

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Trabajo Final de Graduación para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

**Evaluación de concentrados de proteínas de leguminosas nativas para su potencial uso  
como materia prima en la elaboración de prototipos de un embutido análogo a las  
salchichas de carne**

Elaborado por:  
Grettel Villalobos Alpizar  
Carné: B57783

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio  
San José, Costa Rica  
Abril, 2024

## TRIBUNAL EXAMINADOR

Trabajo final de graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos

Elaborado por:  
Grettel Villalobos Alpízar

Aprobado por:



---

PhD. Eric Wong González  
Presidente del Tribunal Examinador



---

M.Sc. Adriana Araya Morice  
Directora de la Tesis de graduación



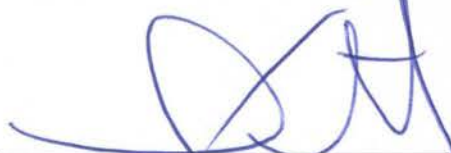
---

M.Sc. Laura Arroyo Esquivel  
Asesora de la Tesis de graduación



---

PhD. Patricia Esquivel Rodríguez  
Asesora de la Tesis de graduación



---

PhD. Óscar Acosta Montoya  
Profesor Designado

## **DEDICATORIA**

Este trabajo se lo dedico con mucho cariño a mis abuelitos tito Julio, tita Luz, tito Sayo y tita Chavela, y a mis papás Marvin y Ana, por formarme, darme la oportunidad de estudiar y apoyarme en cada paso de mi vida.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida y por todo lo que me permitió vivir durante estos años de universidad.

A mi familia, principalmente a mis papás y hermanos por acompañarme y ser mi mayor motivación durante esta etapa, aguantar todas mis crisis e impulsarme a seguir adelante.

A mis compañeras y amigas de la U, especialmente a Kathy, porque su compañía hizo más bonita mi experiencia a lo largo de la carrera y me ayudó a llegar hasta el final.

A todos los profesores que formaron parte de mi educación universitaria. De manera especial a la profe Adriana Araya por ser mi directora de tesis y por dedicarse con tanto esmero en esta labor, gracias por su paciencia y apoyo. A las profesoras Laura Arroyo y Patricia Esquivel por estar atentas a asesorarme durante este trabajo.

A los asistentes que me colaboraron en las diferentes etapas del proyecto, Natalia Arauz, Dani Quintero, Pablo y Diana, gracias por su excelente desempeño y su amena compañía.

A Graciela, Eduardo, Leidy y Cristian por apoyarme con toda amabilidad en todo lo referente al uso del laboratorio de química del CITA y de la escuela.

## ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EXAMINADOR.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	x
<b>1. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>6</b>
2.1 Objetivo general .....	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
<b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>7</b>
<b>3.1 Consumo de carne .....</b>	<b>7</b>
3.1.1 Demanda y consumo de carne en Costa Rica y el mundo .....	7
3.1.2 Importancia de la reducción del consumo de carne .....	7
3.1.3 Nuevas tendencias de consumo: veganismo, flexitarianismo y vegetarianismo .....	10
<b>3.2 Proteínas alimentarias .....</b>	<b>11</b>
3.2.1 Generalidades.....	11
3.2.2 Fuentes alternativas de proteína.....	13
<b>3.3 Proteínas de origen vegetal.....</b>	<b>13</b>
3.3.1 Generalidades.....	13
3.3.2 Leguminosas-legumbres .....	14
3.3.4 Legumbres sujetas a estudio .....	16
<b>3.4 Extractos de proteína vegetal .....</b>	<b>19</b>
3.4.1 Métodos de extracción .....	19
3.4.2 Métodos de secado.....	21
3.4.3 Métodos para la caracterización de los extractos de proteína.....	23
3.4.4 Métodos para la determinación de la funcionalidad nutricional y tecnológica.....	25

<b>3.5</b>	<b>Productos análogos de la carne</b> .....	<b>27</b>
3.5.1	Salchicha a base de proteína vegetal.....	28
3.5.2	Oferta en el mercado.....	28
3.5.3	Retos a nivel tecnológico, nutricional y sensorial.....	29
3.5.4	Métodos para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de los análogos de salchichas de carne.....	30
<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
<b>4.1</b>	<b>Localización del estudio</b> .....	<b>33</b>
<b>4.2</b>	<b>Materia prima</b> .....	<b>33</b>
<b>4.3</b>	<b>Pruebas preliminares</b> .....	<b>34</b>
4.3.1	Evaluación de las condiciones de secado en el equipo “Mini Spray Dryer B-290” para el secado por aspersión de los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio. ....	34
4.3.2	Prueba de las formulaciones para la elaboración de los prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne.....	35
<b>4.4</b>	<b>Metodología</b> .....	<b>36</b>
4.4.1	Caracterización fisicoquímica de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos tipos de secado durante la extracción. ....	36
a.	a. Método extracción de las proteínas de leguminosas.....	37
b.	b. Métodos de secado .....	37
c.	c. Métodos de análisis .....	38
4.4.2	Evaluación de la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad in vitro de los concentrados de proteínas de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado luego de la extracción, y de un concentrado de proteína de soya comercial. ....	41
d.	d. Métodos de análisis .....	42
4.4.3	Comparación de las características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas de carne elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados.....	44
a.	Formulación y proceso de elaboración de los prototipos de embutido análogo a las salchichas de carne .....	45
b.	Métodos de análisis .....	48
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>50</b>
5.1	Caracterización fisicoquímica de los concentrados de proteína de las leguminosas .....	50

5.2 Funcionalidad tecnológica y digestibilidad in vitro de los concentrados de proteínas de cuatro leguminosas nativas.....	58
5.3 Características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas de carne elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa. ....	66
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>73</b>
<b>7. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>75</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>86</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Métodos de extracción de las proteínas de fuentes alternativas. ....	20
Figura 2. Representación del proceso de secado por aspersión. ....	21
Figura 3. Espacio de color CIE lab. ....	31
Figura 4. Flujo de proceso salchicha análoga a la de carne con concentrado de soya o concentrados de proteína de leguminosas elegidos en el objetivo 2. ....	47
Figura 5. Rendimiento de extracción promedio de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas nativas en estudio. ....	50
Figura 6. Contenido de proteína promedio de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	54
Figura 7. Muestras para la determinación de los parámetros de color de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	57
Figura 8. Solubilidad promedio de los concentrados de proteína en estudio a diferentes valores de ph: A) ph 4, B) ph 6, y C) ph 8. ....	60
Figura 9. Capacidad de retención de agua (CRA) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	61
Figura 10. Capacidad de retención de grasa (CRG) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	62
Figura 11. A) índice de actividad emulsionante (IAE) y b) índice de estabilidad emulsionante (IEE) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	64
Figura 12. Estabilidad de la emulsión promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados. ....	68
Figura 13. Muestras para la determinación de color de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados. ....	71

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro I. Sistemas de clasificación de las proteínas.....	11
Cuadro II. Parámetros del secador y resultados de las pruebas en el secador “Mini Spray Dryer b-290 (Büchi, Suiza)”.....	34
Cuadro III. Formulación de los prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne elaborados para la prueba preliminar de la formulación. ....	35
Cuadro IV. Ingredientes y porcentaje de cada uno para la elaboración de los prototipos de salchicha análoga a la de carne con el concentrado comercial de soya y los concentrados de gandul y frijol Cuba preparados en el laboratorio. ....	45
Cuadro V. Rendimiento de secado y $A_w$ promedio de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersión y liofilización.....	52
Cuadro VI. Humedad de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersión y liofilización. ....	53
Cuadro VII. Resultados promedio de los parámetros de color evaluados en la escala CIE $L^*a^*b^*$ de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización. ....	56
Cuadro VIII. Digestibilidad <i>in vitro</i> de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersión y liofilización. ....	58
Cuadro IX. Parámetros del perfil de textura de los prototipos de embutidos análogos a las salchichas de carne, elaborados con los concentrados de proteína mejor evaluados. ....	66
Cuadro X. pH promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína de gandul L, Cuba L y concentrado de soya comercial. ....	69
Cuadro XI. Pérdidas por cocción promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados. ....	70
Cuadro XII. Parámetros de color de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados. ....	70

## ABREVIATURAS

**Gan:** Gandul

**Man:** frijol Mantequilla

**Cab:** frijol Cabécar

**Cub:** frijol Cuba

**SA:** secado por aspersión

**L:** liofilizado

**A<sub>w</sub>:** Actividad de agua

**CRA:** capacidad de retención de agua

**CRG:** capacidad de retención de grasa

**IAE:** índice de actividad emulsionante

**IEE:** índice de estabilidad emulsionante

## RESUMEN

Villalobos Alpizar, Grettel.

### **Evaluación de concentrados de proteínas de leguminosas nativas para su potencial uso como materia prima en la elaboración de prototipos de un embutido análogo a las salchichas de carne**

Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos – San José, Costa Rica.

Villalobos Alpizar, G., 2024. 96 pág. 13 il. 144 refs.

Se prepararon los concentrados de proteína de las leguminosas nativas gandul (*Cajanus cajan*), frijol Mantequilla (*Phaseolus lunatus*), frijol Cabécar (*Phaseolus vulgaris*) y frijol Cubá (*Phaseolus coccineus*), obtenidos mediante extracción alcalina y precipitación isoeléctrica, y secados mediante dos métodos posterior a la extracción: secado por aspersion (SA) y liofilización (L). Además, se evaluó un concentrado comercial de soya como estándar.

Para su caracterización se evaluaron las propiedades de rendimiento de extracción, rendimiento de secado, humedad, actividad de agua ( $A_w$ ), contenido de proteína y color instrumental. Se encontraron diferencias significativas para el rendimiento de extracción, que fue mayor para el concentrado de Cub L (con un rendimiento de  $9,9 \pm 0,7\%$ ) y también para el rendimiento de secado, en el que destacaron los concentrados de Gan L y Cub L. Los concentrados obtuvieron una  $A_w \leq 0,6$  y una humedad promedio de  $9,9 \pm 0,6\%$  ( $p=0,932$ ). Todos los concentrados de proteína presentaron un contenido de proteína superior a 80g/100g, lo que los clasifica como concentrados de proteína. En cuanto al color, también se obtuvieron diferencias significativas, los concentrados liofilizados obtuvieron valores de  $L^*$  más bajos e intensidad de color  $C^*$  más altas que sus semejantes secados por aspersion. La tonalidad ( $h^\circ$ ) del concentrado de soya comercial, Man SA, Gan L y Cub L fue cercana a  $90^\circ$ , lo que indica tonalidades amarillas; los demás concentrados presentaron valores entre los  $45^\circ$  y  $90^\circ$ , que señalan colores entre el rojo y el amarillo.

La evaluación de la funcionalidad tecnológica de los concentrados de proteína se realizó mediante la medición de los parámetros de digestibilidad *in vitro*, solubilidad a diferentes pH, capacidad de retención de agua (CRA), capacidad de retención de grasa (CRG), índice de actividad emulsionante (IAE) e índice de estabilidad emulsionante (IEE). Respecto a la digestibilidad *in vitro*, no se encontraron diferencias significativas entre los concentrados de proteína, se reporta el

valor promedio que es  $0,74 \pm 0,01$ g. Con el incremento en el pH aumentó la solubilidad del concentrado de proteína, a pH 4 sobresalieron los concentrados de Cub SA y L, a pH 6 el de gandul L y a pH 8 todos los concentrados de proteína presentaron la misma solubilidad, que en promedio es  $95 \pm 3\%$ , la cuál es significativamente mayor que la del concentrado comercial de soya. La CRA y CRG también fueron significativamente diferentes entre los concentrados, la CRA estuvo entre  $2,53 \pm 0,20$  y  $4,15 \pm 0,40$  g de agua /g de concentrado siendo los valores extremos para los concentrados de Gan SA y Cab L respectivamente, mientras que los valores de CRG fluctuaron entre  $3,00 \pm 0,63$  y  $5,60 \pm 0,50$  g de aceite/g de concentrado, que corresponden a los concentrados de Cab SA y Gan L. El resultado del análisis de varianza evidenció que existen diferencias significativas en el IAE y el IEE, los IAE estuvieron entre  $10,46 \pm 3,26$  m<sup>2</sup>/g y  $18,32 \pm 3,49$  m<sup>2</sup>/g, siendo el más bajo el concentrado de Gan L y el más alto el concentrado de Cab L, mientras que el IEE de los concentrados se encontró entre  $14,25 \pm 3,39$  min para el concentrado de Man SA y  $31,76 \pm 6,34$  min para el concentrado de Man L, concentrados con el menor y mayor IEE respectivamente.

De los concentrados de proteína en estudio se escogieron los concentrados de gandul y frijol Cuba liofilizados para la elaboración de prototipos de salchichas análogas a las de carne, los cuales se compararon contra un prototipo elaborado con un concentrado de soya comercial. Se determinaron las características del perfil de textura, estabilidad de la emulsión, pH, pérdidas por cocción y color instrumental de los prototipos elaborados. No se encontraron diferencias significativas en la dureza, pH y pérdidas de cocción entre los prototipos. Para los demás parámetros de textura el prototipo elaborado con el concentrado de Cuba L presentó una cohesividad y masticabilidad significativamente mayor y una adhesividad y elasticidad significativamente menor a la de los otros prototipos; además, este prototipo tuvo una estabilidad de la emulsión menor a la de sus iguales elaborados con los otros dos concentrados. Finalmente, para el color instrumental, el prototipo elaborado con el concentrado comercial de soya presentó valores de a\*, b\* y C\* mayores y una tonalidad h° menor que los elaborados con los concentrados de gandul L y Cuba L, que no presentaron diferencias entre sí. La luminosidad L\* sí fue mayor en el prototipo elaborado con el concentrado de Cuba L.

**Palabras clave:** Concentrados de proteína vegetal, leguminosas, secado por aspersion, liofilización, digestibilidad *in vitro*, propiedades funcionales, salchichas análogas a las de carne.

**M. Sc. Adriana Araya Morice**  
**Escuela de Tecnología de Alimentos.**

## 1. JUSTIFICACIÓN

Se estima que la población mundial pasará de 7 700 millones de personas en 2019 a 9 700 millones en 2050, este crecimiento acelerado de la población, el aumento en los ingresos, y la urbanización impulsan la demanda de alimentos y cambian las preferencias nutricionales de las personas hacia productos de origen animal y alimentos procesados (FAO, 2021a). Estos cambios repercuten también en la demanda de proteínas de origen animal, el informe Perspectivas Agrícolas OCDE-FAO 2020-2029 prevé un crecimiento del 12% en el consumo de carne durante la próxima década, aumento que se dará principalmente en los países en desarrollo (OCDE & FAO, 2020).

Una de las principales preocupaciones relacionadas con el incremento en la producción de carne en los años venideros es el impacto ambiental de su producción, esto puesto que existe evidencia de que la producción ganadera intensiva provoca efectos adversos en el ambiente, entre ellos la compactación y erosión del suelo debido al sobrepastoreo y a la producción intensiva de piensos y forraje. Además, la concentración de insumos y desechos animales han dado lugar a un aumento del uso de energía de combustibles fósiles, así como de las emisiones de metano y la contaminación del agua por nutrientes y antibióticos (FAO, 2021a).

Existe también una creciente preocupación por los efectos del consumo excesivo de carne en la salud de los consumidores. Si bien la carne es una fuente excepcional de proteína de alta calidad y de micronutrientes como el hierro y la vitamina B12 beneficiosos para un crecimiento y desarrollo saludable, estudios recientes han relacionado el consumo excesivo de proteínas de origen animal con el aumento en el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo II e hipercolesterolemia (Quesada & Gómez, 2019). Otros estudios también señalan que enfermedades como el hígado graso no alcohólico, las enfermedades inflamatorias del intestino, la obesidad y el cáncer colorrectal tienen relación directa con el consumo de carne. Por lo que se recomienda evitar la ingesta excesiva de carnes rojas y carnes procesadas y reducir su consumo a un nivel adecuado para la salud (Libera *et al.*, 2021).

Por otro lado, el informe del Estado de la Seguridad Alimentaria y la Nutrición en el Mundo del año 2021, indicó que en el 2020 alrededor de 2 370 millones de personas en el mundo carecieron de acceso a alimentos adecuados y se estima que para el año 2030 unos 660 millones de personas podrían seguir padeciendo hambre. Pero al mismo tiempo el número de personas con sobrepeso y obesidad en todo el mundo incrementa a un ritmo alarmante, debido principalmente a dietas poco saludables. Prevalciendo así la malnutrición en todas sus formas (FAO y OMS, 2020).

Por lo anterior, se vuelve urgente desarrollar opciones para aumentar la sostenibilidad de los sistemas alimentarios y agrícolas desde el punto de vista ambiental, de salud y de seguridad alimentaria, esto implica una mayor concientización de los consumidores sobre dietas ambientalmente sostenibles y con un adecuado contenido nutricional que evite la subalimentación, la carencia de micronutrientes y el sobrepeso y la obesidad, que a menudo coexisten en un mismo país (FAO, 2018).

Según la FAO y la OMS (2020) una dieta saludable sostenible es aquella que promueve todas las dimensiones de salud y el bienestar de las personas, tiene un bajo impacto ambiental, es accesible, segura, equitativa y culturalmente aceptable. En este sentido, dentro de las recomendaciones que dan estas organizaciones está aumentar el consumo de alimentos variados de origen vegetal, transitando a una dieta que contenga una menor proporción de calorías procedentes de alimentos de origen animal.

Uno de los nutrientes más importantes de la dieta son las proteínas, estas son polímeros de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos que tienen una estructura tridimensional definida (Nadathur *et al.*, 2017). Estas macromoléculas tienen un papel esencial en el crecimiento y desarrollo del cuerpo, ya que cumplen funciones críticas en la célula, tejidos, órganos y sistemas. Se desempeñan como hormonas, enzimas, transportadores, componentes del sistema inmune y proporcionan al organismo de los aminoácidos para la síntesis de proteínas (Quesada & Gómez, 2019).

Además de su valor nutricional, las proteínas proveen a los alimentos propiedades funcionales, es decir, propiedades fisicoquímicas y reológicas que pueden afectar el comportamiento de un sistema alimentario durante su preparación, procesamiento, almacenamiento y consumo. Estas propiedades son esenciales para hacer que los alimentos sean atractivos y agradables sensorialmente para su consumo, entre ellas destacan las propiedades de hidratación (solubilidad, retención de agua e hinchamiento), de superficie (propiedades de adsorción, capacidad emulsificante y espumante) y su comportamiento reológico (gelificación y viscosidad) (Baigts, 2016). Estas propiedades se relacionan con la forma en que las proteínas interactúan con otras moléculas, así como con el tamaño molecular, la estructura y la distribución de carga de las moléculas de la proteína (Day, 2013).

Los animales han sido la principal fuente de proteínas dietéticas, la carne se ha constituido como una fuente excepcional de proteína y aminoácidos esenciales, es decir, aquellos aminoácidos

que no pueden ser sintetizados por el organismo humano (Bohrer, 2017). Sin embargo, dada la problemática expuesta previamente, se ha vuelto necesaria la búsqueda y estudio de fuentes alternativas de proteína, como por ejemplo granos, semillas, hojas, leguminosas, microalgas, hongos e insectos (Fasolin *et al.*, 2019). Las fuentes de proteína vegetal han ganado popularidad en los últimos años debido a que representan una opción con beneficios para la salud y el medio ambiente. Dentro de esta categoría están las proteínas de los granos de cereales, como el trigo, arroz, maíz, cebada y sorgo; y las leguminosas, como la soja, lupino, garbanzos, frijoles, lentejas y guisantes (Day, 2013).

El aporte nutricional es uno de los aspectos que define la calidad de una nueva fuente alternativa de proteína, este puede evaluarse con la determinación de la concentración y disponibilidad de los aminoácidos esenciales y del nitrógeno total. También se han utilizado otros métodos como la digestibilidad de la proteína *in vivo* o *in vitro*, el puntaje de aminoácidos, el índice de eficiencia de proteínas y la puntuación de aminoácidos corregida por la digestibilidad de las proteínas (Day, 2013).

Se ha determinado que la mayoría de las proteínas vegetales son algo deficientes en cuanto a su perfil de aminoácidos, teniendo limitación en proveer uno o más de los aminoácidos esenciales. Sin embargo, la combinación de fuentes de proteína vegetal mejora la calidad de la proteína debido a sus perfiles de aminoácidos complementarios, ejemplo de ello es la mezcla de leguminosas con cereales (FAO, 2021c). Además, estos alimentos de origen vegetal aportan compuestos bioactivos como sustancias fitoquímicas y antioxidantes, fibra dietética, vitaminas como el folato y minerales como el hierro, que son esenciales para el organismo y se ha visto que proporcionan beneficios para la salud como la reducción de enfermedades cardiovasculares, mejora de los perfiles de lípidos en sangre, prevención de la anemia y promoción de la salud ósea (FAO, 2021c; Nadathur *et al.*, 2017).

En conjunto con la calidad nutricional, el estudio de las propiedades funcionales que se mencionaron anteriormente permite evaluar la utilidad de nuevas fuentes de proteínas alternativas para crear productos alimentarios. Estas propiedades se ven afectadas por motivos como la fuente de la proteína, el método de extracción y purificación, el ambiente en la matriz alimentaria (pH, temperatura, concentración de solventes y solutos, fuerza iónica, constante dieléctrica y presencia de otras moléculas como lípidos o carbohidratos) y las operaciones realizadas al alimento (mezclado, tratamientos térmicos, secado, entre otros) (Nadathur *et al.*, 2017).

El método de extracción ha sido un factor ampliamente estudiado en diversas fuentes de proteínas, existen varias técnicas que pueden clasificarse como métodos convencionales, estos incluyen las metodologías de uso común como la extracción a base de disolventes orgánicos, agua, sales, detergentes, disolventes ácidos y alcalinos. Por su parte, los métodos no convencionales son técnicas que se han desarrollado para mejorar los rendimientos de extracción y disminuir la contaminación ambiental provocada por los métodos convencionales, entre los que se encuentran la extracción asistida por enzimas y la extracción física (asistida por ultrasonido, campo eléctrico pulsado, microondas y alta presión) (Kumar *et al.*, 2021).

Otro de los factores que influye en las propiedades nutricionales y funcionales de los concentrados de proteína es el método de secado empleado para la obtención de un extracto en polvo, que permita su uso como ingrediente en las diferentes aplicaciones alimentarias y facilite su almacenamiento prolongado y estable (Ghribi *et al.*, 2015). Dentro de los métodos de secado más empleados se encuentran el secado por aspersion a nivel de producción comercial y el extracto liofilizado para uso en investigaciones. Sin embargo, los estudios del efecto del método de secado sobre las propiedades de los extractos de proteína son limitados y solo se encuentran para algunas fuentes más tradicionales como la soya, el frijol mungo, la chía, el fenogreco, el arroz, los garbanzos y las lentejas (Brishti *et al.*, 2020; Ghribi *et al.*, 2015).

Una de las aplicaciones que han tenido los extractos de nuevas fuentes de proteína es el desarrollo de productos análogos a la carne, productos que sin carne, tienen un sabor, textura, apariencia y valor nutricional similar al de los productos cárnicos tradicionales (Sun *et al.*, 2021). El desarrollo de estos productos representa un gran reto para la industria alimentaria, ya que se requiere que las fuentes alternativas de proteína permitan obtener un producto que sea nutricional, sensorial y tecnológicamente satisfactorio en comparación con el producto original (Kamani *et al.*, 2019).

En el caso de particular de las salchichas a base de proteína vegetal, las principales propiedades funcionales a evaluar en el aislado o concentrado de proteína a utilizar son la capacidad de retención de agua y aceite, la gelificación y las propiedades emulsificantes, esto debido a que en este producto es vital la adecuada formación y estabilidad de la emulsión, es decir, que las gotas de aceite se dispersen en un medio acuoso con ayuda de un tensoactivo, en este caso de la proteína empleada (Kamani *et al.*, 2019; Toews & Wang, 2013). Además, para garantizar que estos productos análogos a la carne se asemejen a las salchichas cárnicas tradicionales se recomienda

determinar las pérdidas por cocción, pH, humedad, retención de agua y grasa, color instrumental y propiedades texturales. Al mismo tiempo, es de suma relevancia el estudio con consumidores para determinar la aceptabilidad del producto desarrollado (Pietrasik & Soladoye, 2021).

La soya ha sido de las fuentes de proteína vegetal más estudiadas y empleadas para el desarrollo de salchichas reducidas o sin proteína de origen animal, también se han utilizado otras fuentes como la proteína de frijol mungo, guisantes, maní, trigo, arroz y arveja (Samard & Ryu, 2019). Sin embargo, estas proteínas son actualmente importadas en Costa Rica, y muchas de ellas son cultivos básicos de alimentación humana y animal, como la soya, el arroz, el trigo, guisantes, por lo que el uso como proteína compite con la satisfacción de las necesidades básicas de la dieta mundial.

Además de los cereales y leguminosas convencionales, existe un grupo de granos subutilizados de la región neotropical que han cobrado importancia en los últimos años debido al renacer de hábitos de consumo tradicionales, problemas asociados con la salud y la adaptabilidad de estos cultivos a condiciones ambientales particulares. Entre ellos se encuentran los frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris*), que debido a su aporte de proteína (18-28% base seca), su contenido de fibra insoluble, su alto contenido de minerales, vitaminas y compuestos fenólicos se ha empleado en productos como *pancakes*, galletas, chips de tortillas de trigo, entre otros (Acuña-Gutiérrez *et al.*, 2019). En el país existen otras especies de este género que han sido poco estudiadas, entre ellas el frijol mantequilla o lima (*Phaseolus lunatus*) y el frijol cubá (*Phaseolus coccineus*) (Araya-Villalobos *et al.*, 2015).

Otra leguminosa que representa una importante oportunidad para la inclusión de granos poco usados en la industria alimentaria es el gandul (*Cajanus cajan*). El gandul es un arbusto muy resistente a las inclemencias del tiempo, produce unas vainas en donde se albergan las semillas, este arbusto es común en el bosque húmedo de Costa Rica y ha sido utilizado principalmente para descompactar el suelo, para alimentación animal, y como agente de control biológico. Como alimento, el gandul representa una leguminosa con un alto valor nutritivo, cuyo contenido de proteína varía entre el 18 y 25%, y cuenta con un alto contenido de fósforo y vitaminas A y C (González *et al.*, 2016).

Debido a los factores antes expuestos, se espera que estas leguminosas tengan proteínas con propiedades nutricionales y funcionales particulares, por lo que se requieren estudios que permitan

caracterizar a nivel nutricional y funcional estas nuevas fuentes de proteína y con ello poder identificar aplicaciones específicas en la industria alimentaria.

El objetivo de este trabajo final de graduación es determinar la funcionalidad nutricional y tecnológica de los concentrados de proteína de leguminosas nativas y la aplicación de dos de ellos en la elaboración de prototipos de un embutido análogo a la salchicha de carne. Con esto se pretende a la vez promover el cultivo y consumo de estas leguminosas subutilizadas de forma más generalizada y brindar una alternativa proteica sostenible para la necesaria reducción del consumo de carne y productos cárnicos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Determinar las propiedades fisicoquímicas, la funcionalidad nutricional y tecnológica de los concentrados de proteínas de leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado posterior a su extracción, para su uso en la elaboración de prototipos de un embutido análogo a la salchicha de carne.

### **2.2 Objetivos específicos**

1. Caracterizar mediante parámetros fisicoquímicos los concentrados proteicos de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado luego de la extracción.
2. Evaluar la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado luego de la extracción, y de un concentrado de proteína de soya comercial (como estándar).
3. Comparar tres prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne, elaborados con los dos concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados y con un concentrado de proteína de soya comercial, con respecto a sus características fisicoquímicas.

### **3. MARCO TEÓRICO**

#### **3.1 Consumo de carne**

##### **3.1.1 Demanda y consumo de carne en Costa Rica y el mundo**

En las últimas cuatro décadas, los datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) reportan un incremento del 67% en el consumo de proteína de origen animal (FAO, 2022). Esto se atribuye, entre otros factores, al aumento en los ingresos de los países de bajos y medianos recursos. Cuando el producto interno bruto per cápita (PIB) aumenta, la ingesta de carne crece hasta llegar a un máximo. Además, los datos indican que el surgimiento de las clases medias y la creciente urbanización en estos países ha propiciado la transición de una dieta basada en cereales hacia dietas ricas en el consumo de alimentos como la carne, frutas, verduras y lácteos (FAO, 2022). Las perspectivas agrícolas de la OCDE-FAO para el período 2022-2031 proyectan un aumento en la demanda y oferta mundial de carne. Para el año 2031, se estima que el consumo mundial de carne tendrá un crecimiento del 15%, en comparación con el período base del estudio (OCDE/FAO, 2022).

En Costa Rica los estudios disponibles informan de un comportamiento similar al de los países en desarrollo. Específicamente para la oferta y demanda de la carne bovina, se encontró que las variables del precio de productos sustitutos, el precio de los hidrocarburos y el ingreso (medido a través del PIB) afectan su comportamiento, en el caso del PIB, por cada incremento de 1% per cápita en el país, aumenta el consumo nacional de carne bovina en 0,09% (Solano Pereira *et al.*, 2021). Para el año 2022, según datos de la Corporación Ganadera CORFOGA, el consumo aparente per cápita para la carne de res fue de 13,1 kg, conformado por un 85,5% de carne nacional y el restante 14,5% de carne importada (Salas, 2023).

##### **3.1.2 Importancia de la reducción del consumo de carne**

- Impacto ambiental de la producción de carne

A medida que la población mundial crece y la demanda de alimentos de uso intensivo de recursos naturales, como la carne y los productos lácteos, aumenta, se espera que el impacto ambiental de la producción de alimentos empeore (FAO, 2022). Parte de la problemática se debe a las ineficientes tasas de conversión de energía y proteína de “alimento a alimento” de los productos de origen animal, en la carne de res por ejemplo, solo el 1% de la energía bruta de la alimentación

del ganado y el 4% de la proteína ingerida por este se transforman en calorías y proteínas comestibles por el ser humano (FAO, 2022).

Además, se tiene evidencia de que los alimentos de origen animal ejercen mayor impacto sobre los recursos naturales. Estudios indican que estos productos utilizan alrededor del 83% de las tierras de cultivo del mundo y contribuyen al 56-58% de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) asociadas a la producción de alimentos (FAO, 2022).

El uso excesivo de estas tierras, el sobrepastoreo y la falta de movilidad del ganado han provocado la compactación y la erosión del suelo, afectando la función de los suelos, el crecimiento de las plantas y los servicios hidrológicos. Este problema se intensifica con la creciente demanda de carne, que ejerce presión en los recursos de aguas y suelos para la producción intensiva de piensos y forraje. Además, la concentración de insumos y desechos de animales provoca un aumento en el uso de combustibles fósiles, en la emisión de metano y en la contaminación del agua por nutrientes y antibióticos (FAO, 2021a).

- Efectos en la salud del consumidor

Otro aspecto importante que considerar en relación con la reducción del consumo de carne es el impacto de su ingesta en la salud de los consumidores. Como se conoce, la carne posee importantes macro y micro nutrientes que cumplen funciones vitales en el crecimiento y el desarrollo de los seres humanos, entre ellos proteínas de alto valor biológico que aportan los nueve aminoácidos esenciales, vitaminas como la vitamina B12 y vitamina D, minerales como el hierro y el zinc y ácidos grasos (Wood, 2023). Sin embargo, en los últimos años se han incrementado los estudios que relacionan el consumo de carne con diversas enfermedades como el hígado graso no alcohólico, enfermedades inflamatorias del intestino, obesidad, diferentes tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo II (Gehring, 2023; Libera et al., 2021).

En lo referente a las enfermedades cardiovasculares, que incluyen las enfermedades que afectan el corazón y el sistema circulatorio, los estudios han indicado que, debido a su contenido de grasa (especialmente de ácidos grasos saturados y ácidos grasos trans), el consumo de carne roja y principalmente de productos cárnicos como los embutidos, donde el contenido de grasa y sodio suelen ser altos, puede aumentar el riesgo de padecer estas enfermedades. No obstante, los mismos estudios aclaran que el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular depende de múltiples factores y que, en cuanto a la dieta, la recomendación general más que eliminar por completo el

consumo de carne, es equilibrar la dieta incluyendo el consumo de carne magra (Boada et al., 2016; Gehring, 2023; Quesada & Gómez, 2019)

Para el caso del cáncer, en el año 2015 la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (IARC en inglés) clasificó el consumo de carne roja como probablemente carcinógeno para los humanos (Grupo 2 A) y a la carne procesada como carcinógena para los humanos (Grupo 1), esto basada en evidencia en humanos, en particular para el cáncer colorrectal (Organización Mundial de la Salud OMS, 2015). Para este padecimiento también se cuestiona que existen varios factores dietéticos y de estilo de vida que pueden influir en su desarrollo y, por tanto, no se puede afirmar que el consumo de carne roja sea la principal causa del cáncer colorrectal (Hur et al., 2019).

Según lo expuesto, se puede concluir que de manera general para el tema salud la recomendación es evitar la ingesta excesiva de carnes rojas y carnes procesadas y reducir su consumo a un nivel adecuado para la salud, enriqueciendo la dieta con otros grupos de alimentos.

- Seguridad alimentaria

La seguridad alimentaria se alcanza cuando todas las personas, en todo momento, tienen acceso físico y económico a alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias, con el objeto de llevar una vida activa y sana (PESA, 2011). El informe El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2022 de la FAO/OMS indica que en los últimos años la seguridad alimentaria se ha deteriorado. Se estima que de 720 a 811 millones de personas pasaron hambre en 2021 y aproximadamente el 30% de la población mundial se encontraba afectada por la inseguridad alimentaria moderada o grave, ya que carecían de acceso regular a una alimentación adecuada (FAO *et al.*, 2022). Además, este informe prevé que de cara al 2030 existan todavía 670 millones de personas que padezcan de hambre, lo que dificulta alcanzar el objetivo de “hambre cero” propuesto como parte de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) por las Naciones Unidas para el año 2030 (FAO *et al.*, 2022).

Por otro lado, la malnutrición se sigue presentando en sus diversas formas alrededor del mundo, llamando particularmente la atención la prevalencia de la anemia en las mujeres entre 15 y 49 años de edad, del sobrepeso infantil y de la obesidad en adultos. Ante estas problemáticas, la calidad de la dieta resalta como un elemento fundamental, por ello, la FAO y la OMS (2020) han propuesto lo que denominan una dieta saludable sostenible que es aquella que promueve todas las dimensiones de la salud y el bienestar de las personas y que a su vez tiene un bajo impacto ambiental, es accesible, segura, equitativa y culturalmente aceptable. Dentro de las

recomendaciones para establecer los componentes de una dieta saludable destaca incrementar el consumo de alimentos variados de origen vegetal y evitar el alto consumo de carnes procesadas (FAO y OMS, 2020).

A pesar de estas recomendaciones, los datos recientes señalan que, en diferentes partes del mundo, y de manera especial en América Latina y el Caribe, gran parte de la población no puede acceder a una dieta saludable. Para el año 2020, el 42% de la población mundial no pudo acceder a una dieta saludable, en América Latina y el Caribe este porcentaje fue de del 22,5%, es decir 131 millones de personas, esto debido entre otros factores al elevado costo de este tipo de dietas, el nivel de ingresos y la tasa de pobreza en esos países (FAO et al., 2023).

Estos datos reflejan la urgencia de implementar medidas que mejoren la asequibilidad de las dietas saludables, para con ello disminuir la prevalencia del hambre y las diversas formas de malnutrición. El informe Panorama regional de la seguridad alimentaria y nutricional-América Latina y el Caribe 2022: hacia una mejor asequibilidad de las dietas saludable, presenta como las políticas orientadas a los productores de la región y la mejora en la diversificación de la producción alimentaria hacia alimentos nutritivos puede reducir el costo de las dietas saludables (FAO et al., 2023).

### **3.1.3 Nuevas tendencias de consumo: veganismo, flexitarianismo y vegetarianismo**

Los consumidores se pueden dividir según sus preferencias dietéticas en omnívoros (consumen carne y lácteos con regularidad), flexitarianos (evitan la carne uno o más días de la semana o solo comen carne ocasionalmente), vegetarianos (no consumen carne, pero sí lácteos) y veganos (se abstienen de consumir cualquier producto de origen animal). Debido a las problemáticas ambientales, de salud y de seguridad alimentaria antes expuestas existe un creciente interés en la reducción del consumo de carne y en la incorporación de productos sustitutos, se prevé una tasa de crecimiento anual del 14,5% para los sustitutos de la carne a nivel mundial para el período 2020-2025 (Kerslake et al., 2022; van der Meer et al., 2023).

A pesar de esto, la transición a una dieta sin carne no es sencilla, por lo que la dieta flexitariana representa una buena opción para reducir el consumo de carne y reemplazar al menos algunas de las porciones de proteínas animales por proteínas de fuentes más sostenibles. Para ello es necesario en primer lugar informar más al consumidor sobre la necesidad de reequilibrar los alimentos de origen animal y vegetal en la dieta y además elaborar opciones de proteínas alternativas más atractivas para los consumidores (Dagevos, 2021).

## 3.2 Proteínas alimentarias

### 3.2.1 Generalidades

Las proteínas alimentarias son aquellas proteínas que satisfacen las necesidades nutricionales de nuestro cuerpo, son digeribles, no son tóxicas y tienen funcionalidad en los sistemas alimentarios. Estas proteínas se derivan de alimentos de origen animal y vegetal, dentro de las principales fuentes se encuentran las proteínas de la leche, de la carne, del huevo, cereales, leguminosas y semillas (Haque et al., 2016a; Ustunol, 2014).

Los aminoácidos son la unidad base de las proteínas, estos compuestos orgánicos están formados por un carbono central, un grupo amino (NH<sub>2</sub>), un grupo carboxilo (COOH) y una cadena lateral (R) que varía en cada aminoácido y le da características particulares que los distinguen entre sí (Haque et al., 2016a). Existen gran variedad de aminoácidos en la naturaleza, de estos 20 forman parte de las proteínas, al unirse en diferentes combinaciones mediante enlaces peptídicos forman los polímeros conocidos como proteínas, las cuales tienen una estructura tridimensional definida. Además, de estos aminoácidos, 9 se consideran aminoácidos esenciales (leucina, lisina, metionina, histidina, fenilalanina, treonina, triptófano, isoleucina y valina) debido a que no pueden sintetizarse en nuestro cuerpo y, por tanto, deben obtenerse a través de la dieta (Nadathur et al., 2017).

Se conocen cuatro niveles estructurales en las proteínas, el nivel primario o estructura primaria corresponde a la secuencia lineal de aminoácidos; según los aminoácidos presentes en la cadena, el polímero puede organizarse mediante enlaces de hidrógeno en algunas estructuras estables conocidas como hélices  $\alpha$ , láminas  $\beta$  y giros  $\beta$ , formando la estructura secundaria de la proteína. Mediante enlaces de hidrógeno, enlaces disulfuro y las interacciones hidrofóbicas el polímero de aminoácidos se sigue compactando para formar una estructura tridimensional, su estructura terciaria, que representa la estructura más estable de las proteínas. En el caso de algunas proteínas existe una estructura cuaternaria, en la que se unen más de un polímero (subunidades/monómeros) (Haque et al., 2016a; Ustunol, 2014).

Se utilizan diversas formas de agrupar las proteínas, en el Cuadro I se presentan los sistemas de clasificación más comunes.

**Cuadro I.** Sistemas de clasificación de las proteínas.

Según su solubilidad (Sistema de Osborne)	Albúminas: solubles en agua y soluciones salinas diluidas. Globulinas: poco solubles en agua, solubles en soluciones salinas diluidas.
--	---

	Histonas: solubles en soluciones salinas ácidas Prolaminas: insolubles en agua y etanol puros, solubles en mezclas de agua y etanol Escleroproteínas: insolubles en agua y soluciones salinas
Según su conjugación	Simples: generan sólo aminoácidos tras su hidrólisis Conjugadas: tienen grupos no proteicos unidos a las moléculas (glicoproteínas, fosfoproteínas, lipoproteínas y nucleoproteínas)
Según su forma	Fibrosas: forma de bastón, fibrosas o filiformes Globulares: forma compacta, esférica o elipsoidal
Según su función	Catalíticas, estructurales, reguladoras u hormonales, de transporte, genéticas, inmunes, contráctiles y de almacenamiento.
Según su valor nutricional	Completas: contienen todos los aminoácidos esenciales en las proporciones requeridas por el ser humano Incompletas: deficientes en uno o más de los aminoácidos esenciales

Fuente: (Nadathur et al., 2017).

A nivel nutricional las proteínas son uno de los tres macronutrientes que necesitamos obtener de los alimentos. Estas macromoléculas tienen un papel esencial en el crecimiento y desarrollo del cuerpo, ya que cumplen funciones críticas en la célula, tejidos, órganos y sistemas. Se desempeñan como hormonas, enzimas, transportadores, componentes del sistema inmune y proporcionan al organismo de los aminoácidos para la síntesis de proteínas (Quesada & Gómez, 2019).

Además de su valor nutricional, las proteínas proveen a los alimentos propiedades funcionales, es decir, propiedades fisicoquímicas y reológicas que pueden afectar el comportamiento de un sistema alimentario durante su preparación, procesamiento, almacenamiento y consumo. Estas propiedades son esenciales para hacer que los alimentos sean atractivos y agradables sensorialmente para su consumo, entre ellas destacan las propiedades de hidratación (solubilidad, retención de agua e hinchamiento), de superficie (propiedades de adsorción, capacidad emulsificante y espumante) y su comportamiento reológico (gelificación y viscosidad) (Baigts, 2016). Estas propiedades se relacionan con la forma en que las proteínas

interactúan con otras moléculas, así como con el tamaño molecular, la estructura y la distribución de carga de las moléculas de la proteína (Day, 2013).

### **3.2.2 Fuentes alternativas de proteína**

Como se mencionó anteriormente, existen diversas fuentes de proteínas alimentarias, a lo largo de los años las fuentes que han predominado son las proteínas de origen animal (carne, lácteos, huevo, pescado y mariscos) y las proteínas de origen vegetal (principalmente de cereales como el trigo, arroz, y avena). Sin embargo, dada la necesidad antes expuesta de equilibrar el uso de proteínas de origen animal y de buscar fuentes que respondan a las problemáticas de sostenibilidad, de salud y seguridad alimentaria que atraviesa el mundo, recientemente se han estudiado diversas fuentes alternativas de proteína, algunos ejemplos de estas fuentes son las proteínas de hongos, microalgas, leguminosas, semillas e insectos (Henchion et al., 2017).

## **3.3 Proteínas de origen vegetal**

### **3.3.1 Generalidades**

Las proteínas de origen vegetal son otra de las fuentes de proteína que se han utilizado a lo largo de los años como una alternativa y complemento a las proteínas de origen animal. Este grupo es diverso y abarca varios grupos de alimentos como los cereales (arroz, trigo, maíz y cebada), las leguminosas (soya, guisante, frijol, lentejas y garbanzo), los pseudocereales (amaranto, quinua y trigo sarraceno), las semillas (chía, linaza y sésamo), almendras y nueces (Nadathur et al., 2017; Sá et al., 2020).

De este gran grupo, la soya ha sido de las fuentes de proteína vegetal más tradicionalmente incorporadas en la dieta de muchas culturas en el mundo, se ha utilizado en diversos productos tradicionales, como el tofu y el tempeh, y en la mayoría de las alternativas a los productos cárnicos debido a su alto contenido de proteína y su excelente desempeño en las propiedades funcionales, que le permiten formar una textura semejante a los productos cárnicos (Zhang et al., 2021).

En cuanto a la composición nutricional, de manera general las fuentes de proteína vegetal suelen tener deficiencia de algún aminoácido esencial, por lo que se les considera proteínas incompletas, las leguminosas, por ejemplo, son deficientes en los aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), y los cereales tienen bajos contenidos de lisina. Por esto, la recomendación es complementar la dieta basada en cereales con las leguminosas para así tener un efecto sinérgico

entre los componentes nutricionales y fitoquímicos de ambos (Sá et al., 2020; Saldanha do Carmo et al., 2021).

### 3.3.2 Leguminosas-legumbres

Las leguminosas pertenecen a la familia botánica Fabaceae e incluyen más de 13 000 especies diferentes. Dentro de las leguminosas destaca un grupo que ha tomado gran importancia como fuente de proteína alternativa y sostenible: las legumbres (pulses), este nombre hace referencia a las semillas comestibles secas de las leguminosas, entre las más conocidas se encuentran diferentes tipos de frijoles, habas, guisantes, garbanzos y lentejas (Bessada et al., 2019).

Nutricionalmente, las legumbres son ricas en proteínas (hasta un 25-30% m/m), carbohidratos, fibra dietética, vitaminas y minerales. Poseen cantidades importantes de aminoácidos esenciales (leucina, lisina, arginina y ácido aspártico). En las legumbres predominan proteínas como las albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas que les brindan propiedades funcionales como la capacidad de retención de agua y aceite, formación de espuma, emulsificación y gelificación (Bessada et al., 2019; Saldanha do Carmo et al., 2021).

Las proteínas más abundantes en las leguminosas son las globulinas, proteínas de almacenamiento solubles en soluciones salinas y presentes entre un 70%-80% en las leguminosas, de estas, las leguminas y las vicilinas están en mayor proporción. Según sus coeficientes de sedimentación (S), la legumina se conoce como 11S y la vicilina como 7S, ambas son oligoméricas, las primeras normalmente forman hexámeros, mientras que las globulinas 7S típicamente forman trímeros. En segundo lugar, en una proporción del 10-20% se encuentran las albúminas, proteínas solubles en agua; estas incluyen los inhibidores de proteasa, las lectinas, los inhibidores de amilasa y las proteínas enzimáticas. Finalmente, presenta entre un 10% y 20% de glutelinas, proteínas solubles en ácidos y bases diluidas. Las albúminas poseen mayor cantidad de lisina y aminoácidos que contienen azufre, mientras que las globulinas son ricas en ácido aspártico y ácido glutámico (Carbonaro & Nucara, 2022; Tripathi, Iswarya, Rawson, et al., 2021; Venkidasamy et al., 2019).

Un aspecto importante que considerar en las leguminosas es su contenido de factores anti nutricionales, estos compuestos disminuyen el aprovechamiento de sus nutrientes y pueden tener efectos negativos, positivos o ambos en el cuerpo. Entre ellos se encuentran el ácido fítico, inhibidores de tripsina, compuestos fenólicos, glucósidos productores de oxalato y cianuro, lectinas, oligosacáridos de la familia de la rafinosa y saponinas; si bien estos compuestos pueden afectar la biodisponibilidad y la digestibilidad de los nutrientes presentes en las leguminosas,

también algunos de ellos se han denominado compuestos bioactivos que aportan beneficios a la salud. Por ejemplo, la rafinosa, la estaquiosa y la verbascosa (de la familia de las rafinosas) se consideran prebióticos ya que estimulan la actividad de bifidobacterias y lactobacilos en el colon. Otros compuestos bioactivos presentes en los frijoles son los flavonoides, las antocianinas y los carotenoides (Basso Los et al., 2018; Cominelli et al., 2022).

### 3.3.3 Beneficios de su consumo

Dentro de los beneficios de consumir proteínas de origen vegetal se encuentra su aporte nutricional. Adicional a su alto contenido de proteína, estos alimentos son ricos en vitaminas del complejo B como el folato, tiamina o niacina, minerales como el hierro, calcio, zinc, magnesio y potasio, carbohidratos complejos y fibra. Además, tienen un bajo contenido de grasa, sodio y no poseen colesterol (FAO, 2016).

Otro de los beneficios que se atribuyen al consumo de proteínas de leguminosas son sus propiedades bioactivas, asociadas a algunos de sus factores anti nutricionales como las lectinas y los inhibidores de proteasa, estos podrían tener efectos positivos como la prevención del cáncer, prevención y control de la obesidad, propiedades antiinflamatorias y reducción de la hipertensión. También los compuestos fenólicos presentes en las legumbres han presentado una fuerte actividad antioxidante (Bessada et al., 2019).

A nivel ambiental, el consumo de proteína de origen vegetal también presenta ventajas, se estima que las emisiones de gases de efecto invernadero, el uso de tierra y el consumo de agua son significativamente menores en comparación con la producción animal; dependiendo del producto, las alternativas a la carne con proteína de origen vegetal utilizan entre un 47-99% menos de tierra, un 72%-99% menos de agua y emiten entre 30%-90% menos de gases de efecto invernadero (Rajpurohit & Li, 2023; The Good Food Institute, 2019).

El cultivo de legumbres en particular tiene un papel muy importante en los ecosistemas agrícolas. Gracias a su relación simbiótica con los microorganismos del suelo como *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, las raíces de estas plantas tienen la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico en la tierra, esto mejora la disponibilidad de nutrientes del suelo reduciendo así el uso de fertilizantes nitrogenados y beneficiando los cultivos aledaños o posteriores con un mejor rendimiento. Estos cultivos además son resistentes a situaciones climáticas complejas como las sequías y las inundaciones, por lo que se presentan como una alternativa para enfrentar el cambio climático (FAO, 2016, 2021b; Rajpurohit & Li, 2023).

### 3.3.4 Legumbres sujetas a estudio

Existe un grupo de granos subutilizados de la región neotropical que han cobrado importancia en los últimos años debido al renacer de hábitos de consumo tradicionales, problemas asociados con la salud y la adaptabilidad de estos cultivos a condiciones ambientales particulares (Acuña-Gutiérrez et al., 2019). Entre ellos se encuentran los seleccionados para este estudio, el frijol Cabécar (*Phaseolus vulgaris*), el frijol Mantequilla o Lima (*Phaseolus lunatus*), el frijol Cuba (*Phaseolus coccineus*) y el gandul (*Cajanus cajan*).

#### Gandul (*Cajanus cajan*)

El gandul (*Cajanus cajan*) es una leguminosa originaria de la parte oriental de la India, conocida como garbanzo rojo, Arhar o Tur, y cultivada desde hace más de 3500 años; su cultivo se ha extendido por diversos países de África, Asia y América, especialmente en países como Puerto Rico, República Dominicana y Panamá, donde se conoce como frijol de palo. En Costa Rica en los últimos años se ha trabajado en reanimar su cultivo, introduciendo diferentes variedades de esta especie en la zona de San Carlos, entre las que destacan la Catie (variedad negra), Criolla (variedad color crema) y Panamá (variedad color crema mezclada con negro) (Andrés Jiménez, 2013; Talari & Shakappa, 2018).

El gandul es un arbusto que alcanza una altura de hasta 5 metros, sobresale como una especie resistente a plagas y condiciones climatológicas adversas, con un bajo requerimiento de agua, y capacidad para adaptarse a diferentes condiciones de suelo y altura. Además, gracias a su raíz penetrante y profunda es utilizado para descompactar suelos y fijar nitrógeno en simbiosis con bacterias nitrificantes. Se caracteriza por sus flores amarillas con rayas café o pardas y frutos (vainas) verdes amarillentas al madurar, con granos o semillas de diversos colores según la variedad (González et al., 2016).

En cuanto a su composición nutricional, el gandul posee un contenido de proteína que varía entre el 20,0% y el 28,8% dependiendo de la variedad, de 51,4% a 58,8% de carbohidratos, de 1,2% a 8,1% de fibra y entre 0,6% y 3,8% de lípidos. Como en la mayoría de las leguminosas, la fracción de proteínas predominantes en el gandul son las globulinas, que representan del 50%-72%, seguidas de las albúminas con un 15%-27%, y en menor porcentaje las prolaminas y glutelinas, que se encuentran principalmente en la cáscara de la semilla. Estas proteínas son deficientes en aminoácidos que contienen azufre (metionina y cisteína), pero destaca en su contenido de otros aminoácidos esenciales, Syed *et al.* (2022) reportan valores de 8,5% de leucina, 8,7% de treonina,

6,2% de lisina, 4,6% de isoleucina, 3,5% de histidina, 3,9% de treonina y 4,3% de valina. Respecto a los micronutrientes, el gandul aporta vitaminas hidrosolubles como la tiamina, riboflavina y niacina, y sobresale como fuente de vitamina C, para esta vitamina reporta valores de hasta 43mg/100g, superiores a los reportados para la mayoría de las leguminosas. Además, contiene minerales como el fósforo, magnesio, hierro, calcio y potasio (Talari & Shakappa, 2018; Tripathi, Iswarya, Rawson, et al., 2021; Tripathi, Iswarya, Singh, et al., 2021).

### Frijol Cabécar (*Phaseolus vulgaris* L)

El frijol Cabécar es una variedad de grano rojo del llamado frijol común (*Phaseolus vulgaris*), esta variedad se siembra en el país desde el año 1999 cuando fue introducida en el Ensayo Centroamericano de Adaptación y Rendimiento (ECAR rojo), que durante cuatro años evaluó su potencial de rendimiento, resistencia a enfermedades y otros criterios agronómicos. Este frijol posee un grano color rojo claro brillante, flor blanca, vainas verdes que se tornan color crema cuando alcanzan su madurez. Su cultivo se centra en las regiones Huetar Norte y Brunca, principalmente en los cantones de La Cruz, Upala, Los Chiles, Pérez Zeledón y Buenos Aires (Araya & Hernández, 2007; Hernández, 2009).

Respecto a su composición, destaca su contenido de proteína que se encuentra en un rango de 16% -27%, carbohidratos 56-77% (principalmente almidón y fibra insoluble) y grasa promedio entre 3,03% y 6,7%; además, tiene un alto contenido de minerales (Zn, Ca, Fe y K), vitaminas del grupo B y otros fitoquímicos (Acuña-Gutiérrez et al., 2019; Mencía Guevara et al., 2020). Como en el resto de las leguminosas, las principales proteínas en los frijoles son las albúminas y globulinas (proporción 1:3), en este caso en particular predomina la faseolina, globulina que representa el 50% del contenido total de proteínas en el frijol (Carbonaro & Nucara, 2022; Shevkani et al., 2019).

En Costa Rica el frijol es uno de los granos básicos más importantes en la dieta, si bien es un cultivo ampliamente conocido y producido en el país, en los últimos años la producción nacional abastece solamente entre el 20-25% del consumo interno y la cantidad de productores ha disminuido drásticamente. Esto se atribuye a las políticas de apertura comercial que han permitido la importación de frijol a más bajo costo por parte de grandes cadenas de distribución y, por tanto, el desplazamiento de pequeños productores locales (Mencía Guevara et al., 2020).

### Frijol Mantequilla (*Phaseolus lunatus*)

El frijol Mantequilla, también conocido como frijol Lima, Frijolillo, frijol Azucarero Haba Pallar o frijol Caballero es una de las especies más distribuidas del género *Phaseolus* en el mundo, se cultiva en áreas tropicales y subtropicales, en varios países de América, principalmente en América del Sur, y en algunos países de Europa, Asia y África (López-Alcocer et al., 2016). En Costa Rica, se encontró que esta especie es una de las especies de frijol silvestre más antiguas domesticada por nuestros aborígenes, crece desde el nivel del mar y hasta 2000 metros de altura, esto le permite sobrevivir en una gran variabilidad de climas y ambientes. Además, esta especie posee un sabor similar a la especie *Phaseolus vulgaris*, que es la más consumida en el país, y una textura cremosa que la caracteriza (Agencia Iberoamericana para la Difusión de la Ciencia y la Tecnología (DICYT) & Universidad de Costa Rica (UCR), 2014).

Dentro de esta especie se encuentran numerosas variedades, que incluyen variedades silvestres y domesticadas, por lo que las características de la planta y sus frutos son diversas. Presenta vainas planas, con forma de medialuna, que poseen de dos a cuatro semillas, estas semillas varían ampliamente en forma, color y tamaño; incluyen frijoles pequeños y grandes, de formas semejantes a un riñón, globulares u ovaloides y colores como el blanco, café, verde, violeta, negro y negro punteado (Temegne et al., 2021). La variedad empleada en este estudio es de tamaño y forma similar al frijol común y color café claro.

Al igual que para otras leguminosas, se ha encontrado que el frijol mantequilla tiene un buen perfil nutricional, su composición oscila según la variedad entre 14,26%-26,02% de proteína, 50,44%-77,39% de carbohidratos, 0,21%-3,12% de grasa y 2,35%-6,12% de cenizas. Las principales proteínas de esta especie son las globulinas, las glutelinas y las albúminas. Se considera rica en aminoácidos esenciales como la lisina, leucina, valina y fenilalanina, pero deficiente en otros como la metionina y la cisteína (Adebo, 2023; Palupi et al., 2022).

### Frijol Cubá (*Phaseolus coccineus*)

El frijol Cubá, conocido como frijol Acoyote y frijol Escarlata en otros países, es una de las cinco especies del género *Phaseolus*, es originario de las zonas templadas de Mesoamérica, específicamente del sur de México y zonas altas de Guatemala. Esta especie se caracteriza por su llamativa flor color rojo o morado y por soportar climas más fríos que las otras especies de este género. Es una planta trepadora, perenne, que generalmente se cultiva a pequeña escala como cultivo anual, asociada a otros cultivos como el de maíz; produce vainas largas y planas con

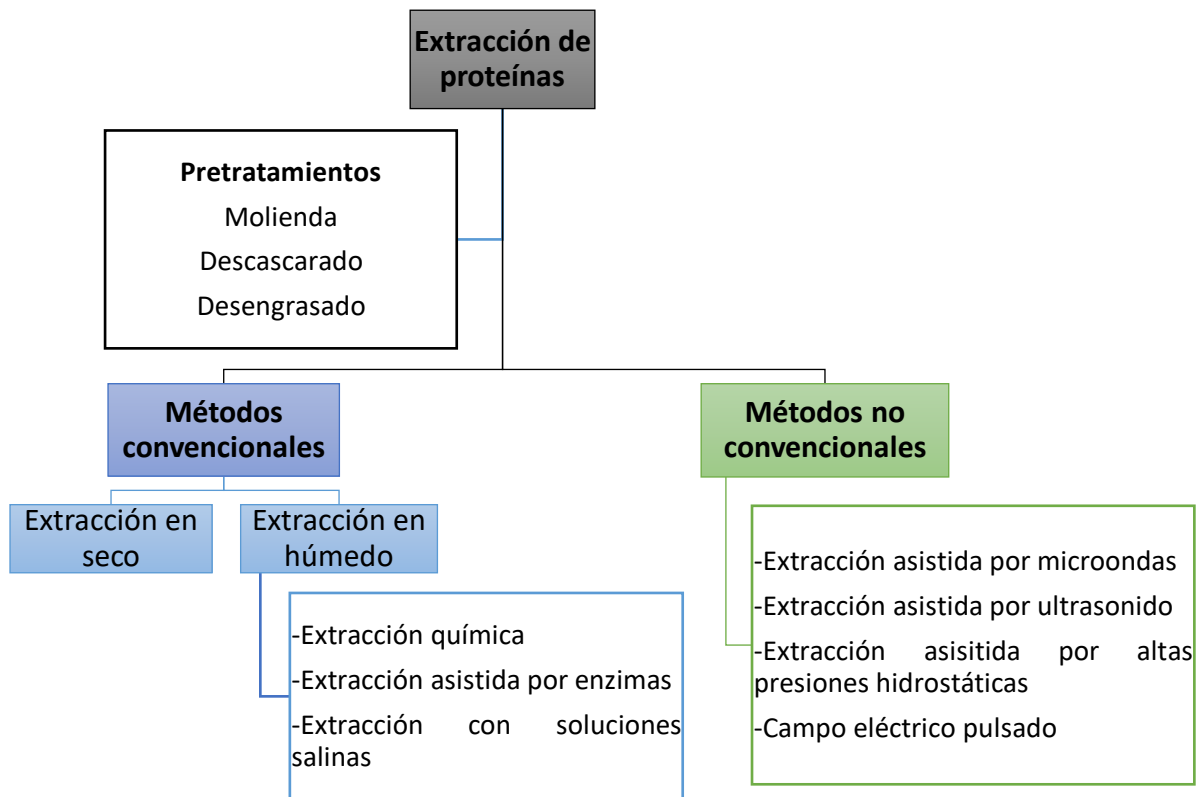
semillas grandes y redondas que varían de color según la variedad, se encuentran semillas negras, amarillas, moradas, cafés, cremas o blancas (Guerra-García et al., 2017; Schwember et al., 2017).

En lo referente a su composición, los estudios disponibles reportan diferentes valores dependientes de la variedad agronómica, la zona y otras variables del cultivo (suelo, fertilización, tiempo de cosecha). En general se reportan valores para el contenido de proteínas entre 18% y 24%, de 2% a 4% de lípidos, entre 5% y 15% de fibra, de 4% a 5% de cenizas y entre 60% a 70% de carbohidratos (Alvarado-López et al., 2019; Corzo-Ríos et al., 2020; Teniente et al., 2016). Como en el resto de las leguminosas las principales proteínas son las de almacenamiento, especialmente la vicilina y la legumina. Respecto a los aminoácidos, se reportan seis aminoácidos esenciales, la leucina es la de mayor concentración (17,4 a 18,4 g/kg), mientras que la cisteína y la metionina son los aminoácidos en menor proporción (2,3 y 2,8 g/kg respectivamente) (Alvarado-López et al., 2019). Además de su aporte de macronutrientes, el frijol Cuba posee considerables cantidades de micronutrientes como vitaminas del grupo B y minerales como el fósforo (342,27 mg/100g) y calcio (145,21mg/100g) (Mosisa, 2017).

### **3.4 Extractos de proteína vegetal**

#### **3.4.1 Métodos de extracción**

Para el aprovechamiento de las fuentes alternativas de proteínas se han estudiado diversos métodos de extracción que pueden dividirse en métodos convencionales y métodos no convencionales (ver Figura 1). Los métodos convencionales pueden separarse a su vez en extracción en seco y extracción húmeda, que incluye la extracción química con disolventes alcalinos y/o ácidos, el uso de enzimas y el uso de soluciones salinas. La extracción de proteínas generalmente incluye pasos previos como la molienda, el descascarado y el desengrasado para preparar la harina del material del que se van a extraer las proteínas (Eze et al., 2022).



**Figura 1.** Métodos de extracción de las proteínas de fuentes alternativas.

Fuente: (elaboración propia).

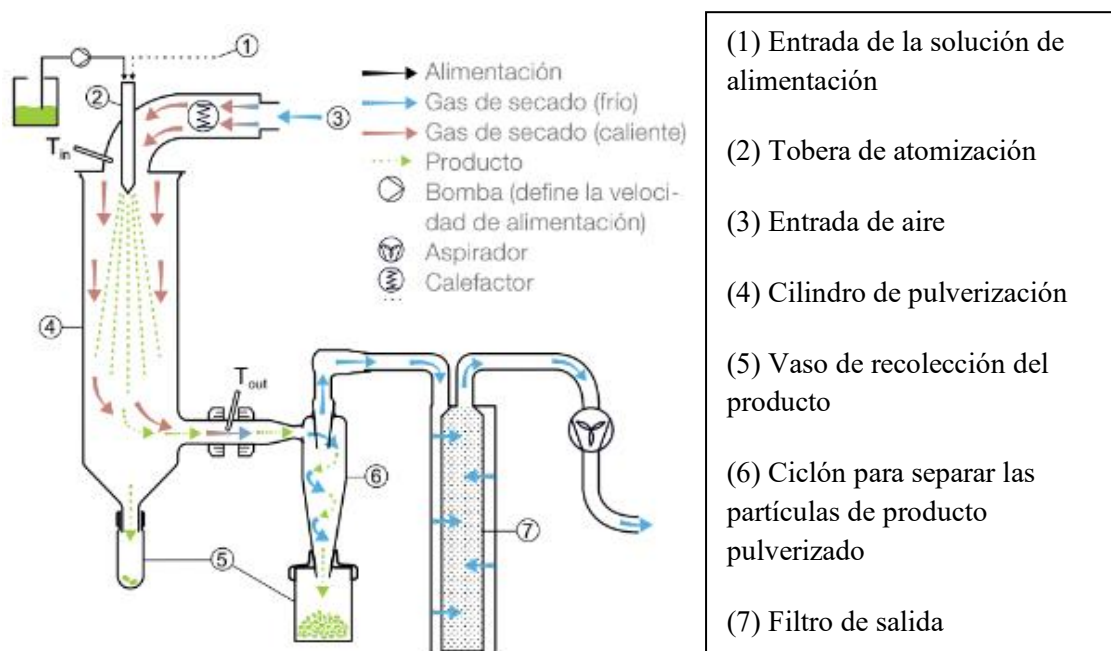
El método más utilizado para extraer las proteínas de materiales vegetales es la extracción química alcalina, esto se debe a su bajo costo, rapidez y simplicidad. Este método consiste en dispersar la materia vegetal en agua, para generar una solución de proteína y gránulos de almidón, luego se aumenta el pH a condiciones fuertemente alcalinas (pH 8-11) utilizando hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de potasio (KOH) para romper los enlaces disulfuro, solubilizar las proteínas y separarlas de la materia insoluble que se elimina por sedimentación, centrifugación o filtración. Posteriormente, se ajusta el pH de la solución agregando un ácido como el ácido clorhídrico (HCl) para alcanzar el punto isoeléctrico de las proteínas, este corresponde al valor del pH en el cual se reduce la carga neta de la superficie, disminuye la repulsión electrostática, y por tanto las proteínas presentes precipitan (en el caso de las leguminosas el PI se encuentre entre 4,0 y 4,8). Finalmente, las proteínas precipitadas se recuperan por filtración o centrifugación y se secan mediante secado por aspersión o liofilización (Eze et al., 2022; Hadidi et al., 2023).

### 3.4.2 Métodos de secado

Una vez se ha realizado la extracción de la proteína, generalmente se procede a secar el extracto para la obtención de un extracto en polvo que permita su aprovechamiento como ingrediente en las diferentes aplicaciones alimentarias y facilite su almacenamiento prolongado y estable. Dos de los métodos más utilizados son el secado por aspersión y la liofilización.

#### Secado por aspersión

El secado por aspersión o atomización consiste en deshidratar pequeñas gotas del sustrato atomizadas en un medio con aire caliente, convirtiéndolas en finas partículas sólidas. El proceso de secado consta de cuatro pasos, la atomización del líquido de alimentación en la cámara de secado, el contacto entre el líquido atomizado y la corriente de aire caliente, la deshidratación de las gotas y la separación del producto pulverizado (ver Figura 2). El principal mecanismo presente en el secado por aspersión es la transferencia convectiva de calor y masa, la diferencia de temperatura entre la superficie de la gota y el aire caliente impulsa su calentamiento, a la vez, la deshidratación de la gota está impulsada por la diferencia de humedad entre la superficie de la gota y el aire caliente, a medida que la gota pierde humedad el soluto dentro se solidifica formándose una partícula sólida (Selvamuthukumaran et al., 2019; Woo & Bhandari, 2013).



**Figura 2.** Representación del proceso de secado por aspersión.

Fuente: (Büchi Switzerland, s/f).

Este método de secado es uno de los más empleados en la industria de alimentos, se utiliza para el secado continuo de gran variedad de productos como la leche en polvo, el suero o caseína en polvo, huevo en polvo, fórmulas infantiles, café instantáneo, sopas instantáneas, entre otros. Las principales ventajas son sus bajos costos operativos, su rapidez y la posibilidad de controlar el tamaño y estructura de las partículas en polvo. Tiene desventajas como que la calidad y funcionalidad de la proteína puede verse afectada durante la producción por la temperatura de secado (Özdemir et al., 2022).

### Liofilización

La liofilización es un proceso de deshidratación que se distingue por realizar la sublimación del agua del alimento a deshidratar. Para ello, el primer paso consiste en congelar el alimento, luego, se reduce la presión que rodea el alimento hasta presiones por debajo del punto triple del agua (811,73Pa y 0,01°C) y se aumenta levemente su temperatura, esto provoca la sublimación del hielo que se convierte en vapor de agua y pasa a través del alimento hasta la cámara de secado, donde se elimina condensándolo en serpentines de refrigeración. Durante la liofilización ocurren dos procesos de secado, el secado por sublimación, conocido como secado primario, y el secado por desorción, al que se le llama secado secundario; durante la sublimación se forma un frente de sublimación que comienza en la superficie del producto y avanza hacia el centro de este formando una capa porosa del material por donde escapa el vapor de agua del alimento. Una vez se ha sublimado por completo el hielo, el agua no congelada se elimina del alimento mediante la adsorción que ocurre a través de la capa porosa formada en el secado primario, en este proceso se aumenta la temperatura de la superficie (Bhushani & Anandharamakrishnan, 2017; Fellows, 2016; Ratti, 2013).

La liofilización es el método de secado más utilizado a nivel de estudios en laboratorio, tiene la ventaja de minimizar el daño térmico de las proteínas durante el secado, pero presenta el inconveniente de ser un proceso por lotes, con elevados costos de operación y alto consumo de energía. A nivel industrial se usa para la deshidratación de alimentos de alto valor, en los que interesa preservar aromas o texturas, por ejemplo, hongos, hierbas o frutas deshidratadas. También se usa para la producción de enzimas y cultivos microbianos (Dong et al., 2024; Fellows, 2016).

### 3.4.3 Métodos para la caracterización de los extractos de proteína

Para la caracterización de los extractos de proteína se determinan propiedades que influyen en su calidad y estabilidad. Entre ellas el contenido de proteína, la humedad, la actividad de agua, el color y los rendimientos de extracción y secado.

#### Contenido de proteína

El contenido de proteína es de vital importancia para la caracterización del extracto de proteína, según su contenido de proteína los extractos pueden clasificarse en concentrados o aislados de proteína. Los concentrados de proteína son aquellos cuyo contenido de proteína se encuentra desde un 65% hasta un 90%, por su parte, los aislados de proteína tienen un contenido de proteína superior al 90% (Pojić et al., 2018).

Para la cuantificación del contenido de proteína de los alimentos se pueden utilizar diversos métodos, tanto directos como indirectos. Para la determinación directa de proteínas se utiliza el análisis del contenido total de aminoácidos mediante hidrólisis y cuantificación por HPLC, el contenido de proteínas se calcula como la suma de los residuos de aminoácidos individuales. Los métodos más utilizados son los métodos indirectos, entre los más comunes se encuentran el método Kjeldahl y el método Dumas, en el método Kjeldahl el nitrógeno se libera en un ácido fuerte y el contenido se mide después de la neutralización y valorización. En el método Dumas, el nitrógeno se libera por combustión y se determina con un detector de conductividad térmica. Tras la determinación del nitrógeno total se utiliza un factor de conversión de 6,25 para estimar el contenido de proteína total (Mæhre et al., 2018).

También se han desarrollado otros métodos como el de Biuret, Bradford y Lowry, métodos espectrofotométricos que miden la absorbancia de compuestos coloreados formados tras la reacción de la proteína con compuestos específicos de cada método. En el caso del método de Lowry, seleccionado para este estudio, los residuos fenólicos de los aminoácidos presentes en las proteínas reaccionan en medio alcalino con sales de tartrato de cobre (I), este complejo entra en contacto con el reactivo de Folin-Ciocalteu generando un complejo de color azul oscuro. Este complejo coloreado se mide espectrofotométricamente, siendo la intensidad de color proporcional a la concentración de proteínas (CITA, 2020; Hayes, 2020).

#### Humedad

La humedad es una medida del contenido de agua total de un alimento, que puede expresarse como la masa de agua entre la masa del alimento seco (humedad en base seca) o como

la masa de agua entre la masa total del alimento (humedad en base húmeda). La humedad es un factor crítico en los alimentos, especialmente en alimentos en polvo ya que influye en otras propiedades como la cohesividad y puede provocar defectos en la calidad por el apelmazamiento de estos (Fitzpatrick, 2013).

En cuanto a su determinación existen tanto métodos directos como indirectos, en los directos se mide el contenido de humedad sin intermediarios, estos métodos se prefieren para la caracterización de muestras de alimentos por su precisión y reproducibilidad. Dentro de estos se encuentra el método gravimétrico que consiste en pesar la muestra antes y después de un período de secado a temperaturas entre 102°C y 110°C hasta que la masa de la muestra se vuelve constante, con esto se pretende eliminar mediante evaporación la humedad del alimento, para posteriormente calcular el contenido de agua como la diferencia entre ambas masas (Fitzpatrick, 2013; Vera Zambrano et al., 2019).

### Actividad de agua

La actividad de agua o  $A_w$  de un alimento indica la intensidad con la que el agua se asocia con la matriz alimenticia, se define como la presión de vapor parcial de agua en una solución dividida por la presión de vapor parcial de agua pura a la misma temperatura. Esta propiedad se relaciona con la calidad de los alimentos ya que influye en gran cantidad de procesos como la textura, el crecimiento de microorganismos, el pardeamiento no enzimático, la actividad enzimática y la oxidación de lípidos; el  $A_w$  se encuentra entre 0 y 1, los alimentos con menor  $A_w$  presentan mayor vida útil ya que el agua disponible para los procesos antes mencionados es menor (da Silva Oliveira et al., 2019).

Hay variedad de métodos para la determinación de la actividad de agua, el higrómetro, manómetro, punto de rocío, depresión del punto de congelación, termopar y psicrómetro. De estos la técnica de punto de rocío en un analizador eléctrico es muy empleada a nivel de laboratorio por su alta precisión y reproducibilidad. Esta técnica se basa en la determinación de la temperatura a la que se produce la primera condensación del vapor de agua de un alimento, que ocurre cuando el contenido de agua de la muestra alcanza el equilibrio con el vapor de agua en el espacio de la cámara de la muestra, al mismo tiempo se mide la temperatura de la muestra y con esto el equipo calcula la actividad de agua (da Silva Oliveira et al., 2019).

#### 3.4.4 Métodos para la determinación de la funcionalidad nutricional y tecnológica

En el estudio de los extractos de fuentes alternativas de proteínas se utilizan pruebas que permiten determinar su funcionalidad práctica mediante la determinación de las características físicas y químicas que definen la forma en que las proteínas se comportan en los alimentos durante su procesamiento, almacenamiento, distribución y consumo, estas características se conocen como propiedades tecno-funcionales e incluyen la solubilidad, capacidad de retención de agua y aceite, gelificación, formación y estabilidad de la espuma, reología y propiedades emulsionantes. Además, a nivel nutricional se incluyen pruebas como el perfil de aminoácidos y la determinación de la digestibilidad *in vitro* (Bessada et al., 2019).

##### Digestibilidad *in vitro*

La digestibilidad de las proteínas es una propiedad de gran relevancia ya que influye directamente en su calidad, es decir, en su capacidad de satisfacer las necesidades nutricionales del cuerpo. La digestibilidad se define como el porcentaje de las proteínas ingeridas que se absorbe en el tracto digestivo, para que ocurra la digestión de las proteínas intervienen varias enzimas proteolíticas; en el estómago en condiciones ácidas actúa la pepsina y a pH más básicos actúan la tripsina y quimotripsina, estas enzimas digieren las proteínas mediante la hidrólisis de sus enlaces peptídicos, convirtiéndolas primero en oligopéptidos y posteriormente en los aminoácidos que las componen (Misquitta et al., 2023).

Para determinar la digestibilidad se han estudiado diversos métodos, destacan la puntuación de aminoácidos corregida por la digestibilidad (PDCAAS, por sus siglas en inglés) y más recientemente la puntuación de aminoácidos indispensables digestibles (DIAAS), que incluye datos sobre la digestibilidad ileal de cada aminoácido, y se determina en modelos animales y humanos. De manera alternativa se realizan determinaciones *in vitro*, ya que representan métodos más económicos, rápidos y fáciles de aplicar, para esto se usan enzimas en condiciones gastrointestinales simuladas (Bessada et al., 2019; Misquitta et al., 2023).

Existen varios factores que pueden afectar la digestibilidad de las proteínas entre ellos el pH, la temperatura, las condiciones de fuerza iónica y la matriz del alimento. También influyen la secuencia de aminoácidos y las características estructurales de las proteínas, así como otros componentes que pueden interferir en el proceso digestivo, por ejemplo, los polifenoles, los inhibidores de enzimas y los carbohidratos estructurales (Jiménez-Munoz et al., 2021).

## Solubilidad

La solubilidad de la proteína mide su capacidad para disolverse en determinado disolvente, esta característica depende principalmente de la polaridad y tamaño de las moléculas, y de la composición de aminoácidos polares y no polares en la superficie de estas, lo que a su vez influye en las interacciones proteína-proteína y proteína-disolvente. Esta propiedad se ve afectada por diversos factores como la temperatura, el pH, tipo de disolvente y fuerza iónica. Se ha estudiado que a valores de pH cercanos a su punto isoeléctrico (pH 4-6 en el caso de las legumbres), cuando la carga neta es nula y disminuyen las repulsiones electrostáticas, las proteínas son menos solubles y precipitan, mientras que conforme se alejan de estos valores hacia pH más ácidos o alcalinos aumenta su solubilidad. Para su determinación generalmente se disuelve una cantidad conocida de proteína en agua destilada y se ajusta el valor de pH añadiendo HCl o NaOH según corresponda, se incuba determinado tiempo, se centrifuga y se evalúa el contenido de proteína en el sobrenadante (Bessada et al., 2019; Hadidi et al., 2023; Rajpurohit & Li, 2023).

Esta propiedad tecno-funcional es de gran importancia ya que está relacionada con otras como la emulsificación, gelificación y la formación de espuma, además influye en la textura, color y otras propiedades sensoriales del alimento, por lo que afecta directamente en el valor del extracto de proteína como ingrediente alimentario. La fuente de la proteína, el método de extracción, el tipo de secado, el tratamiento térmico y otras operaciones en el procesamiento pueden afectar la solubilidad de las proteínas y, por tanto, su funcionalidad en los sistemas alimentarios (Kiosseoglou et al., 2020).

## Capacidad de retención de agua y aceite

La capacidad de retención de agua y aceite se define como la máxima cantidad de agua o aceite, respetivamente, que puede absorber la proteína por unidad de masa. Para su determinación se dispersa una cantidad conocida de proteína en polvo en agua o aceite y se mezcla vigorosamente, después se centrifuga y se elimina el exceso de agua y aceite. La diferencia de masa entre la muestra sola y la muestra posterior a la prueba proporciona la cantidad de agua o aceite retenida por la proteína, finalmente se expresa la capacidad de retención como los g de agua o aceite/g de proteína. Este valor es de utilidad para la determinación de la funcionalidad tecnológica de los extractos de proteína y su aplicación en los productos, ya que afecta características como la jugosidad y capacidad de cocción. Además, juegan un papel importante en la textura, sabor y otras propiedades sensoriales de los alimentos (Haque et al., 2016a; Rajpurohit & Li, 2023).

La capacidad de retención de agua y aceite puede variar dependiendo de la fuente de la proteína, su contenido de proteínas, su composición de aminoácidos, el tamaño y porosidad de la molécula y la diversidad de grupos polares y no polares en su superficie. También otros factores como el pH, temperatura, fuerza iónica, el método de extracción de la proteína y el procesamiento del alimento en el que se aplica pueden afectar la composición de la superficie de la proteína y por tanto su capacidad de retener aceite o agua (Hadidi et al., 2023; Rajpurohit & Li, 2023).

### Propiedades emulsionantes

Las proteínas gracias a la presencia de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos actúan como emulsionantes, es decir, moléculas con la capacidad de participar en la formación de emulsiones y en la estabilización de la interfaz agua/aceite. Al estar en una emulsión las moléculas de la proteína se realinean de manera que los grupos hidrofóbicos penetran en las gotas de aceite y los grupos hidrofílicos se extienden hacia la fase acuosa, formando una película alrededor de las gotas de aceite que reduce la tensión interfacial y actúa como barrera oponiéndose a los procesos de desestabilización como la floculación, la coalescencia y la sedimentación. Para evaluar las propiedades emulsionante se utilizan los índices de actividad y estabilidad emulsionante, el índice de actividad emulsionante mide el área de superficie máxima de la emulsión por unidad de proteína y el índice de estabilidad mide la resistencia de la emulsión durante un tiempo específico, esto se determina mediante la medición de la turbidez en un tiempo fijo y a condiciones específicas de pH y temperatura (Aryee et al., 2018; Haque et al., 2016b; Kiosseoglou et al., 2021).

Las propiedades emulsionantes de la proteína dependen de sus características moleculares como el tamaño, la solubilidad y la hidrofobicidad de su superficie. También están fuertemente influenciadas por las condiciones ambientales del alimento donde se aplica, especialmente por el pH, la fuerza iónica y la temperatura, y por la presencia de otros componentes como iones minerales, polifenoles, lípidos y polisacáridos (Hadidi et al., 2023).

### **3.5 Productos análogos de la carne**

Los productos análogos de la carne son aquellos que imitan la textura, apariencia, sabor y características nutricionales de los productos cárnicos, pero están formulados con proteínas no cárnicas. Para la elaboración de estos productos se emplean las fuentes de proteínas alternativas, a saber, las legumbres, cereales, micoproteínas y proteínas de alga; siendo actualmente la proteína de soya, el gluten de trigo, la proteína de guisante y las micoproteínas las fuentes más utilizadas.

Se han desarrollado variedad de productos análogos de la carne como nuggets, hamburguesas, salchichas, albóndigas, carne molida y filetes (Rajpurohit & Li, 2023; Sun et al., 2021).

Los principales componentes de los análogos de carne son agua, proteínas vegetales texturizadas, proteínas no texturizadas, grasas, aromas, agentes aglutinantes o extensores (como hidrocoloides y almidones) y colorantes. Cada uno de estos ingredientes cumple una función importante en la formulación: la proteína es esencial a nivel nutricional y funcional, la proteína texturizada aporta a la textura, apariencia y sensación en boca, el agua aporta jugosidad y actúa como plastificante, la grasa influye en el sabor, color y textura, los agentes aglutinantes actúan en la retención de agua, la textura y las propiedades emulsionantes, y los saborizantes y colorantes ayudan en la apariencia y sabor del producto (Kyriakopoulou et al., 2019).

En la elaboración de los productos análogos de la carne, además de considerar la formulación, se utilizan operaciones fisicoquímicas o tecnológicas que ayuden a imitar la estructura y textura de los productos cárnicos. A nivel fisicoquímico se realiza la estructuración y gelificación de mezclas de biopolímeros y a nivel de proceso se utilizan técnicas como la extrusión, el hilado y el flujo de cizallamiento (Rajpurohit & Li, 2023).

### **3.5.1 Salchicha a base de proteína vegetal**

Gracias a su sabor y conveniencia las salchichas son uno de los embutidos más consumidos a nivel mundial, tradicionalmente se elaboran combinando grasa con carne de res finamente picada para formar una emulsión. Sin embargo, debido principalmente a motivos ambientales y de salud, la industria alimentaria está innovando en opciones más sostenibles y saludables desarrollando productos reducidos en carne o sin carne incluyendo proteínas vegetales, como por ejemplo embutidos tipo emulsión de origen vegetal ricos en proteína y bajos en grasa. La soya ha sido de las fuentes de proteína vegetal más estudiadas y empleadas en los sustitutos de carne, también se han utilizado otras fuentes como la proteína de frijol mungo, guisantes, maní, trigo, arroz y arveja (Mazumder, Sujintonniti, et al., 2023; Samard & Ryu, 2019).

### **3.5.2 Oferta en el mercado**

El mercado de productos análogos está en crecimiento, se prevé que alcance los 15700 millones de dólares en el 2027, esto gracias a diversos factores como el aumento en la población vegana y flexitariana y en la conciencia sobre los beneficios para la salud, además del incremento de la inversión por parte de las organizaciones gubernamentales y de los principales gigantes de la industria alimentaria en países de Europa y Estados Unidos, donde destacan empresas como

Impossible foods, Morning Star Farms y Beyond meat (Markets and Markets, 2022; Yuliarti et al., 2023).

En Costa Rica, un estudio reciente realizado por Flores (2022) señala que la oferta de proteínas alternativas es mayoritariamente importada de Estados Unidos y Reino Unido, tan solo 10% de la oferta de este tipo de productos es nacional. Dentro de estos productos predomina la soya como la fuente de proteína vegetal utilizada, y la mayoría de los productos son alternativas a los embutidos y productos a base de res, específicamente tortas de hamburguesas y salchichas. Algunas de las opciones de salchichas análogas son las de la marca Beyond Meat, salchichas de desayuno en su presentación original, estilo Brat, italiana y picante, salchichas de desayuno vegana de las marcas Gardein y Morning Star Farm, salchicha vegana de la marca Soyalign (única marca nacional), la salchicha vegana The Meatless Farm Co y las salchichas veganas estilo italiana, jumbo y con pesto y albahaca de la marca Tofurky. De estas únicamente la salchicha de The Meatless Farm Co tiene como fuente de proteína los guisantes, las demás son a base de soya.

### **3.5.3 Retos a nivel tecnológico, nutricional y sensorial**

A pesar de los avances en la producción de análogos de productos cárnicos a base de proteína vegetal existen algunos retos en su elaboración. El principal reto de estos productos es lograr una textura, apariencia y sabor que emulen a los de los productos cárnicos y sean aceptables para el consumidor. En cuanto al sabor, las leguminosas se caracterizan por la presencia de sabores desagradables, sabores fuertes, amargos y astringentes, que se atribuyen a la peroxidación de ácidos grasos insaturados por la lipoxigenasa y a la presencia de compuestos como isoflavonas, aldehídos, alcoholes, cetonas, y saponinas, para enfrentar este desafío se agregan a la formulación ingredientes que enmascaren los sabores desagradables, por ejemplo especias para sabores italianos, pimientos para productos picantes o bien condimentos sabor carne; también se aplican otros tratamientos de previo o durante la extracción de la proteína para disminuir los sabores desagradables tales como el desengrasado, la fermentación, la germinación y tratamientos térmicos a la leguminosas (Ismail & Huda, 2022; Munialo et al., 2022). La apariencia y particularmente el color característico de los productos cárnicos es uno de los atributos más importante para los consumidores, para esto se añaden colorantes termoestables que simulen los colores deseados, por ejemplo, extractos de remolacha o tomate; recientemente se han innovado en otras opciones como el colorante “hemo”, molécula similar a la mioglobina de la carne que se obtiene mediante una levadura genéticamente modificada y confiere al producto el color distintivo de los productos cárnicos (Lee et al., 2020).

Respecto a la textura, se usan diferentes técnicas para asemejar las estructuras fibrosas y obtener la jugosidad y sensación en la boca de los productos cárnicos, estas técnicas incluyen la extrusión, el cizallamiento, el hilado y la reticulación, estos métodos permiten desnaturalizar las proteínas para mejorar las interacciones entre los polímeros de proteínas y carbohidratos; de estos la extrusión es la técnica más utilizada ya que es un método económico y versátil que produce proteínas estructuradas que mejoran la textura. Además de estas técnicas, en la elaboración de los análogos se incluyen ingredientes como los almidones e hidrocoloides que mejoran la textura, cohesividad, consistencia y estabilidad del producto (Mazumder, Panpipat, et al., 2023; Yuliarti et al., 2023).

A nivel nutricional, se conoce que la proteína vegetal tiene un contenido limitado de aminoácidos que contienen azufre, tales como la metionina, cisteína y triptófano, para contrarrestar este problema se realiza la suplementación con otras proteínas, por ejemplo de cereales, para producir una proteína completa. En este aspecto también se cuestiona esta opción por su contenido de antinutrientes, tales como los inhibidores de proteasa, inhibidores de  $\alpha$ -amilasa, lecitina, polifenoles y ácido fítico, estos compuestos pueden disminuir la actividad de las enzimas del tracto digestivo y la biodisponibilidad de proteínas, aminoácidos y micronutrientes. Para disminuir o eliminar estos antinutrientes se usan tratamientos físicos y químicos como el descascarado, remojo, cocción y otros tratamientos térmicos (Ismail & Huda, 2022; Lee et al., 2020).

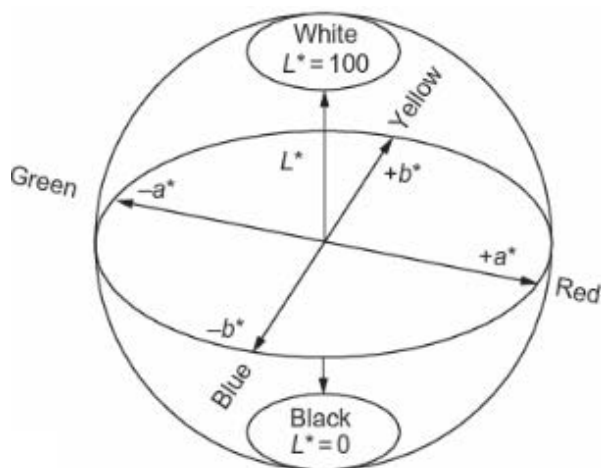
#### **3.5.4** Métodos para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de los análogos de salchichas de carne

##### Color

El color es la medida percibida de un objeto que refleja o transmite diferentes longitudes de onda de luz visible, este atributo juega un papel fundamental en la apariencia de los alimentos y al relacionarse con factores como la frescura, madurez y seguridad alimentaria influye de manera importante en la percepción que se tiene de la calidad de ellos y en la aceptación por parte de los consumidores (Hutchings, 2012).

Para su medición se han establecidos espacios de color en los cuáles cada color se define como un punto en un sistema continuo tridimensional, dos de los más utilizados son el Hunter y el CIE, los cuales utilizan los valores L, a y b que sirven de coordenadas espaciales y se relacionan con lo desarrollado por la Comisión Internacional de l'Eclairge (CIE), que definió el color en términos de los valores triestímulos X,Y,Z que denotan la mezcla de los colores primarios rojo (X),

azul (Y) y verde (Z). En la Figura 2 se muestra el espacio de color CIE Lab, en el eje vertical se tiene la luminosidad  $L^*$  que va desde un valor de 0 para el negro y 100 para el blanco, el eje horizontal  $a^*$  que va de valores positivos para el rojo, hasta los negativos para el verde y eje horizontal  $b^*$  que tiene valores positivos para el amarillo y negativos para el azul (Dawson & Acton, 2017).



**Figura 3.** Espacio de color CIE Lab.

Fuente: (Dawson & Acton, 2017).

A partir de las coordenadas ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) se han desarrollado otros valores para expresar el color, estos se correlacionan altamente con la percepción visual del color, y son para el espacio CIE Lab el tono ( $h^*$ ) y el croma ( $C^*$ ). El tono es el ángulo del color en medición con respecto al eje del rojo, al ser un ángulo tiene una amplitud de  $360^\circ$ , siendo el rojo representado entre  $350^\circ$ - $360^\circ$  y  $0^\circ$ - $35^\circ$ , anaranjado entre  $35^\circ$ - $70^\circ$ , amarillo entre  $70^\circ$ - $105^\circ$ , verde  $105^\circ$ - $195^\circ$ , azul entre  $195^\circ$ - $285^\circ$  y morado entre  $285^\circ$ - $350^\circ$ . El croma es la medición de la cantidad o viveza del color, siendo colores más vivos aquellos con mayor  $C^*$  (Dawson & Acton, 2017; Hernández Salueña et al., 2019).

### Textura instrumental

La textura de los análogos de las salchichas de carne es uno de los atributos más relevantes para su aceptación por parte del consumidor. Para su determinación se utilizan diferentes técnicas instrumentales, dentro de las principales se encuentra el análisis de perfil textura (TPA), esta técnica de comprensión doble simula la acción de morder de la boca y combina múltiples parámetros texturales como la dureza (fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión),

adhesividad (área negativa para la primera comprensión), cohesividad (relación entre el área superficial del primer y segundo ciclo), elasticidad (altura a la que se recupera la muestra durante el tiempo entre el primer y el segundo ciclo de comprensión) y masticabilidad (energía requerida para masticar el producto, dureza x elasticidad x cohesividad) (Kamani et al., 2019; Schreuders et al., 2021).

### Pérdidas por cocción

Las pérdidas por cocción indican la capacidad del sistema para unir agua y grasa después de la desnaturalización y agregación de las proteínas durante la cocción. Esta propiedad se relaciona con factores como la temperatura, tiempo y métodos de cocción, además influyen los aditivos y el tipo de grasa usados en la formulación (Kamani et al., 2019; Tahmasebi et al., 2016).

### Estabilidad de la emulsión

La estabilidad de emulsión se define como la capacidad de retener los jugos y resistir los cambios a lo largo del tiempo en una emulsión, por lo que es de gran relevancia en la elaboración y el almacenamiento de las salchichas y otras emulsiones cárnicas. Esta propiedad se relaciona con la capacidad de retención de agua y aceite de las proteínas presentes en la emulsión. Para su determinación se mide la masa de la muestra y la masa de los exudados totales, tomando la masa de la muestra antes y después de del proceso de cocción y enfriamiento (Kamani et al., 2019; Tahmasebi et al., 2016).

### pH

El pH es uno de los parámetros que pueden repercutir en las propiedades y en la estabilidad de los alimentos, particularmente en alimentos como los productos análogos de la carne, en los que las proteínas tienen un papel fundamental. Los ácidos orgánicos de los alimentos pueden ionizarse formando su base conjugada más iones hidrógeno ( $H^+$ ), el pH mide la actividad o concentración de los iones de hidrógeno en solución. La escala de pH se definió con base en la constante de equilibrio del agua y varía de 0 a 14, un pH por debajo de 7 se considera ácido y por encima de 7 básico. Esta medición puede realizarse mediante reactivos indicadores, tiras indicativas, electrodos metálicos o de vidrio (da Silva Oliveira et al., 2019).

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Localización del estudio

Las actividades necesarias para la ejecución de este proyecto se realizaron en las instalaciones de la Universidad de Costa Rica, sede Rodrigo Facio. La preparación de los concentrados de proteína de las leguminosas y los análisis fisicoquímicos de los concentrados de proteína y prototipos de salchicha se llevaron a cabo en el Laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos, mientras que la elaboración de los prototipos de salchichas se llevó a cabo en el Laboratorio de Formulaciones de la misma Unidad Académica. Los análisis del contenido y solubilidad de proteína y de la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína se realizaron en el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).

### 4.2 Materia prima

Se utilizaron leguminosas nativas costarricenses, suministradas por la Estación Experimental Agrícola Fabio Baudrit Moreno. Estas leguminosas corresponden al gandul (*C. cajan*) cosechado la segunda semana de enero 2022, y los frijoles criollos: Mantequilla (*P. lunatus*) cosechado en agosto 2021 y, Cabécar (*P. vulgaris*), cosechado la segunda semana de diciembre 2021. Los Cubá (*P. coccineus*) se obtuvieron de la finca de Gastón Arias en Llano Grande de Cartago y fueron cosechados en la segunda semana de febrero 2022. El concentrado de soya comercial se consiguió en Condimentos de Tiquicia S.A.

Los otros insumos necesarios para la realización del proyecto se obtuvieron de diferentes proveedores nacionales. Para la elaboración de los prototipos de salchichas se utilizó, además de los concentrados de proteína de las leguminosas, proteína de soya texturizada, aceite de girasol, almidón de maíz, carragenina kappa, condimento para salchicha, sal, carboximetilcelulosa, fibra cítrica y carmín. Para el embutido de las salchichas se utilizaron fundas plásticas impermeables.

### 4.3 Pruebas preliminares

#### 4.3.1 Evaluación de las condiciones de secado en el equipo “Mini Spray Dryer B-290” para el secado por aspersión de los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio.

Previo a la ejecución de las pruebas definitivas fue necesario realizar una serie de pruebas en el equipo “Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Suiza)” para definir los parámetros del secado por aspersión de los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio. Para ello se realizaron tres corridas en el equipo, en todas se utilizaron 150mL de una disolución al 10% del concentrado de gandul en agua, pH ajustado a 6,0. Para evaluar el concentrado en polvo obtenido, se determinó el rendimiento de secado y la humedad del producto en una balanza de humedad marca Sartorius, empleada en modo automático. En el Cuadro II se muestran las condiciones de operación y los resultados de las pruebas realizadas.

Las condiciones iniciales de los parámetros del secador y las variaciones realizadas en las subsiguientes corridas se ajustaron usando como referencia la tesis de Martínez (2016) de secado por aspersión de clara de huevo y la información disponible en el sitio web del fabricante.

**Cuadro II.** Parámetros del secador y resultados de las pruebas en el secador “Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Suiza)”.

<b>Prueba</b>	<b>Parámetros del secador</b>	<b>Rendimiento de secado (%)</b>	<b>Humedad final (%)</b>
<b>1</b>	Temperatura del aire: 110 °C Flujo de producto (% bomba): 50 % Flujo del aire (mm rotámetro): 50 mm Aspirador: 100 % Limpieza de la tobera: 6	14,5	11,33
<b>2</b>	Temperatura del aire: 150 °C Flujo de producto (% bomba): 50 % Flujo del aire (mm rotámetro): 50 mm Aspirador: 100 % Limpieza de la tobera: 6	10,8	12,62
<b>3</b>	Temperatura del aire: 130 °C Flujo de producto (% bomba): 40 % Flujo del aire (mm rotámetro): 50 mm Aspirador: 100 % Limpieza de la tobera: 6	12,5	9,82

Considerando los resultados expuestos y las observaciones respecto a la duración de la operación, la facilidad de recolección del producto y la apariencia del polvo obtenido (aglomeración, oscurecimiento), se decidió mantener los parámetros del secador utilizados en la prueba 3 para el secado por aspersión de los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio.

#### 4.3.2 Prueba de las formulaciones para la elaboración de los prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne.

Se realizó una prueba de la formulación base, adaptada de la fórmula propuesta por Majzoobi et al. (2017) y por Ingredion en su conferencia Redefiniendo el futuro de los alternativos a carnes rojas (2021). Para ello se elaboraron prototipos del embutido análogo a la salchicha de carne, utilizando el concentrado comercial de proteína de soya (Condimentos Tiquicia S.A, Costa Rica) y el concentrado de gandul liofilizado, para cada prueba se siguió la formulación que se detalla en el Cuadro III, dónde se quiso probar principalmente el efecto del cambio en el porcentaje de concentrado de proteína a utilizar.

**Cuadro III.** Formulación de los prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne elaborados para la prueba preliminar de la formulación.

<b>Ingredientes</b>	<b>Prueba 1 (%)</b>	<b>Prueba 2 (%)</b>	<b>Prueba 3 (%)</b>
Agua fría	59,40	56,58	54,96
Proteína de soya texturizada	14,00	13,49	14,11
Aceite de girasol	14,00	13,49	13,11
Almidón de maíz	7,00	8,60	8,16
Concentrado de proteína*	<b>2,00</b>	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>
Carragenina Kappa	0,60	0,98	1,91
Condimento para salchicha**	1,64	0,96	0,94
Sal	1,36	0,67	0,66
Carboximetilcelulosa (CMC)	-	0,69	0,67
Fibra cítrica	-	0,49	0,48
Carmín	-	0,03	0,03
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Para evaluar los prototipos elaborados en cada prueba, se realizó un análisis informal de la dureza, elasticidad y color de los prototipos. Como se observa en el Cuadro III, dado los resultados observados en esta valoración informal, fue necesario modificar la formulación de los prototipos hasta agregar un 5% del concentrado de proteína en la prueba 3, en la que se logró un prototipo con características más similares a las de una salchicha de carne. Además, a partir de la prueba 2 y por recomendación de un asesor técnico de Kerry CR, se optó por incluir otros ingredientes como la carboximetilcelulosa (CMC), la fibra cítrica y el carmín para mejorar la textura y color de los prototipos elaborados. Finalmente se decidió utilizar la formulación de la prueba 3 para los tres prototipos del embutido análogo a la salchicha de carne, a utilizar en las pruebas definitivas.

#### **4.4 Metodología**

##### **4.4.1 Caracterización fisicoquímica de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos tipos de secado durante la extracción.**

Como primer objetivo, se planteó caracterizar mediante parámetros fisicoquímicos los concentrados proteicos de las leguminosas en estudio, para esto se determinó el rendimiento de extracción, rendimiento de secado, contenido de proteína, contenido de humedad, actividad de agua ( $A_w$ ) y color instrumental de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas, obtenidos mediante dos tipos de secado durante la extracción.

##### Diseño experimental

Para cumplir con el objetivo planteado, con un único lote de leguminosas se realizaron 3 repeticiones de la extracción, secado y análisis fisicoquímicos de cada concentrado de leguminosa. Se aplicó un diseño irrestricto aleatorio, con un único factor denominado concentrado de proteína, el cuál posee 9 niveles que combinan la fuente de la proteína (4 leguminosas nativas y el concentrado de soya comercial) y el método de secado utilizado luego de la extracción (liofilización y secado por aspersion). A saber: Soya, Mantequilla SA, Gandul SA, Cuba SA, Cabécar SA, Mantequilla L, Gandul L, Cuba L y Cabécar L.

##### Análisis de datos

Para cada una de las variables respuesta se realizó un análisis de varianza en el que se evaluó con una significancia de 5% ( $\alpha=0,05$ ) el efecto simple del factor concentrado de proteína. En los casos en los que se encontraron diferencias significativas, se aplicó una prueba de comparación de

medias de Tukey utilizando un  $\alpha=0,05$ . Para las variables en las que no se encontraron diferencias significativas, se realizó el cálculo de la potencia de la prueba.

**a. Método extracción de las proteínas de leguminosas**

Para la extracción de las proteínas de las leguminosas se siguió el procedimiento descrito por Rui *et al.* (2011) con algunas modificaciones. Inicialmente se molieron las semillas secas de las leguminosas utilizando una licuadora y el molino centrífugo (ZM 200, Retsch) a una velocidad de 8000rpm, equipado con una malla termosensible de 1,00 mm. Posteriormente, el producto molido se desengrasó, para ello se realizaron dos lavados con n-hexano (proporción 1:2), se agitó la muestra por 30 min y se decantó el hexano. Luego para eliminar el solvente restante se extendió la harina desengrasada en una bandeja y se dejó secar a temperatura ambiente en la capilla extractora durante toda la noche (alrededor de 16 h).

Con el producto desengrasado se realizó una disolución 1:8 (m/m) en agua destilada, se ajustó el pH a 8,0 utilizando NaOH 1,0 M y se agitó por 1 h a temperatura ambiente. Luego, la disolución se trasladó a recipientes de centrifuga de 500mL, se centrifugó durante 20 min a 4000 rpm (3,30 x g) (Centrifuge 5810R, Ependorf) y se descartó el precipitado. El sobrenadante, el cual contiene la fracción proteica, se coló y se acidificó lentamente con agitación constante hasta un pH de 4,5 utilizando HCl 1,0 M, posteriormente se centrifugó por otros 20 min a 4000 rpm (3,30 x g). Finalmente, se recolectó el precipitado (concentrado proteico), se ajustó el pH a 6 utilizando NaOH 1,0 M y se almacenó en refrigeración hasta el momento de ser secado.

**b. Métodos de secado**

Con el fin de obtener un concentrado proteico en forma de polvo el extracto obtenido mediante el proceso ya descrito se homogenizó y se dividió para ser secado por los dos métodos de secado a probar: liofilización y secado por aspersion.

Para la liofilización la muestra correspondiente se congeló por 24 h a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  para luego ser liofilizada en el liofilizador VirTis Bench Top Pro, marca SP Scientific por un mínimo de 35 h a una presión de 40 Pa y una temperatura de  $-53\text{ }^{\circ}\text{C}$  en el compresor. Posteriormente, el concentrado de proteína se empacó al vacío y se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso en los diferentes análisis requeridos.

Para el secado por aspersion se realizó una disolución al 10 % del concentrado proteico en agua, se agitó 20min a temperatura ambiente y se secó utilizando el equipo de secado por aspersion

(Mini Spray Dryer B-290, Büchi, Suiza), con una temperatura de entrada de 130 °C, flujo de producto de 12 mL/min (40% de bomba peristáltica) y un flujo de aire de 1052 L/h (50 mm en el rotámetro) a condiciones estándar de temperatura y presión (la elección de estos parámetros se detalla en el punto 4.3.1 de pruebas preliminares). Los concentrados de proteína obtenidos se empacaron al vacío en bolsas laminadas impermeables y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su uso en los diferentes análisis requeridos.

### c. Métodos de análisis

#### Rendimiento de extracción

El rendimiento de extracción para cada concentrado de proteína se determinó en base húmeda, midiendo en cada repetición la masa de la harina de leguminosa desengrasada y la masa del concentrado de proteína seco. Con estos resultados el rendimiento de extracción se calculó como:

$$\text{Rendimiento de extracción (\%)} = \frac{\text{Masa concentrado de proteína seco (g)}}{\text{Masa harina de leguminosa (g)}} \times 100$$

#### Rendimiento de la operación de secado

Para la determinación del rendimiento de la operación de secado para cada repetición se midió la masa del concentrado de proteína húmedo (precipitado recuperado tras la centrifugación) y la masa del concentrado de proteína seco. Con estos datos el rendimiento de secado en base húmeda se calculó como:

$$\text{Rendimiento de secado (\%)} = \frac{\text{Masa concentrado de proteína seco (g)}}{\text{Masa de concentrado de proteína húmedo (g)}} \times 100$$

#### Contenido de proteína

La determinación del contenido de proteína en las muestras de los concentrados de proteína de leguminosa secados mediante los dos métodos de secado antes descritos, se realizó en el Laboratorio de Química del CITA mediante el método de Lowry (1951) adaptado. Se elaboraron diez estándares, de diferentes concentraciones entre 50 µg/mL-500 µg/mL, con una disolución

madre de albúmina de suero bovino (BSA) a 500 µg/mL. Además, se preparó un blanco con los reactivos utilizados.

Se realizó para cada concentrado de proteína una disolución de 100 mg del concentrado en 20 mL de agua destilada, esta disolución se diluyó con agua destilada lo necesario según el respectivo concentrado de leguminosa. Posteriormente, se tomó de cada dilución una alícuota de 50 µL por duplicado y se colocó en una microplaca de ensayo de 96 pocillos. La placa se introdujo en el espectrofluorómetro Sinergy HT, de la marca Biotek, en donde mediante un sistema automatizado se agregaron 45 µL de la disolución A a cada pocillo (0,2 g de  $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4 H_2O$ , 10 g de  $Na_2CO_3$  y 50 mL de NaOH 1 mol/L, aforados a 100 mL con agua grado 2), se mezcló y se mantuvo a 50 °C durante 10 min con agitación. Posteriormente, se enfrió la microplaca a temperatura ambiente y se agregó manualmente 5 µL de la disolución B a cada pocillo (2,0 g de  $C_4H_4KNaO_6 \cdot 4 H_2O$ , 1 g de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  y 10 mL de NaOH 1 mol/L, aforados a 100 mL con agua grado 2), se agitó manualmente y se incubó en la oscuridad durante 10 min. Transcurrido este tiempo se introdujo nuevamente la placa en el espectrofluorómetro el cuál agregó a cada pocillo 150 µL de la disolución C (1 mL de Folin-Ciocalteu y 14 mL de agua grado 2), mezcló y se mantuvo la microplaca a 50 °C durante 10 min con agitación. Finalmente, la microplaca se enfrió a temperatura ambiente y se midió la absorbancia de cada muestra a 650nm con el espectrofluorómetro Sinergy HT de la marca Biotek.

Para la cuantificación del contenido de proteína se graficó la absorbancia contra la concentración de albúmina bovina de los estándares, se calculó la línea de mejor ajuste de la curva de calibración y se obtuvo su ecuación. El contenido de proteína en las muestras se calculó de la siguiente forma:

$$\text{Concentración de proteína } \left( \frac{mg}{mL} \right) = \left( \frac{A_{muestra} - b}{m} \right) \times \left( \frac{1 mg}{1000 \mu g} \right) \times Fd$$

$$\text{Contenido de proteína } \left( \frac{g}{100g} \right) = \left( \frac{C \text{ proteína} \times 20mL \times \left( \frac{1g}{1000mg} \right)}{\text{masa concentrado de proteína}} \right) \times 100 g$$

Donde m es la pendiente obtenida de la curva de calibración (mL/µg), b es el intercepto y Fd es el factor de dilución de la muestra.

### Contenido de humedad

Para la determinación del contenido de humedad de los concentrados de proteína se utilizó el método de la AOAC 950.46, para ello se pesaron 2g de cada concentrado de proteína en cápsulas metálicas secas y de masa conocida. La muestra se introdujo en una estufa a 105°C hasta peso constante. Alcanzado este punto se determinó por diferencia la masa de agua perdida y se calculó el contenido (%m/m) de humedad del concentrado de proteína. Esta determinación se realizó por duplicado.

### Actividad del agua ( $A_w$ )

La actividad de agua se midió por duplicado para cada repetición utilizando el equipo AquaLab 4TE, previamente se verificó su calibración con las soluciones de verificación suministradas por el proveedor del equipo. Para la determinación se colocó la muestra de concentrado de proteína en el porta muestras del equipo, lleno hasta la mitad de su capacidad, se introdujo en el equipo y una vez estabilizada la medición se tomó el dato de  $A_w$ .

### Color instrumental

La medición de color se realizó de manera directa con el colorímetro ColorFlex de la marca HunterLab, se trabajó con un ángulo de apertura de 10° y tipo de luz D<sub>65</sub>. Para cada concentrado de proteína se determinaron los parámetros de luminosidad visual, coordenadas cromáticas de rojo y verde y coordenadas cromáticas de amarillo y azul ( $L^*$ ,  $a^*$ , y  $b^*$  respectivamente). Además, se determinaron los indicadores Hue ( $h$ ) y Cromo ( $C^*$ ), que se calcularon de la siguiente manera ((Hernández Salueña et al., 2019):

$$h = \arctan \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

#### **4.4.2 Evaluación de la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteínas de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado luego de la extracción, y de un concentrado de proteína de soya comercial.**

En el segundo objetivo se evaluó la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína previamente obtenidos y caracterizados, y de un concentrado de proteína de soya comercial (como parámetro de comparación). Para esto se determinó el porcentaje de solubilidad a diferentes pH, la capacidad de absorción de agua, la capacidad de absorción de aceite y la actividad y estabilidad emulsionante de cada uno.

##### Diseño experimental

Se empleó un diseño irrestricto aleatorio con un único factor denominado concentrado de proteína, el cuál posee 9 niveles que combinan la fuente de la proteína (4 leguminosas nativas y el concentrado de soya comercial) y el método de secado utilizado luego de la extracción para los concentrados de las cuatro leguminosas nativas (liofilización y secado por aspersión). Se realizaron 3 repeticiones del experimento para la determinación de la digestibilidad *in vitro*, el porcentaje de solubilidad a diferentes pH, la capacidad de absorción de agua, la capacidad de absorción de aceite y la actividad y estabilidad emulsionante. En el caso de la digestibilidad *in vitro*, dada la limitante en los reactivos, se midió una única réplica en cada repetición.

##### Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables respuesta en el que se determinó el efecto del concentrado de proteína con un nivel de significancia del 5 % ( $\alpha=0,05$ ). Para las variables respuesta en las que se encontraron diferencias significativas se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey utilizando un  $\alpha=0,05$ . En el caso de no encontrar diferencias significativas se realizó el cálculo de la potencia de la prueba.

Para la escogencia de los concentrados de proteína de leguminosa a utilizar en el tercer objetivo, se evaluó mediante el análisis estadístico antes mencionado el desempeño de los concentrados proteicos en las variables respuesta estudiadas, teniendo como referencia el desempeño del concentrado de soya comercial. Además, se consideró para la decisión el criterio de las investigadoras y otros factores pertinentes tales como la facilidad de procesamiento, el costo del método de secado empleado y la disponibilidad de la materia prima.

## a. Métodos de análisis

### Digestibilidad *in vitro*

Para determinar la digestibilidad de los concentrados de proteína se empleó el kit de ensayo de digestibilidad de proteínas (K-PDCAAS) de la marca Megazyme (lote: 220621-01). Se siguió el procedimiento descrito en el manual del kit, el cuál consistió en tres etapas: extracción de las muestras, preparación de los estándares de calibración y determinación colorimétrica de aminos.

Con los datos de concentración de amina primaria corregida por aminoácidos (mM) se realizó una curva de ajuste, se calculó la línea de regresión y su ecuación, para finalmente calcular la digestibilidad *in vitro* de las muestras:

$$\text{Digestibilidad in vitro (g)} = \frac{(m * C1 + b)}{100}$$

Dónde:

C1 = concentración de amina primaria corregida para cada muestra

m = pendiente de la línea de regresión

b = Intercepto con el eje Y

### Solubilidad de la proteína

El porcentaje de solubilidad de los concentrados de proteína se midió por duplicado en cada repetición, usando una adaptación del método descrito por Ghribi *et al.* (2015). La determinación se realizó en función del pH, el cual se evaluó en 4,0, 6,0 y 8,0. Para ello, se preparó una disolución de 100 mg del concentrado de proteína en 20 mL de agua destilada y se ajustó el pH al respectivo valor, usando una disolución de NaOH 0,1 mol/L o HCl 0,1 mol/L según correspondiera. Las suspensiones se agitaron a temperatura ambiente por 1 hora, terminado el tiempo se tomó una alícuota de 1 mL para determinar el contenido total de proteína, el resto de la disolución se centrifugó a temperatura ambiente a 4000 rpm por 15 min usando la centrífuga R501 marca Eppendorf, después de centrifugar se tomó una alícuota de 1 mL del sobrenadante de cada tubo. Posteriormente se determinó el contenido de proteína total y en el sobrenadante con el método de Lowry *et al.* (1951) descrito en el punto c del apartado 4.5.1.3. La solubilidad del concentrado proteico a cada pH se calculó como:

$$\text{Solubilidad (\%)} = \frac{\text{Contenido total de proteína en el sobrenadante}}{\text{Contenido total de proteína en la muestra}} \times 100$$

### Capacidad de retención de agua y aceite

Para la determinación de la capacidad de retención de agua y aceite se pesaron por duplicado 0,05 g de cada concentrado de proteína en tubos de centrifuga de 15 mL y se agregaron 1,5 mL de agua destilada o aceite de girasol. Se agitaron las muestras con un vortex durante 20 s y se dejaron 30 min a temperatura ambiente, con agitación cada 5 min. Una vez transcurrido este tiempo se centrifugaron los tubos a 4000 rpm durante 20 min a 4 °C en la centrifuga R501 marca Eppendorf, se decantó cuidadosamente el sobrenadante, se colocaron boca abajo por 5 min para eliminar el remanente, y se pesó el precipitado en cada tubo (Gundogan & Can Karaca, 2020). El resultado se expresó como los g de agua o aceite absorbidos por g del concentrado de proteína (en base húmeda):

$$CR (g/g) = \frac{M2 - M1}{M0}$$

Donde M2 es la masa del tubo con el precipitado, M1 es la masa del tubo con el concentrado de proteína y M0 es la masa del concentrado de proteína.

### Actividad y estabilidad emulsionante

La actividad y la estabilidad emulsionante se midieron usando una adaptación del método espectrofotométrico de Pearce y Kinsella (1978). Inicialmente se prepararon para cada concentrado de proteína, por duplicado, 10 mL de una solución 5 g/L y se ajustó a pH 7 utilizando NaOH 0,1 mol/L. Se añadió aceite de girasol en una proporción 50:50 aceite de girasol:solución de proteína (mL/mL), y se homogenizó durante 5 min utilizando un homogeneizador de alta velocidad (Ultra-Turrax), a velocidad media. Se tomó del fondo del beaker una alícuota de 100 µL de la emulsión, se colocó en un tubo de vidrio y se diluyó agregando 7,5 mL de una solución buffer de fosfato de sodio 10 mmol/L (pH 7,0) que contiene dodecilsulfato de sodio (SDS) en una concentración de 1 g/L. Se agitó la muestra con un vortex por 30 s y se midió la absorbancia a 500 nm con un espectrofotómetro UV-Visible a los 0 min, pasados 10 min se tomó otra alícuota de 100 µL de la emulsión y se repitió el procedimiento para la determinación de la absorbancia (Gundogan & Can Karaca, 2020). Además, se preparó y midió la absorbancia a los 0 y 10 min de un blanco sin concentrado de proteína. El índice de actividad emulsionante (IAE) y el índice de estabilidad emulsionante (IEE) se calculó como:

$$IAE (m^2 / g) = \frac{2 \times 2,303 \times A_0 \times N}{c \times \phi \times 10000}$$

$$IEE (min) = \frac{A_0}{\Delta A} \times t$$

Donde, A0 es la absorbancia de la emulsión a los 0 min, N es el factor de dilución, c es la concentración de la disolución de proteína (g/mL),  $\Phi$  es la fracción de volumen de aceite en la emulsión (mL/mL),  $\Delta A$  es el cambio en la absorbancia de la muestra transcurridos los 10 min y t es el intervalo de tiempo entre una medición de absorbancia y la otra (10 min).

#### **4.4.3 Comparación de las características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas de carne elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados.**

A partir de los resultados del segundo objetivo se seleccionaron los dos concentrados de proteína mejor evaluados para elaborar prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne. A estos prototipos y a un prototipo elaborado con el concentrado de soya comercial se les realizaron los análisis de perfil de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad), fuerza de corte, estabilidad de la emulsión, pérdidas por cocción, pH y color para comparar sus características fisicoquímicas.

#### Diseño experimental

Para evaluar las características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas se utilizó un diseño irrestricto al azar, con un único factor llamado formulación. El factor formulación tiene 3 niveles que corresponden a: un prototipo de salchicha elaborado con concentrado de soya y 2 prototipos elaborados con los 2 concentrados de proteínas elegidos en el segundo objetivo (gandul y Cubá liofilizados). Se realizaron 3 repeticiones, cada una correspondiente a un lote de prototipos de salchichas análogas producidos en días diferentes.

#### Análisis de datos

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables respuesta, en el que se evaluó el efecto de la formulación con una significancia del 5% ( $\alpha=0,05$ ). Para las variables respuesta en las que se encontraron diferencias significativas se realizó una prueba de comparación

de medias de Tukey utilizando un  $\alpha=0,05$ , y en el caso de no encontrar diferencias significativas se calculó la potencia de la prueba.

- a. Formulación y proceso de elaboración de los prototipos de embutido análogo a las salchichas de carne

En el Cuadro IV se presenta la formulación de la salchicha análoga a la de carne, para cada prototipo lo que varió fue el concentrado de proteína utilizado (concentrado de soya, concentrado de gandul liofilizado y concentrado de frijol Cuba liofilizado (elegidos en el objetivo 2)). La fórmula utilizada corresponde a una adaptación de la fórmula propuesta por Majzoobi *et al.* (2017) y por Ingredion en su conferencia Redefiniendo el futuro de los alternativos a carnes rojas (2021). Los ingredientes, su porcentaje en la formulación y el proceso de elaboración se ajustaron mediante pruebas preliminares (apartado 4.3.2).

**Cuadro IV.** Ingredientes y porcentaje de cada uno para la elaboración de los prototipos de salchicha análoga a la de carne con el concentrado comercial de soya y los concentrados de gandul y frijol Cuba preparados en el laboratorio.

<b>Ingredientes</b>	<b>Formulación (%)</b>
Agua fría	55
Proteína de soya texturizada	14
Aceite de girasol	13
Almidón de maíz	8
Concentrado de proteína*	5
Carragenina Kappa	2
Condimento para salchicha**	1
Sal	0,7
Carboximetilcelulosa (CMC)	0,7
Fibra cítrica	0,5
Carmín	0,03
<b>Total base</b>	<b>100</b>

\*El concentrado de proteína varió para cada prototipo. Se utilizó el concentrado de soya comercial de Condimentos de Tiquicia S.A y los concentrados de gandul y frijol Cuba.

\*\*El condimento para salchicha corresponde a una mezcla de: cloruro de sodio, harina de trigo, azúcar, glutamato monosódico, saborizantes cárnicos, proteína vegetal hidrolizada, extracto de especias como cebolla, ajo, chile picante, humo líquido y fosfato tricálcico.

La elaboración de los prototipos de salchichas análogas con el concentrado comercial de soya, así como con los concentrados de proteína de leguminosa elegidos se realizó de la siguiente forma:

Mezclado 1: En primer lugar en un procesador de alimentos se dispersó el concentrado de proteína con la mitad del agua fría, mezclando por 20s.

Mezclado 2: Una vez dispersa la proteína, se agregaron los demás ingredientes secos y se mezclaron por 1 min.

Mezclado 3: Sin dejar de mezclar se añadió poco a poco el aceite de girasol y la pasta se mezcló 20s más hasta obtener una emulsión homogénea. De último se agregó la proteína de soya texturizada, previamente hidratada con la mitad del agua y se mezcló por 2min hasta incorporar en la emulsión.

Embutido: Una vez lista la emulsión se embutió manualmente en fundas impermeables para salchichas con la batidora de pie KitchenAid y su accesorio para salchichas, se formaron salchichas de 10-11cm cada una.

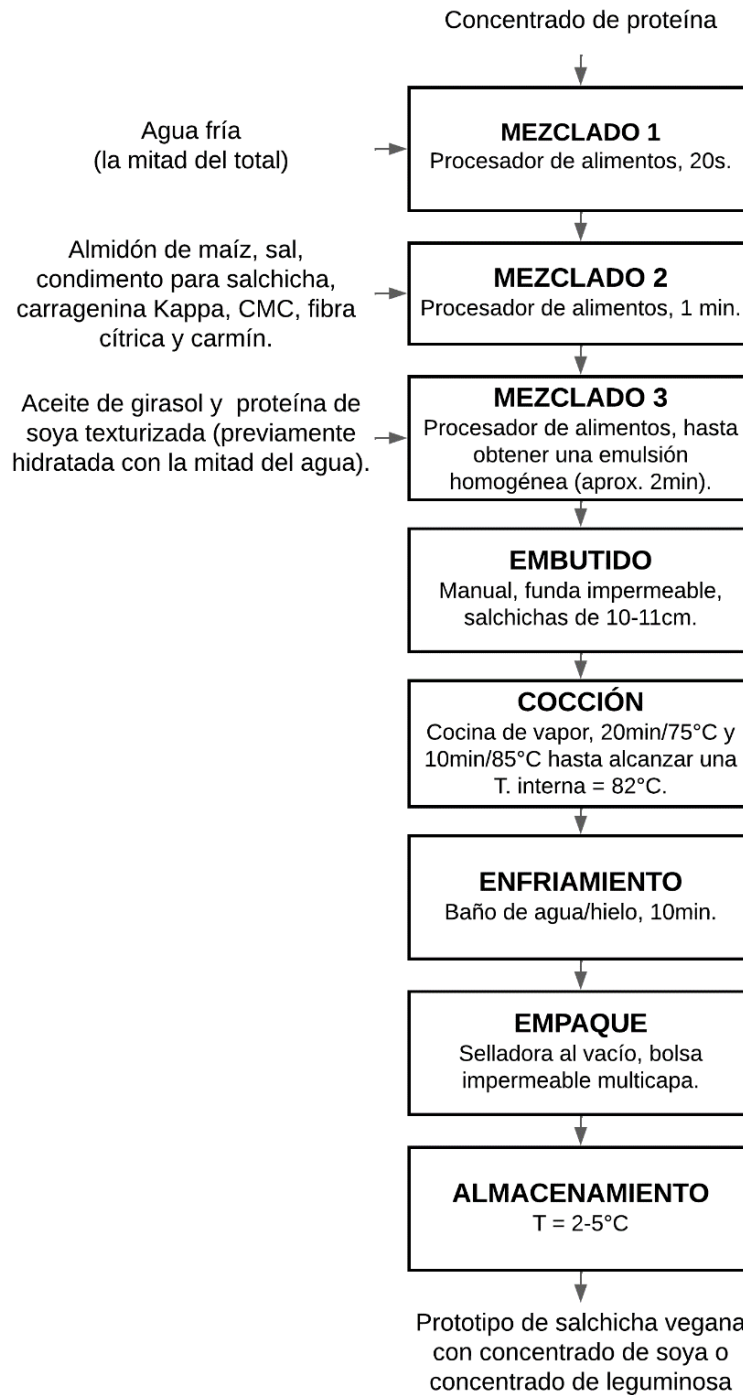
Cocción: Esta operación se realizó en la cocina de vapor, en una olla con agua caliente a 75 °C en la que se sumergieron las salchichas por 20 min, posteriormente se aumentó la temperatura a 85°C hasta alcanzar una temperatura interna de 82 °C.

Enfriamiento: Una vez cocidas las salchichas, se sumergieron rápidamente en un baño de agua/hielo por 10 min.

Empaque: Las salchichas se empacaron en bolsas impermeables multicapa para vacío y se sellaron al vacío.

Almacenamiento: Las salchichas se almacenaron en refrigeración (3 °C) hasta la realización de los respectivos análisis, los cuáles se realizaron dentro de los 3 días posteriores a su elaboración.

A continuación, en la Figura 4 se muestra el flujo de proceso para la elaboración de los prototipos de salchicha análoga a la de carne.



**Figura 4.** Flujo de proceso salchicha análoga a la de carne con concentrado de soya o concentrados de proteína de leguminosas elegidos en el objetivo 2.

## b. Métodos de análisis

### Perfil de textura

Para la evaluación de las propiedades de textura se utilizó el texturómetro TA.XT Plus, para ello inicialmente se trocearon las muestras de forma transversal en secciones de 1,0 cm. Se realizó la prueba de compresión de forma axial, hasta el 50 % de la altura original del trozo, mediante dos compresiones consecutivas. La prueba se realizó utilizando un cilindro de 35 mm de diámetro, una carga de 50 kg, una velocidad de 2 mm/s, un tiempo de 5 s entre compresiones, y la fuerza de gatillo ajustada a 5,0 g. Se realizaron 7 réplicas de cada medición para la determinación de la dureza (fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión), la elasticidad (altura a la que se recupera la muestra entre el primer y segundo ciclo), la cohesividad (relación entre las áreas del primer y segundo ciclo) y la masticabilidad (dureza\*cohesividad\*elasticidad) (Córdoba, 2018; Majzoobi et al., 2017). Para esta determinación se realizaron 8 réplicas.

### Estabilidad de la emulsión

Antes de embutir cada uno de los tratamientos se tomaron por triplicado muestras de 10 g de la emulsión y se colocaron en tubos de centrifuga de 15mL pre-pesados, los tubos se centrifugaron 5 min a 2500 x g a 4 °C (Centrifuge 5810R, Ependorf). Posteriormente se calentaron en un baño de agua caliente a 80 °C por 1 hora y transcurrido este tiempo se colocaron boca abajo por 45 min para liberar completamente los exudados. Finalmente se midió la masa de los tubos para expresar la cantidad total de exudado como un porcentaje del peso de la muestra, como se muestra en la siguiente ecuación (Kamani et al., 2019; Tahmasebi et al., 2016):

$$\text{Porcentaje exudado total (\%)} = \frac{\text{masa muestra} - \text{masa pellet exudado}}{\text{masa muestra (base húmeda)}} \times 100$$

### pH

Para la determinación del pH se tomaron tres muestras de cada prototipo, se esperó a que se temperaran a la temperatura ambiente y se realizó la medición del pH introduciendo directamente un electrodo para carnes previamente calibrado (HI-1053B, Hannia Instrumental). Se reporta el valor promedio de las mediciones realizadas (Córdoba, 2018; Majzoobi et al., 2017).

### Pérdidas por cocción (pérdida por fritura)

Para la medición de las pérdidas por cocción se prepararon tres trozos de cada prototipo de salchicha, se midió su masa y se colocaron en un sartén eléctrico caliente, con aceite de girasol a aproximadamente 175 °C, se cocinaron 5 min por ambos lados y se retiraron del sartén. Una vez se enfriaron a temperatura ambiente se midió nuevamente la masa de cada trozo de salchicha. Las pérdidas por cocción se expresan como (Castro Alvarado, 2015; Kamani et al., 2019):

$$\text{Pérdidas por cocción} = \frac{(\text{masa salchicha sin freír} - \text{masa salchicha frita})}{\text{masa salchicha sin freír}} \times 100$$

### Color

Para la determinación instrumental del color se utilizó el colorímetro Colorflex, Hunter Lab, con un ángulo de observación de 10° y el iluminante D65. Se utilizó la escala CIE Lab, expresando el color en términos de L\*, a\*, y b\*. Además, se determinaron los indicadores Hue (h) y Croma (C\*), que se calcularon de la siguiente manera (Hernández Salueña et al., 2019):

$$h = \arctan \left( \frac{b^*}{a^*} \right)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

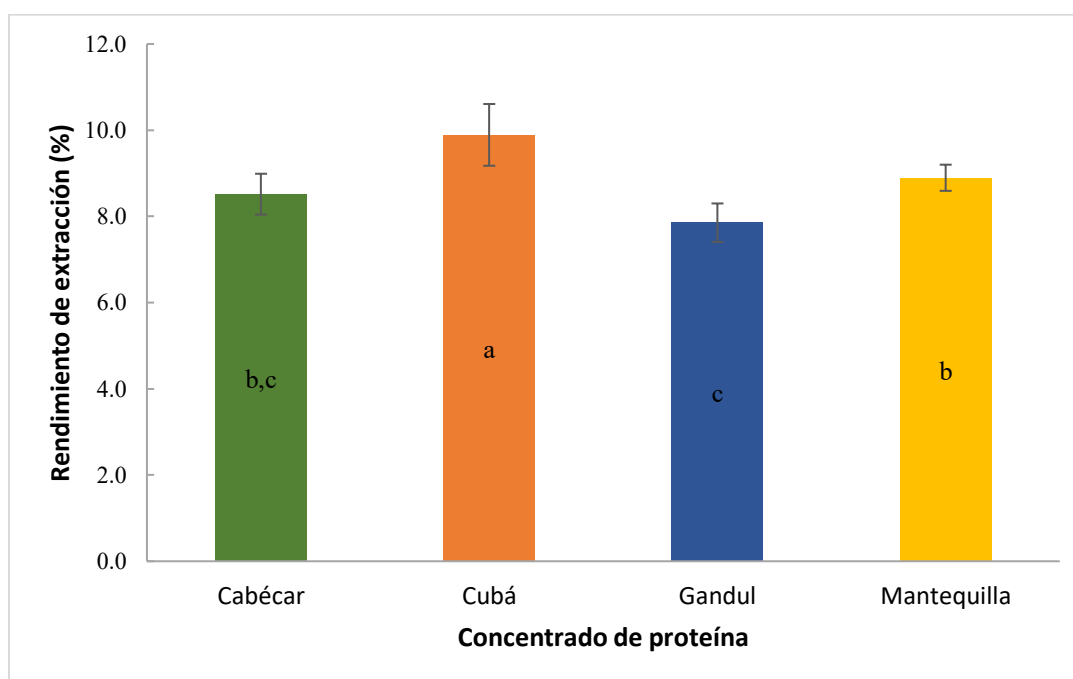
Para la medición se trituraron 30g de los prototipos de salchichas de cada tratamiento en una licuadora hasta obtener una pasta homogénea. Esta pasta se colocó por triplicado en cápsulas de poliestireno claro, cuidando no dejar espacios vacíos por donde pudiera atravesar la luz, posteriormente se realizó la determinación en el equipo antes mencionado (Castro Alvarado, 2015).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Caracterización fisicoquímica de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas

Con el fin de evaluar las propiedades fisicoquímicas de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante dos métodos de secado posterior a la extracción, se realizaron una serie de pruebas en el laboratorio cuyos resultados se presentan a continuación.

Inicialmente se determinó el rendimiento de extracción de cada una de las leguminosas en estudio, en la Figura 5 se observa el resultado. El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas en el rendimiento de extracción según la leguminosa en cuestión ( $p=0,002$ ).



**Figura 5.** Rendimiento de extracción promedio (base húmeda) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas nativas en estudio, respecto a la masa de harina de leguminosa desengrasada.

Como se muestra en la Figura 5, el rendimiento de extracción del concentrado del frijol criollo Cubá fue significativamente mayor que el de los otros tres concentrados. El frijol Mantequilla presentó un rendimiento de extracción mayor que el del gandul, mientras que el rendimiento de extracción de los frijoles Cabécar no fue estadísticamente diferente al del gandul y el frijol Mantequilla.

Este resultado confirma que el tipo de leguminosa tiene un efecto en el rendimiento de extracción, esto puede atribuirse entre otros factores al contenido de proteína y su composición en cada leguminosa. Si bien en el presente estudio no se determinó el contenido de proteína en las harinas de las leguminosas, otros autores como Corzo-Ríos et al. (2020) reportan un contenido de proteína de 18,3 g/100g para el frijol de “Riñón”, variedad de la especie *Phaseolus vulgaris* (Cabécar), y de 17,7 g/100g para el frijol “Escarlata” variedad del *Phaseolus coccineus* (Cubá), por su parte, Alvarado-López et al. (2019) reportan valores entre 18,0 y 18,9 g/100g para cuatro variedades del frijol *Phaseolus coccineus*; Jayalaxmi et al. (2016) determinaron un contenido de proteína de 24,6 g/100g para el frijol “Lima” variedad del frijol *Phaseolus lunatus* (Mantequilla). Por otro lado, para el caso del gandul se reportan valores entre 17,95 g/100g y 24,46 g/100g (Talari & Shakappa 2018). Considerando estos datos del contenido de proteína reportados para variedades de las leguminosas en estudio, se podría justificar el mayor rendimiento de extracción del frijol Cuba a que la variedad de esta especie utilizada en este caso en particular tuviese mayor contenido de proteína que los otros frijoles de variedades y especies diferentes, sin embargo, para asegurar esto convendría determinar el contenido de proteína de las harinas de las leguminosas en estudio.

Otro factor que influye en el rendimiento de extracción mediante el método utilizado es el pH de extracción alcalina y precipitación isoelectrica, que permiten en un primer paso desplegar las proteínas para que aumente su interacción con las moléculas de agua y se solubilizan, y en un segundo paso, alcanzar el punto isoelectrico de las proteínas solubilizadas para que precipiten. Los valores óptimos del pH de alcalinización y punto isoelectrico difieren levemente de una leguminosa a otra, por lo que en este caso puede atribuirse un mayor rendimiento de extracción del frijol Cuba, a que los valores de pH de 8,0 y 4,5 utilizados para la extracción alcalina y la precipitación isoelectrica respectivamente, fueran más cercanos a los valores óptimos para la concentración de sus proteínas (Navaf et al., 2023).

Teniendo en cuenta lo anterior y que autores como Shrestha et al. (2023) reportaron un rendimiento de extracción de proteína con extracción alcalina entre 14,7% y 19,5% para tres variedades de lentejas, el frijol Mungo y el guisante amarillo, rendimientos un poco mayores a los obtenidos con las leguminosas en estudio, se puede recomendar optimizar las condiciones de la extracción (pH, temperatura y tiempo de extracción) para cada leguminosa con el fin de obtener un mayor rendimiento. Por ejemplo, Gao et al. (2020) demostraron que para la extracción de proteína de guisante amarillo, al aumentar el pH de extracción de 8,5 a 9,5 se mejora el rendimiento de

extracción de 12,93% a 15,36%, otros autores han visto el mismo efecto al aumentar el pH de extracción, sin embargo, también han registrado afectaciones a las propiedades funcionales de los concentrados de proteína obtenidos y que el contenido de proteína no aumenta necesariamente con el rendimiento (Feyzi et al., 2018; Hadidi et al., 2023). Por lo que, al modificar las condiciones de extracción para aumentar el rendimiento, no debe dejarse de lado la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del concentrado.

Otro aspecto que puede disminuir el rendimiento de extracción es que según Contreras et al. (2019) en algunas proteínas de fuentes vegetales se forman fuertes enlaces físicos o covalentes con carbohidratos como celulosa, hemicelulosa y pectina, lo que puede inhibir la liberación de las proteínas de la matriz vegetal y reducir la eficiencia de la extracción.

En el Cuadro V se agrupan los resultados obtenidos para el rendimiento de secado y la actividad de agua ( $A_w$ ) de los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilizados

**Cuadro V.** Rendimiento de secado respecto a la masa de concentrado húmedo (en base húmeda) y  $A_w$  promedio de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersión y liofilización.

Concentrado de proteína	Rendimiento de secado (%)	$A_w$
Soya	-	0,64 ± 0,03 <sup>a</sup>
Mantequilla SA	11,55 ± 0,68 <sup>f</sup>	0,60 ± 0,05 <sup>ab</sup>
Gandul SA	14,87 ± 0,88 <sup>c</sup>	0,58 ± 0,02 <sup>abc</sup>
Cubá SA	13,42 ± 0,41 <sup>de</sup>	0,52 ± 0,03 <sup>bcd</sup>
Cabécar SA	12,33 ± 0,72 <sup>ef</sup>	0,55 ± 0,05 <sup>abcd</sup>
Mantequilla L	13,92 ± 0,71 <sup>cd</sup>	0,51 ± 0,02 <sup>bcd</sup>
Gandul L	20,47 ± 0,62 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,05 <sup>cd</sup>
Cubá L	17,20 ± 0,52 <sup>b</sup>	0,46 ± 0,03 <sup>d</sup>
Cabécar L	14,50 ± 0,65 <sup>cd</sup>	0,48 ± 0,02 <sup>d</sup>
<b>Pr &gt; F</b>	< 0,0001	< 0,0001

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).

\*\*SA: Secado por aspersión, L: Liofilizado.

En cuanto al mayor rendimiento de secado destacan el concentrado de gandul liofilizado y el Cubá liofilizado. De manera general, considerando una misma leguminosa, la liofilización fue

el método de secado que presentó mayor rendimiento de secado, este resultado coincide con lo expuesto por Dong et al. (2024) que encontraron que el rendimiento de extracción del aislado de proteína de semilla de cáñamo fue significativamente mayor con la liofilización que con el secado por aspersión. Esto puede atribuirse a la pérdida de concentrado en las paredes de la cámara de secado del equipo de secado por aspersión, en el que la recuperación del producto en polvo es compleja. Además, en el caso del secado por aspersión influyen también las condiciones de temperatura del aire de entrada y salida, por lo que sería recomendable realizar la optimización de las condiciones de secado para cada leguminosa evaluando parámetros como el rendimiento de secado, rendimiento de proteína, tiempo de secado y la actividad de agua del producto (Özdemir et al., 2022).

Para el caso de la actividad de agua todos los concentrados preparados presentaron valores menores o iguales a 0,6 que limitan el crecimiento microbiológico y disminuyen la actividad enzimática y de pardeamiento no enzimático, lo que aumenta la estabilidad de los concentrados (Theodore & Altunakar, 2020). Sin embargo, los valores de  $A_w$  de las muestras fueron mayores a los obtenidos por otros autores como Blaise et al., (2017) que consiguieron actividades de agua entre  $0,123 \pm 0,041$  y  $0,505 \pm 0,001$  para los concentrados de proteína de tres leguminosas originarias de Camerún, secadas por aspersión a diferentes temperaturas y Özdemir et al. (2022) que para el concentrado de proteína de semillas de sésamo reportaron valores de  $A_w$  de  $0,213 \pm 0,01$  para el secado por aspersión y  $0,176 \pm 0,01$  para el liofilizado. Lo anterior puede deberse a que durante el almacenamiento o preparación para el análisis las muestras ganaran humedad, o bien, a que como se mencionó antes, las condiciones del secado deban ajustarse para obtener una menor actividad de agua. También influyen otros factores como la composición proximal de los concentrados de proteína, la presencia de otros compuestos químicos y su interacción en sus sitios polares con el agua a través de enlaces de hidrógeno, enlaces ion-dipolo u otros enlaces químicos fuertes, que impactan en la actividad de agua del producto (Barbosa-Cánovas & Juliano, 2020).

En el Cuadro VI se presenta el resultado de la determinación de humedad en los concentrados de proteína en estudio.

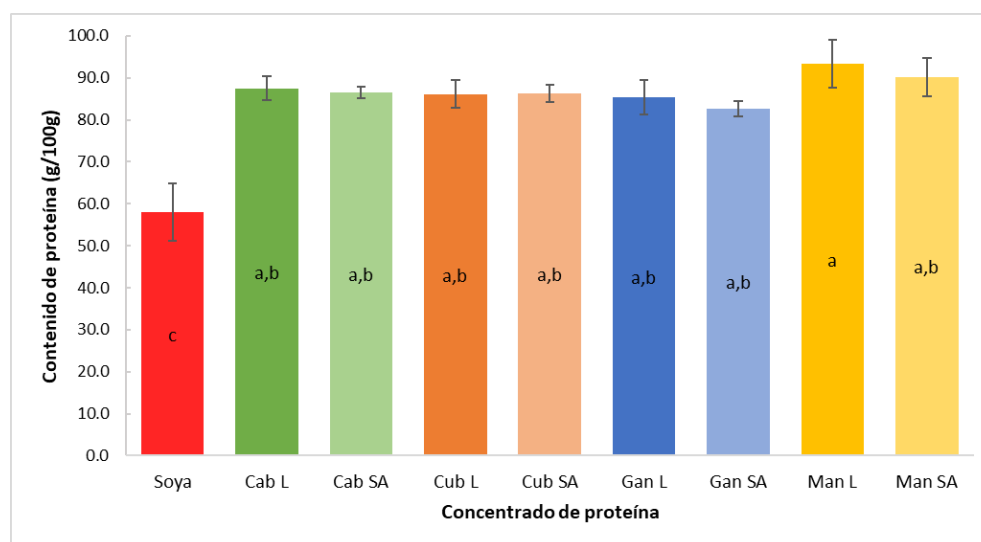
**Cuadro VI.** Humedad de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersión y liofilización.

Humedad (%)	Promedio $\pm$ desviación estándar	Potencia de la prueba
		$9,9 \pm 0,6$

La humedad de los concentrados de proteína no resultó estadísticamente diferente ( $p > 0,05$ ), por esta razón se puede reportar como el valor promedio de humedad de todos los concentrados en estudio (Cuadro XIII de anexos). Al igual que con la actividad de agua, la humedad de las muestras es mayor a la reportada en otros estudios, por ejemplo  $4,49 \pm 0,08\%$  y  $3,59 \pm 0,45\%$  para el concentrado de proteína de frijol Mungo secado por liofilización y aspersion;  $4,73\%$  y  $1,52\%$  para los aislados de proteína de semilla de cáñamo secados por liofilización y aspersion respectivamente (Brishti et al. 2020; Dong et al. 2024).

El alto contenido de humedad en los concentrados de proteína puede disminuir su vida útil debido al aumento de reacciones físicas y químicas que provocan cambios en las propiedades funcionales y deterioro de la calidad sensorial o nutritiva, puede darse por ejemplo el apelmazamiento, la oxidación de lípidos y proteínas y la reacción de pardeamiento no enzimático (Hedegaard & Skibsted, 2013). Por lo que conviene optimizar el secado por ambos métodos para disminuir aún más la humedad del producto.

Como parte esencial de la caracterización fisicoquímica de los concentrados de proteína en estudio, se realizó la determinación del contenido de proteína en cada extracto. El análisis de varianza muestra que no existen diferencias significativas en el contenido de proteína entre los concentrados de proteína elaborados, pero si con respecto al control de soya ( $p < 0,05$ ), en la Figura 6 se muestran los resultados obtenidos.



**Figura 6.** Contenido de proteína promedio (base húmeda) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización (letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).

Todos los extractos de proteína elaborados presentaron un contenido de proteína mayor a 80 g/100 g, que es significativamente mayor que el contenido de proteína del concentrado de soya comercial. No se encontraron diferencias significativas entre los contenidos de proteína de los concentrados proteicos elaborados a partir de diferentes leguminosas, con valores que van desde 85,3g/100g para el concentrado de Gan L y 93,4g/100g para el concentrado de Man L. Según su contenido de proteína los productos proteicos obtenidos pueden clasificarse como concentrados de proteína al poseer entre un 65% y 90% de proteínas. En el caso del extracto del frijol Mantequilla liofilizado, debido a su contenido de proteína mayor al 90%, podría considerarse como un aislado de proteína. Este resultado es satisfactorio, ya que confirma que estas leguminosas son fuentes promisorias de proteína y pueden ser alternativas para sustituir otras fuentes de proteína vegetal comúnmente utilizadas (Pojić et al., 2018).

Estos resultados son comparables con los de otros autores que han obtenido extractos proteicos mediante extracción alcalina seguida de precipitación isoeléctrica, Tang et al. (2021) consiguieron concentrados de proteína de gandul y de soya con un contenido de proteína de 86,9g/100g y 92,4g/100g respectivamente, por su parte Pazmiño et al. (2018) reportaron un contenido de proteína de  $76,41 \pm 1,76$  g/100g, en base seca, para el extracto proteico de gandul. Para el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) Rui et al. (2011) obtuvieron valores entre 83,96 g/100g y 89,25g/100g, base seca, para el contenido de proteína de los extractos proteicos de seis variedades de este frijol. Zambrano et al. (2020), Guzmán et al. (2014) y Chel-Guerrero et al. (2002) obtuvieron concentrados de frijol Lima (frijol Mantequilla) con 77,20 g/100g , 71,88g/100g y  $71,13 \pm 0,92$  g /100g de proteína en base seca, respectivamente. Para el frijol Cuba (*Phaseolus coccineus*) Teniente et al. (2016) alcanzaron mediante un proceso de extracción optimizado aislados de proteína de hasta 93,14 g/100g y 94,53 g/100g para dos variedades de esta especie. La variación en el contenido de proteína obtenido y el reportado en la literatura para las diferentes leguminosas puede atribuirse a diversos factores como la variedad de las especies, las condiciones del cultivo y las condiciones específicas del proceso de extracción utilizado.

No se encontraron diferencias significativas entre el contenido de proteína de los concentrados de proteína de una misma leguminosa secados por aspersion o liofilización. Este resultado contrasta con lo publicado en otros estudios, Ghribi et al. (2015), Brishti et al. (2020), Özdemir et al. (2022) y Feyzi et al. (2018) en los concentrados de garbanzo, frijol Mungo, salvado de sésamo y arveja encontraron que con la liofilización se obtenía un mayor contenido de proteína

que con los otros métodos de secado, lo que atribuyeron al efecto de la temperatura de secado, que puede propiciar la desnaturalización de las proteínas y reacciones químicas como la reacción de Maillard que reduce el contenido de proteína.

A continuación, se presentan en el Cuadro VII los resultados obtenidos para la evaluación del color instrumental utilizando la escala CIE L\* C, h°, para los concentrados de proteína secados por aspersión y liofilizados. Además, en la Figura 7 se muestran las muestras utilizadas para la evaluación del color instrumental.

**Cuadro VII.** Resultados promedio de los parámetros de color evaluados en la escala CIE L\* C h° de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización.

Concentrado de proteína	L*	h (°)	C*
<b>Soya</b>	83,6 ± 1,9 <sup>b</sup>	84,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	21,0 ± 4,1 <sup>a</sup>
<b>Mantequilla SA</b>	84,7 ± 0,8 <sup>ab</sup>	86,6 ± 1,6 <sup>a</sup>	8,4 ± 1,1 <sup>c</sup>
<b>Gandul SA</b>	84,3 ± 2,6 <sup>ab</sup>	78,3 ± 0,8 <sup>b</sup>	8,8 ± 0,3 <sup>c</sup>
<b>Cubá SA</b>	87,7 ± 1,3 <sup>a</sup>	75,3 ± 2,6 <sup>b</sup>	7,5 ± 0,6 <sup>c</sup>
<b>Cabécar SA</b>	82,5 ± 0,5 <sup>b</sup>	76,3 ± 1,6 <sup>b</sup>	7,2 ± 0,6 <sup>c</sup>
<b>Mantequilla L</b>	59,2 ± 0,8 <sup>d</sup>	69,8 ± 0,9 <sup>c</sup>	17,3 ± 1,8 <sup>ab</sup>
<b>Gandul L</b>	63,7 ± 0,2 <sup>c</sup>	88,5 ± 0,6 <sup>a</sup>	17,6 ± 0,8 <sup>ab</sup>
<b>Cubá L</b>	67,6 ± 0,6 <sup>c</sup>	88,4 ± 0,1 <sup>a</sup>	16,0 ± 0,3 <sup>b</sup>
<b>Cabécar L</b>	56,1 ± 1,0 <sup>d</sup>	55,8 ± 2,8 <sup>d</sup>	14,4 ± 1,3 <sup>b</sup>
<b>Pr &gt; F</b>	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).

\*\*SA: Secado por aspersión, L: Liofilizado.



**Figura 7.** Muestras para la determinación de los parámetros de color de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización.

Los concentrados de proteína liofilizados mostraron valores de  $L^*$  más bajos que los concentrados de proteína secados por aspersión, lo que indica que son productos más oscuros (Figura 7). Joshi et al., (2011) y Brishti et al. (2020) encontraron lo mismo en sus estudios, los concentrados secados por aspersión presentaron mayor luminosidad, esto puede relacionarse con el tamaño de partícula, se ha informado que durante la congelación para la liofilización las partículas pueden agregarse obteniendo tamaños de partícula mayores, esto implica que en los concentrados secados por aspersión haya mayor superficie y, por tanto, se disperse más luz en comparación con los extractos liofilizados, dando una apariencia más blanca y brillante (Dawson & Acton, 2017).

En el caso de la tonalidad ( $h^\circ$ ) el concentrado de soya de comercial, el frijol Mantequilla SA, el gandul L y el Cubá L obtuvieron valores cercanos a los  $90^\circ$ , que indican una tonalidad amarilla; los demás concentrados presentaron valores entre los  $45^\circ$  y  $90^\circ$ , que señalan colores entre el rojo y el amarillo, tonos anaranjados y rojizos. Estas diferencias pueden atribuirse a la variación de los pigmentos presentes en las leguminosas, que se perciben desde la diversidad del color de sus semillas (Toews & Wang, 2013). Estos pigmentos son principalmente del grupo de las

antocianinas, compuestos derivados de los flavonoides presentes en materias vegetales con colores rojo, morado y azul. Estos pigmentos pueden utilizarse como colorantes naturales, sin embargo, dada su sensibilidad a factores como el pH, la temperatura, el oxígeno y la luz se aplican técnicas como la encapsulación para mejorar su estabilidad y potenciar su uso en las matrices alimentarias (Ghosh et al., 2022, 2023).

El valor de C\* (croma) indica la intensidad del color, de manera general los concentrados liofilizados tuvieron mayor intensidad de tono que los concentrados secados por aspersion (Dawson & Acton, 2017).

### 5.2 Funcionalidad tecnológica y digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteínas de cuatro leguminosas nativas

Además de la caracterización fisicoquímica expuesta en el apartado anterior, se realizó la evaluación de la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína en estudio.

En el Cuadro VIII se presenta el resultado de la prueba de digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína. En el análisis de varianza se obtuvo que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas secados por aspersion y liofilización (Cuadro XVI de anexos), por lo que se reporta el valor promedio.

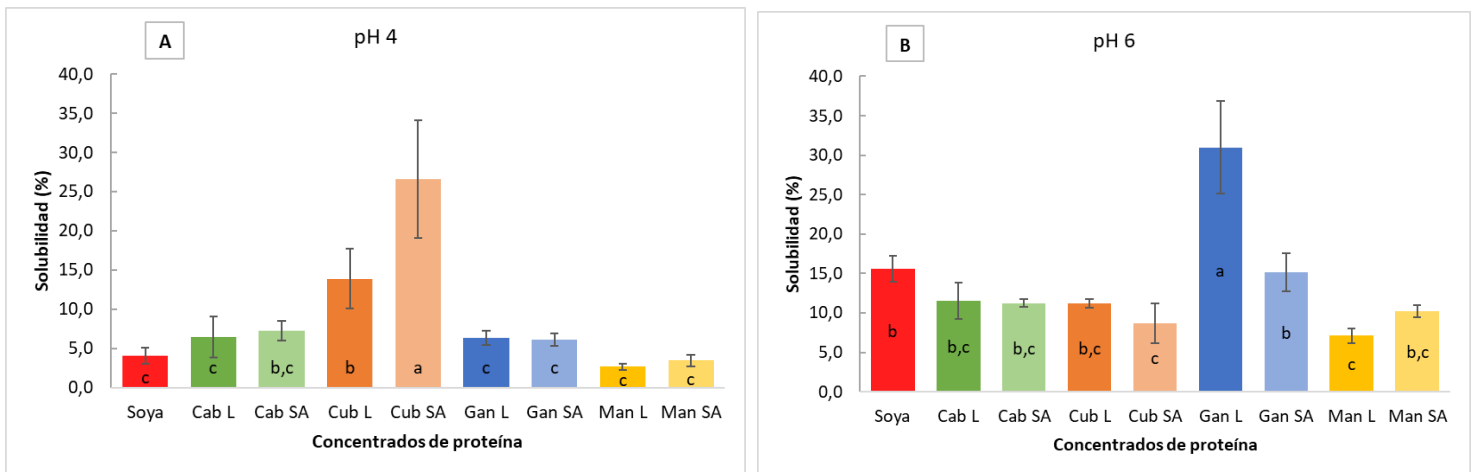
**Cuadro VIII.** Digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína de cuatro leguminosas nativas, obtenidos mediante secado por aspersion y liofilización.

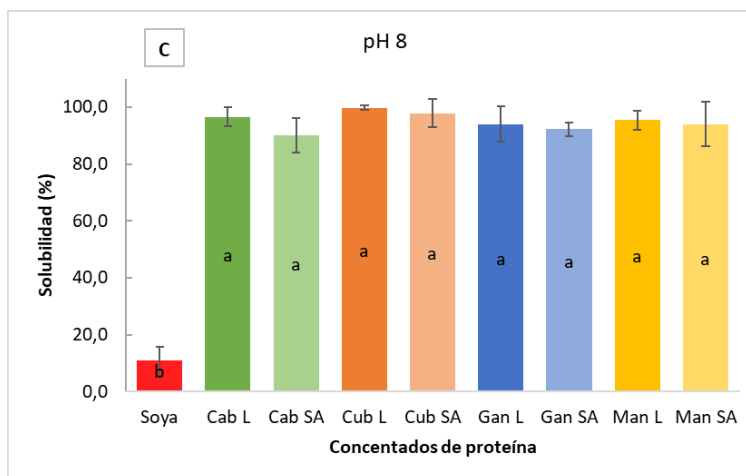
Digestibilidad <i>in vitro</i> (g)	Promedio $\pm$ desviación estándar	Potencia de la prueba
	0,74 $\pm$ 0,01	0,91

La digestibilidad *in vitro* encontrada para los concentrados de proteína en estudio es similar a la obtenida por Pérez y Granito (2012) y Marrugo-Ligardo et al. (2016) que reportaron valores de  $0,798 \pm 0,003g$ ,  $0,884 \pm 0,011g$  y  $0,839 \pm 0,026 g$  para concentrados de proteína de *Cajanus cajan*, *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus lunatus*. La digestibilidad de las proteínas se ve afectada por la organización estructural y las interacciones covalentes y no covalentes entre las proteínas, que a su vez depende de diversos factores como la variedad de la leguminosa, el método de extracción y procesamiento del concentrado de proteína. Otro factor importante que afecta la

digestibilidad de las proteínas vegetales es su contenido de factores anti nutricionales, tales como los inhibidores de la tripsina y quimotripsina, que se ha informado tienen actividad contra las proteasas pancreáticas (Capuano et al., 2018). La presencia de estos factores anti nutricionales disminuye la digestibilidad de los concentrados proteicos puesto que limitan la acción de las enzimas que participan en la digestión de las proteínas, tanto en los ensayos de laboratorio, como en la digestión en el cuerpo humano. Además, otros compuestos anti nutricionales como los taninos forman complejos con las proteínas volviéndolas inaccesibles para su digestión (Das et al., 2022)

La solubilidad es una de las propiedades tecno-funcionales más importantes para la determinación de la idoneidad del concentrado de proteína para su utilización en la industria de alimentos, por lo que conviene conocer su comportamiento a diferentes pH que pueden presentarse en el desarrollo de nuevos productos. A continuación, en las Figura 8 se muestran los resultados de la solubilidad de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas, secados por aspersión y liofilización, a diferentes pH de solución: pH 4, 6 y 8.





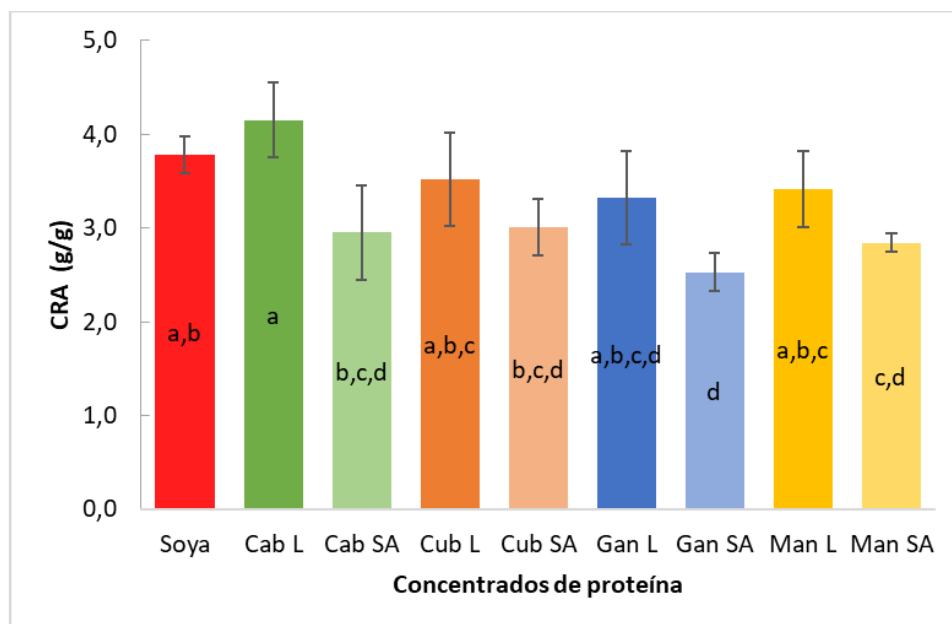
**Figura 8.** Solubilidad promedio de los concentrados de proteína en estudio a diferentes valores de pH: **A)** pH 4, **B)** pH 6, y **C)** pH 8 (letras distintas indican que existen diferencias significativas para la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ )).

Se observó que, a los diferentes pH, la solubilidad de las proteínas varía de forma significativa ( $p < 0,05$ ). A pH 4, el concentrado de frijol Cubá secado por aspersión presentó mayor solubilidad que los demás concentrados de leguminosas en estudio y a pH 6 destacó el concentrado de gandul liofilizado. Según lo estudiado por Tang et al. (2021) y Navaf et al. (2023), la solubilidad se relaciona con la cantidad de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes en la proteína, por lo que una mayor cantidad de aminoácidos hidrofílicos podría explicar el mayor porcentaje de solubilidad de estas leguminosas; también la fracción de los diferentes tipos de proteína influye en la solubilidad del extracto, una mayor fracción de albúminas (solubles en agua) pudo favorecer su solubilidad (Kiosseoglou et al., 2021). Al subir el pH a 8 todos los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas nativas en estudio presentan la misma solubilidad, que en promedio es  $95 \pm 3\%$ , la cuál es significativamente mayor que la del concentrado comercial de soya ( $p < 0,0001$ ). Otros autores como de Paiva Gouvêa et al. (2023), Tanger et al. (2020) y Shrestha et al. (2023) encontraron el mismo comportamiento al comparar concentrados de leguminosa obtenidos en el laboratorio con concentrados de leguminosa comerciales, esto puede atribuirse a condiciones de extracción y secado más severas en la preparación de los concentrados comerciales, que pueden provocar la desnaturalización y agregación de la proteína, disminuyendo su solubilidad.

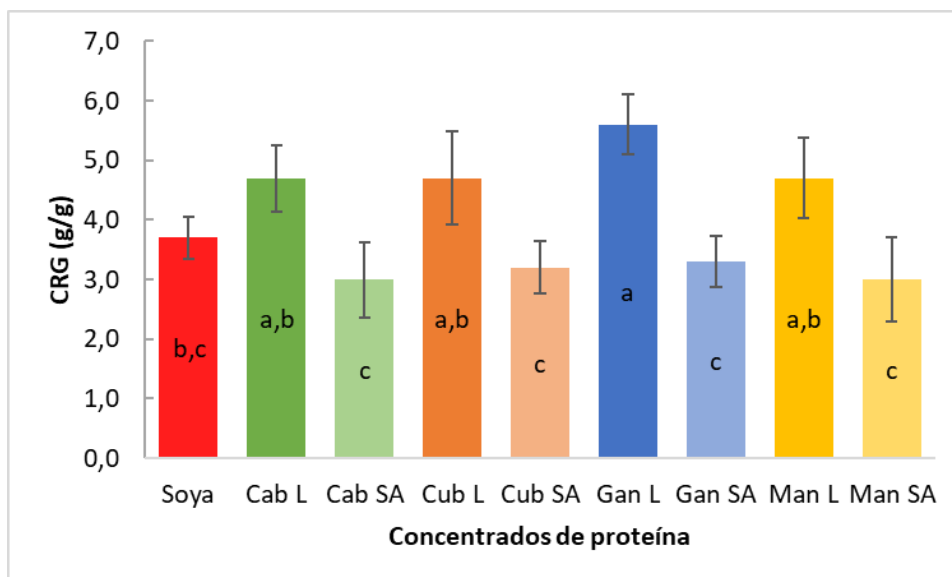
En general, se observó que al aumentar el pH de la solución de pH 4 a pH 6 y pH 8 aumentaron los valores de solubilidad de los concentrados de proteína. Según han confirmado diversos autores este comportamiento es típico de los extractos de proteína de leguminosa, que

suelen mostrar una curva de solubilidad en forma de “V” o “U”, en la que en los extremos de la escala de pH se tienen valores mayores de solubilidad y en valores entre pH 4 y pH 6 la solubilidad se reduce debido a la proximidad del punto isoeléctrico, en el cuál las proteínas tienen una carga neta casi nula, por lo que se agrupan y precipitan (de Paiva Gouvêa et al., 2023; Ma et al., 2022; Tang et al., 2021; Zambrano et al., 2020).

Como parte de las propiedades que se determinaron para evaluar la funcionalidad tecnológica de los concentrados de proteína se encuentran la capacidad de retención de agua y grasa, en las Figuras 9 y 10 se muestran los resultados obtenidos para dichas pruebas.



**Figura 9.** Capacidad de retención de agua (CRA) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización (letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).



**Figura 10.** Capacidad de retención de grasa (CRG) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización (letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).

El análisis de varianza determinó que existen diferencias significativas entre la capacidad de retención de agua (CRA) de los concentrados de proteína ( $p = 0,0002$ ) (Figura 9). Los valores de la CRA oscilaron entre 2,53 y 4,33 g de agua /g de muestra, comparando estos resultados con otros reportados en la literatura, los concentrados de proteína de las leguminosas en estudio muestran mayor CRA que las muestras de cinco frijoles locales de Turquía, cuya CRA se encontró entre 1,8 g/g y 2,1 g/g (Gundogan & Can Karaca, 2020) y que las muestras de 16 variedades de frijol Mungo que según Li et al. (2010) obtuvieron valores de CRA entre 1,28 y 2,78 g/g. Asimismo, estos valores son similares a los 2,34-4,31 g/g reportados por Withana-Gamage et al. (2011) para los aislados de garbanzo y los valores de 1,34-4,52 g/g que informaron de Paiva Gouvêa et al. (2023) para un concentrado de frijol común y concentrados de leguminosas comerciales. A su vez, son menores a los valores de 5,34-5,85 g/g que informaron Wani et al. (2015) para la CRA de los aislados de proteína de cinco variedades de frijol común *Phaseolus vulgaris*.

En el caso de la capacidad de retención de grasa (CRG) (Figura 10), se encontró que el concentrado de proteína tiene un efecto significativo ( $p < 0,0001$ ), los valores de CRG fluctuaron entre 2,30 y 5,88 g de aceite/g de concentrado. Ahmed et al. (2015) reportaron un rango de CRG de 5,82 a 6,92 g/g para aislados de proteína de tres variedades de frijol “Riñon” (*Phaseolus vulgaris* L); Tang et al. (2021) obtuvieron valores de CRG desde 0,89 g/g a 1,80g/g para concentrados de

proteína de leguminosas como la soya, garbanzo, frijol Mungo, lentejas y garbanzo, y Li et al. (2010) valores entre 1,00 y 3,38 g/g para 16 variedades de frijol Mungo.

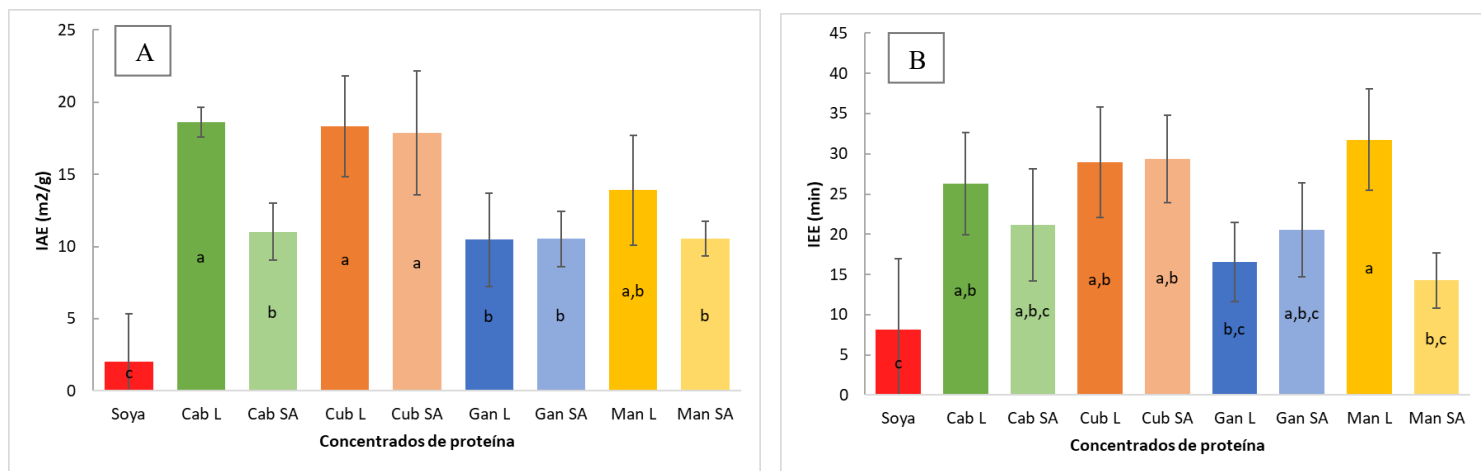
Específicamente para las especies de leguminosa de este trabajo se encontró poca información, sin embargo, Chel-Guerrero et al. (2002), Tang et al. (2021) y Lafarga et al. (2020) reportaron una CRA de 3,5 g/g, 3,6 g/g, 1,5 g/g y 5,43 g/g y una CRG de 4,59 g/g, 1,16 g/g, 1,16 g/g y 3,46 g/g para los concentrados de frijol Mantequilla, garbanzo, soya y Cuba respectivamente. La variación en la capacidad de retención de agua y grasa de los concentrados de proteína puede atribuirse a diversos factores, entre ellos la fuente de proteína y el proceso de extracción, y de manera más concreta a factores como la composición de grupos polares y no polares de la proteína, el contenido de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos, la organización estructural, el tamaño de las partículas y la porosidad de la superficie (Hadidi et al., 2023; Navaf et al., 2023).

En general los concentrados liofilizados presentaron una mayor CRA que sus similares secados por aspersión, sin embargo, solo para el caso del concentrado de frijol Cabécar esta diferencia fue estadísticamente significativa. Asimismo, se obtuvo que la CRG de los concentrados liofilizados fue significativamente mayor que la de sus semejantes secados por aspersión. Esto coincide con lo expuesto por Brishti et al. (2020), Joshi et al. (2011) y Dong et al. (2024) que atribuyeron este comportamiento a la formación de una película resistente a la humedad en la superficie de las partículas de los concentrados de proteína secados por aspersión; además, estos autores encontraron que los concentrados liofilizados muestran una estructura porosa que facilita la absorción de la grasa.

Como se aprecia en la Figura 9, a excepción de los concentrados de Man SA y Gan SA, no se encontraron diferencias significativas entre la CRA de los concentrados de proteína de las leguminosas nativas y el concentrado comercial de soya. De igual manera para la CRG (Figura 10) los concentrados evaluados mostraron un resultado igual o mayor a la CRG del concentrado de soya comercial, destacando el Gan L. Este resultado es favorable ya que indica que estos concentrados pueden utilizarse en la formulación de productos alimenticios, tales como los productos análogos a la carne, donde se requieren ingredientes proteicos con alta capacidad de retener el agua y la grasa en la matriz, mejorando características importantes de textura, sabor y palatabilidad en estos productos (Bessada et al., 2019).

Finalmente, para la evaluación de la funcionalidad tecnológica se determinó el índice de la actividad emulsionante y su estabilidad para cada uno de los concentrados de proteína en estudio.

Como se muestra en la Figura 11, el resultado del análisis de varianza evidenció que existen diferencias significativas en el índice de actividad emulsionante ( $p < 0,0001$ ) y el índice de estabilidad emulsionante ( $p=0,0006$ ) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización.



**Figura 11. A)** Índice de actividad emulsionante (IAE) y **B)** índice de estabilidad emulsionante (IEE) de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización (letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ )).

El IAE, medida que indica la capacidad de la proteína para participar en la formación y estabilización de una emulsión (Aryee et al., 2018), osciló entre  $10,46 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $23,02 \text{ m}^2/\text{g}$  para los concentrados de las cuatro leguminosas en estudio, estos valores son superiores a los encontrados por Li et al. (2010) en diferentes variedades de frijol Mungo, que oscilaron entre  $1,77 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $3,30 \text{ m}^2/\text{g}$ , y a los valores reportados por Boye et al. (2010) para diversas leguminosas como guisante, garbanzos y lentejas que estuvieron entre  $4,6 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $5,7 \text{ m}^2/\text{g}$ ; se asemejan más a los IAE de  $15,6 \text{ m}^2/\text{g}$  a  $22,0 \text{ m}^2/\text{g}$  reportados por Gundogan & Can Karaca, (2020) para cinco especies de frijoles nativos de Turquía y a lo expuesto por Wani et al. (2015) para concentrados de proteína de tres variedades de frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris*) con IAE entre  $15,71 \text{ m}^2/\text{g}$  y  $48,12 \text{ m}^2/\text{g}$ .

Por su parte para el IEE (Figura 11 B) los valores de las leguminosas en estudio oscilaron entre  $14,25 \text{ min}$  para el concentrado de Man SA y  $38,18 \text{ min}$  para el concentrado de Man L, este valor hace referencia a la capacidad de la proteína de estabilizar la emulsión por determinado tiempo (Aryee et al., 2018). Para este parámetro Boye et al. (2010) reportan valores entre  $17,8 - 19,7 \text{ min}$  para los concentrados de proteína de guisante amarillo, lentejas y garbanzos, de Paiva

Gouvêa et al. (2023) indican un IEE entre 12,59-21,26 min para concentrados y aislados de proteína de diferentes leguminosas (soja, guisante, haba y frijol común) y Wani et al. (2015) valores entre 13,03-18,53 min para concentrados de proteína de tres variedades de frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris*).

Esta variabilidad de los resultados se atribuye principalmente a la naturaleza de las proteínas y al método de extracción utilizado, ya que esto a su vez repercute en características como la estructura de la proteína, su tamaño, la composición de aminoácidos (polares/no polares) y la hidrofobicidad de la superficie (Bessada et al., 2019; Hadidi et al., 2023). Además, esta propiedad tecno-funcional está estrechamente relacionada a otras propiedades como la solubilidad y la carga superficial neta, Gundogan & Can Karaca, (2020) observaron que los concentrados con una solubilidad y una carga superficial neta mayor presentaron también mejores propiedades emulsionantes.

Como se muestra en la Figura 11 A, todos los concentrados de proteína del estudio presentaron mayor índice de actividad emulsionante (IAE) que el concentrado de soja comercial, destacan el concentrado Cab L, Cub L, Cub SA y Man L. Respecto al índice de estabilidad emulsionante (IEE) nuevamente el concentrado comercial de soja estuvo entre los menores valores. Esto puede relacionarse con el contenido de proteína y su solubilidad a pH 7 (pH utilizado en la prueba de emulsificación), como se discutió anteriormente el concentrado de soja presentó el menor contenido de proteína, además a pH 6 y pH 8 su solubilidad estuvo entre las menores, estos dos factores son de gran relevancia para la capacidad de la proteína de migrar e interactuar en la interfaz agua-aceite para estabilizar la emulsión, por lo que pudieron afectar su actividad emulsionante (Bessada et al., 2019).

Además, se observa que, a excepción del concentrado de frijol Cabécar y del frijol Mantequilla, no se presentaron diferencias en el IAE y en el IEE para una misma leguminosa secada por aspersion o liofilización. Este resultado no concuerda con lo expuesto por Brishti et al. (2020) y Feyzi et al. (2018) quienes encontraron que los concentrados de proteína secados por aspersion tenían valores significativamente mayores que sus similares liofilizados, lo que atribuyeron al despliegue de las proteínas durante el calentamiento del secado por aspersion, que lleva a la exposición de residuos de aminoácidos hidrofóbicos que estabilizan la emulsión.

### 5.3 Características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas de carne elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa.

Una vez evaluadas las características fisicoquímicas y la funcionalidad tecnológica de los concentrados de proteína del gandul, Cabécar, Mantequilla y Cuba secados por aspersión y liofilización, se escogieron el concentrado de Cuba liofilizado y el concentrado de gandul liofilizado para la elaboración de dos prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne. Estos concentrados se escogieron por su desempeño en las propiedades funcionales de solubilidad, CRG y IAE, propiedades importantes para la elaboración de emulsiones, donde sobresalieron alguno de estos dos. Además, se consideró su mayor rendimiento de extracción (Cub L) y secado. En esta sección se presentan la comparación de las características fisicoquímicas de dichos prototipos y uno elaborado con el concentrado comercial de proteína de soya.

En el Cuadro IX se muestran los resultados de los parámetros del perfil de textura evaluados en los prototipos de embutidos elaborados.

**Cuadro IX.** Parámetros del perfil de textura de los prototipos de embutidos análogos a las salchichas de carne, elaborados con los concentrados de proteína mejor evaluados.

Prototipo	Dureza (N)	Adhesividad (N.s)	Elasticidad (mm)	Cohesividad	Masticabilidad (N.m)
Soya	14 ± 3	-1,1 ± 0,8 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,016 ± 0,004 <sup>b</sup>
Cubá L	19 ± 4	-4 ± 2 <sup>b</sup>	4,2 ± 0,3 <sup>b</sup>	0,32 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,026 ± 0,006 <sup>a</sup>
Gandul L	15,2 ± 0,2	-1,4 ± 0,5 <sup>a</sup>	5,4 ± 0,2 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,019 ± 0,002 <sup>b</sup>
Pr > F	0,113	0,028	0,001	0,009	0,016

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).

Como se observa en el Cuadro IX, el concentrado de proteína utilizado para la elaboración de los prototipos de embutido análogo a las salchichas de carne tuvo un efecto significativo en los parámetros de adhesividad, elasticidad, cohesividad y masticabilidad. El prototipo elaborado con el concentrado de Cuba liofilizado obtuvo una cohesividad y masticabilidad significativamente mayor y una adhesividad y elasticidad significativamente menor a la de los prototipos elaborados con el concentrado de gandul liofilizado y el concentrado de soya comercial. Esto implica que el prototipo de Cuba L presenta mayor dificultad para romper su estructura interna y requiere de mayor fuerza para ser masticado, además, su capacidad de volver a su forma original es menor (Rahman Mazumder et al., 2023).

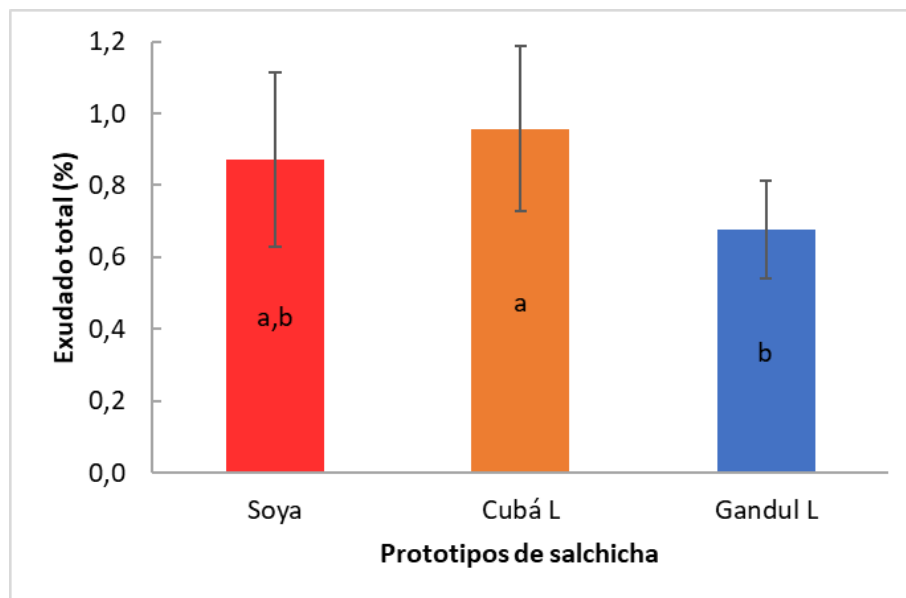
Por su parte la dureza también resultó mayor para el prototipo elaborado con el concentrado de frijol Cubá L, sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente diferentes entre los prototipos elaborados ( $p > 0,05$ ), por esta razón se puede reportar como el valor promedio de dureza de todos los concentrados en estudio, que corresponde a  $16,09 \pm 2,68$  N (Cuadro XVIII de anexos). En este caso la potencia de la prueba fue de 0,63, por lo que se recomendaría aumentar el número de repeticiones para disminuir el error de no detectar posibles diferencias significativas en este parámetro. Algunos autores han reportado que, al aumentar la concentración de proteínas no cárnicas en productos emulsionados como las salchichas, aumenta la dureza, debido a la formación de mayor cantidad de puentes disulfuro, que provocan el entrecruzamiento y refuerzan la matriz proteica (Tahmasebi et al., 2016; Youssef & Barbut, 2011).

Otros autores han reportado parámetros de textura para productos análogos a las salchichas de carne Kamani et al. (2019) reportó para un prototipo elaborado con aislado de soya 13,39 N de dureza, 0,09 cohesividad, 2,35 N mm de masticabilidad, 1,99 mm de elasticidad, valores en su mayoría por debajo de los encontrados en este caso; Majzoobi et al. (2017) reportó valores de 21,21 N de dureza, 0,961mm de elasticidad, 0,804 de cohesividad para una salchicha elaborada con aislado de soya y proteína de soya texturizada La diversidad de resultados dificulta su comparación, esto puesto que también hay gran variabilidad en las formulaciones de estos productos en cuanto a otros ingredientes (como harinas de leguminosas, almidones, fibras), contenido de proteína de los extractos proteicos utilizados y adición de hidrocoloides; además de las diferencias en el equipo y en las condiciones de medición de la textura.

Las características de textura en los productos análogos de la carne se relacionan con el efecto del concentrado de proteína, que tiene un papel importante en la estructuración del embutido. A su vez, el desempeño del concentrado de proteína depende de sus características composicionales como el contenido de proteína, fibra y almidón y de propiedades funcionales como la solubilidad, capacidad de retención de agua y grasa (Asgar et al., 2010). En este caso el concentrado de soya, según los resultados expuestos previamente, tenía un contenido de proteína menor al de Cub L y Gan L, esto pudo influir en una estructura menos rígida, debido a una menor capacidad de formación de puentes disulfuro entre las moléculas de proteína, que dan rigidez a la estructura. En el caso del concentrado de gandul L, este destacó por su CRG, que también puede relacionarse con la textura del producto, ya que el atrapamiento más efectivo de moléculas de grasa brinda una mayor suavidad a estos productos (Tahmasebi et al., 2016).

Un ingrediente que juega un papel importante en los análogos de la carne es la proteína texturizada, la cual se agregó a todos los prototipos en igual porcentaje. Esta proteína, que generalmente es de soya texturizada, se agrega a los productos análogos con el objetivo de alcanzar una textura, sensación en boca y apariencia similar a la de los productos cárnicos, lo que se logra gracias al proceso de extrusión, que provoca una reestructuración de la proteína, formando una estructura seca y expandible, que se rehidrata con facilidad generando los atributos deseados en el producto análogo (Saldanha et al. 2021; Asgar et al. 2010).

En el caso de la estabilidad de la emulsión, el análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas en esta característica de calidad de los embutidos análogos a las salchichas de carne ( $P=0,0403$ ) pero no al compararlos con la soya.



**Figura 12.** Estabilidad de la emulsión promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados (letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p<0,05$ )).

Como se observa en la Figura 12, el prototipo elaborado con el concentrado de frijol Cubá liofilizado presentó un mayor porcentaje de exudados y, por tanto, una menor estabilidad que su equivalente elaborado con el concentrado de gandul liofilizado. A su vez, el prototipo elaborado con el concentrado de soya comercial no tuvo una estabilidad significativamente diferente a la de prototipos elaborados con las leguminosas en estudio.

La estabilidad de la emulsión indica la capacidad de la emulsión de retener la humedad y la grasa durante el procesamiento, por lo cual, este parámetro está estrechamente relacionado con otras propiedades de los concentrados de proteína como la capacidad de retención de agua y aceite (Tahmasebi et al., 2016). Según los resultados previos, la CRA y la CRG no resultaron significativamente diferentes entre los concentrados de proteína en cuestión, sin embargo, el concentrado de Gan L muestra una CRG mayor, que pudo influir en su mejor desempeño reteniendo los jugos de la emulsión durante su procesamiento.

Los resultados obtenidos son menores a los de otros productos análogos, Arora et al. (2017) reportan exudados entre 2,35%-4,92% para análogos de salchicha elaborados con hongos y probando diferentes agentes aglutinantes, Rahman Mazumder et al. (2023) obtuvieron de 2,30%-4,87% de exudados para análogos de salchicha elaborados a base setas de hongo gris y harina de garbanzo con diferentes hidrocoloides, además un 4,45% de exudado para la salchicha comercial de soya. Mientras que Kamani et al. (2019) reportan incluso 0% de exudados para un análogo de salchicha elaborado con aislado de proteína de soya y gluten.

Continuando con los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) para el pH de los prototipos de embutidos análogos a las salchichas de carne elaborados con los concentrados de proteína mejor evaluados (Cuadro XIX de anexos). En el Cuadro X se presenta el valor promedio de este parámetro para los prototipos elaborados.

**Cuadro X.** pH promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína de Gandul L, Cubá L y concentrado de soya comercial.

pH	Promedio $\pm$ desviación estándar	Potencia de la prueba
		5,91 $\pm$ 0,07

Este resultado es un poco menor al encontrado por Majzoobi et al. (2017) cuyos análogos de salchicha elaborados a base de soya tuvieron un pH entre 6,56 - 6,65, y al valor de pH de 7,01 reportado por Kamani et al. (2019) para el análogo elaborado igualmente con proteína de soya.

En el Cuadro XI se muestra el resultado de las pérdidas por cocción de los embutidos análogos a las salchichas de carne elaborados con las leguminosas en estudio. Debido a que no se encontraron diferencias significativas en este parámetro ( $p > 0,05$ ), el valor se reporta como el promedio de los resultados de cada prototipo (Cuadro XVIII de anexos). Nuevamente, el valor de

la potencia calculado indica que no se puede concluir con confianza que no existan diferencias significativas entre los valores de pérdida por cocción de las muestras.

**Cuadro XI.** Pérdidas por cocción promedio de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados.

<b>Pérdidas por cocción (%)</b>	<b>Promedio ± desviación estándar</b>	<b>Potencia de la prueba</b>
	13,2 ± 3,1	0,50

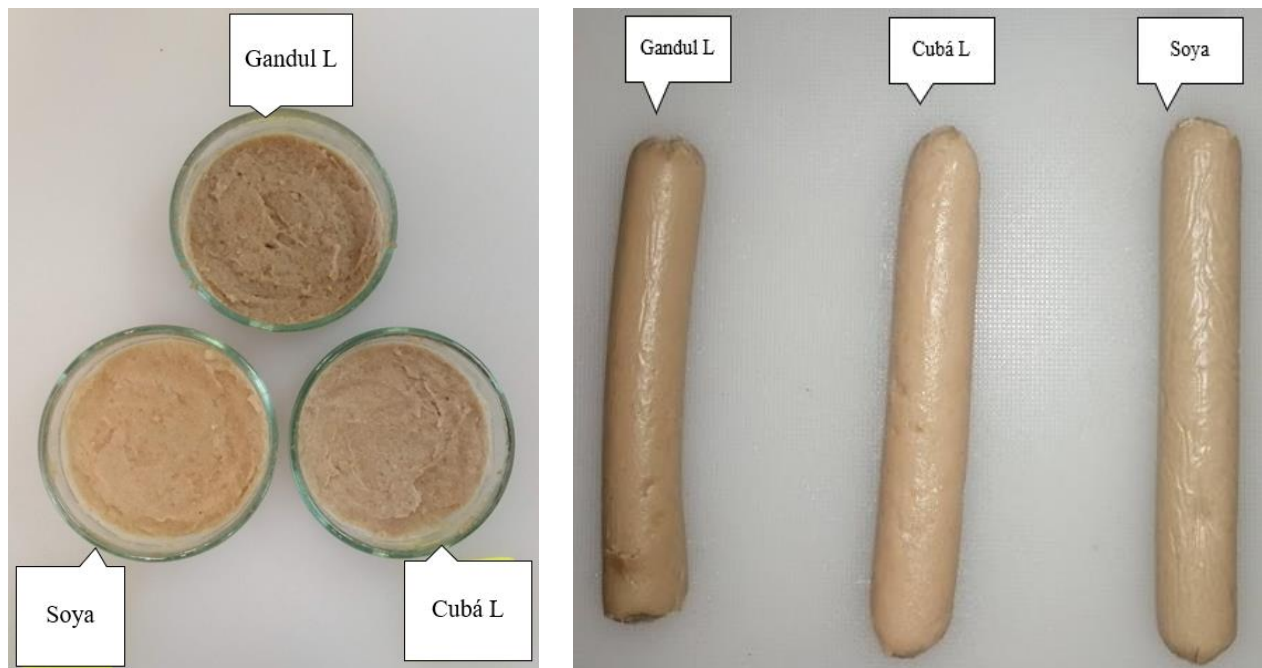
Las pérdidas por cocción se relacionan con la capacidad de la emulsión de retener el agua, la grasa y demás ingredientes durante la cocción, esto es de gran importancia para la calidad del embutido análogo. En general se ha reportado que la presencia de proteínas vegetales disminuye las pérdidas por fritura gracias a su alta capacidad de estabilizar la emulsión y atrapar el agua y la grasa, así lo evidencian Kamani et al. (2019) en su estudio, en el que las muestras de salchichas de pollo tuvieron una pérdida por fritura de 11,24% mientras que en las salchichas elaboradas con aislado de soya este valor se redujo a 6,9%. El resultado promedio de las pérdidas por cocción de los prototipos elaborados es superior al expuesto por otros autores como Majzoobi et al. (2017) que indicaron valores entre 5,78%-8,43% para salchichas análogas elaboradas con aislado de soya y Rahman Mazumder et al. (2023) que reportaron pérdidas por cocción de 4,08% y 6,08% para productos análogos elaborados con setas de hongos ostra grises y harina de garbanzo, y proteína de soya respectivamente. Esto puede atribuirse a las diferencias en las fuentes de proteínas, tipos de aceite y aditivos en la formulación.

A continuación, en el Cuadro XII, se muestran los parámetros de color utilizando la escala CIE L\* C, h°, para los prototipos de embutido análogo a las salchichas de carne. En la Figura 13 se presenta la imagen de las muestras evaluadas.

**Cuadro XII.** Parámetros de color de la escala CIE L\* C, h° para los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados.

<b>Prototipo</b>	<b>L*</b>	<b>C*</b>	<b>h (°)</b>
<b>Soya</b>	61 ± 2 <sup>b</sup>	22 ± 1 <sup>a</sup>	71 ± 2 <sup>b</sup>
<b>Cubá L</b>	64 ± 1 <sup>a</sup>	15,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	76 ± 3 <sup>a</sup>
<b>Gandul L</b>	58 ± 2 <sup>b</sup>	15,4 ± 0,6 <sup>b</sup>	78 ± 3 <sup>a</sup>
<b>Pr &gt; F</b>	0,006	0,000	0,005

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).



**Figura 13.** Muestras para la determinación de color de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados.

En el caso de la luminosidad, el prototipo de embutido elaborado con el concentrado de frijol Cubá liofilizado presentó un valor mayor que sus similares elaborados con los concentrados de gandul y soya. En este caso se obtuvo un comportamiento diferente al de los concentrados, ya que para los concentrados proteicos de leguminosa el valor de luminosidad del concentrado de soya fue significativamente mayor al de gandul L y Cubá L. Este cambio en la luminosidad puede relacionarse con la cantidad de agua libre y la estabilidad de la emulsión en los prototipos, la mayor cantidad de exudados en el prototipo de Cubá L pudo provocar su mayor luminosidad (Majzoobi et al., 2017). Además, al disolverse el concentrado de proteína en la emulsión, se pierde el efecto físico del tamaño de partícula de los concentrados secados por aspersion que provocaba una mayor dispersión de la luz en estos (Dawson & Acton, 2017).

La saturación o intensidad de tono ( $C^*$ ) fue mayor en el caso del embutido elaborado con el concentrado comercial de soya e igual entre los prototipos elaborados con los concentrados de las leguminosas en estudio, esto supone que este prototipo tiene colores más vivos o intensos que los elaborados con el concentrado de gandul y Cubá liofilizado. Al igual que para la saturación, la tonalidad ( $h^\circ$ ) de los prototipos elaborados con los concentrados de gandul y Cubá liofilizados no

fue significativamente diferente entre sí, mientras que el prototipo elaborado con el concentrado comercial de soya sí presentó una tonalidad menor, todas entre los 70°-80° que indican tonalidades rojas y amarillas (Figura 13) (Dawson & Acton, 2017). Este comportamiento coincide con lo expuesto para los parámetros de color de los concentrados de proteína, donde el concentrado de soya comercial presentó un valor de  $h^\circ$  menor y un  $C^*$  mayor, aunque no significativamente, que los concentrados de gandul y Cuba liofilizados. Estos resultados indican que los concentrados de proteína de Gan L y Cub L al aportar estas tonalidades amarillas y rojizas podrían disminuir la cantidad necesaria del colorante utilizado para obtener el color deseado en los análogos de embutidos de carne.

## 6. CONCLUSIONES

1. La extracción de proteína por el método de precipitación en punto isoelectrico permite obtener concentrados proteicos de más de 80% de proteína y, en el caso del extracto de proteína de frijol Mantequilla L mayores al 90%. Los métodos de secado por aspersión y liofilización no tienen efecto en el contenido de proteína de los concentrados de proteína de una misma leguminosa.
2. Con la liofilización se consiguen mayores rendimientos de secado que con el secado por aspersión. Además se obtienen concentrados con valores de luminosidad L\* significativamente más bajos e intensidad de color C\* más alta que sus semejantes secados por aspersión.
3. La combinación de la fuente de proteína (leguminosa) y el método de secado no tiene un efecto significativo en la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína en estudio, que fue estadísticamente igual a la del concentrado de proteína de soya comercial.
4. La solubilidad de los concentrados de proteína se ve afectada por el tipo de leguminosa, además, varía con el pH de la solución, a pH 4 destacó el concentrado de Cuba SA, a pH 6 el Gandul L y a pH 8 no se encontraron diferencias significativas en la solubilidad de los concentrados de las leguminosas en estudio.
5. Los concentrados de proteína liofilizados presentan mejor capacidad de retención de grasa que sus similares secados por aspersión.
6. Todos los concentrados de proteína de las leguminosas nativas reflejan mejores propiedades emulsionantes que el concentrado comercial de soya.
7. El concentrado de proteína utilizado para la elaboración de los prototipos de salchichas análogas a las de carne tiene un efecto significativo en las propiedades de textura: adhesividad, elasticidad, cohesividad, y masticabilidad. El prototipo de Cuba liofilizado obtuvo mejores características de cohesividad y masticabilidad.
8. Se encontraron diferencias significativas en el color de los prototipos, el prototipo de Cuba L presentó mayor luminosidad y en comparación con el concentrado de soya comercial los prototipos elaborados con las leguminosas nativas presentaron tonos más amarillentos.
9. La estabilidad de la emulsión de los prototipos elaborados con los concentrados de leguminosas nativas no resultó estadísticamente diferente a la del elaborado con el

concentrado comercial de soya. Entre ambos concentrados de leguminosas nativas evaluados, el prototipo de gandul liofilizado tiene mayor estabilidad de la emulsión.

10. En general con el estudio realizado se logró caracterizar y evaluar los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas seleccionadas, los cuales resultaron semejantes e incluso sobresalientes en algunas propiedades en comparación con un concentrado comercial de soya. Además, se obtuvieron importantes resultados de la aplicación de dos de estos concentrados en un prototipo de salchicha análoga a la de carne. Con lo que se hace un aporte valioso al campo de las fuentes de proteínas alternativas, visibilizando proteínas nativas subutilizadas como potenciales ingredientes en la industria de alimentos.

## 7. RECOMENDACIONES

1. Optimizar las condiciones de extracción y de secado para cada leguminosa: pH de extracción y de precipitación isoelectrica, tiempo y temperatura de extracción y variables del secado por aspersion, con el fin de aumentar los rendimientos y disminuir los valores de humedad y  $A_w$  de los productos obtenidos. Esto sin dejar de considerar las propiedades funcionales asociadas.
2. Según los resultados obtenidos para las propiedades tecno-funcionales de los concentrados de proteína, estos podrían utilizarse como fuentes de proteína vegetal en otros alimentos, por ejemplo los concentrados de Cub SA y Gan L que presentaron mayor solubilidad a pH4 y pH6 podrían probarse en bebidas con alto contenido de proteína. Además, podrían incluirse en otros productos análogos a la carne como tortas de hamburguesa, albóndigas, prefomados tipo nuggets, entre otros.
3. Incluir otros parámetros para la evaluación de la calidad nutricional de los concentrados de proteína en estudio, por ejemplo el perfil de aminoácidos que permite valorar el aporte de aminoácidos de la proteína y calcular la puntuación de aminoácidos corregidos por la digestibilidad de proteínas (PDCAAS), método utilizado de manera generalizada para la evaluación de la calidad de las proteínas.
4. Teniendo como base la formulación utilizada para la elaboración de los prototipos de salchicha análoga a la de carne, puede realizarse el desarrollo del proceso y formulación de una salchicha análoga a las de carne con alguno de los concentrados de proteína de leguminosas nativas evaluados. Considerando incluir la comparación con un producto del mercado y la evaluación de otros parámetros como la calidad microbiológica y análisis sensoriales como el agrado general con consumidores.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña-Gutiérrez, C., Campos-Boza, S., Hernández-Pridybaile, A., & Jiménez, V. M. (2019). Nutritional and industrial relevance of particular neotropical pseudo-cereals. En *Food Tech Transitions: Reconnecting Agri-Food, Technology and Society* (pp. 65–79). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-21059-5\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-21059-5_4)
- Adebo, J. A. (2023). A Review on the Potential Food Application of Lima Beans (*Phaseolus lunatus* L.), an Underutilized Crop. *Applied Sciences*, 13(3), 1996. <https://doi.org/10.3390/APP13031996>
- Agencia Iberoamericana para la Difusión de la Ciencia y la Tecnología (DICYT), & Universidad de Costa Rica (UCR). (2014). *Agencia Iberoamericana para la Difusión de la Ciencia y la Tecnología*. Descubren nuevas especies de frijol silvestre de Costa Rica. <https://www.dicyt.com/noticias/descubren-nuevas-especies-de-frijol-silvestre-de-costa-rica>
- Alvarado-López, A. N., Gómez-Oliván, L. M., Heredia, J. B., Baeza-Jiménez, R., García-Galindo, H. S., & Lopez-Martinez, L. X. (2019). Nutritional and bioactive characteristics of Ayocote bean (*Phaseolus coccineus* L.): An underutilized legume harvested in Mexico. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 199–206. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1571530>
- Andrés Jiménez, C. (2013). Determinación de descriptores sensoriales para un producto untado a base de frijol gandul (*Cajanus cajan*) mediante dos grupos focales. *Cuadernos de Investigación UNED*, 5(2), 307–317. <https://doi.org/10.22458/urj.v5i2.264>
- Araya-Villalobos, R., Martínez Umaña, K., & Debouck, D. (2015). ¿Cuántas especies de frijol (*Phaseolus*) hay en Costa Rica? En *LX Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA)*.
- Araya, R., & Hernández, J. C. (2007). *Variedades de frijol de grano rojo, obtenidas por fitomejoramiento participativo en Costa Rica 2000 – 2007*.
- Arora, B., Kamal, S., & Sharma, V. P. (2017). Effect of Binding Agents on Quality Characteristics of Mushroom Based Sausage Analogue. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13134. <https://doi.org/10.1111/JFPP.13134>
- Aryee, A. N. A., Agyei, D., & Udenigwe, C. C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. En R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in Food Processing, Second Edition* (Second, pp. 27–45). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00003-6>
- Asgar, M. A., Fazilah, A., Huda, N., Bhat, R., & Karim, A. A. (2010). Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 513–529. <https://doi.org/10.1111/J.1541-4337.2010.00124.X>
- Baigts, D. (2016). Proteínas emergentes y su aplicación en la industria alimentaria. *Vitae*, 23, 27–30.
- Barbosa-Cánovas, G. V., & Juliano, P. (2020). Desorption Phenomena in Food Dehydration Processes. En *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications* (Second, Número 2020, pp. 425–452). John Wiley & Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118765982.ch17>
- Basso Los, F. G., Ferreira Zielinski, A. A., Wojcickowski, J. P., Nogueira, A., & Mottin Demiate, I. (2018). Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): whole seeds with complex chemical composition. *Current Opinion in Food Science*, 19, 63–71. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2018.01.010>
- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 53–68. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.08.022>
- Bhushani, A., & Anandharamakrishnan, C. (2017). Freeze Drying. En C. Anandharamakrishnan

- (Ed.), *Handbook of Drying of Dairy Products* (First, pp. 95–122). John Wiley & Sons, Ltd.
- Blaise, K., Nicolas, N. Y., Clémence, B., & Richard, K. (2017). Influence of spray-drying temperature on physicochemical and functional properties of protein isolates of three leguminous plants (*Canavalia ensiformis*, *Vigna unguiculata* and *Glycine max*) from Cameroon. *Cogent Chemistry*, 3(1), 1388140. <https://doi.org/10.1080/23312009.2017.1388140>
- Boada, L. D., Henríquez-Hernández, L. A., & Luzardo, O. P. (2016). The impact of red and processed meat consumption on cancer and other health outcomes: Epidemiological evidences. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 236–244. <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2016.04.008>
- Bohrer, B. M. (2017). Review: Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 65, pp. 103–112). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.016>
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414–431. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2009.09.003>
- Brishti, F. H., Chay, S. Y., Muhammad, K., Ismail-Fitry, M. R., Zarei, M., Karthikeyan, S., & Saari, N. (2020). Effects of drying techniques on the physicochemical, functional, thermal, structural and rheological properties of mung bean (*Vigna radiata*) protein isolate powder. *Food Research International*, 138, 109783. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109783>
- Büchi Switzerland. (s/f). *Secado por Pulverización y Encapsulación Formación de partículas a escala de laboratorio*.
- Capuano, E., Oliviero, T., Fogliano, V., & Pellegrini, N. (2018). Role of the food matrix and digestion on calculation of the actual energy content of food. *Nutrition Reviews*, 76(4), 274–289. <https://doi.org/10.1093/NUTRIT/NUX072>
- Carbonaro, M., & Nucara, A. (2022). Legume Proteins and Peptides as Compounds in Nutraceuticals: A Structural Basis for Dietary Health Effects. *Nutrients*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/NU14061188>
- Castro Alvarado, M. P. (2015). *Desarrollo de salchichas de pollo light, adicionadas con chayote deshidratado en polvo como sustituto de grasa y evaluación de su aceptación por el consumidor*. Universidad de Costa Rica.
- Chel-Guerrero, L., Pérez-Flores, V., Betancur-Ancona, D., & Dávila-Ortiz, G. (2002). Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3), 584–591. <https://doi.org/10.1021/JF010778J/ASSET/IMAGES/LARGE/JF010778JF00008.JPEG>
- CITA. (2020). *P-SA-MQ-039-Determinación de proteínas totales por el método de Lowry*.
- Cominelli, E., Sparvoli, F., Lisciani, S., Forti, C., Camilli, E., Ferrari, M., Le Donne, C., Marconi, S., Juan Vorster, B., Botha, A. M., Marais, D., Losa, A., Sala, T., Reboul, E., Alvarado-Ramos, K., Waswa, B., Ekesa, B., Aragão, F., & Kunert, K. (2022). Antinutritional factors, nutritional improvement, and future food use of common beans: A perspective. *Frontiers in Plant Science*, 13, 992169. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2022.992169/BIBTEX>
- Córdoba, V. (2018). *Estudio del efecto de la adición de semilla de chan ( Hyptis suaveolens ( L . ) Poit ) y proteína de origen animal sobre las características fisicoquímicas , sensoriales y reológicas de una salchicha similar a las del mercado nacional Ciudad Universitaria*. Universidad de Costa Rica.
- Corzo-Ríos, L. J., Sánchez-Chino, X. M., Cardador-Martínez, A., Martínez-Herrera, J., & Jiménez-

- Martínez, C. (2020). Effect of cooking on nutritional and non-nutritional compounds in two species of Phaseolus (*P. vulgaris* and *P. coccineus*) cultivated in Mexico. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 20, 100206. <https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2020.100206>
- Da Silva Oliveira, W., Neves, D. A., & Ballus, C. A. (2019). Mature chemical analysis methods for food chemical properties evaluation. En Z. Jian & X. Wang (Eds.), *Evaluation Technologies for Food Quality* (pp. 63–90). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814217-2.00005-6>
- Dagevos, H. (2021). Finding flexitarians: Current studies on meat eaters and meat reducers. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 530–539. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.06.021>
- Das, G., Sharma, A., & Sarkar, P. K. (2022). Conventional and emerging processing techniques for the post-harvest reduction of antinutrients in edible legumes. *Applied Food Research*, 2(1), 100112. <https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100112>
- Dawson, P. L., & Acton, J. C. (2017). Impact of proteins on food color. En R. Y. Yad (Ed.), *Proteins in Food Processing* (Second, pp. 599–638). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00023-1>
- Day, L. (2013). Proteins from land plants - Potential resources for human nutrition and food security. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 32, Número 1, pp. 25–42). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.005>
- de Paiva Gouvêa, L., Caldeira, R., de Lima Azevedo, T., Galdeano, M. C., Felberg, I., Lima, J. R., & Grassi Mellinger, C. (2023). Physical and techno-functional properties of a common bean protein concentrate compared to commercial legume ingredients for the plant-based market. *Food Hydrocolloids*, 137, 108351. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2022.108351>
- Dong, X., Woo, M. W., & Quek, S. Y. (2024). The physicochemical properties, functionality, and digestibility of hempseed protein isolate as impacted by spray drying and freeze drying. *Food Chemistry*, 433, 137310. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.137310>
- Eze, C. R., Kwofie, E. M., Adewale, P., Lam, E., & Ngadi, M. (2022). Advances in legume protein extraction technologies: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 82, 103199. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2022.103199>
- FAO. (2016). Legumbres: Semillas nutritivas para un futuro sostenible. En *Legumbres: Semillas nutritivas para un futuro sostenible*. <https://doi.org/10.4060/i5528s>
- FAO. (2017). The Future of Food and Agriculture. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, November*, 1–52.
- FAO. (2021a). El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura - Sistemas al límite. En *El estado de los recursos de tierras y aguas del mundo para la alimentación y la agricultura - Sistemas al límite*. <https://doi.org/10.4060/cb7654es>
- FAO. (2021b). Legumbres y Cambio Climático. En *FAO*.
- FAO. (2021c). *Beneficios nutricionales de las legumbres*. <https://www.fao.org/3/i5384s/i5384s.pdf>
- FAO. (2022). The future of food and agriculture: Drivers and triggers for transformation. En *The future of food and agriculture*. <https://doi.org/10.4060/cc1024en>
- FAO, FIDA, OMS, PMA, & UNICEF. (2022). *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2022*. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cc0639es> Las
- FAO, FIDA, OPS, WFP, & UNICEF. (2023). *Panorama regional de la seguridad alimentaria y nutricional - América Latina y el Caribe 2022: hacia una mejor asequibilidad de las dietas saludables*. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cc3859es> Las
- FAO y OMS. (2020). Dietas saludables sostenibles. En *Dietas saludables sostenibles*. <https://doi.org/10.4060/ca6640es>

- Fasolin, L. H., Pereira, R. N., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Andrade, C. C. P., Ramos, O. L., & Vicente, A. A. (2019). Emergent food proteins – Towards sustainability, health and innovation. *Food Research International*, *125*, 108586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- Fellows, P. . (2016). Freeze drying and freeze concentration. En P. J. Fellows (Ed.), *Food Processing Technology* (4a ed., pp. 929–945). Elsevier Science & Technology. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-101907-8.00023-7>
- Feyzi, S., Milani, E., & Golimovahhed, Q. A. (2018). Grass Pea (*Lathyrus sativus* L.) Protein Isolate: The Effect of Extraction Optimization and Drying Methods on the Structure and Functional Properties. *Food Hydrocolloids*, *74*, 187–196. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2017.07.031>
- Fitzpatrick, J. (2013). Powder properties in food. En B. Bhandari (Ed.), *Handbook of food powders : Processes and properties* (pp. 285–308).
- Flores, E. (2022). *Categoría de proteínas alternativas: una oportunidad de negocio para Costa Rica*. Universidad Nacional.
- Gehring, K. B. (2023). Meat and health. En F. Toldrá (Ed.), *Lawrie's Meat Science* (ninth, pp. 687–705). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85408-5.00009-1>
- Ghosh, S., Sarkar, T., & Chakraborty, R. (2023). Underutilized plant sources: A hidden treasure of natural colors. *Food Bioscience*, *52*, 102361. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2023.102361>
- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., & Chakraborty, R. (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *LWT*, *153*, 112527. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112527>
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., & Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, *165*, 179–188. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2015.06.021>
- González, L. A., Rey, A., & Fallas Solano, A. a. (2016). El Gandul (*Cajanus cajan* (L.) Mill sp.) una excelente alternativa para Sistemas Agrosilvopastoriles. *Repertorio Científico*, *19*(2), 135–143. <https://doi.org/10.22458/rc.v19i2.2444>
- Guerra-García, A., Suárez-Atilano, M., Mastretta-Yanes, A., Delgado-Salinas, A., & Piñero, D. (2017). Domestication genomics of the open-pollinated scarlet runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Frontiers in Plant Science*, *8*(November), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01891>
- Gundogan, R., & Can Karaca, A. (2020). Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. *LWT*, *130*, 109609. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2020.109609>
- Hadidi, M., Aghababaei, F., & McClements, D. J. (2023). Enhanced alkaline extraction techniques for isolating and modifying plant-based proteins. *Food Hydrocolloids*, *145*, 109132. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2023.109132>
- Haque, M. A., Timilsena, Y. P., & Adhikari, B. (2016a). Food Proteins, Structure, and Function. En *Reference Module in Food Science* (pp. 1–8). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.03057-2>
- Haque, M. A., Timilsena, Y. P., & Adhikari, B. (2016b). Food Proteins, Structure, and Function. En *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.03057-2>
- Hayes, M. (2020). Measuring protein content in food: An overview of methods. *Foods*, *9*(10). <https://doi.org/10.3390/FOODS9101340>

- Hedegaard, R. V., & Skibsted, L. . (2013). Shelf-life of food powders. En B. Bhesh, B. Nidhi, Z. Min, & S. Pierre (Eds.), *Handbook of Food Powders : Processes and Properties*.
- Henchion, M., Hayes, M., Mullen, A. M., Fenelon, M., & Tiwari, B. (2017). Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium. *Foods*, 6(7), 1–21. <https://doi.org/10.3390/FOODS6070053>
- Hernández, J. C. (2009). *Manual De Recomendaciones Técnicas Cultivo de Frijol*.
- Hernández Salueña, B., Sáenz Gamasa, C., Diñeiro Rubial, J. M., & Alberdi Odriozola, C. (2019). CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat Science*, 157, 107889. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.107889>
- Hur, S. J., Yoon, Y., Jo, C., Jeong, J. Y., & Lee, K. T. (2019). Effect of Dietary Red Meat on Colorectal Cancer Risk—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 1812–1824. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12501>
- Hutchings, J. B. (2012). Colour in food. En J. Best (Ed.), *Colour Design: Theories and Applications* (Second, pp. 157–168). Elsevier Science & Technology. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101270-3.00006-0>
- Ismail, I., & Huda, N. (2022). Meat alternatives. En R. Bhat (Ed.), *Future Foods: Global Trends, Opportunities, and Sustainability Challenges* (pp. 351–373). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91001-9.00004-9>
- Jiménez-Munoz, L. M., Tavares, G. M., & Corredig, M. (2021). Design future foods using plant protein blends for best nutritional and technological functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 139–150. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.04.049>
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F., & Kasapis, S. (2011). Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods. *Food Chemistry*, 129(4), 1513–1522. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.05.131>
- Kamani, M. H., Meera, M. S., Bhaskar, N., & Modi, V. K. (2019). Partial and total replacement of meat by plant-based proteins in chicken sausage: evaluation of mechanical, physico-chemical and sensory characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, 56(5), 2660–2669. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03754-1>
- Kerslake, E., Kemper, J. A., & Conroy, D. (2022). What’s your beef with meat substitutes? Exploring barriers and facilitators for meat substitutes in omnivores, vegetarians, and vegans. *Appetite*, 170, 105864. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2021.105864>
- Kiosseoglou, V., Paraskevopoulou, A., & Poojary, M. M. (2020). Functional and physicochemical properties of pulse proteins. En B. K. Tiwari, A. Gowen, & B. McKenna (Eds.), *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications* (second, pp. 113–146). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818184-3.00006-4>
- Kiosseoglou, V., Paraskevopoulou, A., & Poojary, M. M. (2021). Functional and physicochemical properties of pulse proteins. En B. K. Tiwari, A. Gowen, & B. McKenna (Eds.), *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications* (2a ed., pp. 113–146). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818184-3.00006-4>
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., Belwal, T., Dahuja, A., Joshi, S., Berwal, M. K., Satankar, V., Bhoite, A. G., Amarowicz, R., Kaur, C., & Kennedy, J. F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106595>
- Kyriakopoulou, K., Dekkers, B., & van der Goot, A. J. (2019). Plant-Based Meat Analogues. En C. M. Galanakis (Ed.), *Sustainable Meat Production and Processing* (pp. 103–126). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814874-7.00006-7>
- Lafarga, T., Álvarez, C., Villaró, S., Bobo, G., & Aguiló-Aguayo, I. (2020). Potential of pulse-

- derived proteins for developing novel vegan edible foams and emulsions. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(2), 475–481. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14286>
- Lee, H. J., Yong, H. I., Kim, M., Choi, Y.-S., & Jo, C. (2020). Status of meat alternatives and their potential role in the future meat market-A review. *Asian-Australas J Anim Sci*, 33(10), 1533–1543. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0419>
- Li, W., Shu, C., Yan, S., & Shen, Q. (2010). Characteristics of sixteen mung bean cultivars and their protein isolates. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(6), 1205–1211. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2010.02259.X>
- Libera, J., Howiecka, K., & Stasiak, D. (2021). Consumption of processed red meat and its impact on human health: A review. En *International Journal of Food Science and Technology* (Vol. 56, Número 12, pp. 6115–6123). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15270>
- López-Alcocer, J. de J., Lépiz-Ildefonso, R., González-Eguiarte, D. R., Rodríguez-Macías, R., & López-Alcocer, E. (2016). Morphological variability of wild *Phaseolus lunatus* L. from the western region of México. *Revista fitotecnia mexicana*, 39(1), 49–58.
- LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., & RANDALL, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of biological chemistry*, 193(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
- Ma, K. K. ; Greis, M. ; Lu, J. ; Nolden, A. A. ; McClements, D. J. ; Kinchla, A. J., Ma, K. K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A. A., McClements, D. J., & Kinchla, A. J. (2022). Functional Performance of Plant Proteins. *Foods 2022, Vol. 11, Page 594, 11(4)*, 594. <https://doi.org/10.3390/FOODS11040594>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein Determination—Method Matters. *Foods*, 7(1). <https://doi.org/10.3390/FOODS7010005>
- Majzoobi, M., Talebanfar, S., Eskandari, M. H., & Farahnaky, A. (2017). Improving the quality of meat-free sausages using  $\kappa$ -carrageenan, konjac mannan and xanthan gum. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 1269–1275. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13394>
- Markets and Markets. (2022). *Plant-based Meat Market to Cross \$15.7 Billion by 2027—Exclusive Report by MarketsandMarkets™*. <https://www.globenewswire.com/news-release/2022/12/21/2577964/0/en/Plant-based-Meat-Market-to-Cross-15-7-Billion-by-2027-Exclusive-Report-by-MarketsandMarkets.html>
- Marrugo-Ligardo, Y., Montero-Castillo, P., & Duran Lengua, M. (2016). Evaluación Nutricional de Concentrados Proteicos de *Phaseolus lunatus* y *Vigna unguiculata*. *Información tecnológica*, 27(6), 107–114. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000600011>
- Mazumder, M. A. R., Panpipat, W., Chaijan, M., Shetty, K., & Rawdkuen, S. (2023). Role of plant protein on the quality and structure of meat analogs: A new perspective for vegetarian foods. *Future Foods*, 8, 100280. <https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2023.100280>
- Mazumder, M. A. R., Sujintonniti, N., Chaum, P., Ketnawa, S., & Rawdkuen, S. (2023). Developments of Plant-Based Emulsion-Type Sausage by Using Grey Oyster Mushrooms and Chickpeas. *Foods 2023, Vol. 12, Page 1564, 12(8)*, 1564. <https://doi.org/10.3390/FOODS12081564>
- Mencía Guevara, A., Villalobos Moya, K., Rubí Zeledón, J., Granados Rojas, L., Hernández Aguirre, C., & Brenes Monge, H. (2020). Evaluación de propiedades fisicoquímicas del frijol costarricense (*Phaseolus vulgaris*) como estrategia de diferenciación y valorización. *Perspectivas Rurales Nueva Época*, 18(35), 25–48. <https://doi.org/10.15359/prne.18-35.2>
- Misquitta, S. A., Kshirsagar, D. N., Dange, P. R., Choudhari, V. G., & Kabra, M. M. (2023). Digestibility of Proteins in Legumes. En M. Hasanuzzaman (Ed.), *Production and Utilization*

- of Legumes - Progress and Prospects.* IntechOpen.  
<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.110372>
- Mosisa, M. T. (2017). Effect of processing on proximate and mineral composition of black climbing (*P. coccineus* L.) bean flour. *African Journal of Food Science*, 11(3), 74–81.  
<https://doi.org/10.5897/AJFS2016.1475>
- Munialo, C. D., Stewart, D., Campbell, L., & Euston, S. R. (2022). Extraction, characterisation and functional applications of sustainable alternative protein sources for future foods: A review. *Future Foods*, 6, 100152. <https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2022.100152>
- Nadathur, S. R., Wanasundara, J. P. D., & Scanlin, L. (2017). Proteins in the Diet: Challenges in Feeding the Global Population. En *Sustainable Protein Sources* (pp. 1–19). Academic Press.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00001-9>
- Navaf, M., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Sudheesh, C., Akhila, P. P., Mir, S. A., Nemtanu, M. R., George, J., Lackner, M., & Mousavi Khaneghah, A. (2023). Contemporary insights into the extraction, functional properties, and therapeutic applications of plant proteins. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100861. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2023.100861>
- OCDE/FAO. (2022). *OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2022-2031*, OECD Publishing, Paris.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1787/820ef1bb-es>
- OCDE, & FAO. (2020). OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas 2020-2029. En *OECD Publishing* (OCDE-FAO Perspectivas Agrícolas). OECD. <https://doi.org/10.1787/a0848ac0-es>
- Özdemir, E. E., Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2022). Physicochemical, functional and emulsifying properties of plant protein powder from industrial sesame processing waste as affected by spray and freeze drying. *LWT*, 154, 112646.  
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112646>
- Palupi, H. T., Estiasih, T., Yunianta, & Sutrisno, A. (2022). Physicochemical and protein characterization of lima bean (*Phaseolus lunatus* L) seed. *Food Research*, 6(1), 168–177.  
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(1\).107](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(1).107)
- Pazmiño, A., Vásquez, G., & Carrillo, W. (2018). PIGEON PEA PROTEIN CONCENTRATE (CAJANUS CAJAN) SEEDS GROWN IN ECUADOR FUNCTIONAL PROPERTIES. *Asian journal of pharmaceutical and clinical research*, 11.
- Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716–723.  
<https://doi.org/10.1021/jf60217a041>
- Pérez, S., & Granito, M. (2012). Concentrados de *Cajanus cajanus* y *Phaseolus vulgaris* fermentados e hidrolizados: ingredientes funcionales para el desarrollo de alimentos. *Interciencia*, 37(6), 432–437.
- Pietrasik, Z., & Soladoye, O. P. (2021). Functionality and consumer acceptability of low-fat breakfast sausages processed with non-meat ingredients of pulse derivatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4464–4472. <https://doi.org/10.1002/JSFA.11084>
- Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 93–104. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2018.03.010>
- Programa Especial para la Seguridad Alimentaria (PESA). (2011). Seguridad Alimentaria y Nutricional Conceptos Básicos. *Seguridad Alimentaria Nutricional, Conceptos Básicos*.  
<https://doi.org/10.2307/j.ctv18dvt8h>
- Quesada, D., & Gómez, G. (2019). Proteins of vegetable or animal origin? A look at their impact on health and environment. *Revista de Nutrición Clínica y Metabolismo.*, 2(1), 1–8.
- Rahman Mazumder, M. A., Sujintonniti, N., Chaum, P., Ketnawa, S., & Rawdkuen, S. (2023).

- Developments of Plant-Based Emulsion-Type Sausage by Using Grey Oyster Mushrooms and Chickpeas. *Foods*, 12(8).
- Rajpurohit, B., & Li, Y. (2023). Overview on pulse proteins for future foods: ingredient development and novel applications. *Journal of Future Foods*, 3(4), 340–356. <https://doi.org/10.1016/J.JFUTFO.2023.03.005>
- Ratti, C. (2013). Freeze drying for food powder production. En *Handbook of Food Powders: Processes and Properties* (pp. 57–84). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857098672.1.57>
- Rui, X., Boye, J. I., Ribereau, S., Simpson, B. K., & Prasher, S. O. (2011). Comparative study of the composition and thermal properties of protein isolates prepared from nine *Phaseolus vulgaris* legume varieties. *Food Research International*, 44(8), 2497–2504. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.008>
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 170–184. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.01.011>
- Salas, R. (2023). *Informe Estadístico Anual 2022* (Número 506).
- Saldanha do Carmo, C., Costa, L., Serra, A. T., Knutsen, S. H., Sahlstrøm, S., & Bronze, M. R. (2021). Alternative protein sources. En *Food Technology Disruptions* (pp. 131–174). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821470-1.00010-0>
- Samard, S., & Ryu, G. H. (2019). Physicochemical and functional characteristics of plant protein-based meat analogs. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14123>
- Schreuders, F. K. G., Schlangen, M., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., & van der Goot, A. J. (2021). Texture methods for evaluating meat and meat analogue structures: A review. *Food Control*, 127, 108103. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108103>
- Schwember, A. R., Carrasco, B., & Gepts, P. (2017). Unraveling agronomic and genetic aspects of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Field Crops Research*, 206, 86–94. <https://doi.org/10.1016/J.FCR.2017.02.020>
- Selvamuthukumar, M., Tranchant, C., & Shi, J. (2019). Spraying drying: Concept, application and its recent advances in food processing. En M. Selvamuthukumar (Ed.), *Handbook on Spray Drying Applications for Food Industries* (pp. 1–30). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429055133-1>
- Shevkani, K., Singh, N., Chen, Y., Kaur, A., & Yu, L. (2019). Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6), 2787–2798. <https://doi.org/10.1007/S13197-019-03723-8/FIGURES/4>
- Solano Pereira, T., Solórzano Thompson, J., & Paniagua Molina, J. (2021). Modelación del mercado de carne de res en Costa Rica : una aproximación preliminary approach. *Revista e-Agronegocios*, 7(1), 4–20.
- Sun, C., Ge, J., He, J., Gan, R., & Fang, Y. (2021). Processing, Quality, Safety, and Acceptance of Meat Analogue Products. En *Engineering* (Vol. 7, Número 5, pp. 674–678). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.10.011>
- Syed, R., Ding, H. H., Hui, D., & Wu, Y. (2022). Physicochemical and functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan*) protein and non-starch polysaccharides. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 28, 100317. <https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2022.100317>
- Tahmasebi, M., Labbafi, M., Emam-Djomeh, Z., & Yarmand, M. S. (2016). Manufacturing the novel sausages with reduced quantity of meat and fat: The product development, formulation optimization, emulsion stability and textural characterization. *LWT - Food Science and*

- Technology*, 68, 76–84. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.12.011>
- Talari, A., & Shakappa, D. (2018). Role of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) in human nutrition and health: A review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 37(3), 212–220. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.dr-1379>
- Tang, X., Shen, Y., Zhang, Y., Schilling, M. W., & Li, Y. (2021). Parallel comparison of functional and physicochemical properties of common pulse proteins. *LWT*, 146, 111594. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111594>
- Tanger, C., Engel, J., & Kulozik, U. (2020). Influence of extraction conditions on the conformational alteration of pea protein extracted from pea flour. *Food Hydrocolloids*, 107, 105949. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105949>
- Temegne, N. C., Tsoata, E., Emmanuel Ngome, A. F., Tonfack, L. B., Agendia, A. P., & Youmbi, E. (2021). Lima bean. En *The Beans and the Peas: From Orphan to Mainstream Crops* (pp. 133–152). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821450-3.00001-9>
- Teniente, G., González, L., Cariño, R., & Bernardino, A. (2016). CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL FRIJOL AYOCOTE (*Phaseolus coccineus* L.). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 1–6.
- The Good Food Institute. (2019). *Plant Based Meat Fact Sheet Environmental Comparison*.
- Toews, R., & Wang, N. (2013). Physicochemical and functional properties of protein concentrates from pulses. *Food Research International*, 52(2), 445–451. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.009>
- Tripathi, A., Iswarya, V., Rawson, A., Singh, N., Dave Oomah, B., & Patras, A. (2021). Chemistry of pulses—macronutrients. En *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications* (pp. 31–59). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818184-3.00003-9>
- Tripathi, A., Iswarya, V., Singh, N., & Rawson, A. (2021). Chemistry of pulses—micronutrients. En B. K. Tiwari, A. Gowen, & B. McKenna (Eds.), *Pulse Foods: Processing, Quality and Nutraceutical Applications* (2a ed., pp. 61–86). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818184-3.00004-0>
- Ustunol, Z. (2014). Introduction to Food Proteins. En I. John Wiley & Sons (Ed.), *Applied Food Protein Chemistry* (1a ed., Vol. 9781119944, pp. 1–4). <https://doi.org/10.1002/9781118860588.ch1>
- van der Meer, M., Fischer, A. R. H., & Onwezen, M. C. (2023). Same strategies – different categories: An explorative card-sort study of plant-based proteins comparing omnivores, flexitarians, vegetarians and vegans. *Appetite*, 180, 106315. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2022.106315>
- Venkidasamy, B., Selvaraj, D., Nile, A. S., Ramalingam, S., Kai, G., & Nile, S. H. (2019). Indian pulses: A review on nutritional, functional and biochemical properties with future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 228–242. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.03.012>
- Vera Zambrano, M., Dutta, B., Mercer, D. G., MacLean, H. L., & Touchie, M. F. (2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 484–496. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.04.006>
- Wani, I. A., Sogi, D. S., Shivhare, U. S., & Gill, B. S. (2015). Physico-chemical and functional properties of native and hydrolyzed kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates. *Food Research International*, 76(P1), 11–18. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2014.08.027>
- Withana-Gamage, T. S., Wanasundara, J. P., Pietrasik, Z., & Shand, P. J. (2011). Physicochemical,

- thermal and functional characterisation of protein isolates from Kabuli and Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.): a comparative study with soy (*Glycine max*) and pea (*Pisum sativum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6), 1022–1031. <https://doi.org/10.1002/JSFA.4277>
- Woo, M. W., & Bhandari, B. (2013). Spray drying for food powder production. *Handbook of Food Powders: Processes and Properties*, 29–56. <https://doi.org/10.1533/9780857098672.1.29>
- Wood, J. D. (2023). Meat composition and nutritional value. En F. Toldrá (Ed.), *Lawrie's Meat Science* (ninth, pp. 665–685). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85408-5.00012-1>
- Youssef, M. K., & Barbut, S. (2011). Effects of two types of soy protein isolates, native and preheated whey protein isolates on emulsified meat batters prepared at different protein levels. *Meat Science*, 87(1), 54–60. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.09.002>
- Yuliarti, O., Bin Muhd Faizal Abdullah Tan, M. F., & Tay, J. K. K. (2023). Plant-based meat analogue. En P. Sangeeta, B. Bhesh R, & C. Gaiani (Eds.), *Engineering Plant-Based Food Systems* (pp. 169–183). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89842-3.00009-9>
- Zambrano, M., Vásquez, G., Morales, D., Vilcacundo, R., & Carrillo, W. (2020). ISOLATION OF BABY LIMA BEAN (*PHASEOLUS LUNATUS*) PROTEINS FRACTIONS AND EVALUATION OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY. *Ital. J. Food Sci*, 32, 2020–2276.
- Zhang, T., Dou, W., Zhang, X., Zhao, Y., Zhang, Y., Jiang, L., & Sui, X. (2021). The development history and recent updates on soy protein-based meat alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 702–710. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.01.060>

## 9. ANEXOS

**Anexo A.** Resultados de las pruebas fisicoquímicas y de funcionalidad tecnológica realizadas a los concentrados de proteína de 4 leguminosas nativas, secados por aspersión y liofilización posterior a su extracción, y a un concentrado comercial de proteína de soya.

**Cuadro XIII.** Valores promedio del rendimiento de extracción, en base húmeda, de los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>Repetición</b>	<b>Rendimiento de extracción (%)</b>
<b>Mantequilla</b>	1	8,75
	2	8,69
	3	9,25
<b>Gandul</b>	1	7,34
	2	8,13
	3	8,10
<b>Cubá</b>	1	9,15
	2	9,93
	3	10,58
<b>Cabécar</b>	1	8,40
	2	8,11
	3	9,04

**Cuadro XIV.** Valores promedio del rendimiento de secado, en base húmeda, de los concentrados de proteína de 4 leguminosas nativas, secados por aspersión y liofilización posterior a su extracción.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>Repetición</b>	<b>Rendimiento de Secado (%)</b>
<b>Mantequilla SA</b>	1	10,80
	2	11,73
	3	12,12
<b>Gandul SA</b>	1	13,86
	2	15,29
	3	15,47

<b>Cubá SA</b>	1	13,87
	2	13,06
	3	13,31
<b>Cabécar SA</b>	1	11,52
	2	12,54
	3	12,91
<b>Mantequilla L</b>	1	13,10
	2	14,31
	3	14,35
<b>Gandul L</b>	1	20,25
	2	19,98
	3	21,17
<b>Cubá L</b>	1	17,17
	2	16,69
	3	17,73
<b>Cabécar L</b>	1	14,30
	2	13,97
	3	15,23

**Cuadro XV.** Valores promedio de humedad,  $A_w$  y contenido de proteína (base húmeda) de los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización y de un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>Repetición</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b><math>A_w</math></b>	<b>Contenido de Proteína (g/100g)</b>
<b>Soya</b>	1	10,84	0,65	63,28
	2	10,51	0,64	59,40
	3	9,81	0,60	51,29
<b>Mantequilla SA</b>	1	9,32	0,57	85,76
	2	10,33	0,63	95,77
	3	9,76	0,60	88,76
<b>Gandul SA</b>	1	8,99	0,58	83,76
	2	8,79	0,57	83,42
	3	12,02	0,60	80,88

<b>Cubá SA</b>	1	9,61	0,54	86,32
	2	9,77	0,52	87,71
	3	9,94	0,51	85,10
<b>Cabécar SA</b>	1	9,69	0,55	87,40
	2	10,54	0,60	85,95
	3	9,21	0,49	86,41
<b>Mantequilla L</b>	1	9,74	0,58	91,15
	2	10,65	0,49	99,96
	3	9,90	0,47	89,26
<b>Gandul L</b>	1	10,33	0,56	88,63
	2	10,25	0,48	86,77
	3	10,61	0,46	80,61
<b>Cubá L</b>	1	9,32	0,48	81,96
	2	10,88	0,45	88,69
	3	10,17	0,45	87,71
<b>Cabécar L</b>	1	8,57	0,51	88,82
	2	10,28	0,47	84,52
	3	10,09	0,46	89,08

**Cuadro XVI.** Valores promedio de los parámetros de color de los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización, y de un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>Repetición</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>C*</b>	<b>h (°)</b>
<b>Soya</b>	1	86,03	-1,49	16,17	16,24	84,75
	2	83,72	2,22	23,38	23,48	84,56
	3	80,90	2,41	23,11	23,23	84,03
<b>Mantequilla SA</b>	1	85,11	0,21	7,44	7,44	88,36
	2	85,18	0,76	9,49	9,52	85,40
	3	83,68	0,56	8,21	8,23	86,07
<b>Gandul SA</b>	1	86,07	-1,66	8,70	8,85	79,19
	2	86,02	-1,94	8,84	9,05	77,65
	3	80,83	-1,76	8,29	8,47	77,99

<b>Cubá SA</b>	1	87,54	-2,00	6,50	6,80	72,86
	2	89,13	-2,05	7,70	7,97	75,10
	3	86,29	-1,63	7,66	7,84	77,96
<b>Cabécar SA</b>	1	83,24	1,80	6,77	7,00	75,13
	2	82,34	1,95	7,62	7,87	75,62
	3	81,97	1,40	6,67	6,81	78,18
<b>Mantequilla L</b>	1	60,31	6,20	17,46	18,53	70,45
	2	58,20	5,50	14,22	15,24	68,85
	3	59,21	6,16	17,09	18,16	70,17
<b>Gandul L</b>	1	63,52	0,42	17,22	17,23	88,59
	2	63,93	0,30	17,06	17,06	88,99
	3	63,60	0,70	18,54	18,55	87,84
<b>Cubá L</b>	1	68,39	-0,47	16,31	16,32	88,35
	2	67,21	-0,43	15,87	15,87	88,46
	3	67,11	1,05	19,64	19,67	86,94
<b>Cabécar L</b>	1	54,51	9,60	12,63	15,87	52,75
	2	57,18	7,03	11,32	13,32	58,16
	3	56,49	7,79	11,78	14,12	56,53

**Cuadro XVII.** Valores promedio de la digestibilidad *in vitro* y de la solubilidad (base húmeda) de los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización, y de un concentrado comercial de proteína de soya.

Concentrado de proteína	Repetición	Digestibilidad		Solubilidad (%)		
		<i>in vitro</i> (g)	pH 4	pH 6	pH 8	
<b>Soya</b>	1	0,740	3,10	15,62	9,96	
	2	0,741	4,51	15,62	15,48	
	3	0,743	4,51	15,45	7,00	
<b>Mantequilla SA</b>	1	0,739	2,95	10,84	97,95	
	2	0,737	4,10	9,81	84,01	
	3	0,743	3,28	10,08	100,20	
<b>Gandul SA</b>	1	0,745	5,68	14,09	91,05	
	2	0,757	5,68	14,19	91,05	
	3	0,751	6,88	17,27	94,55	

<b>Cubá SA</b>	1	0,763	32,41	5,65	94,95
	2	0,731	23,67	10,19	95,00
	3	0,738	23,67	10,19	103,79
<b>Cabécar SA</b>	1	0,739	8,46	11,24	84,54
	2	0,737	6,40	11,24	88,50
	3	0,731	6,79	11,28	97,12
<b>Mantequilla L</b>	1	0,739	2,22	6,42	95,60
	2	0,738	2,59	7,46	92,56
	3	0,742	3,09	7,46	98,23
<b>Gandul L</b>	1	0,738	5,70	24,52	95,66
	2	0,756	7,48	36,14	89,05
	3	0,741	5,94	32,22	97,54
<b>Cubá L</b>	1	0,753	11,21	10,71	99,50
	2	0,737	16,57	11,71	99,50
	3	0,734	13,89	11,21	100,47
<b>Cabécar L</b>	1	0,761	9,72	8,76	97,91
	2	0,737	5,55	12,05	94,35
	3	0,730	4,02	13,82	97,71

**Cuadro XVIII.** Valores promedio de la capacidad de retención de agua (CRA), capacidad de retención de grasa (CRG), índice de actividad emulsionante (IAE) e índice de estabilidad emulsionante (IEE), en base húmeda, de los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secados por aspersión y liofilización y de un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>Repetición</b>	<b>CRA (g/g)</b>	<b>CRG (g/g)</b>	<b>IAE (m<sup>2</sup>/g)</b>	<b>IEE (min)</b>
<b>Soya</b>	1	3,78	3,81	2,26	16,47
	2	3,96	3,37	3,83	7,95
	3	3,61	3,93	0,00	0,00
<b>Mantequilla SA</b>	1	2,93	2,99	10,52	11,98
	2	2,70	2,30	9,96	16,87
	3	2,91	3,88	11,08	13,89
<b>Gandul SA</b>	1	2,58	3,07	11,17	28,33
	2	2,47	3,00	11,73	17,84
	3	2,53	3,80	8,66	15,36

<b>Cubá SA</b>	1	3,34	3,28	15,63	29,76
	2	2,75	2,75	23,02	26,39
	3	2,95	3,62	14,87	32,06
<b>Cabécar SA</b>	1	2,81	3,00	13,30	15,60
	2	2,61	2,38	9,87	29,14
	3	3,44	3,76	9,87	18,73
<b>Mantequilla L</b>	1	3,11	4,15	13,97	31,59
	2	3,35	5,42	16,43	38,18
	3	3,78	4,57	11,34	25,51
<b>Gandul L</b>	1	3,36	5,87	9,20	18,31
	2	2,86	5,12	14,48	18,54
	3	3,74	5,88	7,70	12,79
<b>Cubá L</b>	1	3,30	4,37	18,37	36,96
	2	3,15	4,29	21,99	25,64
	3	4,11	5,44	14,58	24,28
<b>Cabécar L</b>	1	4,15	4,25	17,85	29,47
	2	4,33	4,60	19,34	31,29
	3	3,97	5,46	18,60	18,18

**Anexo B.** Resultados de las propiedades fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados y un concentrado comercial de proteína de soya.

**Cuadro XIX.** Valores promedio de los parámetros de textura instrumental para los prototipos de embutido análogos a las salchichas de carne, elaborados con los 2 concentrados de proteína mejor evaluados y un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Prototipo</b>	<b>Repetición</b>	<b>Dureza (N)</b>	<b>Adhesividad (N.s)</b>	<b>Elasticidad (mm)</b>	<b>Cohesividad</b>	<b>Masticabilidad (N*m)</b>
<b>Soya</b>	1	16,77	-2,02	4,80	0,23	0,02
	2	13,76	-0,53	5,25	0,20	0,01
	3	11,46	-0,79	5,13	0,23	0,01
<b>Gandul L</b>	1	15,06	-1,98	5,11	0,28	0,02
	2	15,08	-1,02	5,48	0,21	0,02
	3	15,35	-1,30	5,56	0,21	0,02

<b>Cubá L</b>	1	23,34	-5,35	3,98	0,33	0,03
	2	19,57	-4,27	4,13	0,34	0,03
	3	14,43	-2,01	4,57	0,30	0,02

**Cuadro XX.** Valores promedio de la estabilidad de la emulsión, pérdidas por cocción y pH de los prototipos de embutido análogos a las salchichas de carne, elaborados con los 2 concentrados de proteína mejor evaluados y un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Prototipo</b>	<b>Repetición</b>	<b>Estabilidad de la emulsión (%)</b>	<b>Pérdidas por cocción (%)</b>	<b>pH</b>
<b>Soya</b>	1	1,06	17,72	6,01
	2	0,60	11,42	5,92
	3	0,95	12,11	5,92
<b>Gandul L</b>	1	0,70	16,09	6,01
	2	0,53	9,57	5,84
	3	0,80	12,18	5,84
<b>Cubá L</b>	1	1,03	15,62	5,96
	2	0,70	10,42	5,86
	3	1,14	13,43	5,86

**Cuadro XXI.** Parámetros de color de los prototipos de embutido análogos a las salchichas de carne, elaborados con los 2 concentrados de proteína mejor evaluados y un concentrado comercial de proteína de soya.

<b>Prototipo</b>	<b>Repetición</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>C*</b>	<b>h (°)</b>
<b>Soya</b>	1	59,81	7,48	19,37	20,77	68,88
	2	62,97	6,95	19,60	20,80	70,47
	3	60,33	6,82	21,94	22,98	72,74
<b>Gandul L</b>	1	56,18	3,14	14,51	14,85	77,80
	2	59,55	3,96	14,82	15,34	75,03
	3	58,98	2,59	15,82	16,03	80,69
<b>Cubá L</b>	1	62,65	3,91	14,99	15,49	75,37
	2	64,18	4,33	14,17	14,81	73,02
	3	65,29	3,27	15,70	16,04	78,23

**Anexo C.** Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los concentrados de proteína de 4 leguminosas nativas, secados por aspersión y liofilización posterior a la extracción, y de un concentrado comercial de proteína de soya.

**Cuadro XXII.** Salida del análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de los concentrados de proteína de 4 leguminosas nativas, obtenidos mediante 2 métodos de secado luego de la extracción, y de un concentrado de proteína de soya comercial.

<b>Variable respuesta</b>	<b>GL</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
<b>Rendimiento de extracción</b>	3,000	6,529	2,176	20,122	0,002
<b>Rendimiento de secado</b>	7,000	172,010	24,573	98,032	<0,0001
<b>A<sub>w</sub></b>	8,000	0,078	0,010	9,654	<0,0001
<b>Humedad</b>	8,000	1,749	0,219	0,351	0,932
<b>Contenido de proteína</b>	8,000	2506,489	313,311	23,183	<0,0001
<b>Color</b>					
<b>L*</b>	8,000	3767,138	470,892	243,809	<0,0001
<b>a*</b>	8,000	276,783	34,598	40,542	<0,0001
<b>b*</b>	8,000	636,831	79,604	30,430	<0,0001
<b>h*</b>	8,000	2708,942	338,618	136,256	<0,0001
<b>C*</b>	8,000	650,102	81,263	28,222	<0,0001

\*En la mayoría de los parámetros se evaluaron 9 tratamientos, correspondientes a los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secadas por aspersión y liofilización y al concentrado comercial de soya.

\*\*En el caso del rendimiento de extracción el total de tratamientos son 4 y corresponden a las 4 leguminosas nativas en estudio. A su vez en el rendimiento de secado se evaluaron 8 tratamientos, dado que se excluye el concentrado comercial de soya.

**Cuadro XXIII.** Salida del análisis de varianza de los parámetros de la funcionalidad tecnológica y la digestibilidad *in vitro* de los concentrados de proteína de 4 leguminosas nativas, obtenidos mediante 2 métodos de secado luego de la extracción, y de un concentrado de proteína de soya comercial.

Variable respuesta	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
<b>Digestibilidad in vitro</b>	8,000	0,000	0,000	0,645	0,729
<b>Solubilidad</b>					
<b>pH 4</b>	8,000	1356,704	169,588	31,749	<0,0001
<b>pH 6</b>	8,000	1202,362	150,295	32,978	<0,0001
<b>pH 8</b>	8,000	19121,390	2390,174	140,478	<0,0001
<b>CRAg</b>	8,000	6,062	0,758	8,546	0,000
<b>CRAc</b>	8,000	21,706	2,713	15,116	<0,0001
<b>IAE</b>	8,000	676,111	84,514	20,955	<0,0001
<b>IEE</b>	8,000	1505,556	188,194	6,882	0,001

\*Se evaluaron 9 tratamientos, correspondientes a los concentrados de proteína de las 4 leguminosas en estudio, secadas por aspersión y liofilización y al concentrado comercial de soya.

**Anexo D.** Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados y un concentrado comercial de proteína de soya.

**Cuadro XXIV.** Salida del análisis de varianza de las características fisicoquímicas de los prototipos de salchichas análogas a las de carne elaborados con los concentrados de proteína de leguminosa mejor evaluados.

Variable respuesta	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
<b>Perfil de textura</b>					
<b>Dureza</b>	2,000	43,248	21,624	3,955	0,113
<b>Elasticidad</b>	2,000	2,135	1,068	50,289	0,001
<b>Cohesividad</b>	2,000	0,020	0,010	19,062	0,009
<b>Masticabilidad</b>	2,000	0,000	0,000	14,017	0,016
<b>Adhesividad</b>	2,000	13,698	6,849	9,907	0,028
<b>Estabilidad de la emulsión</b>	2,000	0,123	0,062	7,967	0,040

<b>pH</b>	2,000	0,007	0,003	4,424	0,097
<b>Pérdidas por coción</b>	2,000	1,940	0,970	1,171	0,398
<b>Color</b>					
<b>L*</b>	2,000	50,578	25,289	24,609	0,006
<b>a*</b>	2,000	25,763	12,881	85,993	0,001
<b>b*</b>	2,000	56,300	28,150	96,101	0,000
<b>h*</b>	2,000	79,743	39,871	25,089	0,005
<b>C*</b>	2,000	74,140	37,070	137,111	0,000

\*Se evaluaron 3 tratamientos correspondientes a los prototipos de embutido análogo a la salchicha de carne elaborados con el concentrado de proteína de gandul liofilizado, frijol cubá liofilizado y el concentrado comercial de soya.

**Anexo E.** Resultados de los parámetros de color a\* y b\* en la escala CIE L\* a\*b\* de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización y de los prototipos de salchicha análoga a la de carne elaborados.

**Cuadro XXV.** Resultados promedio de los parámetros de color evaluados en la escala CIE L\* a\*b\* de los concentrados de proteína de las cuatro leguminosas en estudio, secados por aspersion y liofilización.

<b>Concentrado de proteína</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>Soya</b>	1,1 ± 1,5 <sup>b</sup>	20,9 ± 2,8 <sup>a</sup>
<b>Mantequilla SA</b>	0,5 ± 0,2 <sup>cb</sup>	8,4 ± 0,8 <sup>de</sup>
<b>Gandul SA</b>	-1,8 ± 0,1 <sup>c</sup>	8,6 ± 0,3 <sup>de</sup>
<b>Cubá SA</b>	-1,9 ± 0,2 <sup>c</sup>	7,3 ± 0,5 <sup>de</sup>
<b>Cabécar SA</b>	1,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	7,0 ± 0,5 <sup>e</sup>
<b>Mantequilla L</b>	6,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	16,3 ± 1,5 <sup>abc</sup>
<b>Gandul L</b>	0,5 ± 0,2 <sup>cb</sup>	17,6 ± 0,7 <sup>ab</sup>
<b>Cubá L</b>	-0,44 ± 0,02 <sup>cb</sup>	16,0 ± 0,2 <sup>bc</sup>
<b>Cabécar L</b>	8,1 ± 0,9 <sup>a</sup>	11,9 ± 0,5 <sup>cd</sup>
<b>Pr &gt; F</b>	< 0,0001	< 0,0001

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).

\*\*SA: Secado por aspersion, L: Liofilizado.

**Cuadro XXVI.** Parámetros de color a\* y b\* de los prototipos de salchichas análogas a las de carne, elaboradas con los concentrados de proteína mejor evaluados.

<b>Prototipo</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>Soya</b>	7,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	20 ± 1 <sup>a</sup>
<b>Cubá L</b>	3,8 ± 0,5 <sup>b</sup>	15,0 ± 0,8 <sup>b</sup>
<b>Gandul L</b>	3,2 ± 0,7 <sup>b</sup>	15,0 ± 0,7 <sup>b</sup>
<b>Pr &gt; F</b>	0,001	0,000

\*En una misma columna las letras distintas indican que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los promedios ( $\pm$  desviación estándar).