva a obtener estructuras más amorfas, en otras palabras, el método de conjugación modifica las estructuras tridimensionales de las proteínas y minimiza la cristalinidad (Karabulut & Feng, 2024; Ma et al., 2023).

7.6. Espectroscopía FTIR

El análisis FTIR se ha utilizado ampliamente como técnica útil y rápida para el estudio de la estructura y de las posibles interacciones entre sistemas formados a partir de proteínas y polisacáridos. Cuando los grupos funcionales interactúan a nivel molecular, se pueden observar cambios en los espectros FTIR, generando la aparición de nuevas bandas, o bien, cambios en la intensidad o ubicación de dichas bandas (Pirestani et al., 2018; Martins et al., 2012).

La Figura 5 muestra los espectros FTIR de los complejos PC-Inu y de los biopolímeros individuales utilizados. El espectro de PC mostró picos en las regiones de 1630, 1532 y 1395 cm^{-1} , características de las bandas de amida I, II y III, respectivamente. Estos picos coinciden con lo descrito por Pirestani et al. (2018), mencionando que las características espectrales más distintivas en proteínas pueden encontrarse en la región 1700-1600 cm^{-1} , generado por el estiramiento de C=O (amida I), en la región 1550-1500 cm^{-1} ocasionado por la deformación de N-H (amida II) y la una tercera región a 1300-1200 cm^{-1} debido al estiramiento de C-N y deformación de N-H (amida III). También, los picos existentes en la región 1500-800 cm^{-1} surgen debido a la deformación de C-H y el estiramiento de C-O y C-C, característicos en polisacáridos. Esto coincide con el espectrograma de Inu en el que se

observan un par de picos en 1024 y 935 cm^{-1} . A su vez, las distintas muestras de PC-Inu, tanto térmicas como de ultrasonido, mostraron picos similares en las regiones de los biopolímeros individuales, diferenciándose principalmente por la intensidad de los picos; no obstante, los espectros FTIR de conjugados PC-Inu formulados mediante un proceso térmico mostraron picos más diferenciados que los obtenidos con un proceso de ultrasonido. Es importante resaltar que la intensidad de los picos se redujo en PC-Inu_{T90} lo que sugiere una posible mayor interacción entre PC e Inu.

También los picos ubicados en la región 1000-1100 cm^{-1} mostraron una mayor intensidad y una menor amplitud en PC-Inu_{T90} seguido de PC-Inu_{T80} en comparación con PC-Inu_{control} (Figura 5A). Finalmente, en la Figura 5B se puede observar la aparición de un pico en 3264 cm^{-1} para PC-Inu_{control} y 3272 cm^{-1} para PC-Inu_{US60} y PC-Inu_{US80}; de acuerdo con Zhu et al. (2022) puede ser causada por la vibración de estiramiento de N-H y O-H (3500-3000 cm^{-1}), tras la interacción de los biopolímeros y la modificación de la estructura causada por la RM.

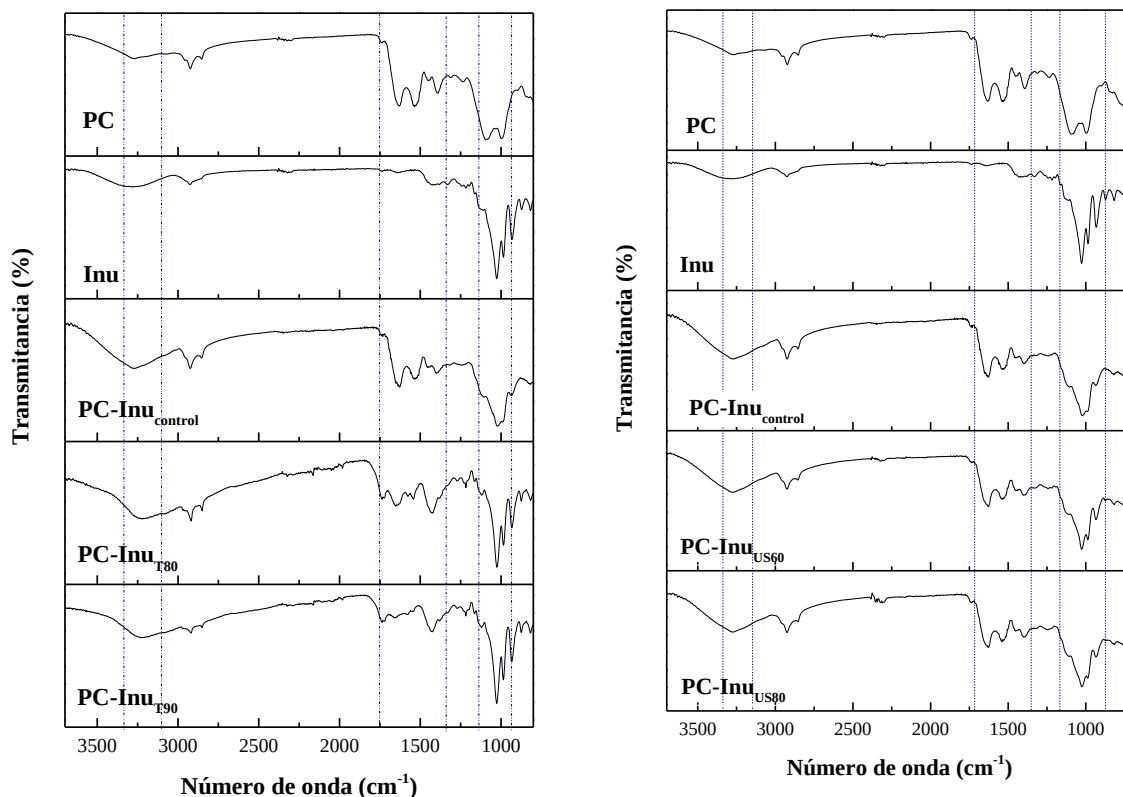


Figura 5. Espectroscopía FTIR de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

7.7. Tensión interfacial de conjugados PC-Inu

Las propiedades interfaciales entre las fases continua y dispersa juegan un papel fundamental en la formación de emulsiones, por lo que la caracterización de dichas propiedades resulta de gran utilidad para comprender el mecanismo de formación de emulsiones (Consoli et al., 2018). Los perfiles de tensión interfacial de las dispersiones de biopolímeros individuales (PC e Inu) y de los conjugados PC-Inu se muestran en la Figura 6.

Tanto los biopolímeros de PC e Inu como los conjugados PC-Inu tratados térmicamente de la Figura 6A, mostraron una disminución gradual de la tensión interfacial, lo que sugiere

una adsorción continua en la interfaz aceite-agua. PC-Inu_{T90} mostró valores superiores en el intervalo de tiempo estudiado, lo que puede interpretarse como una adsorción más lenta en la interfaz. Los conjugados inducidos por efecto de aplicación de temperatura (80 y 90°C, respectivamente) mostraron un comportamiento interfacial superior a PC-Inu_{control} lo que podría explicarse en función de la cantidad de grupos funcionales (hidrófobos e hidrófilos) que puede haber en los conjugados (Consoli et al., 2018), si la interacción de PC-Inu, empleó estos grupos funcionales durante la formación de los productos de oscurecimiento, seguramente esto generó que haya menor disponibilidad de grupos funcionales capaces de anclarse en la interfase agua-aceite y por lo tanto, la tensión interfacial no bajó en la misma proporción que el tratamiento control.

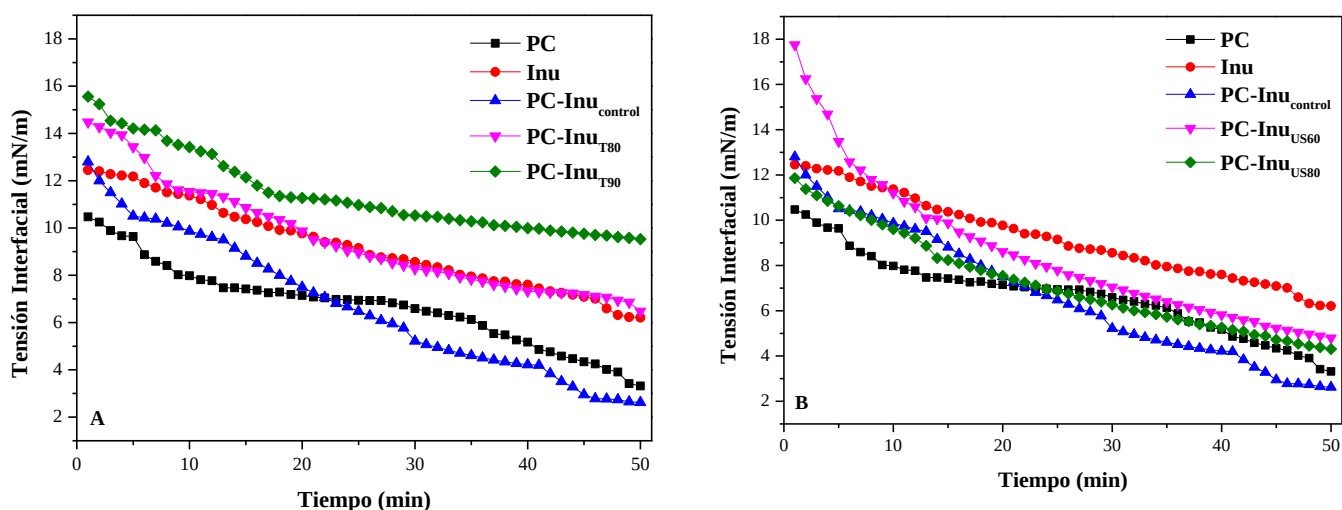


Figura 6. Tensión interfacial de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

Por su parte, la aplicación de ultrasonido mostró influencia en el comportamiento de la tensión interfacial en los tratamientos, ya que PC-Inu_{US60}, seguido de PC-Inu_{US80}, fue superior a PC-Inu_{control} (Figura 6B). Dicho comportamiento pudo deberse a que el tratamiento de ultrasonido indujo cambios estructurales, promoviendo una mayor exposición de grupos funcionales y mejorando su actividad superficial respecto al

tratamiento control, al menos durante un tiempo de alrededor de 20 min; tiempos más prolongados condujeron a que PC-Inu_{control} redujera aún más la tensión interfacial. Dicho comportamiento refuerza la idea de que los conjugados de Maillard pueden ser alternativas eficaces para la estabilización de emulsiones.

De acuerdo con Wang et al. (2024), una mayor repulsión electrostática en conjugados de Maillard contribuye a una adsorción mucho más estable en la interfaz aceite-agua y a la formación de la capa interfacial, lo cual es crucial para reducir la tensión interfacial y ser más eficiente al formar una emulsión. Esto es consistente con los resultados obtenidos, también en el análisis del potencial ζ .

Tendencias similares fueron observadas en las investigaciones realizadas por Wang et al. (2024) en conjugados de fosfatidiletanolamina de soya y su combinación con distintos polisacáridos (goma de tamarindo, pectina, inulina o maltodextrina) y también en los resultados reportados por Barbosa et al. (2019) en la formación de conjugados de Maillard a partir de caseinato de sodio y goma de algarrobo.

7.8. Comportamiento reológico de conjugados

La Figura 7 presenta el comportamiento reológico de los complejos PC-Inu, así como de los biopolímeros de PC e Inu. En los barridos de frecuencia se observó que el módulo elástico (G') predominó sobre el viscoso (G'') en todo el intervalo de frecuencia estudiado de los distintos tratamientos, lo que confirma un comportamiento predominantemente sólido y característico de un gel ($G' > G''$). PC-Inu_{T80} predominó sobre PC-Inu_{control}; por otro lado, PC-Inu_{T90} mostró un comportamiento reológico disminuido en comparación con los demás tratamientos (Figura 7A-C). La formación de conjugados de Maillard a 80 °C

durante 60 min mejoró las propiedades reológicas de los conjugados PC-Inu. Según Spotti et al. (2014), los conjugados podrían presentar agregación en su estructura (partículas con estructura tridimensional abierta de agregados), lo que se traduce en valores de G' no tan elevados. También, en las Figuras 7BD se observó que PC-Inu_{US60} fue quien presentó los valores más altos en los módulos viscoelásticos con respecto a los demás tratamientos, seguido de PC. Un aumento de G' en el intervalo de frecuencia, podría ser el resultado de una fuerte interacción intermolecular entre los componentes del complejo formado (Sun et al., 2018). Esto sugiere que la aplicación de ultrasonido al 60% tuvo una mayor influencia en las propiedades viscoelásticas de conjugados PC-Inu en comparación a los conjugados formados con un proceso térmico.

Las curvas de flujo, por su parte, mostraron una disminución de la viscosidad aparente a medida que aumentaba el intervalo de la velocidad de corte. En la Figura 7E se observa que PC-Inu_{control} presentó la viscosidad más alta, seguido por PC-Inu_{T90} y PC-Inu_{T80}. Este comportamiento sugiere que la viscosidad aparente disminuye a medida que aumenta la temperatura durante la formación de conjugados de Maillard. De igual manera, a medida que se incrementó la amplitud en el proceso de ultrasonido, los conjugados mostraron una disminución de la viscosidad (PC-Inu_{control} > PC-Inu_{US60} > PC-Inu_{US80}); no obstante, estos conjugados tuvieron mayor viscosidad en comparación a Inu (Figura 7F). La aplicación de temperatura para inducir la RM, mostró ser una técnica que disminuye más los parámetros viscoelásticos en PC-Inu en comparación a los inducidos con ultrasonido.

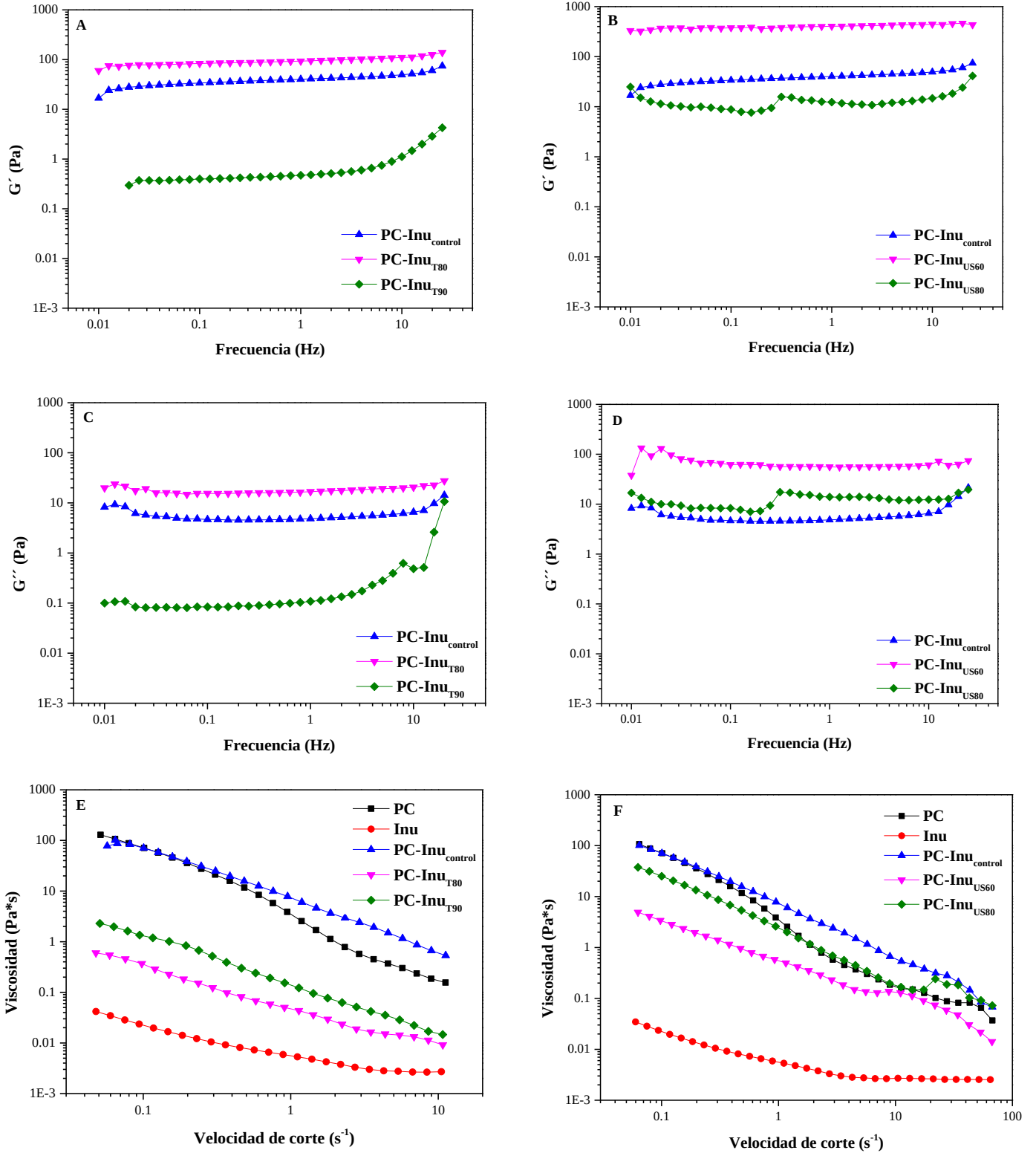


Figura 7. Propiedades viscoelásticas y de flujo de PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

Se observó un efecto similar en la viscosidad aparente de conjugados elaborados con proteína de papa y pectina. Además, la reducción de la viscosidad puede atribuirse a la disminución del peso molecular, o bien, a fuertes interacciones repulsivas intermoleculares entre PC e Inu durante la RM. Esto último también puede observarse en el cambio del potencial ζ a valores más negativos, lo que podría disminuir la agregación de los conjugados y conducir a una menor viscosidad (Soltanahmadi et al., 2024; Wang et al., 2022).

Una vez que las curvas de flujo (7E-F) fueron ajustadas al modelo de ley de potencia, se obtuvieron los valores del índice de comportamiento de flujo (n) y del índice de consistencia de flujo (K) (Cuadro 4). Se observó que, en todos los tratamientos, el índice de comportamiento presentó valores de 0.074 a 0.521, inferiores a 1, lo que confirma que los conjugados formados presentan un comportamiento readelgazante o pseudoplástico.

Cuadro 4. Parámetros del modelo de ley de potencia a PC, Inu y conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

Tratamiento	n (adim.)	K (Pa*s)
PC	0.074	3.306
Inu	0.521	0.008
PC-Inu_{control}	0.198	5.115
PC-Inu_{T80}	0.346	0.047
PC-Inu_{T90}	0.264	0.123
PC-Inu_{US60}	0.314	0.529
PC-Inu_{US80}	0.192	2.184

7.9. Capacidad emulsificante

La RM promueve cambios estructurales en la proteína, exponiendo grupos hidrofóbicos que aumentan su afinidad por la interfaz aceite-agua. Además, las fracciones hidrofílicas de los carbohidratos pueden extenderse a la fase continua, impidiendo la agregación de gotas mediante impedimento estérico o repulsión electrostática, y, por lo tanto, mejoran las propiedades emulsionantes (Urango et al., 2024).

Se evaluó la capacidad emulsificante de los distintos conjugados formulados, con el fin de conocer algunas de sus propiedades funcionales para su posible aplicación en la estabilización de emulsiones. Como se observa en la Figura 8, PC-Inu_{US60} fue quien presentó un mayor porcentaje de emulsificación ($46.67 \pm 4.71\%$), seguido de PC-Inu_{US80} ($37.50 \pm 3.54\%$), PC-Inu_{T80} ($29.17 \pm 5.87\%$) y PC-Inu_{T90} ($21.67 \pm 2.36\%$), respectivamente, en comparación a PC-Inu_{control} quien presentó apenas un 9.17% de capacidad emulsificante. No obstante, a medida que aumentó la temperatura o de amplitud, según sea el caso, el porcentaje de emulsificación disminuyó; este comportamiento puede atribuirse al desarrollo de productos de polimerización, lo que imposibilita la movilidad de las moléculas y hace que los conjugados se absorban en la interfaz aceite/agua mucho más lentamente. Por el contrario, un aumento significativo del porcentaje de emulsificación se atribuye posiblemente a la conformación de la proteína, que expone grupos hidrófobos hacia el interior y reacciona con los grupos carbonilo del extremo reductor presente en los polisacáridos; es decir, se logra un equilibrio de grupos hidrófobos e hidrófilos que favorece la formación de la emulsión (Dong et al., 2020).

Los resultados obtenidos concuerdan con estudios previos realizados por Karabulut y Fang (2024) y Zhong et al. (2019), en los que se menciona que la conjugación entre

proteínas y polisacáridos mejora las propiedades emulsionantes mediante repulsión estérica y electrostática, facilitando las interacciones entre los conjugados y el aceite.

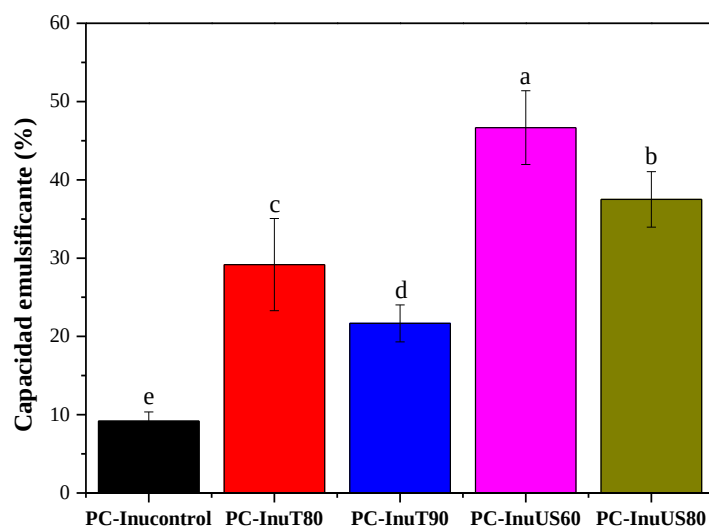


Figura 8. Capacidad emulsificante de conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US). Letras distintas indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Los conjugados proteína-polisacárido tienden a presentar pesos moleculares más altos y a mejorar las propiedades anfipáticas en comparación con las proteínas individuales. La unión entre PC e Inu podría introducir una gran cantidad de grupos hidrófilos, como los grupos hidroxilo, mejorando así la hidrofiliidad de la proteína en la fase acuosa y de la conjugación en sí, lo que daría lugar a una emulsión más estable. Estos cambios posiblemente conducen a una mayor adsorción de los conjugados en la interfaz aceite-agua, lo que mejora la estabilización de las emulsiones (Kan et al., 2024).

7.10. Morfología de emulsiones

Las emulsiones estabilizadas con conjugados PC-Inu mostraron la formación esférica de las gotas de aceite, con tamaños de gota homogéneos en conjugados inducidos por un proceso térmico, pero más heterogéneos en conjugados inducidos por ultrasonido (Figura

9). PC-Inu_{US80} presentó tamaños de gota más pequeños ($59.26 \pm 07.55 \mu\text{m}$), seguidos de PC-Inu_{T90} ($73.29 \pm 08.49 \mu\text{m}$), PC-Inu_{T80} ($104.35 \pm 10.84 \mu\text{m}$) y PC-Inu_{US60} ($133.82 \pm 15.16 \mu\text{m}$). Según Wang et al. (2024), el tamaño de las gotas de una emulsión podría verse influenciado por la aplicación de conjugados de Maillard, lo que podría proporcionar emulsiones más estables. En todos los casos las gotas de aceite mantuvieron su integridad individual. De igual forma, se puede observar que un incremento en la temperatura o en el ultrasonido durante la inducción de la RM, respectivamente, influyen en una disminución del tamaño de gota en las emulsiones formuladas.

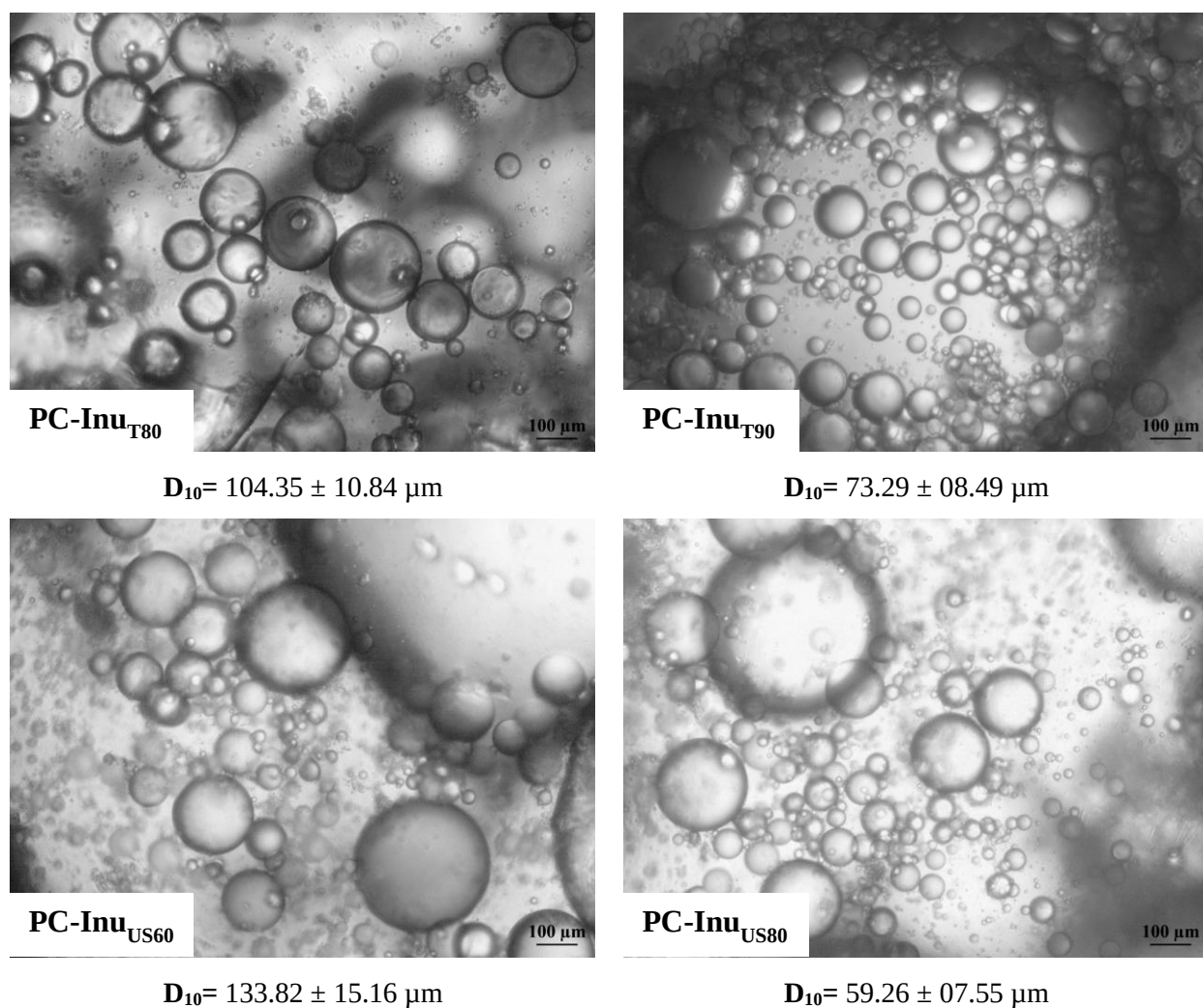


Figura 9. Micrografías ópticas de conjugados PC-Inu tratados con temperatura (T) o con ultrasonido (US).

8. Conclusiones

La formación de conjugados inducidos por la reacción de Maillard ocasionó cambios en la estructura de PC-Inu al reordenar los compuestos de Amadori hasta la formación de melanoidinas, lo que mejoró sus propiedades funcionales. El proceso de conjugación mejoró las características anfifílicas de los biopolímeros utilizados, facilitando las interacciones conjugados-aceite, y por lo tanto logrando una mejor capacidad para estabilizar una emulsión.

Los conjugados PC-Inu mostraron cambios en las cargas superficiales, lo que les permitió actuar como emulsionantes con mayor eficacia. Dichos conjugados también exhibieron un reordenamiento estructural por efecto de la RM, lo que mejoró su afinidad en la interfaz aceite-agua. También, las propiedades reológicas e interfaciales fueron modificadas en comparación a mezclas PC-Inu sin ningún tratamiento.

Por otra parte, el uso de métodos convencionales, como la aplicación de un tratamiento térmico o uno asistido por ultrasonido para inducir la RM, resultó ser una técnica eficaz para formar conjugados PC-Inu. Esto se pudo comprobar al observarse un incremento en la producción de productos intermedios y finales de la RM (la base de Schiff y las melanoidinas). El uso de un tratamiento asistido por ultrasonido mostró mayor efecto en la formación de conjugados de Maillard, al desencadenar una mayor producción de melanoidinas en comparación con los conjugados formados mediante un proceso térmico. Asimismo, el tratamiento asistido con ultrasonido favoreció a obtener emulsiones con porcentajes más altos.

Los biopolímeros utilizados, PC e Inu, mostraron una buena interacción entre sí, lo que favoreció el desarrollo de la RM para la formación de conjugados. El uso conjunto de estos

biopolímeros puede ofrecer propiedades funcionales adecuadas para su uso como agentes emulsificantes y, posiblemente, ampliar su aplicación a diversas áreas.

9. Referencias

Ambigaipalan, P., Al-Khalifa, A. S., & Shahidi, F. (2015). Antioxidant and angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activities of date seed protein hydrolysates prepared using Alcalase, Flavourzyme and Thermolysin. *Journal of Functional Foods*, 18, 1125-1137. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.021>

Barbosa, J. M., Ushikubo, F. Y., de Figueiredo Furtado, G., & Cunha, R. L. (2019). Oil in water emulsions stabilized by maillard conjugates of sodium caseinate-locust bean gum. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 40(5), 634-645. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1476152>

Bhanja, A., Sutar, P.P., & Mishra, M. (2022a). Inulin-A polysaccharide: Review on its functional and prebiotic efficacy. *Journal of Food Biochemistry*, 46(12), e14386. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14386>

Bhanja, A., Nayak, N., Mukherjee, S., Sutar, P.P., & Mishra, M. (2022b). Treating the onset of diabetes using probiotics along with prebiotic from pachyrhizus erosus in high-fat diet fed drosophila melanogaster. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 884-903. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09962-0>

Cai, Z., Wei, Y., Shi, A., Zhong, J., Rao, P., Wang, Q., & Zhang, H. (2023). Correlation between interfacial layer properties and physical stability of food emulsions: Current trends, challenges, strategies, and further perspectives. *Advances in Colloid and Interface Science*, 313, 102863. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102863>

Chailangka, A., Autavapromporn, N., Karnjanapratum, S., Leksawasdi, N., Castagnini, J.M., Barba, F. J., Mousavi, K.A. & Phimolsiripol, Y. (2024). Kinetic stability, gastrointestinal fate, and cytotoxicity of vitamin D3 emulsion incorporated with cricket

protein-fructooligosaccharide conjugate. *Food Hydrocolloids*, 146, 109288.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109288>

Chen, W., Ma, X., Wang, W., Lv, R., Guo, M., Ding, T., Ye, X., Miao, S., & Liu, D. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 95, 298-307.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.030>

Chen, M., Fan, B., Liu, S., Imam, K.M.S.U., Xie, Y., Wen, B., & Xin, F. (2020). The in vitro effect of fibers with different degrees of polymerization on human gut bacteria. *Frontiers in microbiology*, 11, 521973. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00819>

Chen, W., Wang, W., Guo, M., Li, Y., Meng, F., & Liu, D. (2022). Whey protein isolate gum Acacia Maillard conjugates as emulsifiers for nutraceutical emulsions: Impact of glycation methods on physicochemical stability and in vitro bioaccessibility of betacarotene emulsions. *Food Chemistry*, 375, 131706.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131706>

Consoli, L., Dias, R.A., Rabelo, R.S., Furtado, G.F., Sussulini, A., Cunha, R.L., & Hubinger, M.D. (2018). Sodium caseinate-corn starch hydrolysates conjugates obtained through the Maillard reaction as stabilizing agents in resveratrol-loaded emulsions. *Food Hydrocolloids*, 84, 458-472. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.017>

Cornes, R., Sintes, C., Peña, A., Albin, S., O'Brien, K.O., Abrams, S.A., & Donangelo, C.M. (2022). Daily intake of a functional synbiotic yogurt increases calcium absorption in young adult women. *The Journal of Nutrition*, 152(7), 1647-1654.

<https://doi.org/10.1093/jn/nxac088>

Cuevas-Bernardino, J.C., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E.J. (2016). Physicochemical characterisation of hawthorn

pectins and their performing in stabilising oil-in-water emulsions. *Reactive and Functional Polymers*, 103, 63-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.03.024>

Das, M., Devi, L. M., & Badwaik, L. S. (2022). Ultrasound-assisted extraction of pumpkin seeds protein and its physicochemical and functional characterization. *Applied Food Research*, 2(1), 100121. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100121>

Davidek, T., Gouezec, E., Devaud, S., & Blank, I. (2008). Origin and Yields of acetic acid in pentose-based Maillard reaction systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1126(1), 241-243. <https://doi.org/10.1196/annals.1433.053>

de Oliveira, F.C., Coimbra, J.S.D.R., de Oliveira, E.B., Zuñiga, A.D.G., & Rojas, E.E.G. (2016). Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(7), 1108-1125. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755669>

Doost, A.S., Nasrabadi, M.N., Wu, J., A'yun, Q., & Van der Meeren, P. (2019). Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. *Trends in food science & technology*, 91, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.011>

Dotto, J.M., & Chacha, J.S. (2020). The potential of pumpkin seeds as a functional food ingredient: A review. *Scientific African*, 10, e00575. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00575>

Du, H., Zhang, J., Wang, S., Manyande, A., & Wang, J. (2022). Effect of high-intensity ultrasonic treatment on the physicochemical, structural, rheological, behavioral, and foaming properties of pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.)-seed protein isolates. *LWT*, 155, 112952. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112952>

Du, L., Ru, Y., Weng, H., Zhang, Y., Chen, J., Xiao, A., & Xiao, Q. (2024). Agar-gelatin Maillard conjugates used for Pickering emulsion stabilization. *Carbohydrate Polymers*, 340, 122293. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122293>

Du, Y.L., Huang, G.Q., Wang, H.O., & Xiao, J.X. (2018). Effect of high coacervation temperature on the physicochemical properties of resultant microcapsules through induction of Maillard reaction between soybean protein isolate and chitosan. *Journal of Food Engineering*, 234, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.020>

Feng, J., Wu, S., Wang, H., & Liu, S. (2016). Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction. *Journal of Functional Foods*, 27, 55-68. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.09.002>

Gao, D., Helikh, A., & Duan, Z. (2021). Determining the effect of pH-shifting treatment on the solubility of pumpkin seed protein isolate. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5(11), 113. <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2021.242334>

Guo, X., Tian, S., & Small, D.M. (2010). Generation of meat-like flavourings from enzymatic hydrolysates of proteins from *Brassica sp.* *Food Chemistry*, 119(1), 167-172. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.089>

Han, J.R., Yan, J.N., Sun, S.G., Tang, Y., Shang, W.H., Li, A.T., Guo, X.K., Wu, H.T., Zhu, B.W., & Xiong, Y.L. (2018). Characteristic antioxidant activity and comprehensive flavor compound profile of scallop (*Chlamys farreri*) mantle hydrolysates-ribose Maillard reaction products. *Food chemistry*, 261, 337-347. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.044>

Hiller, B., & Lorenzen, P.C. (2010). Functional properties of milk proteins as affected by Maillard reaction induced oligomerisation. *Food Research International*, 43(4), 1155-1166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.006>

Hong, X., Zhao, Q., Liu, Y., & Li, J. (2023). Recent advances on food-grade water-in-oil emulsions: Instability mechanism, fabrication, characterization, application, and research trends. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(10), 1406-1436. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1964063>

Huang, G. Q., Wang, H. O., Wang, F. W., Du, Y. L., & Xiao, J. X. (2020). Maillard reaction in protein-polysaccharide coacervated microcapsules and its effects on microcapsule properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 1194-1201. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.087>

Hussain, A., Hussain, M., Ashraf, W., Karim, A., Aqeel, S. M., Khan, A., Hussain, A., Khan, S., & Lianfu, Z. (2024). Preparation, characterization and functional evaluation of soy protein isolate-peach gum conjugates prepared by wet heating Maillard reaction. *Food Research International*, 192, 114681. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114681>

Kan, X., Chen, G., Zhou, W., & Zeng, X. (2021). Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: Source, preparation and functional properties. *Food Research International*, 150, 110740. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110740>

Kan, X., Hu, Y., Huang, Y., Fan, X., Chen, G., Ye, H., & Zeng, X. (2023). Characterization of whey protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate and evaluation of the effects of conjugate-stabilized emulsion on microbiota of human fecal cultures. *Food Hydrocolloids*, 134, 108060. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108060>

Kan, X., Zhang, K., Fan, X., Chen, L., & Zeng, X. (2024). Maillard conjugates of whey protein isolate and gum Arabic: Enhanced functional properties and unique gut microbiota regulation. *Food Hydrocolloids*, 152, 109911. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109911>

Karabulut, G., & Feng, H. (2024). Enhancing techno-functional attributes of plant protein and curcumin complexation: A comparative examination of Maillard conjugation induced by manothermosonication and ultrasonication. *Food Chemistry*, 442, 138488. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138488>

Kchaou, H., Benbettaieb, N., Jridi, M., Abdelhedi, O., Karbowiak, T., Brachais, C.H., Léonard, M.L., Debeaufort, F., & Nasri, M. (2018). Enhancement of structural, functional and antioxidant properties of fish gelatin films using Maillard reactions. *Food Hydrocolloids*, 83, 326-339. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.011>

Kchaou, H., Benbettaieb, N., Jridi, M., Nasri, M., & Debeaufort, F. (2019). Influence of Maillard reaction and temperature on functional, structure and bioactive properties of fish gelatin films. *Food Hydrocolloids*, 97, 105196. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105196>

Khoder, M., Gbormoi Sr, H.K., Ryan, A., Karam, A., & Alany, R.G. (2019). Potential use of the maillard reaction for pharmaceutical applications: Gastric and intestinal controlled release alginate-albumin beads. *Pharmaceutics*, 11(2), 83. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11020083>

Kumar, A., Kaur, R., Kumar, V., Kumar, S., Gehlot, R., & Aggarwal, P. (2022). New insights into water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsions: Properties, fabrication, instability mechanism, and food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 128, 22-37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.07.016>

Lalnunthari, C., Devi, L. M., Amami, E., & Badwaik, L. S. (2019). Valorisation of pumpkin seeds and peels into biodegradable packaging films. *Food and bioproducts processing*, 118, 58-66. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.015>

Li, J., Yang, J., Li, J., Gantumur, M.A., Wei, X., Oh, K.C., & Jiang, Z. (2023). Structure and rheological properties of extruded whey protein isolate: Impact of inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 1570-1578. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.268>

Li, R., Cui, Q., Wang, G., Liu, J., Chen, S., Wang, X., Wang, X., & Jiang, L. (2019). Relationship between surface functional properties and flexibility of soy protein isolate-glucose conjugates. *Food Hydrocolloids*, 95, 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.030>

Li, Z., Lin, L., Fu, G., Guo, Z., & Zhang, C. (2024). Insight on the emulsifying mechanisms of low-salt type emulsions stabilized by Maillard conjugates: Myofibrillar protein peptide-dextrin with different degrees of hydrolysis. *Food Chemistry*, 433, 137151. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137151>

Liang, S., Tran, H. L., & Were, L. (2018). Lowering greening of cookies made from sunflower butter using acidic ingredients and effect on reducing capacity, tryptophan and protein oxidation. *Food chemistry*, 252, 318-326. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.118>

Liu, J., Fang, C., Xu, X., Su, Q., Zhao, P., & Ding, Y. (2019). Physico-chemical and functional properties of silver carp myosin glycated with konjac oligo-glucomannan: Effects of deacetylation. *Food chemistry*, 291, 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.153>

Liu, X., Xia, B., Hu, L. T., Ni, Z. J., Thakur, K., & Wei, Z. J. (2020). Maillard conjugates and their potential in food and nutritional industries: A review. *Food frontiers*, 1(4), 382-397. <https://doi.org/10.1002/fft2.43>

Ma, Y., Zang, J., Qing, M., Xiao, Y., Zhang, H., Chi, Y., & Chi, Y. (2023). Glycosylation of egg white protein with maltodextrin in the dry state: Changes in structural and gel properties. *Food Chemistry*, 401, 134113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134113>

Martinez-Alvarenga, M. S., Martinez-Rodriguez, E. Y., Garcia-Amezquita, L. E., Olivas, G. I., Zamudio-Flores, P. B., Acosta-Muniz, C. H., & Sepulveda, D. R. (2014). Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate–Maltodextrin conjugates. *Food Hydrocolloids*, 38, 110-118. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.006>

Martins, J.T., Cerqueira, M.A., Bourbon, A.I., Pinheiro, A.C., Souza, B.W., & Vicente, A.A. (2012). Synergistic effects between κ -carrageenan and locust bean gum on physicochemical properties of edible films made thereof. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 280-289. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.03.004>

Masoumi, B., Tabibiazar, M., Fazelioukouei, T., Mohammadifar, M., & Hamishehkar, H. (2023). Pickering emulsion stabilized by conjugated sodium caseinate-ascorbic acid nanoparticles: Synthesis and physicochemical characterization. *Food Hydrocolloids*, 145, 109168. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109168>

Mateescu, A.L., Mincu, N.B., Vasilca, S., Apetrei, R., Stan, D., Zorilă, B., & Stan, D. (2021). The influence of sugar–protein complexes on the thermostability of C-reactive protein (CRP). *Scientific Reports*, 11(1), 13017. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92522-3>

Mc Clements. (2004). Role of hydrocolloids as emulsifiers in foods en Williams PA, Phillips, GO. (Eds.). *Gums & Stabilisers for the Food Industry*, 12: 381-393. <https://doi.org/10.1039/9781847551214-00379>

Meng, Y., Zhao, X., Jiang, Y., Ban, Q., & Wang, X. (2023). Effect of Maillard reaction conditions on the gelation and thermal stability of whey protein isolate/d-tagatose conjugates. *Food Chemistry*, 405, 134928. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134928>

Naik, R.R., Wang, Y., & Selomulya, C. (2022). Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(25), 7036-7061. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1910139>

Nooshkam, M., & Madadlou, A. (2016). Maillard conjugation of lactulose with potentially bioactive peptides. *Food Chemistry*, 192, 831-836. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.094>

Nooshkam, M., Varidi, M., & Verma, D. K. (2020). Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131, 109003. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003>

Nooshkam, M., & Varidi, M. (2020). Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: A review. *Food Hydrocolloids*, 100, 105389. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105389>

O'Mahony, J.A., Drapala, K.P., Mulcahy, E.M., & Mulvihill, D.M. (2017). Controlled glycation of milk proteins and peptides: Functional properties. *International Dairy Journal*, 67, 16-34. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.09.012>

Øye, G., Simon, S., Rustad, T., & Paso, K. (2023). Trends in food emulsion technology: Pickering, nano-, and double emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 50, 101003. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.101003>

Parandi, E., Mousavi, M., Assadpour, E., Kiani, H., & Jafari, S.M. (2024). Sesame protein hydrolysate-gum Arabic Maillard conjugates for loading natural anthocyanins: Characterization, in vitro gastrointestinal digestion and storage stability. *Food Hydrocolloids*, 148, 109490. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109490>

Petkova, N., Hambarlyiska, I., Tumbariski, Y., Vrancheva, R., Raeva, M., & Ivanov, I. (2022). Phytochemical composition and antimicrobial properties of burdock (*Arctium lappa* L.) roots extracts. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12, 2826-2842. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.28262842>

Pham, T.T., Tran, T.T.T., Ton, N.M.N., & Le, V.V.M. (2017). Effects of pH and salt concentration on functional properties of pumpkin seed protein fractions. *Journal of food processing and preservation*, 41(4), e13073. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13073>

Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., & Jasniewski, J. (2017). Effect of glycosylation with gum Arabic by Maillard reaction in a liquid system on the emulsifying properties of canola protein isolate. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1620-1627. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.044>

Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., & Jasniewski, J. (2018). Structural properties of canola protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system. *Food Hydrocolloids*, 79, 228-234. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.001>

Ren, Z., Chen, Z., Zhang, Y., Lin, X., Li, Z., Weng, W., Yang, H., & Li, B. (2021). Effect of heat-treated tea water-insoluble protein nanoparticles on the characteristics of Pickering emulsions. *LWT*, 149, 111999. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111999>

Ruelas, A. E. A., Calleros, P. A. D., Díaz, L. A. O., Ruíz, J. Ángel P., Parra, A. C., & Salas, A. M. B. (2023). Propiedades fisicoquímicas, contenido de fenoles y melanoidinas

en una vinaza de sotol de nombre de dios, Durango, México. *South Florida Journal of Development*, 4(3), 1417–1432. <https://doi.org/10.46932/sfjdv4n3-029>

Sánchez-Mendoza, N.A., Ruiz-Ruiz, J.C., Dávila-Ortiz, G., & Jiménez-Martínez, C. (2017). Propiedades tecnofuncionales y biológicas de harina, aislado y fracciones proteicas mayoritarias de semillas de Inga paterno. *CYTA-Journal of Food*, 15(3), 400-408. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1286522>

Sert, D., Rohm, H., & Struck, S. (2022). Ultrasound-assisted extraction of protein from pumpkin seed press cake: impact on protein yield and techno-functionality. *Foods*, 11(24), 4029. <https://doi.org/10.3390/foods11244029>

Soltanahmadi, S., Wang, M., Gul, M.K., Stribițaia, E., & Sarkar, A. (2023). Tribology and rheology of potato protein and pectin mixtures and Maillard conjugates. *Sustainable Food Proteins*, 1(4), 149-163. <https://doi.org/10.1002/sfp2.1018>

Spotti, M.J., Loyeau, P.A., Marangón, A., Noir, H., Rubiolo, A.C., & Carrara, C.R. (2019). Influence of Maillard reaction extent on acid induced gels of whey proteins and dextrans. *Food Hydrocolloids*, 91, 224-231. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.020>

Spotti, M.J., Martinez, M.J., Pilosof, A.M., Candioti, M., Rubiolo, A.C., & Carrara, C.R. (2014). Influence of Maillard conjugation on structural characteristics and rheological properties of whey protein/dextran systems. *Food Hydrocolloids*, 39, 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.01.014>

Sun, T., Qin, Y., Xie, J., Xu, H., Gan, J., Wu, J., Bian, X., Li, X., Xiong, Z., & Xue, B. (2019). Effect of Maillard reaction on rheological, physicochemical and functional properties of oat β -glucan. *Food Hydrocolloids*, 89, 90-94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.029>

Sun, T., Xu, H., Zhang, H., Ding, H., Cui, S., Xie, J., Xue, B., & Hua, X. (2018). Maillard reaction of oat β -glucan and the rheological property of its amino acid/peptide conjugates. *Food Hydrocolloids*, 76, 30-34. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.025>

Tena, J., Diaz, E., de Diego, R., & Fueyo, N. (2025). Sample preparation for sugar and melanoidin measurement during the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 145623. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.145623>

Troise, A.D., & Fogliano, V. (2013). Reactants encapsulation and Maillard reaction. *Trends in food science & technology*, 33(1), 63-74. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.002>

Tuohy, K.M., Hinton, D.J., Davies, S.J., Crabbe, M.J.C., Gibson, G.R., & Ames, J.M. (2006). Metabolism of Maillard reaction products by the human gut microbiota—implications for health. *Molecular nutrition & food research*, 50(9), 847-857. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500126>

Urango, A.C.M., Meireles, M.A.A., & Silva, E.K. (2024). Maillard conjugates produced from proteins and prebiotic dietary fibers: Technological properties, health benefits and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 147, 104438. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104438>

Vinayashree, S., & Vasu, P. (2021). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry*, 340, 128177. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128177>

Wang, M., Fan, L., Yan, X., & Li, J. (2024). Stability and lipid oxidation of oil-in-water emulsion stabilized by Maillard conjugates of soybean phosphatidylethanolamine

with different polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 156, 110343.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110343>

Wang, P., Sun, G., Lu, P., Liu, Y., Zhu, Y., & Chen, F. (2022). Mitigation effects of high methoxyl pectin on acrylamide formation in the Maillard model system. *Food Chemistry*, 378, 132095. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132095>

Wang, R., Zhai, X., Hartel, R. W., Chang, Y., Pang, W., Han, W., Lv, H., & Wang, S. (2024b). Effects of saccharide type and extended heating on the Maillard reaction and physicochemical properties of high-solid gelatin gels. *Food Chemistry*, 459, 140249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140249>

Wang, W. D., Li, C., Bin, Z., Huang, Q., You, L.J., Chen, C., Fu, X., & Liu, R.H. (2020). Physicochemical properties and bioactivity of whey protein isolate-inulin conjugates obtained by Maillard reaction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 326-335. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.086>

Wangkulkool, M., Ketthaisong, D., Tangwongchai, R., Boonmars, T., & Lomthaisong, K. (2023). Microencapsulation of Chia Oil Using Whey Protein and Gum Arabic for Oxidation Prevention: A Comparative Study of Spray-Drying and Freeze-Drying Methods. *Processes*, 11(5), 1462. <https://doi.org/10.3390/pr11051462>

Wei, Q., Liu, T., & Sun, D.W. (2018). Advanced glycation end-products (AGEs) in foods and their detecting techniques and methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 32-45. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.020>

Wei, C.K., Ni, Z.J., Thakur, K., Liao, A.M., Hu, F., Huang, J.H., & Wei, Z.J. (2019). Acute, genetic and sub-chronic toxicities of flaxseed derived Maillard reaction products. *Food and chemical toxicology*, 131, 110580. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110580>

Wei, C.K., Ni, Z.J., Thakur, K., Liao, A.M., Huang, J.H., & Wei, Z.J. (2020). Aromatic effects of immobilized enzymatic oxidation of chicken fat on flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) derived Maillard reaction products. *Food chemistry*, 306, 125560. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125560>

Wu, J., Li, H., A'yun, Q., Doost, A.S., De Meulenaer, B., & Van der Meeren, P. (2021). Conjugation of milk proteins and reducing sugars and its potential application in the improvement of the heat stability of (recombined) evaporated milk. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.019>

Yousefi, M., Khorshidian, N., & Hosseini, H. (2018). An overview of the functionality of inulin in meat and poultry products. *Nutrition & Food Science*, 48, 819–835. <https://doi.org/10.1108/NFS-11-2017-0253>

Zeng, X., Bai, W., Zhu, X., & Dong, H. (2017). Browning intensity and taste change analysis of chicken protein–sugar maillard reaction system with antioxidants and different drying processes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e13117. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13117>

Zha, F., Dong, S., Rao, J., & Chen, B. (2019). Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285, 130-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.151>

Zhang, A., Yu, J., Wang, G., Wang, X., & Zhang, L. (2019). Improving the emulsion freeze-thaw stability of soy protein hydrolysate-dextran conjugates. *LWT*, 116, 108506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108506>

Zhong, L., Ma, N., Wu, Y., Zhao, L., Ma, G., Pei, F., & Hu, Q. (2019). Characterization and functional evaluation of oat protein isolate-*Pleurotus ostreatus* β -

glucan conjugates formed via Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 87, 459-469.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.034>

Zhu, T., Ma, L., Jiang, H., Li, W., Guo, X., Yang, C., & Bu, G. (2023). Functional, structural properties of pea protein isolate-xylooligosaccharide glycosylated conjugate and its application in O/W emulsion preparation. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 6135-6143. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02102-4>

Zhu, X., Meng, L., Song, S., Ding, H., & Guo, Q. (2022). Insight into the mechanisms of the excellent emulsification properties of whey protein isolate-arabinoxylan conjugates. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 27, 100312. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2022.100312>

Žilić, S., Kocadağlı, T., Vančetović, J., & Gökmen, V. (2016). Effects of baking conditions and dough formulations on phenolic compound stability, antioxidant capacity and color of cookies made from anthocyanin-rich corn flour. *LWT-Food Science and technology*, 65, 597-603. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.057>

10. Anexos

Congresos:

- Presentación en XLVI Encuentro Nacional de la AMIDIQ con el tema titulado “Efecto de la aplicación de ultrasonido en las propiedades funcionales de conjugados de Maillard proteína de calabaza-inulina”, del 13 al 16 de mayo de 2025.

Retribución Social:

- Presentación de video de divulgación titulado “¡La unión hace la fuerza!” en Simposio Perspectivas en Biotecnología 2025. 26 de mayo de 2025.
- Ponencia titulada “La microencapsulación como técnica de administración de compuestos bioactivos”, impartida a alumnos y docentes de la Licenciatura en Alimentación Sustentable de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, celebrada el 05 de mayo de 2025, en el marco del ciclo permanente de conferencias de Tecnologías Nuevas en el Desarrollo de Alimentos.
- Conferencia titulada “Importancia de una Buena formación académica: una paso hacia la ciencia”, dirigida a alumnos de bachillerato en Escuela Preparatoria Vespertina Lázaro Cárdenas del Río de Las Margaritas, Chiapas.
- Presentación de video de divulgación titulado “¡Uuuf que calor!, paso hacia la formación de alimentos funcionales” en Simposio Perspectivas en Biotecnología 2024. 12 de julio de 2024.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00326

Matrícula: 2233801424

FORMACION DE CONJUGADOS DE
MAILLARD BASADOS EN
COMPLEJOS PROTEINA DE
CALABAZA-INULINA Y
EVALUACIÓN DE SUS
PROPIEDADES FUNCIONALES.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 12:00 horas del día 11 del mes de noviembre del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. YENIZEY MERIT ALVAREZ CISNEROS
DRA. OFELIA SANDOVAL CASTILLA
DRA. MARIA AURORA PINTOR JARDINES
DRA. MARIA EVA RODRIGUEZ HUEZO



CAROLINA ESTUDILLO MARQUEZ
ALUMNA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

DE: CAROLINA ESTUDILLO MARQUEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALBA BERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. YENIZEY MERIT ALVAREZ CISNEROS

VOCAL

DRA. OFELIA SANDOVAL CASTILLA

VOCAL

DRA. MARIA AURORA PINTOR JARDINES

SECRETARIA

DRA. MARIA EVA RODRIGUEZ HUEZO