



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del Grado Académico de "Doctor/a en Ciencia y Tecnología de Alimentos"

DISEÑO DEL PROCESO DE RECUPERACIÓN DE PROTEÍNAS EN LEGUMBRES

AUTOR

Mg. Guraya, María Ángeles

DIRECTOR

Dr. Godoy, Ezequiel

CODIRECTOR

Dr. Torresi, Pablo Antonio

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ LA TESIS

Universidad Nacional del Litoral (UNL), Facultad de Ingeniería Química (FIQ),
Programa de Valorización, Desarrollo y Escalado de Procesos Agroindustriales
(PROVADE), Contenedor Tecnológico Gustavo Fester
Universidad del Centro Educativo Latinoamericano (UCEL), Facultad de Química (FQ)

JURADOS

Dra. Galante, Micaela
Dr. Busti, Pablo Andres
Dra. Vignatti, Charito

AÑO DE PRESENTACIÓN

2026

DEDICATORIA

A mis padres, cuya fuerza, sacrificio y amor incondicional definieron todo lo que soy. Sin ellos, este camino, y cada uno de mis pasos, no habría sido posible. Son luchadores incansables y mis mayores maestros; todo lo que he logrado se lo debo, en esencia, a su ejemplo y a su manera de enseñarme a no rendirme.

A mi hermana María José, por estar siempre, incluso en los momentos en que apenas podía sostenerse a sí misma. Su presencia, aun en la dificultad, fue un abrazo silencioso que nunca olvidaré.

Y a mis sobrinos, por su amor genuino e inocente, capaz de iluminar incluso los días más agotadores. Ellos me recordaron la belleza de lo simple para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano (UCEL) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el apoyo brindado a través de la beca cofinanciada que hizo posible el desarrollo de esta investigación.

A mi director de tesis, Dr. Ezequiel Godoy, por su orientación constante, su paciencia, su exigencia académica y su compromiso inquebrantable con cada etapa de este trabajo. A mi codirector, Dr. Pablo Torresi, por sus valiosos aportes, su acompañamiento técnico y su mirada crítica que enriqueció cada discusión.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi directora de beca, Dra. Ma. Agustina Reinheimer, por su acompañamiento constante y su apoyo incondicional a lo largo de este camino. Su generosidad trascendió ampliamente lo académico, sosteniéndome en los momentos más complejos con una humanidad y una entrega que fueron verdaderos pilares durante este proceso. Su compromiso profesional, su sensibilidad y su guía dejaron una huella significativa en mí.

A mis compañeros de oficina y laboratorio de UCEL, por su colaboración, su disposición permanente y por compartir tantas horas de trabajo, aprendizajes y experiencias. A los grupos de investigación asociados del Instituto Mauá de Tecnología de Brasil, por su apoyo en las etapas experimentales y su generosa transferencia de conocimientos. Me siento profundamente afortunada y agradecida por haber contado con este equipo de trabajo.

Agradezco también a mi familia, por su amor y aliento incondicional. A mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo y la constancia. A mis amigos y seres queridos que me regaló la vida, por acompañarme en este proceso con palabras de ánimo y comprensión en los momentos más desafiantes.

Finalmente, a todas las personas e instituciones que, de manera directa o indirecta, contribuyeron con su tiempo, recursos o conocimiento a la concreción de esta tesis, mi más sincero reconocimiento y gratitud.

RESUMEN

La búsqueda de fuentes proteicas sostenibles impulsa el desarrollo de nuevos procesos para valorizar legumbres con alto potencial nutricional y tecnológico. En este contexto, el presente trabajo diseña y evalúa procesos innovadores de recuperación de proteínas a partir de arvejas amarillas y verdes (*Pisum sativum* L.) con un enfoque en ingeniería de procesos, para obtener ingredientes proteicos funcionales con aplicación alimentaria. El estudio integra la extracción alcalina y la precipitación isoeléctrica con tres agentes, ácido clorhídrico, ácido láctico y bacterias ácido-lácticas, junto con pretratamientos de fermentación en estado sólido e hidrólisis enzimática. Además, incorpora el secado por aspersión utilizando la fracción fina de la harina como encapsulante para mejorar la eficiencia del proceso y las propiedades del polvo proteico.

Se caracterizan materias primas y productos mediante su composición fisicoquímica, propiedades funcionales, tecnológicas, antioxidantes y calidad proteica. Los resultados demuestran que las variaciones de la relación sólido:líquido en la extracción alcalina y el tipo de precipitante en la precipitación isoeléctrica no modifican significativamente el contenido proteico ni el rendimiento de recuperación, mientras que los pretratamientos biotecnológicos modifican la composición y el desempeño del proceso. Los polvos obtenidos presentan buena fluidez, mientras que el uso de bacterias ácido-lácticas y de encapsulante en el secado mejoran notablemente la humectabilidad, estabilidad y manipulación de los mismos, lo que amplía sus posibilidades de aplicación en alimentos funcionales, bebidas y formulaciones instantáneas.

Desde el punto de vista económico, se lleva a cabo un análisis exhaustivo que considera los ingresos esperados, los costos operativos y la inversión de capital necesaria para la implementación del proceso. Sobre esta base, se calculan los indicadores de rentabilidad utilizando una tasa de descuento que refleja tanto el costo de oportunidad del capital como los riesgos inherentes al proyecto. En este contexto, la ruta con bacterias ácido-lácticas y sin pretratamiento resultan más competitivas, mostrando menor costo unitario, menores precios de equilibrio y mayor rentabilidad, mientras que los procesos con ácido láctico presentan sobrecostos, y el uso fermentación en estado sólido resulta en el proceso menos eficiente por su elevada demanda energética y baja productividad. En síntesis, los procesos desarrollados constituyen una alternativa escalable y sostenible para la obtención de ingredientes proteicos a partir de arvejas, contribuyendo a la diversificación de la matriz proteica vegetal y al avance hacia sistemas alimentarios más sostenibles.

Palabras clave: proteínas vegetales; arveja amarilla y verde; *Pisum sativum* L.; extracción alcalina; precipitación isoelectrica; bacterias ácido lácticas; hidrólisis enzimática; fermentación en estado sólido; propiedades funcionales; propiedades tecnológicas; capacidad antioxidante; calidad proteica; análisis técnico-económico-financiero.

ABSTRACT

The search for sustainable protein sources drives the development of new processes aimed at valorizing legumes with high nutritional and technological potential. In this context, the present study designs and evaluates innovative protein recovery processes from yellow and green peas (*Pisum sativum* L.) through a process engineering approach to obtain functional protein ingredients for food applications. The study integrates alkaline extraction and isoelectric precipitation using three precipitating agents, hydrochloric acid, lactic acid, and lactic acid bacteria, together with solid-state fermentation and enzymatic hydrolysis as biotechnological pretreatments. Additionally, spray drying is incorporated, employing the fine fraction of the pea flour as an encapsulating agent to enhance process efficiency and improve the properties of the resulting protein powders.

Raw materials and protein products are characterized in terms of their physicochemical composition, functional and technological properties, antioxidant capacity, and protein quality. The results demonstrate that variations in the solid-to-liquid ratio during alkaline extraction and the type of precipitant used in isoelectric precipitation do not significantly affect protein content or recovery yield, while biotechnological pretreatments influence product composition and overall process performance. The obtained powders exhibit good flowability, while the use of lactic acid bacteria and encapsulating agents during spray drying notably enhances wettability, stability, and handling properties, expanding their potential applications in functional foods, beverages, and instant formulations.

From an economic perspective, a comprehensive analysis was conducted considering the expected revenues, operating costs, and capital investment required for process implementation. Based on these parameters, profitability indicators were calculated using a discount rate that reflects both the opportunity cost of capital and the inherent risks of the project. In this context, the route involving lactic acid bacteria and those without pretreatment proved to be more competitive, showing lower unit costs, lower break-even prices, and higher profitability, whereas processes employing lactic acid presented additional costs, and solid-state fermentation resulted in the least efficient alternative due to its high energy demand and low productivity. In summary, the developed processes represent a scalable and sustainable alternative for obtaining protein ingredients from peas, contributing to the diversification of the plant protein matrix and the transition toward more sustainable food systems.

Keywords: plant proteins; yellow and green peas; *Pisum sativum* L.; alkaline extraction; isoelectric precipitation; lactic acid bacteria; enzymatic hydrolysis; solid-state fermentation; functional properties; technological properties; antioxidant capacity; protein quality; techno-economic and financial analysis.

PUBLICACIONES

Trabajos publicados en revistas internacionales

- Guraya, María Ángeles; Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Impact of Solid-State Fermentation with *Aspergillus Niger* on the Chemical Composition of Yellow Pea (*Pisum Sativum* L.) Flour and its Application for Obtaining Protein Products. *Acs Food Science & Technology*. Washington: Acs Publications. 2025 Vol.5 N°7. P2537 - 2876. ISSN 2692-1944. EISSN 2692-1944. doi/10.1021/acsfoodscitech.5c00237
- Guraya, María Ángeles; Iguti, Antonia Miwa; Triboli, Edison Paulo De Ros; Ribeiro, Eliana Paula; Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Effects of Spray Drying and Lactic Acid Fermentation on the Technological Characteristics of Yellow and Green Pea (*Pisum sativum* L.) Protein Products. *Agricultural and Food Science*.: Agricultural Research Centre Finland. 2024 Vol.33 N°4. P280 - 295. ISSN 1459-6067. EISSN 1795-1895. <https://doi.org/10.23986/afsci.145290>
- Guraya, María Ángeles; Andrín, María Nieves; Batres, Rocío; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Protein Recovery from Yellow Peas (*Pisum sativum* L.) for Enhanced Processing Sustainability and Functional Properties. *Agricultural And Food Science*.: Agricultural Research Centre Finland. 2024 Vol.33 N°1. P15 - 29. ISSN 1459-6067. EISSN 1795-1895. <https://doi.org/10.23986/afsci.137722>

Trabajos presentados en eventos científicos

- Guraya, María Ángeles; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Evaluación Comparativa de Pretratamientos Biotecnológicos para Optimizar la Recuperación y Calidad de Proteínas de Arveja Amarilla (*Pisum Sativum* L.). Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires 2025. Libro. Resumen y Presentación Oral. Congreso. XIX Congreso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. AATA Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios.
- Guraya, María Ángeles; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Desafío de la Industria Alimentaria en el Desarrollo de un Producto Proteico

Sustentable: Valorización del Cultivo de Arveja Amarilla (*Pisum Sativum* L.). Perú. 2025. Libro. Resumen. VI Congreso Internacional Food & Health 2025: Nutrición y Sostenibilidad. Universidad Científica del Sur.

- Guraya, María Ángeles; Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Influencia de la Fermentación en Estado Sólido con *Aspergillus niger* sobre las Propiedades Funcionales de Productos Proteicos de Arveja Amarilla. Argentina. Córdoba. 2025. Libro. Resumen. Congreso. II Congreso Nacional de Alimentos, Salud y Ambiente. I Congreso Internacional. Universidad Nacional de Córdoba.
- Guraya, María Ángeles; Iguti, Antonia Miwa; Triboli, Edison Paulo De Ros; Ribeiro, Eliana Paula; Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Evaluación de la Performance de un Proceso Sustentable de Recuperación de Proteínas a partir de Arvejas Amarillas y Verdes (*Pisum sativum* L.). Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2024. Libro. Artículo Completo. Congreso. XI Congreso de Investigaciones y Desarrollos en Tecnología y Ciencia IDETEC 2024. Facultad Regional Villa María
- Guraya, María Ángeles; Batres, Rocío; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Impacto de la Fermentación en Estado Sólido con *Aspergillus niger* en el Contenido Proteico de Harina de Arvejas Amarillas (*Pisum sativum* L.). Argentina. Paraná. 2024. Libro. Resumen. Congreso. I Congreso Iberoamericano de Alimentos 4.0 (CIAL 4.0 2024) Aplicaciones en Agroindustria y Gastronomía. Facultad de Ciencias de la Alimentación de la Universidad Nacional de Entre Ríos.
- Guraya, María Ángeles; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Desarrollo de Bioprocesos para la Obtención de Productos Proteicos con Propiedades Funcionales Mejoradas a partir de Arvejas. Argentina. Rosario. 2024. Jornada. Semana de la Ciencia 2024. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano.
- Guraya, María Ángeles; Torresi, Pablo Antonio; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Evaluación de la Performance del Proceso de Obtención de Productos Proteicos a partir de Arvejas Amarillas. Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2023. Libro. Resumen. Congreso. XVIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. AATA Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios.
- Guraya, María Ángeles; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Estudio del Proceso de Secado por Atomización de Productos Proteicos obtenidos de Arveja Amarilla y Evaluación de Agentes de Secado para Mejorar sus Propiedades Tecnológicas. Presentación ORAL virtual en la IV Jornada de Investigación (2023).

Facultad de Química. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano (UCEL). Octubre 2023. Rosario, Argentina.

- Guraya, María Ángeles; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Desarrollo de Procesos Sustentables para la Obtención de Productos Proteicos a partir de Legumbres". Presentación ORAL virtual en la III Jornada de Investigación 2022. Facultad de Química. Universidad del Centro Educativo Latinoamericano (UCEL). Octubre 2022. Rosario, Argentina.

Trabajos generados en colaboración con otros investigadores

- Pieroni, Mariana; Guraya, María Ángeles; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. De Residuo a Recurso Funcional: Optimización del Proceso de Cocción de Garbanzos Kabuli (*Cicer Arietinum* L.) para la Valorización de Aquafaba en Servicios de Alimentación. Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires 2025. Libro. Resumen. Congreso. XIX Congreso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. AATA Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios.
- Pieroni, Mariana; Guraya, María Ángeles; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Gestión del Desperdicio Alimentario en Restaurantes y Cafeterías Institucionales: Valorización del Aquafaba a partir de la Optimización del Proceso de Cocción de Garbanzos Kabuli (*Cicer arietinum* L.). Perú. 2025. Libro. Resumen. VI Congreso Internacional Food & Health 2025: Nutrición y Sostenibilidad. Universidad Científica del Sur.
- Pieroni, Mariana; Guraya, María Ángeles; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Evaluación de la Performance del Proceso de Cocción Estandarizado de Garbanzo Kabuli (*Cicer arietinum* L.). Argentina. Córdoba. 2025. Libro. Resumen. Congreso. II Congreso Nacional de Alimentos, Salud y Ambiente. I Congreso Internacional. Universidad Nacional de Córdoba.
- Andrín, María Nieves; Guraya, María Ángeles; Accoroni, Cecilia; Torresi, Pablo Antonio; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Enhancing Protein Extraction from Soybean Expeller: Exploring the Impact of Precipitating Agents and Flour-To-Water Ratios on Functional Properties. Progress in Agricultural Engineering Sciences. Budapest: Akadémiai Kiadó, Budapest. 2024. ISSN 1786-335x. EISSN 1787-0321. <https://doi.org/10.1556/446.2024.00112>
- Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Magnano, Luciana; Guraya, María Ángeles; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Evaluación de la Composición y Producción de Concentrados Proteicos de Diferentes Variedades de Arveja Amarillas

y Verdes (*Pisum sativum* L.). Para Mejorar la Producción PMP. Oliveros (Santa Fe): INTA Ediciones. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2024 vol. N°63. P149 - 155. ISSN 2591-5088.

- Andrín, María Nieves; Guraya, María Ángeles; Accoroni, Cecilia; Torresi, Pablo Antonio; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Evaluación de Las Propiedades Funcionales a diferentes pH de Productos Proteicos de Expeller de Soja obtenidos mediante diferentes Agentes Precipitantes. Argentina. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 2024. Libro. Artículo Completo. Congreso. XI Congreso de Investigaciones y Desarrollos en Tecnología y Ciencia "IDETEC 2024. Facultad Regional Villa María.
- Accoroni, Cecilia; Espósito, María Andrea; Guraya, María Ángeles; Batres, Rocío; Reinheimer, María Agustina; Godoy, Ezequiel. Evaluación de la Producción de Concentrados Proteicos y sus Propiedades Funcionales usando diferentes Variedades de Arvejas (*Pisum sativum* L.). Argentina. Buenos Aires. 2024. Libro. Resumen. Congreso. IX Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICYTAC). Universidad Nacional de Córdoba.
- Andrín, María Nieves; Guraya, María Ángeles; Torresi, Pablo Antonio; Godoy, Ezequiel; Reinheimer, María Agustina. Desarrollo de Procesos Sustentables para la obtención de Productos Proteicos a partir de Arveja Amarilla y Expeller de Soja. Argentina. Buenos Aires. 2023. Revista. Resumen. Jornada. 4tas. Jornadas de Investigación Uva Agronomía, Agroindustrias, Enología y Alimentos - 2023. Consejo de Rectores de Universidades Privadas.
- Roldan, Mariel; Guraya, María Ángeles; Andrín, María Nieves; Bergia, Betiana; Aimaretti, Nora Rosa; Reinheimer, María Agustina; Godoy Ezequiel. Influencia del uso de Solvente en la Recuperación de Proteínas de Expeller de Soja. Argentina. Córdoba. 2022. Revista. Artículo Breve. Congreso. VIII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (CICYTAC 2022). AATA.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Materiales y procesos

AP	Arveja amarilla pre-comercial
AC	Arveja amarilla comercial
VC	Arveja verde comercial
AL	Proceso de recuperación proteica utilizando ácido láctico en la precipitación isoelectrica
BAL	Proceso de recuperación proteica utilizando bacterias ácido-lácticas en la precipitación isoelectrica
HCL	Proceso de recuperación proteica utilizando ácido clorhídrico en la precipitación isoelectrica
FES	Proceso de recuperación proteica previa fermentación en estado sólido
HE	Proceso de recuperación proteica previa hidrólisis enzimática

Siglas

UFC	Unidades formadoras de colonias
TAA	Aminoácidos totales
TEAA	Aminoácidos esenciales totales
LAA	Aminoácidos limitantes
SAA	Aminoácidos azufrados
EPS	Exopolisacáridos

Indicadores técnicos

Y_T	Eficiencia de recuperación de proteínas
P_T	Productividad de proceso
G_w	Consumo específico de agua
Y_D	Rendimiento de secado

Propiedades funcionales

S	Solubilidad
WHC	Capacidad de retención de agua
OHC	Capacidad de retención de aceite
EC	Capacidad emulsionante
ES	Estabilidad de emulsión

FC	Capacidad espumante
FS30	Estabilidad de espuma a 30 min
FS60	Estabilidad de espuma a 60 min

Propiedades tecnológicas

Aw	Actividad acuosa
CI	Índice de Carr
HI	Índice de Hausner
WI _{CIELab}	Índice de blancura CIEL _{ab}

Indicadores económicos-financieros

CU	Costo unitario
F_t	Flujo de fondo en el año t
i	Tasa de descuento anual
I_0	Inversión inicial de capital
PRC	Período de recupero de capital
TIR	Tasa interna de retorno
VAN	Valor actual neto
n	Horizonte temporal

ÍNDICE

Capítulo 1	INTRODUCCIÓN	23
1.1	Proteínas de origen vegetal	24
1.2	Relevancia del uso de arvejas	24
1.3	Taxonomía, clasificación y morfología de la arveja	25
1.4	Composición centesimal de la arveja	25
1.5	Producción de arvejas	26
1.6	Métodos de recuperación proteica a partir de legumbres	27
1.6.1	Pretratamientos físicos: Molienda y tamizado	27
1.6.2	Pretratamientos biológicos: Fermentación en estado sólido e hidrólisis enzimática	29
1.6.3	Recuperación proteica por método húmedo: Extracción alcalina con precipitación isoelectrica (pH-shifting)	30
1.6.4	Secado a alta temperatura: Secado por aspersión	30
1.7	Propiedades funcionales, propiedades tecnológicas, capacidad antioxidante y calidad proteica	32
1.7.1	Propiedades funcionales	32
1.7.2	Propiedades tecnológicas	33
1.7.3	Capacidad antioxidante	34
1.7.4	Calidad proteica	34
1.8	Análisis técnico-económica-financiera de los procesos de recuperación de proteínas	35
1.9	Propuesta de investigación	36
1.10	Objetivo general	36
1.11	Objetivos específicos	36
Capítulo 2	MATERIALES, MÉTODOS DE ANÁLISIS Y METODOLOGÍA DE RECUPERACIÓN PROTEICA	38
2.1	Materias primas	39
2.2	Reactivos	39
2.3	Composición físico-química	39
2.3.1	Humedad	39
2.3.2	Proteínas	40
2.3.3	Lípidos	40
2.3.4	Cenizas	41
2.3.5	Carbohidratos	41

2.3.6 Almidón	42
2.3.7 Sodio	43
2.4 Determinaciones microbiológicas.....	43
2.4.1 Recuento de bacterias ácido-lácticas	43
2.4.2 Recuento de <i>Aspergillus niger</i>	43
2.5 Capacidad antioxidante.....	44
2.5.1 DPHH.....	44
2.5.2 ABTS•+	45
2.6 Calidad proteica	46
2.6.1 Actividad ureásica	46
2.6.2 Electroforesis.....	46
2.6.3 Cromatografía	47
2.7 Propiedades funcionales.....	47
2.7.1 Solubilidad.....	47
2.7.2 Capacidad emulsionante y estabilidad de la emulsión	47
2.7.3 Capacidad espumante y estabilidad de la espuma a 30 min y a 60 min	48
2.7.4 Capacidad de retención de agua y aceite	49
2.8 Propiedades tecnológicas	49
2.8.1 Color.....	49
2.8.2 Tiempo de humectación	50
2.8.3 Actividad acuosa	50
2.8.4 Fluidez y cohesividad	50
2.8.5 Granulometría	51
2.8.6 Densidad de partícula.....	52
2.9 Etapas de procesamiento para la recuperación proteica.....	52
2.9.1 Acondicionamiento de las arvejas	52
2.9.2 Extracción alcalina.....	52
2.9.3 Precipitación isoelectrica	53
2.9.4 Decantación, neutralización y secado por aspersión	53
2.9.5 Fermentación en estado sólido (FES).....	54
2.9.6 Hidrólisis enzimática (HE).....	54
2.10 Indicadores de performance del proceso de recuperación proteica.....	55
2.10.1 Eficiencia de recuperación proteica	55
2.10.2 Productividad.....	55
2.10.3 Consumo específico de agua	56

2.10.4 Rendimiento de secado	56
2.11 Indicadores económicos y financieros del proyecto de inversión	56
2.11.1 Ingresos, costos y utilidades.....	57
2.11.2 Inversión de capital.....	57
2.11.3 Valor actual neto (VAN)	57
2.11.4 Tasa interna de retorno (TIR)	58
2.11.5 Periodo de recupero de capital (PRC)	58
2.11.6 Precio de equilibrio (PE)	58
2.11.7 Costo unitario (CU)	59
2.12 Análisis estadístico	59
Capítulo 3 EVALUACIÓN DE PROCESOS DE RECUPERACIÓN PROTEICA SIN PRETRATAMIENTOS A PARTIR DE ARVEJAS: INDICADORES DE PERFORMANCE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS	60
3.1 Caracterización de las diferentes harinas de arvejas	61
3.2 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes pH de extracción alcalina y agentes precipitantes	62
3.2.1 Resultados y discusión: Indicadores de proceso	64
3.3 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes de relaciones sólido:líquido de extracción alcalina y agentes precipitantes	67
3.3.1 Resultados y discusión: Indicadores de proceso	68
3.3.2 Resultados y discusión: Propiedades funcionales	71
3.3.3 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes	77
3.3.4 Resultados y discusión: Calidad proteica	78
3.3.5 Resultados y discusión: Recuento de LAB	80
3.4 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes arvejas, agentes precipitantes y encapsulantes.....	81
3.4.1 Resultados y discusión: Composición y propiedades tecnológicas de las fracciones finas y medias	82
3.4.2 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos	85
3.4.3 Resultados y discusión: Propiedades tecnológicas de los productos.....	87
Capítulo 4 EVALUACIÓN DE PROCESOS DE RECUPERACIÓN PROTEICA CON PRETRATAMIENTOS A PARTIR DE ARVEJAS: INDICADORES DE PERFORMANCE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS	93
4.1 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica incluyendo una etapa previa de fermentación en estado sólido	94
4.1.1 Resultados y discusión: Composición de las harinas fermentadas	96
4.1.2 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos	98
4.1.3 Resultados y discusión: Propiedades funcionales	101

4.1.4 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes	106
4.1.5 Resultados y discusión: Calidad proteica	107
4.2 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica incluyendo una etapa previa de hidrólisis enzimática.....	111
4.2.1 Resultados y discusión: Composición de las harinas hidrolizadas.....	114
4.2.3 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos	116
4.2.4 Resultados y discusión: Propiedades funcionales	118
4.2.5 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes	127
4.2.6 Resultados y discusión: Calidad proteica	129
4.2.7 Resultados y discusión: Propiedades tecnológicas.....	136
Capítulo 5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD TÉCNICO-ECONÓMICA DE LOS PROCESOS PARA LA RECUPERACIÓN DE PROTEÍNAS A PARTIR DE ARVEJAS	140
5.1 Programación de la producción.....	141
5.2 Análisis de los indicadores económicos-financieros del proyecto.....	153
5.3 Análisis de sensibilidad de indicadores financieros seleccionados.....	159
5.4 Discusión y comparación con resultados reportados en la bibliografía.....	162
Capítulo 6 CONCLUSIONES	164
6.1 Enfoque Integral para el Análisis de Procesos y la Caracterización de Productos Proteicos.....	165
6.2 Efectos de las condiciones de extracción alcalina, precipitación isoelectrica y secado en la recuperación proteica a partir de arvejas.....	165
6.3 Efecto de la fermentación en estado sólido en la recuperación proteica a partir de arvejas.....	167
6.4 Efecto de la hidrólisis enzimática en la recuperación proteica.....	167
6.5 Análisis de factibilidad técnico-económica	168
6.6 Perspectivas futuras	168
BIBLIOGRAFÍA	170

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de las harinas utilizadas para el proceso de recuperación proteica	61
Tabla 2. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación de diferentes pH de extracción alcalina	64
Tabla 3. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes valores de pH en la etapa de extracción alcalina	65
Tabla 4. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación de diferentes relaciones sólido:líquido de extracción alcalina	67
Tabla 5. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes relaciones sólido:líquido en la etapa de extracción alcalina	68
Tabla 6. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos	71
Tabla 7. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos	73
Tabla 8. Propiedades antioxidantes de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamiento	78
Tabla 9. Recuento de células de bacterias ácido-lácticas (BAL) antes y después del secado	80
Tabla 10. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de agentes encapsulantes	81
Tabla 11. Composición química de los agentes encapsulantes utilizados es el secado	83
Tabla 12. Propiedades tecnológicas de los agentes encapsulantes utilizados es el secado	83
Tabla 13. Propiedades tecnológicas de los agentes encapsulantes utilizados es el secado	84
Tabla 14. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes arvejas bajo diferentes condiciones de secado	86
Tabla 15. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes arvejas bajo diferentes condiciones de secado	87

Tabla 16. Propiedades tecnológicas de los productos de diferentes arvejas obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos bajo diferentes condiciones de secado	88
Tabla 17. Propiedades tecnológicas de los productos de diferentes arvejas obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos bajo diferentes condiciones de secado	89
Tabla 18. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de fermentación en estado sólido como pretratamiento	95
Tabla 19. Composición química de la harina de arveja no fermentada y las harinas de arveja fermentadas	97
Tabla 20. Composición química de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica para diferentes tiempos de fermentación en estado sólido.....	99
Tabla 21. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes tiempos de fermentación en estado sólido.....	100
Tabla 22. Propiedades funcionales a diferentes pH de los de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido.....	101
Tabla 23. Propiedades funcionales a diferentes pH de los de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido.....	102
Tabla 24. Actividad antioxidante de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido.....	106
Tabla 25. Composición de aminoácidos de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido	110
Tabla 26. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de hidrólisis enzimática como pretratamiento	112
Tabla 27. Composición química de la harina de arveja no hidrolizada y las harinas de arveja hidrolizadas	115
Tabla 28. Composición química de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica incluyendo hidrólisis enzimática.....	116
Tabla 29. Performance del proceso de recuperación proteica incluyendo hidrólisis enzimática	117
Tabla 30. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrólisis enzimática.....	118

Tabla 31. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática.....	120
Tabla 32. Actividad antioxidante de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática	128
Tabla 33. Actividad ureásica de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática.....	130
Tabla 34. Composición de aminoácidos de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática.....	134
Tabla 35. Características tecnológicas de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática.....	136
Tabla 36. Características tecnológicas de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática.....	137
Tabla 37. Indicadores técnico-productivos para la producción a escala industrial de diferentes productos proteicos	142
Tabla 38. Personal requerido en los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial.....	153
Tabla 39. Consumos mensuales de servicios de los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial	154
Tabla 40. Costos operativos de los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial.....	154
Tabla 41. Equipamiento necesario para los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial.....	155
Tabla 42. Inversión de capital necesaria para los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial.....	156
Tabla 43. Indicadores económico-financieros para la producción a escala industrial de diferentes productos proteicos.....	158

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Potenciales tecnologías para la valorización de arveja. Se destacan en color los procesos seleccionados y desarrollados experimentalmente en esta tesis.....	28
Figura 2. Foto de harinas amarillas y verdes y polvos proteicos obtenidos en el proceso de recuperación proteica	62
Figura 3. Proceso de recuperación proteica sin pretratamiento para diferentes condiciones de extracción, precipitación y secado	63
Figura 4. Combinación de las relaciones sólido:líquido (p/p) utilizadas en cada ciclo de extracción alcalina.....	66
Figura 5. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de polvos proteicos precipitados con ácido clorhídrico (HCL), ácido láctico (AL) o bacterias ácido-lácticas (BAL).....	79
Figura 6. Proceso de recuperación proteica, utilizando fermentación en estado sólido como pretratamiento	94
Figura 7. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de harinas y polvos proteicos sin fermentar y fermentados	109
Figura 8. Proceso de recuperación proteica utilizando hidrólisis enzimática como pretratamiento	112
Figura 9. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de harina sin hidrolizar y polvos proteicos hidrolizados	132
Figura 10. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con ácido láctico (PA-SP-AL)	143
Figura 11. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con fermentación en estado sólido y precipitado con ácido láctico (PA-FES-AL)	143
Figura 12. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con ácido láctico (PA-HE-AL).....	144
Figura 13. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-SP-BAL).....	144
Figura 14. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-HE-BAL)	145

Figura 15. Programación de la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con ácido láctico (PA-SP-AL)	148
Figura 16. Programación de la producción del producto proteico con fermentación en estado sólido y precipitado con ácido láctico (PA-FES-AL)	149
Figura 17. Programación de la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con ácido láctico (PA-HE-AL)	150
Figura 18. Programación de la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-SP-BAL)	151
Figura 19. Programación de la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-HE-BAL)	152
Figura 20. Variación del precio de equilibrio y el costo unitario en función de la productividad, producción anual y tasa de descuento	160

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Proteínas de origen vegetal

Las proteínas de origen vegetal constituyen una alternativa cada vez más relevante frente a las de origen animal, tanto por su aporte nutricional como por su menor impacto ambiental. Su obtención proviene principalmente de legumbres (soja, arveja, lenteja), cereales (trigo, arroz, avena) y oleaginosas (girasol, canola), a través de procesos de extracción y fraccionamiento que permiten obtener concentrados o aislados con elevada pureza proteica. A diferencia de las proteínas animales, la producción vegetal requiere menos agua, tierra y energía, lo que resulta clave en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) ya que promueven prácticas sostenibles alineadas en particular con el ODS 6: Agua limpia y saneamiento (Reducción del agua residual y Uso racional de agua), ODS 12: Producción y Consumo Responsables (Disminución del desperdicio), y el ODS 13: Acción por el Clima (Menor emisión de gases de efecto invernadero) (Food and Agriculture Organization (FAO), 2022) y de la transición hacia sistemas alimentarios más sostenibles (Jiménez-Munoz et al., 2023). Además, las proteínas de origen vegetal se han posicionado como alternativas viables y versátiles impulsadas por la creciente demanda asociada a preocupaciones de salud, sostenibilidad ambiental, bajo costo, aspectos éticos y restricciones religiosas (Muhoza et al., 2025). Este interés se ve reflejado en el aumento de la población vegetariana y vegana, así como en la preocupación creciente por la salud y el bienestar animal (Asen et al., 2023).

1.2 Relevancia del uso de arvejas

Entre las fuentes vegetales, la arveja (*Pisum sativum* L.) se destaca como materia prima para la obtención de productos proteicos, debido a su bajo contenido en factores antinutricionales, su perfil de aminoácidos relativamente equilibrado y su menor potencial alergénico en comparación con la soja y el trigo (Gao et al., 2020; Hertzler et al., 2020). A nivel productivo, presenta ventajas agronómicas como su adaptación a diversos climas templados, la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y su buen rendimiento por hectárea, lo que reduce la necesidad de fertilizantes sintéticos (Khazaei et al., 2019; Vita Larrieu & Prieto, 2021). Desde el punto de vista tecnológico, los concentrados y aislados proteicos de arveja exhiben propiedades funcionales, como solubilidad, capacidad emulsionante y espumante, que los hacen atractivos para aplicaciones en bebidas, productos horneados y análogos cárnicos (García Arteaga et al., 2021). Asimismo, las legumbres en general representan una fuente importante de calorías, proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas y minerales para gran parte de la población mundial, y en este marco los concentrados y aislados de arveja constituyen materias primas de creciente interés para la formulación de alimentos de origen vegetal (Emkani et al., 2022; Pelgrom et al., 2013).

1.3 Taxonomía, clasificación y morfología de la arveja

Desde una perspectiva taxonómica, la arveja común (*Pisum sativum* L.) se integra en la familia *Fabaceae*, subfamilia *Faboideae* (sin. *Papilionoideae*), tribu *Fabeae* (sin. *Vicieae*). Si bien algunos listados recientes han propuesto modificaciones nomenclaturales, por ejemplo, la inclusión de *Pisum* dentro de *Lathyrus*, el uso actual en la literatura botánica, agronómica y genómica mantiene *Pisum* como género válido. En términos jerárquicos, su posición se resume como: *Plantae* → *Angiospermae* → *Eudicotyledoneae* → *Fabales* → *Fabaceae* → *Faboideae* → *Fabeae* → *Pisum* → *P. sativum* L. (Ellis et al., 2024).

La planta presenta tallos delgados y angulosos, de hábito trepador o semierecto, que se sostienen mediante zarcillos apicales. Las hojas son compuestas paripinnadas con estípulas grandes; el número y tamaño de folíolos varía con el cultivar y la etapa de desarrollo. Las flores son papilionadas (estandarte, alas y quilla), típicas de *Fabaceae*, dispuestas en inflorescencias axilares. El fruto es una legumbre (vaina) dehiscente que contiene 4–10 semillas esféricas (lisas o arrugadas según el genotipo). La semilla muestra un tegumento definido y un embrión con dos cotiledones voluminosos, responsables de la mayor parte de los depósitos de reserva (almidón y proteínas) (Hradilová et al., 2017; Szablińska-Piernik & Lahuta, 2023; World Flora Online (WFO), 2025), rasgo que condiciona su valor tecnológico y nutricional (García Arteaga et al., 2021; Tulbek et al., 2017).

1.4 Composición centesimal de la arveja

La composición nutricional de las arvejas varía con el genotipo, el ambiente y el procesamiento. La variabilidad intraespecífica (cultivar, año y sitio) afecta los contenidos de proteína, lípidos, fibra y minerales; a su vez, el procesamiento (pelado, molienda, cocción) modifica la proporción tegumento/cotiledón y, con ello, fibra, almidón y minerales. Los rangos típicos reportados en la bibliografía científica son consistentes: proteínas entre hasta 12–33 % en base seca (bs) según cultivar, con fraccionamiento proteico dominado por globulinas (11S legumina, 7S vicilina) y albúminas (Chen et al., 2023; Emkani et al., 2022; Fraś et al., 2024; Gultekin Subasi et al., 2024; Kotlarz et al., 2011; Mohammed et al., 2018; Thavarajah et al., 2023; Winther et al., 2023), y con un aporte relevante de aminoácidos esenciales como lisina, leucina, isoleucina y fenilalanina (Boye et al., 2010; Shanthakumar et al., 2022). Sin embargo, en comparación con proteínas animales, presentan un valor biológico inferior debido a la limitada presencia de aminoácidos azufrados (Lam et al., 2018; Shanthakumar et al., 2022).

El contenido de lípidos totales varía entre 0,6–3,5 g/100 g de arveja seca (1–2 % bs como valor medio) (Chen et al., 2023). Por su parte, las arvejas constituyen una fuente rica en carbohidratos, que alcanza aproximadamente el 70 % en base seca, con el almidón como

componente principal (30–48 % bs según la especie) (García Arteaga et al., 2021; Pulivarthi et al., 2021). La fibra dietaria total se sitúa en 11–16 % bs, aunque puede ser mayor cuando el tegumento se mantiene íntegro, predominando la fracción insoluble (Chen et al., 2023), con distribuciones típicas de fibra insoluble entre 10–15 % bs (principalmente celulosa y hemicelulosas como xilanos y arabinoxilanos) y fibra soluble entre 2–9 % bs (Lam et al., 2018; Shanthakumar et al., 2022; Tulbek et al., 2017). Los azúcares solubles se encuentran entre 17,5–24 % según la variedad (Chen et al., 2023). Las cenizas (minerales) se ubican entre 2,5–3,5 % bs (Feed Tables, 2025). Como referencia, el contenido energético es 346 kcal/100 g de arveja seca (FAO, 2021).

Estos valores sustentan el interés de la arveja como materia prima proteica para la producción de productos proteicos (concentrados y aislados), y como fuente de ingredientes en formulaciones de base vegetal (Emkani et al., 2022; García Arteaga et al., 2021).

1.5 Producción de arvejas

A escala mundial, las arvejas (*Pisum sativum* L.) ocupan el cuarto lugar de producción dentro de las legumbres alimentarias, detrás de la soja, el maní y los porotos secos, y muestran una trayectoria de crecimiento sostenido en las últimas décadas (Vidal - Valverde et al., 2003). Los datos más recientes de FAOSTAT (1961–2023) confirman la expansión de la producción de arvejas, y sitúan como principales productores a Rusia, Canadá, China e India, junto con países de la Unión Europea como Alemania (FAO, 2025).

En Argentina, la arveja es un cultivo invernal de ciclo corto con fuerte inserción en la región Pampeana, en donde se ha registrado un crecimiento sostenido en los últimos años (Vita Larrieu & Prieto, 2021). Su adopción responde tanto a su aporte a la fijación biológica de nitrógeno y al rol en rotaciones más sustentables, que conduce a una reducción del N sintético aplicado y, por ende, del uso de fertilizantes comerciales y de las emisiones de gases de efecto invernadero, disminuyendo así la huella de GEI (Khazaei et al., 2019). El marcado crecimiento del cultivo responde, además, a una demanda industrial en ascenso de ingredientes de base vegetal. Estas ventajas se tradujeron en un aumento de la superficie sembrada en la región Pampeana, que alcanzó un récord de 225.000 toneladas en la campaña 2021/22 (Di Yenno et al., 2022). En consecuencia, se ha observado un crecimiento en el interés por agregar valor en la cadena de industrialización y por ampliar la economía social vinculada al sector. En este contexto de expansión se estima para 2025/26 una producción cercana a las 300.000 toneladas, lo que implica un incremento superior al 20 % interanual, en un nivel superior al registro histórico citado de 225.000 toneladas (Poeta et al., 2025).

1.6 Métodos de recuperación proteica a partir de legumbres

La Figura 1 presenta las etapas y alternativas tecnológicas asociadas a la obtención de productos proteicos a partir de arveja, organizadas en pretratamientos, recuperación proteica y secado. Los pretratamientos comprenden métodos químicos, físicos y biológicos; entre los físicos se incluye molienda y tamizado, resaltado en color por ser aplicado en este trabajo, junto con los pretratamientos biológicos utilizados, fermentación en estado sólido e hidrólisis enzimática. En la etapa de recuperación proteica se muestran diversas rutas posibles, destacándose la extracción alcalina con precipitación isoelectrica (pH-shifting) como el método implementado experimentalmente. Finalmente, dentro de las técnicas de secado se presenta un conjunto amplio de alternativas, remarcándose el secado por aspersión (spray drying) como la técnica utilizada para obtener los productos proteicos en polvo (Ayodele et al., 2024; Fathi et al., 2022; Schutyser et al., 2025; Wen et al., 2022).

1.6.1 Pretratamientos físicos: Molienda y tamizado

El pretratamiento de la materia prima mediante molienda y tamizado constituye una etapa crítica para optimizar los procesos de extracción posteriores. El objetivo principal es mejorar la accesibilidad, donde factores como la superficie accesible influyen en el proceso de recuperación proteica (Ayodele et al., 2024). Un tamaño de partícula inadecuado puede afectar negativamente la transferencia de masa y, en consecuencia, la eficiencia del proceso. Por ello, resulta fundamental seleccionar equipos de molienda que no generen una dispersión excesiva de tamaños, ya que una distribución granulométrica muy amplia dificulta el control del proceso y conduce a fracciones extremadamente finas o demasiado gruesas. En este sentido, los molinos de cuchillas representan una alternativa adecuada para el acondicionamiento de arvejas hacia granulometrías tipo harina, debido a que operan predominantemente bajo mecanismos de corte y cizalla, produciendo partículas más uniformes y evitando la sobre-reducción característica de equipos que trabajan por impacto (D'Emanuele Ares et al., 2017). Posteriormente, el tamizado permite separar las fracciones según su rango granulométrico, garantizando la selección de partículas de interés para maximizar la eficiencia de extracción: las fracciones excesivamente finas pueden compactarse y formar tortas que dificultan la permeabilidad del lecho, mientras que las partículas demasiado gruesas presentan una menor superficie específica, prolongando los tiempos de difusión y aumentando los costos operativos. De este modo, la combinación de un sistema de molienda adecuado y un tamizado controlado asegura una materia prima con características físicas apropiadas para procesos de extracción alcalina y separación sólido-líquido eficientes y reproducibles (Akhtar et al., 2016; Reinheimer et al., 2014).

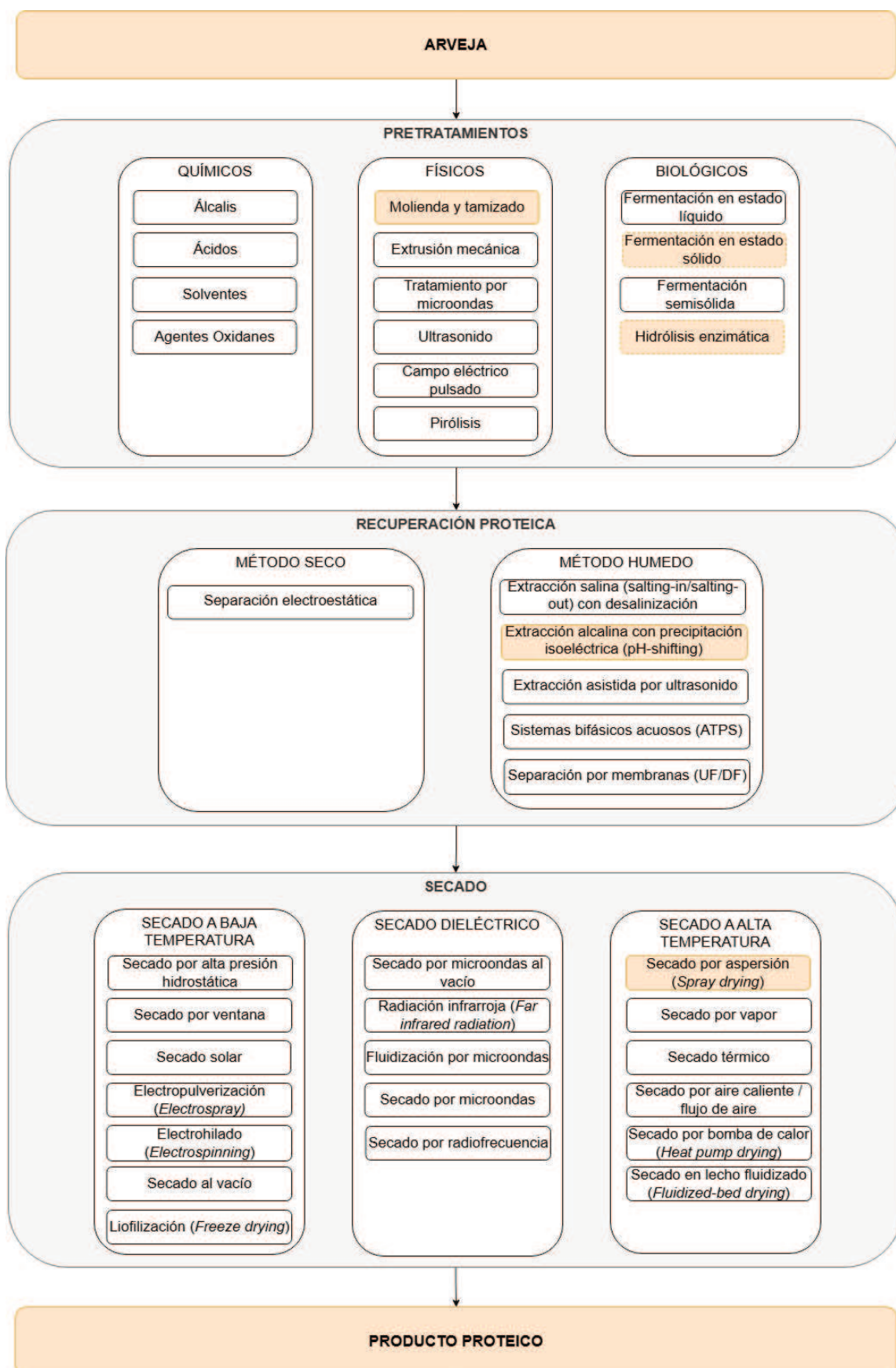


Figura 1. Potenciales tecnologías para la valorización de arveja. Se destacan en color los procesos seleccionados y desarrollados experimentalmente en esta tesis

1.6.2 Pretratamientos biológicos: Fermentación en estado sólido e hidrólisis enzimática

A pesar de los avances en los métodos de recuperación proteica, el rendimiento de dichos procesos podría incrementarse mediante pretratamientos que favorezcan la disponibilidad inicial de proteínas en la harina de arveja.

En este contexto, la fermentación fúngica constituye un pretratamiento de interés por su potencial para incrementar el contenido proteico, mejorar la digestibilidad, aumentar la actividad antioxidante y reducir la presencia de factores antinutricionales (Kumitch et al., 2020). Procesos como la fermentación en estado sólido (FES), llevada a cabo con cepas GRAS como *Aspergillus niger*, permiten transformar la harina inicial en productos fermentados con propiedades mejoradas, al tiempo que representan una alternativa de bajo costo y gran aplicabilidad en países en desarrollo (Germec et al., 2020; Ruíz-Leza et al., 2007). Durante la FES, el *A. niger* crece sobre el sustrato sólido utilizando los carbohidratos y proteínas como fuentes de carbono y nitrógeno, secretando un complejo enzimático extracelular que incluye carbohidrasas, proteasas, fitasas y enzimas oxidativas. Las carbohidrasas (amilasas, xylanases, celulasas y pectinasas) hidrolizan los polisacáridos estructurales de la pared celular, provocando la ruptura de la matriz vegetal y aumentando la accesibilidad y solubilidad de las proteínas (Jodayree et al., 2012). Las proteasas degradan las proteínas nativas generando péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres, lo que mejora la digestibilidad y el valor biológico. A su vez, las fitasas reducen la concentración de ácido fítico y otros antinutrientes, liberando fósforo y minerales quelados (Fe, Zn, Ca), y las enzimas oxidativas, como las peroxidasas, modifican compuestos fenólicos y contribuyen a aumentar la capacidad antioxidante del producto final (Germec et al., 2020; Kumitch et al., 2020).

En paralelo, la hidrólisis enzimática como pretratamiento alternativo se ha aplicado con carbohidrasas como α -amilasa, amiloglucosidasa, pululanasa, β -glucanasa, xilanasa y arabinoxilanasa, que degradan paredes celulares y polisacáridos de la matriz vegetal y facilitan la liberación de proteínas (Jodayree et al., 2012; Kleekayai et al., 2023; Machida et al., 2022; Rosset et al., 2014; Scarabattoli et al., 2023). Estas enzimas actúan sobre el almidón y la hemicelulosa, reduciendo la viscosidad del medio y mejorando la eficiencia de extracción (Naik et al., 2023; Ramatsui et al., 2023; Saeid et al., 2024; Yoshida & Prudencio, 2020). Además, el uso de enzimas puede generar hidrolizados con bioactividad específica (antioxidante, antihipertensiva). El desafío en la implementación de este método es controlar el grado de hidrólisis, ya que un exceso puede generar pérdida de funcionalidad y aparición de sabores amargos (Gouseti et al., 2023).

1.6.3 Recuperación proteica por método húmedo: Extracción alcalina con precipitación isoeléctrica (pH-shifting)

Entre los métodos húmedos convencionales, la extracción alcalina con precipitación isoeléctrica (pH-shifting) es uno de los más empleados, ya que permite recuperar hasta el 90 % de las proteínas globulares. Este método consiste en solubilizar las proteínas a pH alcalino entre 8–11, donde presentan mayor carga neta y solubilidad, para luego precipitarlas ajustando el pH al valor isoeléctrico de alrededor de 4,5 (Accoroni et al., 2020; Gao et al., 2020; Klupšaitė & Juodeikienė, 2015; Kolpakova et al., 2021; Tanger et al., 2020). Es el método más usado a nivel industrial porque permite alcanzar altos rendimientos (>70 %) y obtener incluso aislados con contenidos proteicos de hasta 90 %. No obstante, los cambios de pH pueden inducir desnaturalización parcial de las proteínas, afectando su solubilidad y funcionalidad si no se controla adecuadamente la temperatura y el tiempo de exposición (Kamal et al., 2021; Long et al., 2025).

Además, una limitación reiterada del proceso de pH-shifting es el alto consumo de agua asociado a múltiples etapas de extracción, con implicancias ambientales y económicas (Cheng et al., 2018; Hadnadjev et al., 2017). En este sentido, la literatura reciente avanza en tres líneas complementarias para mitigar el uso de agua y la generación de efluentes líquidos; esto es, la optimización de relaciones sólido:líquido empleadas en las etapas de extracción alcalina; la integración con membranas (micro/ultrafiltración y diafiltración) para concentrar o reusar corrientes acuosas y modular el perfil proteico; y configuraciones contracorriente y reutilización del agua de proceso (Asen et al., 2023; Gravel et al., 2023; J. Tang et al., 2024).

Asimismo, el agente utilizado para alcanzar el punto isoeléctrico de las fracciones proteicas en la etapa de precipitación constituye otro punto de interés. El ácido clorhídrico es el agente precipitante de uso más extendido en la industria, aunque su empleo no se considera ambientalmente sostenible (Alhamad et al., 2020). En este contexto, la elección de agentes precipitantes de grado alimentario, más respetuosos con el medio ambiente, que deriven de fuentes naturales y que no produzcan subproductos peligrosos, constituye un aspecto clave para asegurar la aplicabilidad del proceso en la industria alimentaria y mejorar la disponibilidad de nutrientes (Emkani et al., 2021; Pei et al., 2022). En tal sentido, precipitantes como el ácido láctico y las bacterias ácido-lácticas, agentes reconocidos como seguros (GRAS), pueden resultar en sustitutos adecuados (Alhamad et al., 2020).

1.6.4 Secado a alta temperatura: Secado por aspersión

El secado por aspersión (spray drying) es la técnica más difundida a nivel industrial por su costo competitivo y su escalabilidad. El proceso consiste en atomizar, una emulsión,

suspensión o solución líquida y mediante una corriente de aire caliente obtener partículas secas de morfología esférica en forma de polvo (Gharsallaoui et al., 2007; Haider et al., 2017; Jafari et al., 2008).

En el ámbito de las proteínas vegetales, el secado por aspersión constituye una etapa determinante, ya que no solo permite obtener polvos con baja actividad de agua, buena fluidez y estabilidad durante el almacenamiento (Kobayashi et al., 2013), sino que también influye en la estructura, el grado de desnaturalización, el estado de agregación y la funcionalidad de las proteínas, aspectos directamente relacionados con su desempeño tecnológico y su vida útil (Muhoza et al., 2025). Además, el secado por aspersión cumple una doble función: estabiliza la fracción proteica y actúa como método de encapsulación de compuestos bioactivos, integrando en un mismo proceso la obtención del aislado en polvo y la protección de moléculas funcionales asociadas (Pudžiuvelytė et al., 2025).

El secado spray puede modificar propiedades como el tamaño de partícula, la solubilidad, la capacidad de retención de agua y aceite, el tiempo de humectación y la capacidad emulsionante (García Arteaga et al., 2021; X. Wang & Zhao, 2023). El uso de agentes encapsulantes o adyuvantes durante esta etapa constituye una estrategia clave para proteger la estructura tridimensional de las proteínas frente a factores externos como oxígeno y humedad, manteniendo sus propiedades nutricionales y funcionales (McClements, 2018).

La encapsulación se define como la técnica por la cual compuestos bioactivos, aromas, aceites o nutrientes se rodean con una matriz protectora que controla su liberación y/o los protege de factores ambientales como luz, oxígeno, humedad o temperatura (Augustin & Hemar, 2009).

El secado por aspersión con encapsulante consiste en atomizar, una emulsión, suspensión o solución líquida que contiene un material encapsulante, como maltodextrina, goma arábica, almidones modificados o proteínas de origen lácteo o vegetal, para obtener partículas secas de morfología esférica en forma de polvo (Gharsallaoui et al., 2007; Haider et al., 2017; Jafari et al., 2008). El secado rápido inmoviliza al compuesto núcleo (ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas, antioxidantes o aromas, proteínas) dentro de la matriz sólida, permitiendo su estabilización.

Las cápsulas obtenidas mediante secado por aspersión presentan tamaños en el rango entre 1–20 μm , elevada estabilidad oxidativa y buena solubilidad en agua. En comparación con otros métodos de encapsulación, ofrece un equilibrio óptimo entre costo, eficiencia y aplicabilidad industrial, aunque con menor control sobre el tamaño de partícula respecto de técnicas como la coacervación o la gelificación (Augustin & Hemar, 2009). Entre sus principales ventajas se destacan la alta velocidad de operación, la versatilidad frente a

diferentes matrices y la capacidad de preservar compuestos sensibles al calor debido al corto tiempo de residencia. Sin embargo, también presenta limitaciones, como el alto consumo energético y la posible pérdida de compuestos volátiles o termolábiles si no se controlan adecuadamente las condiciones de entrada y salida del secado por aspersión (Haider et al., 2017; Jafari et al., 2008).

Asimismo, la encapsulación mejora la estabilidad térmica y permite controlar la liberación de compuestos durante la rehidratación, lo que incrementa la calidad del producto final (Sarabandi et al., 2020). Entre los materiales empleados como encapsulantes se incluyen proteínas y almidones, los que actúan de manera sinérgica como matrices encapsulantes, además de mejorar el rendimiento del proceso de secado (Coutinho et al., 2022; Eghbal & Choudhary, 2018; Furuta & Neoh, 2021; Kurek & Pratap-Singh, 2020; Madene et al., 2006; Tamm et al., 2016; Vassaux et al., 2021).

1.7 Propiedades funcionales, propiedades tecnológicas, capacidad antioxidante y calidad proteica

1.7.1 Propiedades funcionales

Las propiedades funcionales de las proteínas determinan su comportamiento en sistemas alimentarios y su potencial como ingredientes tecnológicos. Entre ellas, la solubilidad se considera la propiedad primaria, ya que condiciona la capacidad de las proteínas para formar emulsiones, espumas y geles (Ma et al., 2022; Zhang et al., 2025). Esta propiedad depende de factores estructurales, como la distribución de cargas y la hidrofobicidad superficial, así como de condiciones externas como el pH y la temperatura. En proteínas de leguminosas, la solubilidad se ve reducida cerca del punto isoeléctrico ($pI \approx 4,5$), donde disminuyen las repulsiones electrostáticas y se favorece la agregación. En cambio, al alejarse del pI se incrementa la carga neta, lo que promueve la dispersión molecular y mejora la solubilización (Tarahi & Ahmed, 2023).

En este contexto, la funcionalidad de las proteínas se expresa a través de su comportamiento interfacial y su capacidad de interacción con agua y lípidos. Propiedades como la capacidad emulsionante y espumante dependen de la habilidad de las proteínas para adsorberse en interfaces (aceite-agua o aire-agua), reduciendo la tensión superficial y formando películas viscoelásticas que estabilizan la estructura del sistema (Santos et al., 2025). A su vez, la capacidad de retención de agua (WHC) y de aceite (OHC) reflejan la interacción de la proteína con moléculas polares y no polares, influyendo en la textura, jugosidad y estabilidad de los alimentos (Hopf et al., 2024).

1.7.2 Propiedades tecnológicas

Las propiedades tecnológicas de las harinas y de los productos proteicos determinan su comportamiento físico y funcional durante el procesamiento y almacenamiento, así como su desempeño en formulaciones alimentarias. Entre ellas, el color constituye un atributo crítico de calidad y aceptación sensorial, evaluado instrumentalmente mediante el sistema CIELab, que describe los parámetros L^* (luminosidad), a^* (componente rojo-verde) y b^* (componente amarillo-azul). A partir de estos valores se calcula el índice de blancura (WI), que expresa de manera integrada la claridad y el matiz del producto, siendo particularmente útil para monitorear cambios asociados a reacciones de Maillard, oxidación o tratamientos térmicos durante el procesamiento (Ponnal et al., 2021).

Por su parte, el tiempo de humectación refleja la velocidad con que un polvo absorbe agua hasta alcanzar la saturación o dispersión completa. Esta propiedad depende de la hidrofobicidad superficial, la porosidad y el tamaño de partícula, y resulta relevante en productos instantáneos o formulaciones en polvo, donde se busca una rápida dispersión en fase acuosa (Fitzpatrick et al., 2017; Ueda et al., 2023). En paralelo, la actividad de agua representa la fracción de agua libre disponible para reacciones químicas o crecimiento microbiano, siendo un indicador esencial de estabilidad y vida útil. Valores bajos de actividad acuosa reducen la velocidad de deterioro oxidativo y microbiológico, aspecto clave en el almacenamiento de ingredientes proteicos deshidratados (Juarez - Enriquez et al., 2022).

Por otra parte, la fluidez y la cohesividad describen el comportamiento del polvo durante operaciones unitarias como transporte, dosificación o envasado. La fluidez está asociada a la facilidad de desplazamiento entre partículas y puede verse afectada por la humedad, la forma y el tamaño de partícula, mientras que la cohesividad refleja la tendencia de las partículas a aglomerarse debido a fuerzas de adhesión o cargas electrostáticas. Estas propiedades son determinantes para asegurar la homogeneidad del producto y la eficiencia de los procesos industriales de manejo de polvos (Brubaker & Moghtadernejad, 2024; Juliano & Barbosa-Cánovas, 2010; Shah et al., 2008).

Finalmente, la granulometría y las propiedades de densidad influyen directamente en la textura, el empaquetamiento y el comportamiento reológico de los productos. En este sentido, la densidad real refleja la masa del material por unidad de volumen de materia sólida, sin considerar los espacios de aire o porosidad interna, mientras que la densidad aparente y la compactada contemplan el volumen total ocupado por el polvo, incluyendo los intersticios de aire entre partículas. La distribución del tamaño de partícula afecta la solubilización, la humectabilidad y la estabilidad del polvo, mientras que las distintas formas de densidad se asocian con la porosidad, la fluidez y la estabilidad durante el almacenamiento (Ding et al.,

2020; Shenoy et al., 2015; Szulc & Lenart, 2016). En conjunto, la caracterización de estas propiedades permite comprender la interacción entre las variables de proceso y la calidad tecnológica final de los productos proteicos.

1.7.3 Capacidad antioxidante

Las proteínas y los péptidos resultantes de su hidrólisis pueden ejercer una función antioxidante al actuar como donadores de electrones o átomos de hidrógeno, así como mediante la quelación de metales de transición que catalizan reacciones oxidativas (Udenigwe & Aluko, 2012). Esta capacidad les permite contribuir a la estabilidad de los alimentos al inhibir la formación de radicales libres y retrasar procesos de deterioro asociados a la oxidación de lípidos y proteínas.

Para evaluar esta actividad se emplean métodos químicos basados en la neutralización de radicales libres estables, entre los cuales los ensayos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) y ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) son los más utilizados por su simplicidad y reproducibilidad. Ambos permiten estimar el poder reductor de las proteínas o péptidos, aunque difieren en su sensibilidad frente a compuestos hidrofílicos o lipofílicos (Kim & Kim, 2015; Re et al., 1999). DPPH es un método adecuado para compuestos lipofílicos, pero puede subestimar la reactividad de proteínas solubles en agua, ya que el radical se encuentra en un medio orgánico. ABTS, soluble tanto en medios acuosos como orgánicos, presenta mayor versatilidad y puede aplicarse en un rango amplio de pH, siendo adecuado para muestras con proteínas hidrofílicas (Floegel et al., 2011; Nwachukwu & Aluko, 2019).

1.7.4 Calidad proteica

Los factores antinutricionales, como los inhibidores de tripsina, son indeseables en productos provenientes de legumbres, y pueden evaluarse de forma indirecta mediante la determinación de la actividad ureásica, la cual refleja la capacidad catalítica de la enzima ureasa para hidrolizar la urea en dióxido de carbono y amoníaco, actuando como una metaloenzima dependiente de iones níquel (Konieczna et al., 2012). La cuantificación de esta actividad se basa en la variación del pH del medio, que se modifica en función de la cantidad de amoníaco liberado bajo condiciones controladas, permitiendo estimar los cambios iónicos asociados al proceso enzimático (Krishnan et al., 2023).

Para caracterizar la estructura de las subunidades proteicas, la electroforesis en gel SDS-PAGE es una herramienta que separa los polipéptidos según su masa molecular aparente bajo condiciones desnaturalizantes y reductoras, permitiendo identificar bandas

correspondientes a subunidades catalíticas o estructurales, así como estimar su peso molecular (Rabilloud, 2010).

Asimismo, el perfil de aminoácidos por HPLC permite cuantificar la composición cualitativa y cuantitativa de los residuos aminoacídicos constituyentes de la proteína analizada. El procedimiento usual implica hidrolizar completamente el polipéptido, seguido de derivatización de los AA para hacerlos detectables en HPLC de fase reversible o intercambio iónico (Custodio-Mendoza et al., 2024; Lestari et al., 2022).

1.8 Análisis técnico-económica-financiera de los procesos de recuperación de proteínas

La evaluación técnico-económica-financiera permite determinar la viabilidad de aplicación industrial de los procesos de obtención de ingredientes proteicos, integrando indicadores técnicos (rendimiento, productividad consumo de agua, entre otros) con variables económicas (valor actual neto (VAN), tasa interna de retorno (TIR), precio de equilibrio, tasa de descuento, costo unitario, entre otros). En la industria de proteínas vegetales, este enfoque resulta esencial para comparar distintas rutas de producción y estimar su impacto en los costos de inversión, operación y rentabilidad del proyecto asociado (Chalermthai et al., 2020; Jarunglumlert et al., 2023; Meramo-Hurtado & González-Delgado, 2020).

Asimismo, los análisis de sensibilidad permiten identificar los factores que más influyen sobre la rentabilidad, tales como la productividad, la escala de producción y la tasa de descuento, facilitando la toma de decisiones en escenarios variables de mercado (Meramo-Hurtado & González-Delgado, 2020; Zuorro et al., 2020).

1.9 Propuesta de investigación

En este trabajo se plantea la recuperación y enriquecimiento proteico a partir de harina de arveja amarilla y verde (*Pisum sativum* L.), mediante un proceso de extracción proteica por solubilización alcalina y precipitación isoelectrica, precedido alternadamente de pretratamientos biotecnológicos de fermentación en estado sólido con hongos y enzimáticos con carbohidrasas. Estos pretratamientos se orientan a lograr una hidrólisis parcial de los carbohidratos estructurales (almidón, celulosa y hemicelulosa), favoreciendo la liberación y posterior extracción de las proteínas sin comprometer su calidad.

Asimismo, se propone evaluar el uso de ácido láctico y bacterias ácido-lácticas, sustancias reconocidas como seguros (GRAS), como alternativas de agentes precipitantes al ácido clorhídrico. La aplicación de ácido láctico permite alcanzar rápidamente el pH de precipitación, mientras que las BAL contribuyen con beneficios adicionales sobre el producto final, como la reducción de factores antinutricionales, la mejora del perfil sensorial y de las propiedades funcionales.

Complementariamente, se propone estudiar el secado por aspersión de los productos proteicos utilizando la fracción fina de las harinas de arveja como encapsulante sostenible, con el propósito de mejorar el rendimiento global del proceso y potenciar las propiedades tecnológicas de los polvos proteicos resultantes.

Los productos obtenidos serán sometidos a caracterización proximal y cuantificación de nutrientes, junto con la evaluación de sus propiedades funcionales, tecnológicas, antioxidantes y calidad proteica. Finalmente, se realizará un análisis de escalado y factibilidad técnico-económica de los diferentes esquemas de recuperación proteica desarrollados, con el fin de definir los parámetros óptimos de operación y la viabilidad industrial de las estrategias propuestas.

1.10 Objetivo general

Diseñar el proceso de recuperación de proteínas de distintas variedades de arvejas amarillas y verdes (*Pisum Sativum* L.) a los fines de agregar valor en la cadena productiva de la industria alimenticia de la provincia de Santa Fe, la región y el país, optimizando las propuestas generadas en vistas de su escalado considerando la capacidad de las pequeñas y medianas empresas del sector.

1.11 Objetivos específicos

- Determinar las características fisicoquímicas de las arvejas amarillas y verdes (*Pisum*

Sativum L.), en vistas del posterior agregado de valor en la cadena productiva alimentaria mediante su industrialización.

- Evaluar la performance operativa de las etapas de proceso necesarias para obtener un producto proteico con valor comercial a partir de arvejas amarillas y verdes.
- Determinar el efecto de distintas variables independientes del proceso de recuperación en la calidad y las propiedades fisicoquímicas, funcionales y tecnológicas del producto proteico obtenido.
- Optimizar las principales etapas del proceso para la obtención de un producto proteico a partir de las arvejas amarillas y verdes en función de indicadores de performance técnicos y económicos de uso común en la industria.
- Establecer criterios técnicos y económicos para el escalado del proceso a diferentes escalas productivas, a los fines de determinar la viabilidad industrial de las diferentes alternativas evaluadas en el proceso de recuperación de proteínas a partir de arvejas amarillas y verdes.

Capítulo 2

MATERIALES, MÉTODOS DE ANÁLISIS Y METODOLOGÍA DE RECUPERACIÓN PROTEICA

2.1 Materias primas

Se utilizan arvejas (*Pisum sativum* L.) amarillas pre-comerciales B320, codificadas en este trabajo de tesis como AP, provistas por el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Oliveros, Santa Fe, Argentina), en el marco de un programa de mejoramiento desarrollado conjuntamente con la UNR (Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario), destinado a obtener semillas pre-comerciales con mayor contenido proteico.

Se utilizan, además, arvejas secas amarillas y verdes (*Pisum sativum* L.) adquiridas a proveedores comerciales en Buenos Aires, Argentina, y São Paulo, Brasil, y codificadas en este trabajo de tesis como AC y VC, respectivamente.

Las muestras de arvejas se almacenan en bolsas selladas a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su procesamiento.

2.2 Reactivos

Se utilizan reactivos de grado analítico o alimentario (Cicarelli y Britania, Argentina; Anidrol, Brasil).

Se emplean cultivos iniciadores liofilizados de bacterias ácido-lácticas, compuestos por *Lactiplantibacillus plantarum* CH6072 y *Lactococcus lactis* SR3.54 ($> 7,5 \cdot 10^{10}$ UFC/g) (CHR Hansen, Dinamarca).

Se utiliza *Aspergillus niger* DMIC134382 el cual fue proporcionado por el ANLIS (Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud) “Dr. Carlos Malbrán”.

Se emplean enzimas carbohidrasas industriales Endozym® AGP 120 (AEB Group, Italia), un preparado enzimático estandarizado compuesto por α -amilasa (≥ 1.000 unidades de amilasa fúngica (FAU)/g), amiloglucosidasa (≥ 200 unidades de amiloglucosidasa (AMG)/g) y pullulanasa (11 unidades de pullulanasa (PU)/g). También se utiliza un conjunto de enzimas comerciales Prodooze® BG (Prodooze Comércio, Distribuição, Importação e Exportação Ltda., Brasil), compuesto por β -glucanasa (9.000–12.500 unidades de β -glucanasa (BGU)/g), xilanasa (13.500–17.000 unidades de xilanasa (XU)/g) y arabinoxilanasa (sin concentración especificada por el fabricante).

2.3 Composición físico-química

2.3.1 Humedad

El contenido en agua se determina gravimétricamente en una estufa de aire (Tecno Dalvo, Argentina) a $100 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta peso constante a partir del método 925.10 de la AOAC (AOAC,

2005). Los resultados se expresan como g de humedad cada 100 g de muestra, como se define en la Ecuación 1.

$$\text{Humedad (\% bh)} = \frac{m2 - m3}{m2 - m1} \cdot 100 \quad 1$$

donde m1 es el peso en g del cristalizador vacío, m2 el peso en g del cristalizador con la muestra fresca y m3 el peso en g del cristalizador con la muestra seca (luego del paso por la estufa).

2.3.2 Proteínas

El contenido en proteínas se determina según el método 2001.11 de la AOAC (AOAC, 2005). Este proceso se basa en la digestión del producto con ácido sulfúrico en exceso, en presencia de un catalizador para transformar el nitrógeno proteico en sulfato de amonio. Seguidamente, el amonio presente se transforma en amoníaco por adición de hidróxido de sodio; el amoníaco se destila y se recoge en una solución de ácido bórico, que posteriormente se valora con una solución de ácido clorhídrico. Como catalizador se emplea sulfato de potasio y sulfato de cobre. Los resultados se expresan como g de proteínas cada 100 g de muestra sobre una base libre de humedad como se define en la Ecuación 2.

$$\text{Proteínas (\% bs)} = \frac{(Vm - Vb) \cdot M \cdot f \cdot 1,401}{Pm} \cdot F \cdot \frac{100}{100 - H (\% bh)} \quad 2$$

donde Vm es el volumen de ácido clorhídrico gastado en la muestra, Vb el volumen de ácido clorhídrico gastado en el blanco, M la molaridad del ácido clorhídrico, f el factor volumétrico de la solución de ácido clorhídrico, Pm el peso de la muestra, F es el factor de conversión de nitrógeno a proteína adoptado en 6,25 y H es la humedad de la muestra analizada.

2.3.3 Lípidos

El contenido de lípidos se determina según el método de Bligh & Dyer (1959). Se basa en la extracción de los lípidos utilizando una mezcla de cloroformo y metanol. Este método es conocido por su eficacia en la extracción de lípidos y se basa en la separación de las fases lipídicas y acuosas mediante la adición de agua y cloruro de sodio. Posteriormente, la fase lipídica se recoge, se evapora y se pesa para determinar el contenido de lípidos en las arvejas.

Este enfoque proporciona una medida cuantitativa precisa de los lípidos presentes en las muestras. Los resultados se expresan como g de lípidos en 100 g de muestra sobre una base libre de humedad como se define en la Ecuación 3.

$$\text{Lípidos (\% bs)} = \frac{m2 - m1}{m3} \cdot \frac{100}{100 - H (\% bh)} \quad 3$$

donde m1 es el peso en g del vaso de precipitado vacío, m2 el peso en g vaso de precipitado con el residuo graso obtenido, m3 el peso en g de la muestra y H es la humedad de la muestra analizada.

2.3.4 Cenizas

El contenido en cenizas se determina gravimétricamente según el método 900.02 de la AOAC (2005), mediante la incineración de las muestras en un horno mufla (Tecno Dalvo, Argentina) a 550 ± 5 °C hasta peso constante. Los resultados se expresan como g de cenizas cada 100 g de muestra sobre una base libre de humedad, como se define en la Ecuación 4.

$$\text{Cenizas (\% bs)} = \frac{m2 - m1}{m3} \cdot \frac{100}{100 - H (\% bh)} \quad 4$$

donde m1 es el peso en g del crisol vacío, m2 el peso en g del crisol con las cenizas obtenidas y m3 el peso en g de la muestra y H es la humedad de la muestra analizada.

2.3.5 Carbohidratos

El contenido de carbohidratos se determina por diferencia de componentes. Los resultados se expresan como g de carbohidratos en 100 g de muestra sobre una base libre de humedad como se define en la Ecuación 5.

$$\text{Carbohidratos (\% bs)} = 100 - (P (\% bs) + L (\% bs) + C (\% bs)) \quad 5$$

donde P son las proteínas en bs, L son los lípidos en bs y C son las cenizas en bs que contiene la muestra expresados en %.

2.3.6 Almidón

El contenido de almidón se determina utilizando el método de Bernfeld (1955) basada en la hidrólisis enzimática del almidón seguida de cuantificación colorimétrica de los azúcares reductores liberados con ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) a 540 nm.

De esta manera, se preparan tanto la dispersión de la muestra como las soluciones patrón necesarias para la construcción de la curva de calibración. Para la muestra, se prepara una dispersión con una concentración de 0,02 g/ml pesando una cantidad adecuada de muestra, dispersando en tampón fosfato de sodio (pH 6). Luego se somete a gelatinización en baño termostático a 100 °C durante 15 min. Posteriormente, se adiciona 50 µl de α-amilasa y se incuba en baño termostático a 100 °C por 30 min, con agitación cada 5 min. Una vez enfriadas las soluciones a temperatura ambiente (25–30 °C), se ajustan a pH 4,5 con HCl y se adicionan 200 µl de amiloglucosidasa, incubando a 60 °C durante 30 min con agitación constante. Finalizada la hidrólisis, los extractos se clarifican con ferrocianuro de potasio al 15 % y sulfato de zinc al 30 %, y se enrasan a 100 ml con etanol al 70 %. Tras filtración en papel de filtro seco, se toman alícuotas de 0,3 ml de cada extracto, se diluyen con 0,7 ml de agua destilada y se adicionan 2 ml de DNS. Las muestras se calientan a 98 °C durante 5 min junto con los patrones de glucosa, se enfrían en baño de hielo y se diluyen con 9 ml de agua destilada. Luego de homogeneizar en vortex, se mide la absorbancia a 540 nm. Para la curva patrón, se prepara una solución madre disolviendo 1,0065 g de glucosa en 100 ml de agua destilada, obteniendo una concentración de 10,065 mg/ml. A partir de esta solución se prepara una dilución intermedia de 2,013 mg/ml (10 ml en matraz aforado de 50 ml) y, a partir de ella, se elaboran soluciones patrón de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4, 1,6 y 2,0 mg/ml de glucosa. Estas soluciones se procesan en idénticas condiciones que las muestras (adición de DNS, calentamiento a 98 °C por 5 min, enfriamiento rápido y dilución con agua destilada), midiendo la absorbancia a 540 nm. Con los valores obtenidos se construye la curva de calibración de glucosa ($R^2 = 0,9994$). El contenido de azúcares reductores (mg/ml) se calcula a partir de la absorbancia de las muestras en relación con dicha curva, y el contenido de almidón se obtiene multiplicando por 0,6 y se expresa como porcentaje en base seca según la Ecuación 6.

$$Almidón (\% bs) = \frac{(0,0027 - Abs\ muestra) \cdot 0,9}{0,6402 \cdot 10 \cdot 0,3\ ml \cdot masa\ de\ la\ muestra} \cdot \frac{100}{100 - H (\% bh)} \quad 6$$

2.3.7 Sodio

El contenido de sodio se determina de acuerdo con los estándares analíticos del Instituto Adolfo Lutz (2008), con ligeras modificaciones mediante fotómetro de llama (Micronal B462, Brasil), a una longitud de onda de 589 nm la cual es proporcional a la concentración de iones Na^+ en la muestra. La curva de calibración se realiza con soluciones patrón preparadas a partir de cloruro de sodio (NaCl).

De esta manera, se preparan tanto la dispersión de la muestra como las soluciones patrón necesarias para la construcción de la curva de calibración. Para la muestra, se prepara una dispersión con una concentración de 0,0015 g/ml pesando una cantidad adecuada de muestra de producto proteico en agua destilada y desionizada (muestra que se aspira en una llama de gas). Para la curva patrón, se prepara una solución madre, disolviendo 0,2543 g de NaCl en 100 ml de agua destilada y desionizada obteniendo una concentración de 2,543 mg NaCl/ml, lo que equivale a 1,0004 mg Na/ml al corregir por la fracción másica de sodio en el NaCl. A partir de esta solución se preparan soluciones de 0,005, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 y 0,05 mg Na/ml, en matraces aforados de 100 ml ajustando con agua destilada y desionizada. Se mide la absorbancia a 589 nm para construir la curva de calibración de Na ($R^2 = 0,9935$). El Na (mg/ml) se calcula partir de la absorbancia de la muestra en relación con la curva de calibración y contenido de sodio se expresa en porcentaje de base seca según la Ecuación 7.

$$Na (\% bs) = \frac{Abs\ muestra - 1,2020}{221,21 \cdot 10 \cdot 0,0015} \cdot \frac{100}{100 - H (\% bh)} \quad 7$$

2.4 Determinaciones microbiológicas

2.4.1 Recuento de bacterias ácido-lácticas

La concentración de bacterias ácido-lácticas se evalúa en las experiencias donde se emplean como agente precipitante. Se toman muestras representativas del producto proteico, se cultivan en placas de agar MSR, incubadas a 37 °C durante 72 h en condiciones microaerofílicas. El recuento de células viables se determina por inspección visual y se expresa como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g bh).

2.4.2 Recuento de *Aspergillus niger*

La concentración de esporas de *A. niger* se evalúa en las experiencias donde se emplea como agente fermentativo. Se toman muestras representativas de las harinas fermentadas a partir de las cuales se preparan diluciones al 1 % y al 10 %. El recuento celular se determina

utilizando una cámara de Neubauer de doble retículo brillante de 0,1 mm (Mariendfield Superior, Alemania) y se expresa como esporas por gramo de muestra seca (esporas/g bs).

2.5 Capacidad antioxidante

Debido a su simplicidad metodológica y confiabilidad, los ensayos DPPH y ABTS se emplean comúnmente para la cuantificación del potencial antioxidante (Espitia-Hernández et al., 2022). El método DPPH resulta particularmente adecuado para determinar el desempeño antioxidante de compuestos fenólicos aislados y extractos derivados de plantas (Przybylska-Balcerek et al., 2019). Sin embargo, dado que el radical DPPH se solubiliza en disolventes orgánicos como metanol o etanol, su reactividad con proteínas hidrofílicas o con grupos funcionales polares, típicamente solubles en medios acuosos, puede ser limitada, lo que potencialmente conduce a una subestimación de la capacidad antioxidante de muestras basadas en proteínas (Bibi Sadeer et al., 2020). Por otro lado, el ensayo ABTS presenta una alta adaptabilidad, lo que permite realizar análisis rápidos en un amplio espectro de pH y en sistemas tanto polares como no polares (Pontieri et al., 2016).

2.5.1 DPPH

La actividad antioxidante se determina como la capacidad de captura de radicales libres mediante el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), descrito por Balzarini et al. (2018) y Calderón-Chiu et al. (2021), con ligeras modificaciones. Se prepara una dispersión con una concentración de 0,0333 g/ml, pesando la cantidad adecuada de muestra del producto proteico y adicionándola a 10 ml de solución hidroalcohólica en una relación 1:1 (v/v) con etanol al 96 %. La dispersión se agita durante 90 min en un agitador magnético (Ethik Technology, Brasil) a temperatura ambiente. El sobrenadante se centrifuga y se filtra para obtener un extracto hidroalcohólico. Una alícuota de 2 ml del extracto se adiciona a 10 ml de solución etanólica del radical DPPH (0,1 mM), se agita 30 s en vortex (Fanem, Brasil) y se deja reposar en oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia (Abs) se mide a 517 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (UV-2600, Shimadzu, Japón). Una muestra control se prepara de igual modo, pero sin extracto. La actividad de captura de radicales libres medidas como DPPH (%) se calcula como la absorbancia del extracto hidroalcohólico relativa a la del control, según la Ecuación 8.

DPPH actividad de captura de radicales libres (%)

$$= \frac{\text{Abs extracto hidroalcohólico}}{\text{Abs muestra control}} \cdot 100 \quad 8$$

La capacidad antioxidante equivalente a Trolox ($\text{TEAC}_{\text{DPPH}}$) se determina siguiendo el método descrito por Luisetti et al. (2020) con ligeras modificaciones. Se prepara una solución estándar disolviendo 3,2 mg de Trolox en 100 ml de etanol al 96 %. A partir de esta, se obtienen soluciones de 0, 4, 8, 16 y 32 mg/l en cinco tubos, ajustando con etanol al 96 %. A cada tubo se añaden 10 ml de solución etanólica de DPPH (0.1 mM), se agitan 30 s en vortex y se dejan reposar en oscuridad durante 50 min a temperatura ambiente. La absorbancia se mide a 517 nm, generándose una curva de calibración de Trolox ($R^2 = 0,9905$). El $\text{TEAC}_{\text{DPPH}}$ (mg equivalentes de Trolox (TE)/100 g de muestra bs) se calcula a partir de la absorbancia de la muestra en relación con la curva de calibración, según la Ecuación 9.

$$\text{TEAC}_{\text{DPPH}} (\text{mg TE}/100 \text{ g bs}) = \frac{0,9502 - \text{Abs extracto hidroalcohólico}}{0,0141} \quad 9$$

2.5.2 ABTS•+

El ensayo de decoloración del catión radical ABTS•⁺ (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)) se realiza de acuerdo a Lingardi et al. (2025) y Liu et al. (2024), con ligeras modificaciones. Se prepara una dispersión con una concentración de 0,0333 g/ml, pesando la cantidad adecuada de proteína y adicionando agua destilada. La dispersión se agita 90 min en un mezclador rotatorio (Biobase, China) a temperatura ambiente. El sobrenadante se centrifuga y se filtra para obtener un extracto proteico. El catión radical ABTS•⁺ se genera reaccionando ABTS (7 mM) con persulfato de potasio en oscuridad durante 24 h a temperatura ambiente. Previo a cada ensayo se prepara una solución fresca de ABTS•⁺, diluyéndola en tampón fosfato (5 mM, pH 7,0) hasta alcanzar una absorbancia de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Una alícuota de 10 µl del extracto proteico se incuba con 990 µl de la solución de ABTS•⁺ durante 6 min, tras lo cual se mide la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent Varian Cary 50, EE. UU.). El porcentaje de ABTS•⁺ se calcula como la diferencia entre la absorbancia inicial (0 min) y la absorbancia tras 6 min de incubación con el extracto, relativa a la absorbancia inicial, según la Ecuación 10.

ABTS actividad de captura de radicales libres (%)

$$= \frac{Abs_{ABTS\ 0\ min} - Abs_{extracto\ 6\ min}}{Abs_{ABTS\ 0\ min}} \cdot 100 \quad 10$$

El mismo procedimiento se aplica utilizando Trolox (2,4 mM) como estándar de referencia, para obtener la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC_{ABTS}). El TEAC_{ABTS} (mg equivalentes de Trolox (TE)/100 g de muestra bs) se calcula como la relación entre la diferencia de absorbancias obtenida con el extracto proteico y la diferencia obtenida con Trolox, según la Ecuación 11.

$$TEAC_{ABTS} \left(mg \frac{TE}{100} g\ bs \right) = \frac{(Abs_{ABTS\ 0\ min} - Abs_{extracto\ 6\ min}) \cdot 2,4}{(Abs_{ABTS\ 0\ min} - Abs_{Trolox\ 6min})} \cdot 100 \quad 11$$

2.6 Calidad proteica**2.6.1 Actividad ureásica**

La actividad ureásica se determina según el método oficial AOCS Ba 9-58 (AOCS, 2017). Se preparan 2 tubos de ensayo con 0,2 g de muestra del producto proteico en cada uno y se agregan 10 ml de solución buffer de urea en un tubo y 10 ml de solución buffer de fosfato en el otro tubo, denominado blanco. Se tapan y se mezclan. Se colocan en un baño de agua a 30 °C. Se mantiene un intervalo de 5 minutos entre la preparación de la muestra y del blanco y no se invierten los tubos durante el mezclado. El contenido de cada tubo se agita cada 5 minutos durante los primeros 15 minutos. Luego de 30 minutos de incubación, los tubos se retiran del baño manteniendo el intervalo de 5 minutos entre ensayo y blanco. Los sobrenadantes se transfieren a vasos de 5 ml y se mide el pH exactamente 5 minutos después de retirarlos del baño. La actividad ureásica (--) se expresa como la diferencia de pH entre la muestra y el blanco.

2.6.2 Electroforesis

Las fracciones proteicas de los productos de arveja se analizan mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). Una suspensión del polvo proteico (conteniendo 1 mg/ml de proteína en base seca según análisis de Kjeldahl) se solubiliza en tampón Tris-HCl 0,025 M y se tiñe con azul Coomassie R-250. El homogeneizado se incuba a temperatura ambiente durante 24 h y luego se centrifuga a 8.000×g durante 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente, una muestra de 20 µg se

deposita en un gel de poliacrilamida al 12 %. El patrón electroforético de las proteínas se determina utilizando una corriente constante de 20 mA por gel. Se emplea un marcador de peso molecular (Inbio Highway, Argentina), compuesto por 10 proteínas pre-teñidas que cubren el rango de pesos moleculares de 10–250 kDa.

2.6.3 Cromatografía

Los perfiles de aminoácidos (excepto triptófano) se determinan siguiendo el método AOAC 2018.06 (AOAC, 2018), con ligeras modificaciones, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector selectivo de masas de triple cuadrupolo (UPLC/MSMS) (Agilent 1260 Infinity/6420, EE. UU.). El contenido de triptófano se determina utilizando el mismo método de derivatización precolumna que en el estándar de referencia, con un paso previo de digestión alcalina. Las composiciones de aminoácidos se expresan en gramos por 100 g de muestra.

2.7 Propiedades funcionales

2.7.1 Solubilidad

La solubilidad se determina de acuerdo con Garcia-Vaquero et al. (2017) y Stone et al. (2015), con ligeras modificaciones. Se prepara una solución proteica al 1 % disolviendo la muestra de producto proteico en agua destilada, y el pH se ajusta a 2, 4,5, 7, 9,5 y 12, utilizando HCl 1N o NaOH 1N. La muestra se centrifuga a 4.000 rpm durante 30 min en una centrífuga de laboratorio (Rolco, Argentina). Se separa 1 g del sobrenadante y se evalúa su contenido proteico según método de Kjeldahl. La solubilidad (S %) se calcula como el contenido de proteína presente en el sobrenadante tras la centrifugación de la solución ajustada a pH, en relación con el contenido proteico de la dispersión completa, tal como se define en la Ecuación 12.

$$S (\%) = \frac{\text{contenido proteico del sobrenadante ajustado a diferentes pH}}{\text{contenido proteico de la dispersión completa}} \cdot 100 \quad 12$$

2.7.2 Capacidad emulsionante y estabilidad de la emulsión

La capacidad emulsionante (EC) y la estabilidad de la emulsión (ES) se determina siguiendo el método de Garcia-Vaquero et al. (2017), con ligeras modificaciones. Se prepara una solución proteica al 1 % disolviendo la muestra de proteína en agua destilada, y el pH se ajusta a 2, 4,5, 7, 9,5 o 12, utilizando HCl 1N o NaOH 1N. Para formar la emulsión, se añaden

7,5 ml de aceite de girasol alto oleico y la mezcla se homogeniza a 14.000 rpm durante 30 s, seguida de 90 s adicionales con otros 7,5 ml de aceite. Posteriormente, la emulsión se centrifuga a 1.100 rpm durante 5 min. La EC (%) se calcula como la relación entre el volumen de la capa emulsionada y el volumen total, según se indica en la Ecuación 13.

$$EC (\%) = \frac{\text{volumen de la capa de emulsión (ml)}}{\text{volumen total (ml)}} \cdot 100 \quad 13$$

Para evaluar la estabilidad de la emulsión, cada emulsión se calienta a 85 °C durante 15 min en un baño termostático (Tecno Dalvo, Argentina), luego se enfría durante 10 min a temperatura ambiente y se centrifuga a 1.100 rpm durante 5 min. La ES (%) se calcula como la relación entre el volumen de la capa emulsionada después del calentamiento y el volumen original de la capa de emulsión, según se indica en la Ecuación 14.

$$ES (\%) = \frac{\text{volumen de la capa de emulsión luego del calentamiento (ml)}}{\text{volumen de la capa de emulsión (ml)}} \cdot 100 \quad 14$$

2.7.3 Capacidad espumante y estabilidad de la espuma a 30 min y a 60 min

La capacidad espumante (FC) y la estabilidad de la espuma (FS) se determinan de acuerdo con Garcia-Vaquero et al. (2017) y Stone et al. (2015), con ligeras modificaciones. Se prepara una solución proteica al 1,5 % disolviendo la muestra de proteína en agua destilada, y el pH se ajusta a 2, 4,5, 7, 9,5 y 12, utilizando HCl 1 N o NaOH 1 N. La mezcla se homogeneiza durante 60 s a 9.000 rpm en un homogeneizador de laboratorio (Labortechnik, Alemania). Posteriormente, se mide el volumen de la capa de espuma. La FC (%) se calcula como la relación entre el volumen de la capa de espuma y el volumen total, según se define en la Ecuación 15.

$$FC (\%) = \frac{\text{volumen de la capa de espuma (ml)}}{\text{volumen total (ml)}} \cdot 100 \quad 15$$

Posteriormente, la mezcla previamente preparada se deja en reposo a temperatura ambiente y se mide el volumen restante de la capa de espuma en tiempos determinados (30, 60 min).

La FS30 y FS60 (%) se calcula como la relación entre el volumen de la capa de espuma después de un tiempo de 30 y 60 min respectivamente y el volumen original de la capa de espuma, según se define en las Ecuaciones 16 y 17.

$$FS30 (\%) = \frac{\text{volumen de la capa de espuma luego de 30 min (ml)}}{\text{volumen de la capa de espuma (ml)}} \cdot 100 \quad 16$$

$$FS60 (\%) = \frac{\text{volumen de la capa de espuma luego de 60 min (ml)}}{\text{volumen de la capa de espuma (ml)}} \cdot 100 \quad 17$$

2.7.4 Capacidad de retención de agua y aceite

La capacidad de retención de agua (WHC) y la capacidad de retención de aceite (OHC) se determinan siguiendo los métodos de Boye et al. (2010), Garcia-Vaquero et al. (2017) y Stone et al. (2015), con ligeras modificaciones. Una muestra (0,5 g) se mezcla en un tubo de centrífuga de 15 ml con agua destilada (3 ml) para WHC o con aceite de girasol alto oleico (3 ml) para OHC, utilizando un vortex (Precytec, Argentina). El pH en cada tubo se ajusta a 2, 4,5, 7, 9,5 y 12 con HCl 1 N o NaOH 1 N, y se mezcla en vortex durante 30 s. Las muestras con pH ajustado se centrifugan a 2.200 rpm durante 30 min en una centrífuga de laboratorio (Rolco, Argentina). El sobrenadante se decanta y el tubo de centrífuga que contiene el sedimento restante se pesa. La WHC y la OHC se calculan según lo definido en las Ecuaciones 18 y 19, respectivamente.

$$WHC = \frac{\text{masa de agua retenida (g)}}{\text{masa de producto proteico (g)}} \quad 18$$

$$OHC = \frac{\text{masa de aceite retenido (g)}}{\text{masa de producto proteico (g)}} \quad 19$$

2.8 Propiedades tecnológicas

2.8.1 Color

El color de los productos proteicos se evalúa utilizando un espectrofotómetro colorímetro (ColorQuest XE, HunterLab, EE. UU.), obteniéndose los valores L*, a* y b* de acuerdo con el

sistema de color CIELab, donde L^* representa la luminosidad y a^* y b^* son coordenadas de cromaticidad ($+a^*$ = rojo, $-a^*$ = verde, $+b^*$ = amarillo, $-b^*$ = azul). Las mediciones se realizan empleando un iluminante D65 y un ángulo de observador estándar de 10° , con reflectancia especular incluida (RSIN). La blancura del producto proteico se determina mediante el Índice de Blancura (WI), calculado a partir de los parámetros de color CIELab (L^* , a^* , b^*) según lo descrito por Wu et al. (2011), conforme a la Ecuación 20.

$$WI_{CIELab}(-) = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad 20$$

2.8.2 Tiempo de humectación

El tiempo de humectación se evalúa siguiendo el método descrito por Hoge Kamp & Schubert (2003), con ligeras modificaciones. Para ello, se colocan 3 g del producto proteico en un compartimento situado sobre 70 ml de agua mantenida a 25°C . Al retirar el separador entre los compartimentos de polvo y líquido, se registra el tiempo que tarda el polvo en desaparecer completamente de la superficie del agua, considerándose este como el tiempo de humectación.

2.8.3 Actividad acuosa

La actividad acuosa de los productos proteicos se determina utilizando un medidor de actividad de agua (Modelo 4TE, Aqualab, EE. UU.). El equipo se calibra previamente con soluciones salinas estándar que cubren un rango de valores de actividad acuosa entre 0,11 a 0,75, y las mediciones se realizan mediante lectura directa de la muestra.

2.8.4 Fluidez y cohesividad

La fluidez de los productos proteicos se evalúa mediante el Índice de Carr (CI), calculado a partir de la densidad aparente (ρ_b , g/ml) y la densidad compactada (ρ_t , g/ml), según el procedimiento descrito por Jinapong et al. (2008). El Índice de Carr se determina de acuerdo con la Ecuación 21.

$$CI (\%) = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \cdot 100 \quad 21$$

La interpretación de los valores de CI se realiza siguiendo la clasificación propuesta por Santhalakshmy et al. (2015): valores inferiores a 15 % indican fluidez muy buena; entre 15–20 % corresponden a buena fluidez; entre 20–35 % reflejan fluidez regular; entre 35–45 % indican fluidez deficiente; y valores superiores a 45 % se asocian con fluidez muy deficiente.

La cohesividad de los productos proteicos se evalúa mediante el Índice de Hausner (HI), obtenido de la relación entre la densidad compactada (ρ_t , g/ml) y la densidad aparente (ρ_b , g/ml), siguiendo el procedimiento de Jinapong et al. (2008). El cálculo del Índice de Hausner se realiza según la Ecuación 22.

$$HI (-) = \frac{\rho_t}{\rho_b} \quad 22$$

La clasificación de la cohesividad de los polvos se establece de acuerdo con Santhalakshmy et al. (2015): valores inferiores a 1,2 indican baja cohesividad; entre 1,2 y 1,4 corresponden a cohesividad moderada; y valores superiores a 1,4 reflejan alta cohesividad.

La densidad aparente (ρ_b), definida como la masa por unidad de volumen incluyendo los espacios interparticulares, se determina transfiriendo 40 g de muestra de producto proteico en una probeta graduada de 100 ml. El volumen ocupado se registra y se utiliza para calcular la densidad aparente. La densidad compactada (ρ_t) se mide golpeando la probeta durante 5 min a una frecuencia de 250 golpes/min en un equipo de compactación (Tap-2S, Logan, China), siguiendo el Método II de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP, 2012). El volumen final tras la compactación se registra y se emplea para calcular la densidad compactada.

2.8.5 Granulometría

La distribución del tamaño de partículas de los productos proteicos se determina utilizando un analizador de tamaño de partícula por difracción láser (S3 Plus BT-803, Bettersize Instruments, China), empleando etanol absoluto (99,5 %) como medio dispersante a 25 °C. Los resultados se expresan como percentiles D10, D50 y D90, que corresponden a los diámetros de partícula (en μm) por debajo de los cuales se distribuyen el 10 %, 50 % y 90 % del volumen de la muestra, respectivamente.

2.8.6 Densidad de partícula

La densidad real de las muestras de productos proteicos se mide a 25 °C utilizando un picnómetro de gas nitrógeno (AD200, ACP Instruments, Brasil). La determinación se basa en la variación de presión del nitrógeno dentro de una cámara calibrada. La masa de la muestra se determina en una balanza analítica y se ingresa manualmente en el equipo, el cual calcula automáticamente la densidad real a partir de los cambios de presión registrados y el volumen de la muestra.

2.9 Etapas de procesamiento para la recuperación proteica

2.9.1 Acondicionamiento de las arvejas

Las arvejas se molieron a temperatura ambiente utilizando un molino de laboratorio (Bühler, Alemania). Posteriormente se tamizaron mediante tamices estándar ASTM para conseguir una fracción denominada media, comprendida por el tamaño de partícula correspondiente a aquel que pasara por un tamiz de malla número 25 (710 µm) y fuera retenido por un tamiz de malla número 100 (150 µm).

También se separaron y recuperaron las fracciones finas de las arvejas amarillas y verdes, es decir, las partículas que pasaron por el tamiz de número malla 100 (150 µm), para utilizarlas posteriormente como agente encapsulante en la etapa de secado por aspersión.

La fracción gruesa (>710 µm) se sometió nuevamente a proceso de molienda para obtener únicamente fracciones medias y finas. Ambas fracciones fueron envasadas en bolsas herméticas y almacenadas a -18 °C hasta su procesamiento.

2.9.2 Extracción alcalina

La extracción se realizó en un extractor discontinuo con agitación continua (Precylec, Argentina; RW20D S032, Ika, China), en tres ciclos de extracción de 15 min utilizando agua como disolvente. El pH se ajustó a 8,5 o 10 con hidróxido de sodio 1 N a una temperatura constante de 60 °C. En cada ciclo de extracción se utilizaron diferentes combinaciones de proporciones sólido:líquido 1:10 o 1:20 (p/p). Al final de cada ciclo de extracción, se separó el sólido restante de la solución proteica, al comienzo del segundo y tercer ciclo y se añadió agua fresca a 60 °C para ajustar la relación sólido:líquido al valor requerido. Las tres soluciones proteínicas obtenidas en cada ciclo de extracción se combinaron en un pool líquido y se transfirieron a un vaso de precipitados para su posterior precipitación.

2.9.3 Precipitación isoeléctrica

La etapa de precipitación isoeléctrica se lleva a cabo utilizando tres agentes precipitantes alternativos: ácido clorhídrico (HCL), ácido láctico al 85 % (AL) y cultivos liofilizados GRAS de bacterias ácido-lácticas (BAL), incluyendo las cepas *Lactiplantibacillus plantarum* CH6072 y *Lactococcus lactis* SR3.54.

En la primera alternativa, se utiliza ácido clorhídrico 0,1 N para acidificar el pool líquido a 20 °C hasta alcanzar un pH de 4,5. La mezcla resultante se mantiene en refrigeración hasta llegar a 4 °C, lo que facilita la decantación del producto proteico.

En la segunda alternativa, se utiliza ácido láctico al 85 % para acidificar el pool líquido a 20 °C hasta alcanzar un pH de 4,5. La mezcla resultante se mantiene en refrigeración hasta llegar a 4 °C, lo que facilita la decantación del producto proteico.

En la tercera alternativa, la acidificación se realiza con BAL (*Lactiplantibacillus plantarum* y *Lactococcus lactis*) adicionadas en una proporción de 0,003 g/l en el pool líquido, incubando a 35–37 °C durante 18 h en una estufa de laboratorio (002CB, Fanem LTDA, Brasil), hasta alcanzar el punto isoeléctrico. La mezcla se refrigera posteriormente a 4 °C para facilitar la decantación del producto proteico.

2.9.4 Decantación, neutralización y secado por aspersión

El sobrenadante de la mezcla obtenida en la etapa de precipitación isoeléctrica se separa parcialmente por decantación, conservando un volumen suficiente para obtener una suspensión bombeable que pueda alimentarse directamente al secador por aspersión. A continuación, se ajusta el pH a 7 mediante la adición de NaOH 5 N a temperatura ambiente, con agitación durante 1 h. El contenido total de sólidos de las muestras se calcula con una precisión de 0,0001 g utilizando un analizador de humedad (MB-45, OHAUS, Suiza). Para el caso de los productos encapsulados, las fracciones finas de arvejas amarillas y verdes se añaden como agentes encapsulantes a las suspensiones precipitadas de arvejas amarillas y verdes, respectivamente, en una proporción de contenido sólido:encapsulante (p/p) de 1:1. La mezcla se agita de manera continua hasta antes de proceder a su secado.

Cabe señalar que, a diferencia de lo propuesto en diversos estudios (Alonso-Miravalles et al., 2019; Chao & Aluko, 2018; L'Hocine et al., 2006; Sajib et al., 2023; Stone et al., 2015; Vogelsang-O'Dwyer et al., 2020) no se aplica una etapa de lavado del precipitado antes de la neutralización. Esta omisión se fundamenta en resultados previos que muestran mejor solubilización y funcionalidad de los proteinatos de sodio cuando no se realiza un lavado

previo a la neutralización (Owusu-Ansah & Mc curdy, 1991; Paleologo, 2021; Peter, 2018; Qi, 2004) y, además, contribuye a la sostenibilidad del proceso al reducir el consumo de agua.

El secado se realiza en secaderos por aspersión de laboratorio (TP-S15, XI'An Toption Instrument Co., Ltd, China y MSD 1.0, Labmaq, Brasil) con flujo en co-corriente y diámetro de boquilla de 0,5 mm. La suspensión se introduce en la cámara principal con una bomba peristáltica al 15 % del caudal máximo (2 l/h). La temperatura del aire seco se fija en 160 °C, y la temperatura del aire de salida resultante se mide en un valor medio de 54-60 °C. Tras el secado por aspersión, se recoge el polvo del ciclón y se almacena en bolsas herméticas para su posterior análisis.

2.9.5 Fermentación en estado sólido (FES)

El proceso de FES corresponde a una etapa de implementación alternativa previa a la extracción alcalina y precipitación isoeléctrica para algunas variantes de proceso de recuperación proteica. Para dicha etapa, el contenido de humedad de la harina de arveja amarilla se ajusta a aproximadamente 30 % y se inocula con *A. niger* a una concentración de 1×10^7 esporas/g bajo condiciones estériles en una cabina de flujo laminar (Casiba, Argentina). El inóculo de *A. niger* se obtiene mediante replicación en un medio para hongos y levaduras (Britania, Argentina) a 35 °C durante 168 h en una estufa (F.A.L., Argentina), seguido de la recolección de esporas en agua estéril. El recuento de esporas se realiza con una cámara de Neubauer de doble retículo brillante de 0,1 mm (Mariendfield Superior, Alemania). Todos los instrumentos se esterilizan previamente en una autoclave (Roker, Argentina).

El proceso de FES se lleva a cabo en un biorreactor de columna estéril ad hoc, mantenido a 30–40 °C mediante un baño termostático (Tecno Dalvo, Argentina). Un flujo continuo de aire ambiente humidifica por burbujeo en agua y se introduce por la parte inferior de la columna de FES. La fermentación se desarrolla durante distintos intervalos de tiempo: 6 h (FES I), 24 h (FES II), 96 h (FES III) y 168 h (FES IV). Posteriormente, las esporas y enzimas fúngicas se inactivan sometiendo la harina fermentada a 95 °C durante 2 min.

Considerando el compromiso entre el tiempo de fermentación y la concentración proteica, se seleccionan las muestras con el balance más favorable entre ambos parámetros para continuar con el proceso de recuperación de proteínas.

2.9.6 Hidrólisis enzimática (HE)

El proceso de HE corresponde a una etapa de implementación alternativa previa a la extracción alcalina y precipitación isoeléctrica para algunas variantes de proceso de

recuperación proteica. Esta HE se lleva a cabo bajo agitación continua a 850 rpm en una cámara termostática (Mecalor, Brasil) a 64 °C y 80 % de humedad relativa, con el fin de alcanzar una temperatura de reacción de 60 °C. Para cada muestra, se prepara una dispersión con una relación sólido:líquido de 1:10 (p/p) utilizando agua a 60 °C y ajustando el pH a 4,5 mediante la adición de ácido láctico al 85 %, siguiendo las recomendaciones de Rodrigues et al. (2014) y las especificaciones de las hojas técnicas de Endozym AGP120 y Prodooze BG. Posteriormente, se incorporan las soluciones enzimáticas en concentraciones del 3 % (peso de enzima/peso de harina) para Endozym AGP120, de acuerdo con Machida et al. (2022) y Jodayree et al. (2012), y del 1,6 % para Prodooze BG, conforme a su hoja técnica. La hidrólisis se desarrolla durante distintos intervalos de tiempo: 1 h (HE I), 2 h (HE II), 3 h (HE III) y 6 h (HE IV). Cada muestra se centrifuga para separar la fracción sólida de la líquida, y las harinas hidrolizadas se caracterizan en cuanto a su composición química.

Considerando el compromiso entre el tiempo de hidrólisis y la concentración proteica, se selecciona la muestra con el balance más favorable entre ambos parámetros para continuar con el proceso de recuperación de proteínas.

2.10 Indicadores de performance del proceso de recuperación proteica

2.10.1 Eficiencia de recuperación proteica

La eficiencia de recuperación de proteínas Y_T (% bs) se calcula como la cantidad de proteína en el producto por kilogramo de proteína en la harina, según se define en la Ecuación 23.

$$Y_T = \frac{\text{masa de proteina del producto final (kg bs)}}{\text{masa de proteina de la harina (kg bs)}} \quad 23$$

2.10.2 Productividad

La productividad de cada proceso de recuperación de proteínas P_T (kg producto bs/kg harina bs) se calcula como la cantidad de producto obtenido por kilogramo de harina, según se define en las Ecuaciones 24 y 25. La masa de encapsulante sólo debe considerarse en los productos que se usó esta fracción como agente encapsulante en el proceso de secado por aspersión.

$$P_{T1} = \frac{\text{masa del producto antes del secado (kg bs)}}{\text{masa de la harina (kg bs) + masa de encapsulante (kg bs)}} \quad 24$$

$$P_{T2} = \frac{\text{masa del producto secado por aspersión (kg bs)}}{\text{masa de la harina (kg bs)} + \text{masa de encapsulante (kg bs)}} \quad 25$$

2.10.3 Consumo específico de agua

El consumo específico de agua G_w (kg agua/kg producto final bs) se calcula como el agua consumida para obtener un kilogramo del producto, como se define en las Ecuaciones 26 y 27.

$$G_{w1} = \frac{\text{masa de agua consumida (kg agua)}}{\text{masa del producto antes del secado (kg bs)}} \quad 26$$

$$G_{w2} = \frac{\text{masa de agua consumida (kg agua)}}{\text{masa del producto secado por aspersión (kg bs)}} \quad 27$$

2.10.4 Rendimiento de secado

El rendimiento de secado Y_D (% bs) se calcula como la cantidad de producto en polvo recogido del ciclón, por kilogramo de producto proteínico húmedo más agente encapsulante, tal como se define en la Ecuación 28.

$$Y_D = \frac{\text{masa de polvo secado (kg bs)}}{\text{masa de producto proteico humedo (kg bs)} + \text{masa de encapsulante (kg bs)}} \quad 28$$

2.11 Indicadores económicos y financieros del proyecto de inversión

La factibilidad del proyecto se evalúa mediante un análisis económico-financiero comparativo de las cinco alternativas de proceso seleccionadas, con el objetivo de identificar aquellas que presenten una mayor rentabilidad y viabilidad económica. Para cada alternativa, se estiman los ingresos esperados, los costos asociados y la inversión requerida, y se calculan luego indicadores clave como el Valor Actual Neto (VAN), la Tasa Interna de Retorno (TIR), el Periodo de Recupero de Capital (PRC), el precio de equilibrio y el costo unitario de producción. Este enfoque permite establecer comparaciones objetivas entre las diferentes opciones tecnológicas y determinar cuáles ofrecen un desempeño económico favorable bajo condiciones de mercado.

2.11.1 Ingresos, costos y utilidades

Los ingresos representan el monto total de dinero que el proyecto espera recibir por la venta del producto final, calculado a partir del volumen de producción anual y el precio de venta unitario.

Los costos representan el conjunto de erogaciones necesarias para ejecutar el proceso productivo, e incluyen materias primas, insumos, sueldos y servicios calculados a valores de mercado, así como otros costos estimados en función de su incidencia en el proyecto: mitigación de impacto ambiental (25 % del costo de materias primas e insumos), mantenimiento (15 % del costo de materias primas e insumos), comercialización (25 % del costo de materias primas e insumos), y depreciación de activos (20 % del capital fijo) (Jiménez Gutiérrez, 2021; Ray & Sneesby, 2020).

La utilidad se define como la diferencia entre los ingresos totales y el conjunto de los costos operativos y fijos, una vez deducido el impuesto sobre los ingresos brutos, que para determinadas actividades en la Provincia de Santa Fe está fijado en 1,5 % según el Art. 6, inc. c) de la Ley Impositiva Anual N.º 3650 y sus modificatorias.

2.11.2 Inversión de capital

La inversión de capital contempla el conjunto de recursos económicos requeridos para la adquisición e instalación de los bienes de uso necesarios para la puesta en marcha del proyecto. Esta inversión incluye el capital fijo estimado a partir del costo específico de los equipos principales determinado en función del proceso productivo seleccionado, al que se adiciona un 5 % por equipamiento auxiliar, un 5 % por el sistema de limpieza Clean-in-Place (CIP), un 43 % en concepto de instalación, un 10 % destinado a tuberías, líneas y conexiones, un 15 % por construcciones civiles, y un 10 % adicional para cubrir posibles contingencias. Además, incluye el capital de trabajo que se estima en un 10% del capital fijo (Jiménez Gutiérrez, 2021; Ray & Sneesby, 2020).

2.11.3 Valor actual neto (VAN)

El VAN es el valor actual de los flujos de fondos netos generados por el proyecto, descontados a una tasa adecuada. Un VAN positivo indica que el proyecto genera valor económico y es, por ende, viable. Se calcula según la Ecuación 29.

$$VAN(USD) = \sum_{t=1}^n \frac{F_t}{(1+i)^t} - I_0 \quad 29$$

La tasa de descuento se estimó integrando tres componentes. En primer lugar, se consideró un rendimiento base del 4,2 % correspondiente al de los bonos del Tesoro estadounidense (al 04 de agosto de 2025), utilizado como indicador del costo de capital libre de riesgo. A este valor se le sumó una prima de riesgo país del 7,6 % (al 04 de agosto de 2025), que refleja el contexto económico argentino y su impacto sobre las inversiones productivas. La suma de ambos factores, que da un total del 11,8 %, fue posteriormente ajustada por un multiplicador de riesgo tecnológico de 1,535. Este coeficiente surge del promedio de los valores asignados a los niveles “Alto” (1,32) y “Muy alto” (1,75) en la escala COSYSMO (Constructive Systems Engineering Cost Model), aplicada a proyectos con tecnologías en etapa piloto (Valerdi & Ron J. K., 2004). Como resultado, se obtuvo una tasa de descuento del 18,11 %, que fue aplicada al cálculo del Valor Actual Neto (VAN) de cada alternativa, representando así una aproximación al costo de capital ajustado por riesgo en proyectos innovadores con base tecnológica.

2.11.4 Tasa interna de retorno (TIR)

La TIR es un indicador relevante para estimar la rentabilidad esperada pero el criterio decisivo para aceptar un proyecto es que su VAN sea positivo. La TIR puede presentar limitaciones en algunos escenarios, mientras que el VAN permite comparar de manera más efectiva múltiples opciones de inversión.

2.11.5 Periodo de recupero de capital (PRC)

El PRC indica el tiempo necesario para recuperar la inversión inicial a partir de los flujos de caja netos generados por el proyecto. Un PRC corto suele asociarse a proyectos menos riesgosos.

2.11.6 Precio de equilibrio (PE)

Se define como el precio mínimo de venta del producto que permite cubrir todos los costos operativos, sin generar utilidad ni pérdida. Permite estimar la viabilidad del proyecto en condiciones conservadoras y es útil para establecer límites inferiores en escenarios de incertidumbre de mercado.

2.11.7 Costo unitario (CU)

El costo unitario representa el valor monetario total expresado en USD de los recursos necesarios para producir una unidad de producto expresada en kg, considerando tanto los costos de operación como la amortización de la inversión de capital. Este indicador integra los costos operativos anuales y la depreciación del capital invertido, distribuida a lo largo de 10 años que representan la vida útil del proyecto. Su determinación permite evaluar la eficiencia económica del proceso y compararla con el precio de venta para establecer la rentabilidad. Se calcula según la Ecuación 30.

$$CU \text{ (USD/kg)} = \frac{\left[(\text{Inversión de capital}) \frac{i(i+1)^n}{(i+1)^n} + \text{Costo total} \right]}{\text{Producción anual}} \quad 30$$

2.12 Análisis estadístico

Los resultados se presentan como el valor medio de cuatro mediciones experimentales, con su correspondiente desviación estándar. Se utilizan análisis de varianza de uno, dos y tres factores (ANOVA) para evaluar los resultados experimentales. Las diferencias significativas entre los valores se determinan para un valor de significancia del 95% ($p < 0,05$), según lo indicado por las pruebas post-hoc de Tukey. Los análisis estadísticos se realizan en el software R-4.3.2.

Capítulo 3

EVALUACIÓN DE PROCESOS DE RECUPERACIÓN PROTEICA SIN PRETRATAMIENTOS A PARTIR DE ARVEJAS: INDICADORES DE PERFORMANCE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS

3.1 Caracterización de las diferentes harinas de arvejas

La caracterización química de las harinas utilizadas como materia prima constituye un paso fundamental para comprender su comportamiento durante el proceso de recuperación proteica. Las diferencias en la composición proximal pueden influir en la eficiencia de extracción, en la solubilidad de las fracciones y en la funcionalidad de los productos obtenidos. La Tabla 1 presenta la composición química de las distintas harinas de arvejas empleadas en este estudio, incluyendo muestras de arveja amarilla pre-comercial, arveja amarilla comercial y arveja verde comercial.

Tabla 1. Composición química de las harinas utilizadas para el proceso de recuperación proteica

Muestra	Proteína	Carbohidratos	Lípidos	Cenizas	Humedad
	% bs	% bs	% bs	% bs	% bh
Harina de arveja amarilla pre-comercial (AP)	24,85 ± 0,63 b	70,44 ± 1,68 a	1,82 ± 0,89 a	2,89 ± 0,07 b	9,77 ± 1,50 a
Harina de arveja amarilla comercial (AC)	24,87 ± 0,05 ab	69,35 ± 0,05 a	2,16 ± 0,02 a	3,61 ± 0,00 a	12,60 ± 0,00 a
Harina de arveja verde comercial (VC)	26,46 ± 0,19 a	67,94 ± 0,33 a	2,53 ± 0,06 a	3,05 ± 0,07 b	10,49 ± 0,00 a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

El contenido proteico determinado en las harinas utilizadas en este estudio se encuentra dentro del rango reportado para diferentes variedades de arveja. Diversos autores han señalado que la composición proteica de las semillas de *Pisum sativum* L. varía ampliamente según el cultivar, las condiciones de cultivo y el origen geográfico, con valores comprendidos entre aproximadamente 12 % y 33 % en base seca (Chen et al., 2023; Emkani et al., 2022; Fraś et al., 2024; Gultekin Subasi et al., 2024; Kotlarz et al., 2011; Mohammed et al., 2018; Thavarajah et al., 2023; Winther et al., 2023). En este contexto, los valores obtenidos en las

harinas analizadas entre 24,85 % y 26,46 % de proteína se ubican en el rango superior de lo informado por la literatura.

En conjunto, estos resultados evidencian que las harinas presentan una composición y condiciones favorables para su aplicación en procesos de recuperación y concentración de proteínas. En la Figura 2, se muestran las harinas amarillas y verdes utilizadas y se previsualizan los polvos proteicos obtenidos a partir de ellas.



Figura 2. Foto de harinas amarillas y verdes y polvos proteicos obtenidos en el proceso de recuperación proteica

3.2 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes pH de extracción alcalina y agentes precipitantes

El proceso de obtención de proteínas a partir de arvejas se basa en etapas de extracción alcalina, precipitación isoelectrica y secado, que permiten aislar la fracción proteica en forma de polvo. La Figura 3 presenta de manera esquemática el diagrama general del proceso aplicado.

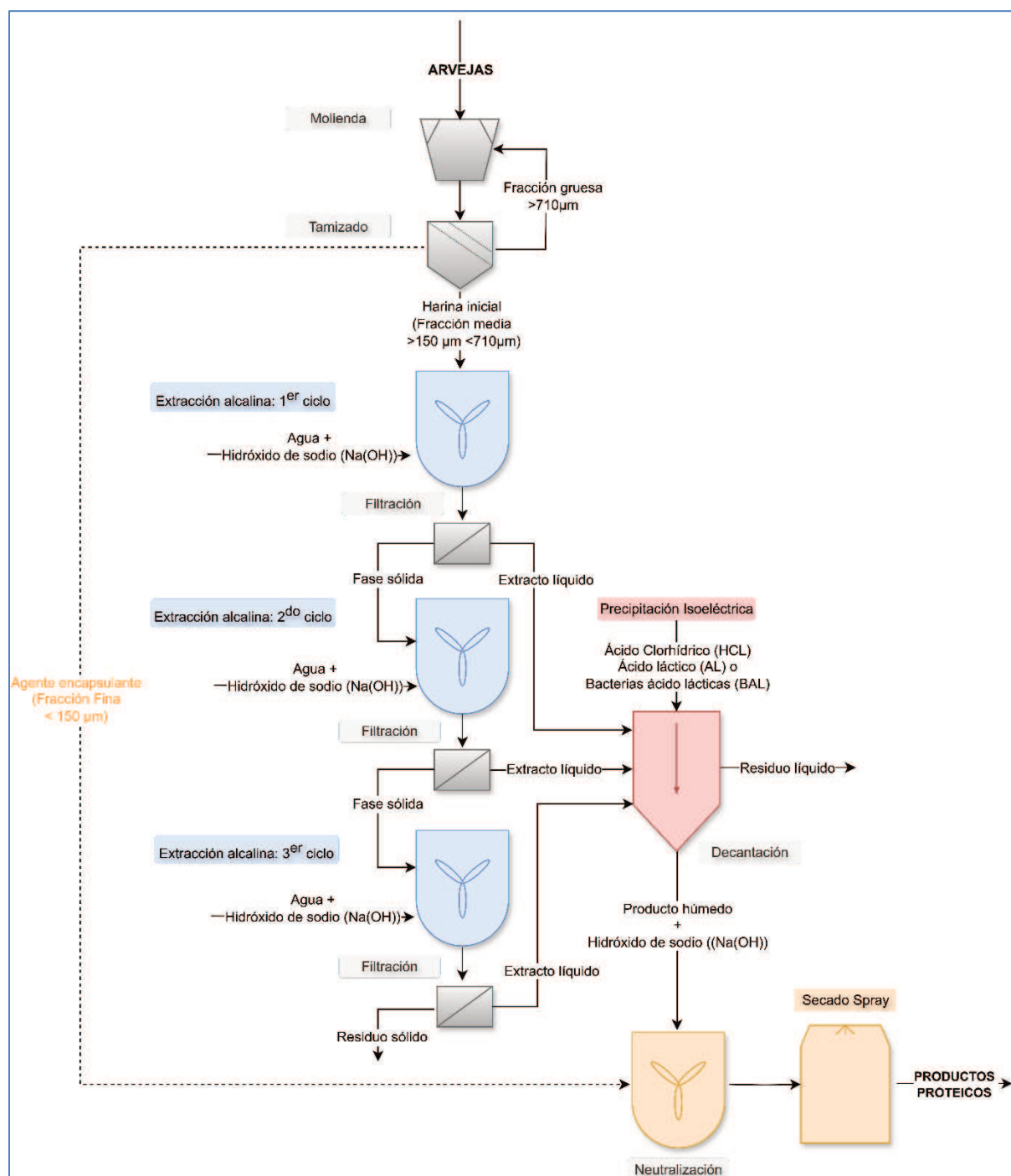


Figura 3. Proceso de recuperación proteica sin pretratamiento para diferentes condiciones de extracción, precipitación y secado

En este caso, se procesa arveja amarilla (*Pisum sativum* L.) pre-comercial según el esquema de la Figura 3. El procedimiento comprende el acondicionamiento inicial de la materia prima, extracción alcalina en una relación sólido:líquido fija y para diferentes valores de pH, precipitación isoelectrica con diferentes agentes precipitantes, y secado por aspersión. Las condiciones operativas específicas utilizadas en cada etapa del proceso se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación de diferentes pH de extracción alcalina

Parámetro operativo	Valor
Materia prima	Arveja pre-comercial (AP)
ACONDICIONAMIENTO	
Fración para extracción (μm)	150 – 710 (media)
EXTRACCIÓN ALCALINA	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	60
Número de ciclos (-)	3
Tiempo por ciclo (min)	15
Relación sólido:liquido (p/p)	1:10
pH (-)	8,5 10
Velocidad de agitación (rpm)	300
PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA	
pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
Agente precipitante	Ácido clorhídrico (HCL) Ácido láctico (AL) Bacterias ácido-lácticas (BAL)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	4 (para HCL y AL) 37,5 (para BAL)
NEUTRALIZACIÓN	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	20
pH (-)	7
Velocidad de agitación (rpm)	300
SECADO POR ASPERSIÓN	
Temperatura de entrada del aire ($^{\circ}\text{C}$)	160
Temperatura de salida del aire ($^{\circ}\text{C}$)	60
Caudal (l/h)	0,3
Diámetro de la boquilla (mm)	0,5

3.2.1 Resultados y discusión: Indicadores de proceso

La Tabla 3 presenta la performance del proceso de recuperación de proteínas a partir de arveja amarilla pre-comercial para corridas experimentales que emplean pH 8,5 o 10 en la extracción alcalina, y ácido clorhídrico (HCL), ácido láctico grado alimentario (AL) o bacterias

ácido-lácticas (LAB) como agentes precipitantes en la precipitación isoelectrica. Se observan rendimientos de recuperación proteica similares ($p > 0,05$) para ambos valores de pH y para cada agente precipitante. Además, un pH más alto en la etapa de extracción alcalina permite obtener mayor cantidad de producto proteico final por kilogramo de harina ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) y, en consecuencia, reduce el consumo específico de agua por kilogramo de producto ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores). No obstante, el contenido de proteína del producto final resulta significativamente menor ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) cuando se emplea el pH más alto.

Tabla 3. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes valores de pH en la etapa de extracción alcalina

Muestra	Precipitante	Contenido de proteínas	Rendimiento de recuperación proteica, Y_T	Productividad, P_{T1}	Consumo específico de agua, G_{w1}
		% bs	% bs	kg producto bs/kg harina bs	kg agua/kg producto final bs
Producto proteico de arveja amarilla (AP) extraído a pH 8,5	HCL	74,88 ± 2,90	66,76 ± 7,80	0,23 ± 0,03	146,1 ± 22,70
		a	a	c	a
	AL	65,68 ± 5,19	66,19 ± 5,77	0,26 ± 0,04	129,0 ± 21,40
		ab	a	c	ab
	BAL	49,25 ± 7,52	66,93 ± 0,63	0,36 ± 0,05	94,9 ± 13,60
		bc	a	bc	abc
Producto proteico de arveja amarilla (AP) extraído a pH 10	HCL	37,64 ± 3,7	68,10 ± 1,93	0,48 ± 0,06	71,5 ± 9,06
		c	a	ab	bc
	AL	36,43 ± 3,51	71,96 ± 2,48	0,52 ± 0,03	65,3 ± 4,04
		c	a	ab	c
	BAL	32,58 ± 0,00	66,25 ± 3,66	0,53 ± 0,02	63,6 ± 3,54
		c	a	a	c

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

En la literatura, Tanger et al. (2020) reportaron concentraciones de proteína >70 % bs para extracciones alcalinas a pH 9,5 y 7, aunque con rendimientos de extracción más bajos (46–50 %). Gao et al. (2020) no observaron diferencias significativas en el contenido proteico entre pH 8,5, 9 y 9,5, pero sí un aumento del 8 % en la recuperación al pasar de pH 8,5 a 9,5. Para tres cultivares de arveja, Stone et al. (2015) tampoco encontraron diferencias significativas en el contenido proteico entre pH 8,5, 9 y 9,5 (83,3–86,9 %), mientras que la recuperación se

incrementó un 8 % cuando el valor de pH aumentaba de 8,5 a 9,5. La discrepancia en contenido proteico respecto de este estudio podría atribuirse a los pretratamientos empleados por Stone et al. (2015), que incluyeron descascarado y desgrasado previo a la extracción alcalina (tres ciclos con hexano, con una relación sólido:líquido de 1:3 p/v). En la misma línea, Cui et al. (2020) no encontraron efecto del pH (8,5 y 10) durante la extracción alcalina sobre el contenido proteico final en cuatro cultivares de arveja amarilla.

Por lo tanto, se selecciona pH 8,5 para el resto de las corridas experimentales, priorizando un producto con mayor contenido proteico (de mayor valor de mercado) mediante un proceso con mayor recuperación proteica esperada.

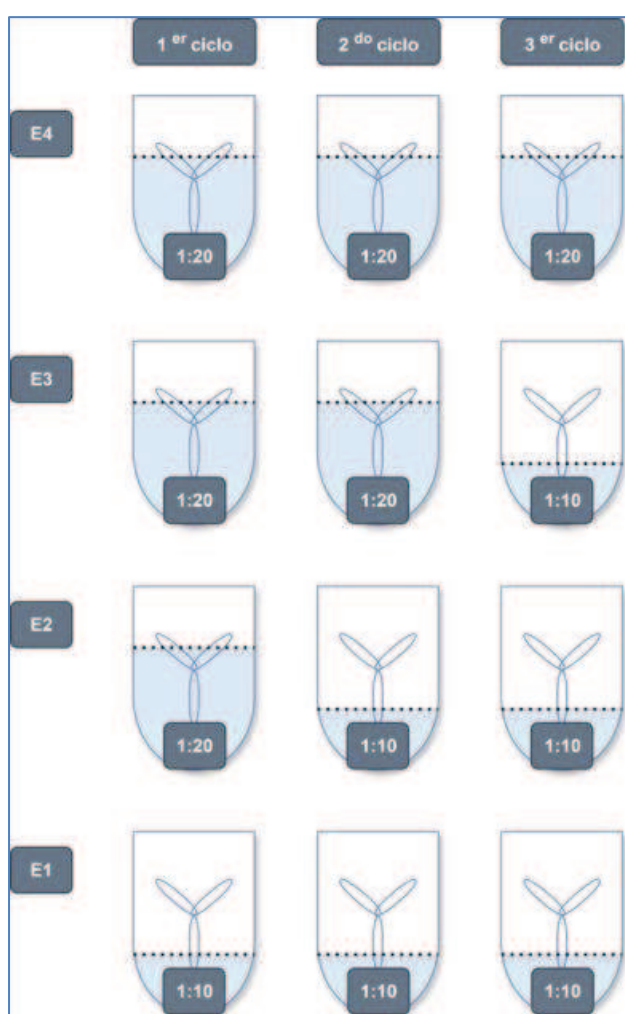


Figura 4. Combinación de las relaciones sólido:líquido (p/p) utilizadas en cada ciclo de extracción alcalina

3.3 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes de relaciones sólido:líquido de extracción alcalina y agentes precipitantes

Se procesa arveja amarilla (*Pisum sativum* L.) pre-comercial según el esquema de la Figura 3. El procedimiento comprende el acondicionamiento inicial de la materia prima, extracción alcalina para un valor fijo de pH y diferentes combinaciones de relación sólido:líquido según la Tabla 4, precipitación isoelectrica con diferentes agentes precipitantes, y secado por aspersión. Las condiciones operativas específicas utilizadas en cada etapa del proceso se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación de diferentes relaciones sólido:líquido de extracción alcalina

Parámetro operativo	Valor
Materia prima	Arveja pre-comercial (AP)
ACONDICIONAMIENTO	
Fracción para extracción (μm)	150 – 710 (media)
EXTRACCIÓN ALCALINA	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	60
Número de ciclos (-)	3
Tiempo por ciclo (min)	15
Relación sólido:líquido (p/p)	Según Figura 4 (E1- E2 -E3- E4)
pH (-)	8,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA	
pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
Agente precipitante	Ácido clorhídrico (HCL) Ácido láctico (AL) Bacterias ácido-lácticas (BAL)
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	4 (para HCL y AL) 37,5 (para BAL)
NEUTRALIZACIÓN	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	20
pH (-)	7
Velocidad de agitación (rpm)	300

SECADO POR ASPERSIÓN

Temperatura de entrada del aire (°C)	160
Temperatura de salida del aire (°C)	60
Caudal (l/h)	0,3
Diámetro de la boquilla (mm)	0,5

3.3.1 Resultados y discusión: Indicadores de proceso

La Tabla 5 presenta el contenido de proteína, el rendimiento de recuperación proteica, la productividad y el consumo específico de agua para las distintas alternativas del proceso de recuperación de proteínas a partir de arveja amarilla pre-comercial, que incluyen cuatro combinaciones de relaciones sólido:líquido en cada uno de los tres ciclos de la extracción alcalina, y tres agentes precipitantes en la precipitación isoeléctrica. No se observan diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido proteico del producto final ni en el rendimiento del proceso al comparar diferentes relaciones sólido:líquido o agentes precipitantes.

Tabla 5. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes relaciones sólido:líquido en la etapa de extracción alcalina

Muestra	Precipitante	Contenido de proteína	Rendimiento de recuperación proteica, Y_T	Productividad, P_{T1}	Consumo específico de agua, G_{w1}
		% bs	% bs	kg producto bs/kg harina bs	kg agua/kg producto final bs
Producto proteico de arveja amarilla (AP) extraído según E1	HCL	74,88 ± 2,90	66,76 ± 7,80	0,23 ± 0,03	146,1 ± 22,7
		a	a	b	cde
	AL	65,68 ± 5,19	66,19 ± 5,77	0,26 ± 0,04	129,0 ± 21,4
		a	a	ab	de
	BAL	49,25 ± 7,52	66,93 ± 0,63	0,36 ± 0,05	94,9 ± 13,6
		a	a	a	e
Producto proteico de arveja amarilla (AP)	HCL	74,86 ± 5,40	70,37 ± 7,35	0,24 ± 0,01	183,4 ± 5,9
		a	a	ab	bcd
	AL	69,32 ± 7,45	69,18 ± 0,78	0,26 ± 0,03	172,6 ± 20,5
		a	a	ab	bcde

extraído según E2	BAL	69,13 ± 3,82	68,07 ± 7,48	0,25 ± 0,01	175,4 ± 9,6
		a	a	ab	bcde
Producto proteico de arveja amarilla (AP)	HCL	75,93 ± 10,51	69,4 ± 4,14	0,24 ± 0,01	234,8 ± 18,6
		a	a	ab	ab
extraído según E3	AL	70,11 ± 6,91	63,01 ± 9,62	0,23 ± 0,01	240,4 ± 13,1
		a	a	b	ab
Producto proteico de arveja amarilla (AP)	BAL	69,67 ± 8,45	64,78 ± 9,52	0,24 ± 0,00	231,8 ± 6,0
		a	a	ab	abc
extraído según E4	HCL	70,18 ± 6,59	65,81 ± 0,19	0,24 ± 0,02	275,4 ± 26,7
		a	a	ab	a
Producto proteico de arveja amarilla (AP)	AL	69,29 ± 9,41	64,59 ± 1,20	0,24 ± 0,03	277,4 ± 42,8
		a	a	ab	a
extraído según E4	BAL	58,95 ± 10,78	59,38 ± 3,04	0,26 ± 0,03	255,4 ± 33,8
		a	a	ab	ab

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

La estrategia de extracción implementada, con adición de agua fresca en cada ciclo, simula un efecto de extracción en contracorriente continua, lo que mejora el rendimiento de recuperación respecto del proceso estándar con uno o dos ciclos (Accoroni et al., 2020), ya que la incorporación de solvente fresco aumenta la fuerza impulsora para extraer proteínas solubles (Sunley, 1995). Se observa mayor productividad cuando el proceso de extracción consiste en tres ciclos 1:10 (p/p) y se emplean bacterias ácido-lácticas como precipitante; y no se detectan otras diferencias significativas ($p > 0,05$) en la productividad en función de la relación sólido:líquido o del precipitante.

Como señalaron Rezvani et al. (2017) y Kaleda et al. (2025), las bacterias ácido-lácticas (BAL) producen ácido láctico como producto final de la fermentación, contribuyendo a la acidificación necesaria para el proceso de recuperación proteica. No obstante, la producción real de ácido láctico puede diferir de las predicciones teóricas debido a la variabilidad de cepas, las condiciones ambientales (pH, temperatura y oxígeno) y la disponibilidad de nutrientes (composición de fuentes de carbono y nitrógeno). En este estudio, la acidificación del pool líquido de 1.000 ml en la precipitación isoeléctrica requiere 6–18 ml de HCl 1 N cuando se usa este precipitante, mientras que solo 0,8–1,9 ml de ácido láctico 85 % (grado alimentario) son

necesarios en condiciones operativas similares. Por otra parte, cuando se desciende el pH a 4,5 con BAL, la masa inicial de BAL agregada para bajar el pH es de 3 mg, mientras que se obtienen 25–27 g de producto proteico por litro de pool en las diferentes corridas. En base a datos experimentales reportados obtenidos de modelos cinéticos de crecimiento (Kaleda et al., 2025; Rezvani et al., 2017), se estima que la biomasa bacteriana puede duplicarse al cabo de 10 h de fermentación; por lo que la biomasa bacteriana en el precipitado final representa una fracción muy pequeña y no debería afectar por sí misma las características y propiedades de los productos proteicos. Además, Emkani et al. (2021) mostraron que las bacterias ácido lácticas pueden reducir el pH a 4,8 durante la precipitación isoeléctrica de proteínas de arveja cuando la extracción alcalina se fija en un valor de pH de 7,5 (durante 6–10 h). En el presente trabajo de tesis, se alcanza una disminución similar del pH en un tiempo un poco mayor ya que se parte de un pH inicial mayor.

Por otro lado, se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en el consumo específico de agua del proceso. En términos generales, las alternativas con tres ciclos con relaciones de extracción 1:10 (p/p) y BAL como precipitante utilizan menos agua por kilogramo de producto proteico obtenido. El desempeño del proceso de recuperación de proteínas desde diferentes matrices ha sido discutido previamente. De este modo, Rosenthal et al. (1998) encontraron que el rendimiento de extracción de proteína de soja disminuye al aumentar la relación sólido:líquido usando un ciclo de extracción; en cambio, la reseña de Sari et al. (2015) de diferentes legumbres y la investigación de Sunley (1995) en las proteínas de la soja con diferentes ciclos de extracción reportaron mayores rendimientos para relaciones más altas, con un máximo para relaciones superiores a 1:40 (aunque sin diferencias significativas). Shen et al. (2008) también informaron mayores recuperaciones para proteínas de té con extracción enzimática y relaciones superiores a 1:35. Los resultados aquí obtenidos para arveja amarilla indican que no se requieren volúmenes mayores de agua para lograr un mejor desempeño de recuperación.

En este contexto, el ácido láctico y las bacterias ácido-lácticas surgen como sustitutos adecuados del ácido clorhídrico, por ser más amigables con el ambiente, derivados de fuentes naturales y no generar subproductos peligrosos (Alhamad et al., 2020). Para el caso del uso de bacterias ácido-lácticas la literatura muestra que la fermentación altera la química y la microbiología del sistema (Abdul Manan & Webb, 2017) y escalar procesos requiere definir y controlar temperatura, humedad, pH y aireación (Garrido-Galand et al., 2021) además de que, en contextos de países en desarrollo, las limitaciones de infraestructura y la obsolescencia tecnológica generan brechas frente a los avances globales de industrialización (Holzapfel, 2002).

Con base en los resultados experimentales de productividad y consumo de agua, la metodología propuesta podría implementarse con mayor facilidad a escala mediana para obtener un producto proteico grado alimentario, constituyendo una estrategia de agregado de valor y desarrollo para el sector agroindustrial argentino. No obstante, su adopción a escalas mayores requerirá los correspondientes estudios de factibilidad y costos.

3.3.2 Resultados y discusión: Propiedades funcionales

Para evaluar las propiedades funcionales, capacidad antioxidante y calidad proteica de los productos proteicos obtenidos a partir de arveja amarilla pre-comercial, se adoptaron en la etapa de extracción alcalina: tres ciclos de extracción de 15 min utilizando agua como disolvente con una proporción sólido:líquido de 1:10 (p/p) y un valor de pH de 8,5, correspondientes a la corrida experimental codificada como E1. La etapa de precipitación isoelectrica se realizó utilizando ácido clorhídrico (HCL), ácido láctico (AL) o bacterias ácido-lácticas (LAB). Los demás parámetros del proceso de recuperación de proteínas se mantuvieron en los valores indicados anteriormente en la Tabla 4.

La Tabla 6 y Tabla 7 presentan los valores experimentales de las propiedades funcionales de los productos proteicos obtenidos a partir de arveja amarilla pre-comercial. Se determinan la solubilidad, capacidad emulsionante, estabilidad de la emulsión, capacidad espumante, estabilidad de la espuma, capacidad de retención de agua y de aceite a cinco valores de pH (2, 4,5, 7, 9,5 y 12). Este abordaje permite valorar el comportamiento funcional de las proteínas bajo diferentes escenarios tecnológicos (ácidos, neutros y alcalinos), y anticipar su desempeño en diferentes aplicaciones industriales como bebidas, sustitutos cárnicos, aderezos, entre otros.

Tabla 6. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos

Muestra	pH	Solubilidad, S	Capacidad emulsionante, EC	Estabilidad de la emulsión, ES	Capacidad espumante, FC
		%	%	%	%
Producto proteico de arveja amarilla	2	60,35 ± 2,94	65,97 ± 6,26	98,43 ± 2,20	185,29 ± 20,80
		d	a	a	ab

(AP) precipitado con HCL	4,5	8,42 ± 0,00 f	ND	ND	123,45 ± 16,53 cde
	7	44,77 ± 1,40 e	70,20 ± 0,28 a	79,68 ± 4,32 a	203,24 ± 37,85 abcd
	9,5	65,42 ± 1,77 cd	70,33 ± 0,47 a	94,37 ± 7,96 a	181,89 ± 2,68 a
	12	68,57 ± 1,20 cd	45,27 ± 5,10 a	83,40 ± 2,24 a	87,36 ± 1,24 e
	2	91,64 ± 4,18 ab	43,38 ± 9,37 ab	96,70 ± 4,65 a	135,45 ± 8,09 bcde
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	4,5	14,62 ± 0,00 f	ND	ND	137,68 ± 31,15 bcde
	7	71,30 ± 2,35 cd	66,76 ± 11,92 a	63,66 ± 0,03 a	163,43 ± 1,08 abcd
	9,5	79,11 ± 10,17 bc	79,13 ± 17,63 a	98,44 ± 2,21 a	178,68 ± 5,20 abc
	12	90,32 ± 5,11 ab	76,26 ± 11,43 a	95,46 ± 6,41 a	143,32 ± 11,35 abcde
	2	96,72 ± 3,34 a	63,60 ± 3,39 ab	95,00 ± 1,51 a	168,58 ± 9,19 abcd
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	4,5	11,61 ± 0,00 f	76,66 ± 9,42 a	89,97 ± 14,19 a	131,76 ± 25,79 abcd
	7	13,75 ± 2,78 f	75,11 ± 1,94 a	86,08 ± 15,75 a	109,94 ± 2,59 de

9,5	94,53 ± 3,26 a	73,16 ± 12,13 a	100,00 ± 0,00 a	137,92 ± 3,71 bcde
12	94,00 ± 3,25 a	66,62 ± 7,60 a	86,70 ± 18,81 a	112,16 ± 17,20 de

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detecta actividad.

Tabla 7. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos

Muestra	pH	Estabilidad de la espuma a 30 min, FS30	Estabilidad de la espuma a 60 min, FS60	Capacidad de retención de agua, WHC	Capacidad de retención de aceite, OHC
		%	%	g/g	g/g
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con HCL	2	11,05 ± 4,16	10,53 ± 4,19	3,80 ± 0,04	1,55 ± 0,52
		ab	ab	a	a
	4,5	5,03 ± 3,58	4,01 ± 4,26	1,32 ± 0,02	1,16 ± 0,08
		ab	abc	c	a
	7	9,51 ± 3,51	8,24 ± 2,48	2,05 ± 0,69	1,83 ± 0,73
		abc	abc	abc	a
	9,5	13,02 ± 1,45	12,50 ± 1,42	1,86 ± 0,78	1,25 ± 0,38
		ab	ab	bc	a
	12	6,99 ± 0,71	5,97 ± 0,03	1,40 ± 0,77	0,67 ± 0,23
		ab	abc	c	a
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	2	11,38 ± 1,57 ab	10,84 ± 2,34 ab	3,34 ± 0,47 ab	1,40 ± 0,41 a
	4,5	13,92 ± 3,64 ab	10,67 ± 0,95 ab	1,60 ± 0,17 bc	0,83 ± 0,18 a

Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	7	14,48 ± 2,14 a	13,46 ± 1,46 ab	1,25 ± 0,27 c	1,37 ± 0,33 a
	9,5	14,5 ± 1,4 a	11,71 ± 1,01 a	1,67 ± 0,86 bc	1,46 ± 0,02 a
	12	8,71 ± 5,25 abc	7,41 ± 4,81 abc	1,19 ± 0,12 c	1,37 ± 0,04 a
	2	4,66 ± 0,47 bc	3,02 ± 1,45 bc	1,65 ± 0,08 bc	1,49 ± 0,19 a
	4,5	3,58 ± 2,00 bc	2,54 ± 2,06 bc	1,83 ± 0,22 bc	1,54 ± 0,40 a
	7	0,27 ± 0,38 bc	ND	1,52 ± 0,00 c	1,85 ± 0,51 a
	9,5	3,85 ± 1,62 c	0,50 ± 0,70 c	1,68 ± 0,28 bc	1,67 ± 0,47 a
	12	7,32 ± 1,87 ab	5,24 ± 1,75 abc	1,18 ± 0,04 c	1,38 ± 0,23 a

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detecta actividad.

3.3.2.1 Solubilidad proteica (S)

La solubilidad proteica resulta significativamente mayor ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en los productos obtenidos con AL y BAL como agente precipitante, en comparación con los precipitados con ácido clorhídrico, según se presenta en la Tabla 6. De forma consistente con lo reportado para proteínas de arveja, las proteínas recuperadas por pH-shifting exhiben una curva tipo campana, con un mínimo en las proximidades del punto isoelectrico (pH 4,5–5,0) y máximos bajo condiciones muy ácidas (pH 2) o alcalinas (pH 8) (A. P. Adebisi & Aluko, 2011; Ladjal-Ettoumi et al., 2016; Shand et al., 2007).

A pH 7, Cui et al. (2020) informaron índices de solubilidad de 50–80 % para productos de arveja amarilla precipitados con HCl, aunque subrayaron que la solubilidad a distintos pH depende de las condiciones de extracción alcalina (conformación proteica, carga superficial y

fuerza iónica), lo que explica resultados contradictorios en la bibliografía. En la misma línea, Ladjal-Ettoumi et al. (2016) mostraron que los perfiles de solubilidad de proteínas de arveja, garbanzo y lenteja siguen de cerca sus perfiles de potencial zeta, evidenciando la dependencia de la carga neta superficial. Por su parte, Chao & Aluko (2018) reportaron para aislados precipitados con HCl a pH 3-9 valores de solubilidad entre el 5-40%, sin cambios significativos tras un calentamiento hasta 90 °C, lo que sugiere ausencia de agregación excesiva que limite las interacciones proteína-agua.

Particularmente los productos precipitados con bacterias ácido-lácticas (BAL) presentan la solubilidad más baja a pH 7 ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) (Tabla 6). La evidencia sobre el efecto de la fermentación láctica en la solubilidad de proteínas de legumbres es heterogénea y depende de factores como producción de ácido, modificaciones de la superficie proteica, proteólisis, reducción del tamaño proteico y degradación de almidón, entre otros (Emkani et al., 2022). Como ejemplo, Shi et al. (2021) evaluaron la implementación de 5 a 30 h de fermentación láctica como estrategia para mejorar las propiedades sensoriales y funcionales de las proteínas de arveja, donde concluyen que la fermentación modifica la configuración proteica recuperadas al exponer sus grupos hidrofóbicos, reduciendo posteriormente su solubilidad en agua en un rango de pH de 6,59 a 7,56 obteniendo solubilidades del 15%.

3.3.2.2 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de la emulsión (ES)

La EC y la ES de los productos proteicos presentan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) para ciertas combinaciones de agente precipitante y pH como se muestra en la Tabla 6. La EC indica la capacidad de las proteínas del sistema para adsorberse rápidamente en la interfaz aceite/agua durante la formación de la emulsión, evitando floculación y coalescencia. Esta propiedad funcional resulta clave en numerosas formulaciones al mejorar la textura, prevenir la separación de fases, retener compuestos de sabor, y favorecer la distribución de sabores y la aceptabilidad sensorial (Naurzbayeva et al., 2023).

Se observa que no se forma emulsión a pH 4,5 cuando se utiliza HCl o ácido láctico como precipitante, ya que el producto proteico solubilizado coagula y precipita al ajustarse el pH al punto isoeléctrico. En el mismo sentido, Ladjal-Ettoumi et al. (2016) reportaron un valor mínimo de EC para aislados de proteína de arveja en pH 4,5. La EC suele correlacionarse con el índice de solubilidad, siendo mayor a valores de pH de 2, 7 y 9,5, donde la solubilidad es típicamente más alta (Ladjal-Ettoumi et al., 2016; Shand et al., 2007). Por su parte, los productos precipitados con bacterias ácido-lácticas (BAL) presentan EC incluso en el pH

isoeléctrico. Según Aluko et al. (2009), los productos obtenidos mediante precipitación con BAL muestran mayor contenido de azúcares, lo que potencia la solubilidad y, en consecuencia, mejora la EC.

Stone et al. (2015) evaluaron las propiedades emulsionantes de aislados de arveja preparados por extracción alcalina y precipitación isoeléctrica reportando valores superiores a los de este trabajo, siendo la EC de 187,5–193,7 g/g y ES de 96,7–99,9 % a pH 7.

Diferentes autores señalan resultados contradictorios sobre la influencia del método de obtención de proteínas de legumbres en la EC; algunos trabajos informan mejoras con extracción salina, ultrafiltración, precipitación micelar o pH-shifting, mientras que otros no detectan diferencias (Adebawale et al., 2011; Boye et al., 2010; Karaca et al., 2011). De acuerdo con Stone et al. (2015), valores altos de ES implican que el aceite añadido se dispersa completamente en la fase acuosa gracias a la resistencia del film viscoelástico interfacial y a una repulsión electrostática y/o impedimento estérico suficientes entre gotas que evitan su coalescencia.

3.3.2.3 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma a 30 min (FS30) y a 60 min (FS60)

Como se muestra en la Tabla 6 y Tabla 7, la FC de los productos proteicos presenta diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) para ciertas combinaciones de agente precipitante y pH. La FC refleja la capacidad de las proteínas recuperadas para adsorberse en la interfaz aire-agua y reducir la tensión interfacial, y la FS se relaciona con la resistencia del film interfacial formado por las proteínas adsorbidas. Estas propiedades son críticas para el desarrollo de alimentos no lácteos (p. ej., helados, tortas, merengues), donde la formación y la persistencia de la espuma condicionan la textura y la aceptabilidad (Aluko et al., 2009).

En términos generales, la espuma resulta más estable ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) para la mayoría de los pH evaluados cuando se forma con productos precipitados con HCL o ácido láctico, en comparación con los precipitados con bacterias ácido-lácticas (BAL). Para aislados de arveja obtenidos por extracción alcalina y precipitación isoeléctrica, Stone et al. (2015) reportaron valores de FC de 155,0–183,3 % y FS (30 min) de 68,0–69,6 %, y señalaron que ambas variables dependen del método de extracción y secado. Para aislados, concentrados y harinas de arveja, Aluko et al. (2009) describieron que la formación de espuma depende del pH, el contenido proteico y el tamaño de partícula, factores que determinan la disponibilidad de agentes espumantes y su capacidad para formar membranas interfaciales estables mediadas por interacciones proteína-proteína. Adicionalmente, Chao & Aluko (2018)

mostraron que la temperatura del pretratamiento térmico modula la FC y la FS al alterar la estructura proteica, afectando la flexibilidad de polipéptidos y las cargas en la membrana interfacial (Lam et al., 2018). En consonancia con lo anterior, (Pei et al., 2022) indicaron que el uso de BAL puede reducir la FC y la FS, ya que la fermentación expone grupos hidrofóbicos y promueve agregación de proteínas y células, lo que disminuye la migración de proteínas hacia la interfaz y, en consecuencia, debilita el comportamiento espumante.

3.3.2.4 Capacidad de retención de agua (WHC) y de aceite (OHC)

La WHC muestra diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) para algunas combinaciones de agente precipitante y pH, mientras que en la OHC no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$) entre tratamientos. La WHC es un parámetro clave para el diseño de alimentos, por ejemplo, productos cárnicos, donde las proteínas contribuyen de manera decisiva a la textura; por su parte, la OHC de proteínas vegetales cobra relevancia en sucedáneos cárnicos para retener grasa y preservar compuestos de sabor (Benelhadj et al., 2016; Kristo & Corredig, 2014).

En aislados proteicos de arveja de tres clases comerciales, Stone et al. (2015) reportaron WHC de 2,4–2,6 g/g y OHC de 3,5–3,8 g/g; Boye et al. (2010) informaron, para concentrados de arveja amarilla, lenteja verde, lenteja roja y garbanzos Desi y Kabuli, WHC de 0,6–2,7 g/g y OHC de hasta aproximadamente 1,3 g/g valores coherentes con los obtenidos aquí. Según Adebawale et al. (2011), la precipitación isoeléctrica puede modificar la estructura, área superficial, tamaño macromolecular, carga e hidrofobicidad de las proteínas, afectando su capacidad de interactuar y absorber agua y aceite lo cual podría justificar para algunas alternativas según pH ensayado en este estudio, una menor WHC o OHC.

3.3.3 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes

La Tabla 8 presenta los valores experimentales de la actividad antioxidante, medida como DPPH y ABTS, de los productos proteicos de arveja amarilla pre-comercial. Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en la actividad antioxidante de los productos precipitados con BAL respecto de aquellos obtenidos solo con HCL o LA. De acuerdo con Emkani et al. (2022), la fermentación láctica de productos proteicos de distintas variedades de arveja mejora la capacidad de captura de radicales libres, por lo que la actividad antioxidante suele incrementarse a medida que avanza la fermentación.

Tabla 8. Propiedades antioxidantes de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamiento

Muestra	Actividad de captura de radicales libres, DPPH	Capacidad antioxidante equivalente Trolox, TEAC _{DPPH}	Actividad de captura de radicales libres, ABTS	Capacidad antioxidante equivalente Trolox, TEAC _{ABTS}
	%	mg TE/100 g de muestra, bs	%	mg TE/100 g de muestra, bs
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con HCL	3,47 ± 0,31 b	78,90 ± 35,60 b	6,94 ± 0,12 b	133,77 ± 3,02 b
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	4,16 ± 0,88 b	233,2 ± 14,5 b	2,36 ± 0,31 b	54,55 ± 6,84 b
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	18,94 ± 0,63 a	1.799,30 ± 70,40 a	26,53 ± 3,00 a	721,20 ± 104,20 a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

La actividad antioxidante de todos los productos proteicos resulta significativamente menor ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) que la de las arvejas amarillas pre-comercial (AP), cuyo valor es 4.881 ± 1.380 mg TE/100 g de muestra. Por su parte, Han & Baik (2008) reportaron para arveja amarilla una actividad antioxidante total de 0,85 mg TE/g, mientras que en otras leguminosas los valores pueden ser 4–5 veces mayores. Para diez cultivares de arveja, Chen et al. (2023) informaron actividades de captura de DPPH de 1,51–3,12 mg TE/g, donde las diferencias entre variedades en el contenido de compuestos fenólicos medidos podrían atribuirse a la estructura de dichos compuestos y al método de extracción empleado.

3.3.4 Resultados y discusión: Calidad proteica

La Figura 5 muestra los perfiles SDS-PAGE de los tres polvos proteicos obtenidos con HCL, AL y BAL. En todos los casos se observan subunidades polipeptídicas en el rango de 10–75 kDa, en concordancia con lo reportado por Ladjal-Ettoumi et al. (2016) para proteínas de arveja. Los tres perfiles exhiben similitudes composicionales, destacándose la presencia de la subunidad básica de legumina (~25 kDa). El producto obtenido con HCL presenta, además, una banda de mayor intensidad correspondiente a la subunidad ácida de legumina (~37 kDa) y a las subunidades α , β y γ de vicilina (~50 kDa).

Por su parte, la subunidad de convicilina (~71 kDa) solo es visible en la muestra precipitada con HCl; mientras que, tras la fermentación y la acidificación láctica, dicha banda desaparece. Este comportamiento también se registra en proteínas de arveja fermentadas con *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis*, y se atribuye a procesos de proteólisis durante la fermentación (Emkani et al., 2021). Durante la fermentación de arveja, la proteólisis e hidrólisis peptídica favorecen la generación de formas bioactivas de aminoácidos (C. J. Zhao et al., 2016); no obstante, la adsorción de proteasas a sustratos de composición química afín puede mermar los rendimientos del proceso.

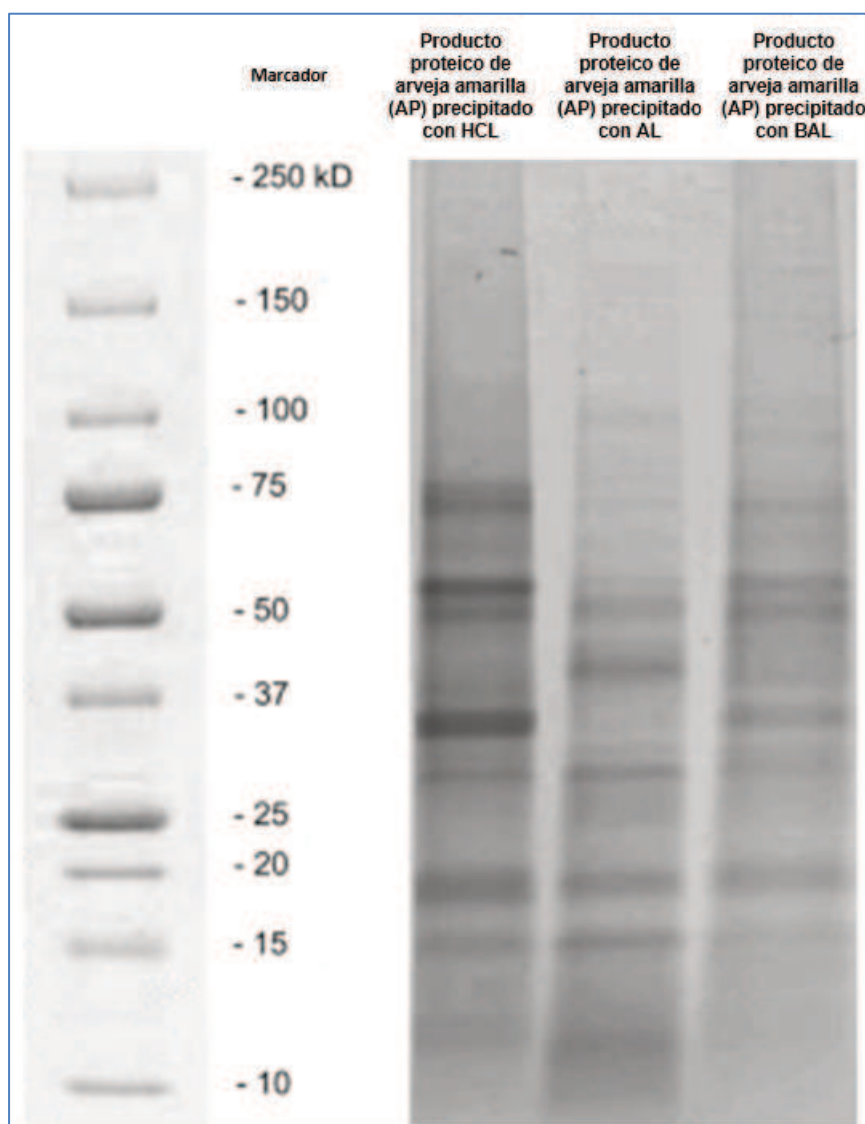


Figura 5. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de polvos proteicos precipitados con ácido clorhídrico (HCL), ácido láctico (AL) o bacterias ácido-lácticas (BAL)

3.3.5 Resultados y discusión: Recuento de LAB

La Tabla 9 presenta el recuento de células de bacterias ácido-lácticas (BAL) en los procesos de recuperación de proteínas en los que se emplean BAL como agente precipitante. Se evalúan tres muestras: el cultivo iniciador comercial liofilizado (starter), el producto húmedo obtenido en la etapa de precipitación isoelectrica y el producto proteico obtenido tras el secado por aspersión.

Tabla 9. Recuento de células de bacterias ácido-lácticas (BAL) antes y después del secado

Muestra	Recuento de células viables	Masa total	Recuento total de células
	UFC/g	g	UFC
Inóculo de BAL (starter)	$6,30 \times 10^{13}$	$8,00 \times 10^{-3}$	$5,04 \times 10^{11}$
Producto proteico sin secado (BAL)	$2,57 \times 10^{12}$	$1,18 \times 10^3$	$3,03 \times 10^{15}$
Producto proteico de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL secado por aspersión	$1,60 \times 10^{12}$	$1,87 \times 10^1$	$2,99 \times 10^{13}$

Durante la precipitación isoelectrica se observa, como era previsible, un incremento en la biomasa bacteriana viable. En este estudio, tras 18 h de fermentación, se logró un pH próximo a 4,5, valor requerido para inducir la precipitación isoelectrica en el proceso de pH-shifting. Bajo condiciones de fermentación similares con cinco especies de *Lactobacillus*, Rezvani et al. (2017) reportaron que los cultivos permanecen en fase exponencial incluso después de 10 h, aunque la tasa de producción de ácido láctico comienza a descender. Asimismo, el pH final alcanzado depende tanto de la cepa como de las condiciones de fermentación específicas (Engels et al., 2022).

Durante el secado por aspersión, la biomasa bacteriana viable del producto proteico se reduce. Sin embargo, esta disminución resulta menos pronunciada debido a la baja eficiencia del secador de laboratorio empleado (Moreira et al., 2021). Cabe destacar que la presencia de células bacterianas remanentes podría contribuir tanto a las propiedades funcionales como al potencial probiótico de los productos proteicos obtenidos (Mora-Villalobos et al., 2020).

3.4 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica para diferentes arvejas, agentes precipitantes y encapsulantes

Se procesa arveja amarilla comercial y arveja verde comercial (*Pisum sativum* L.) según el esquema de la Figura 3. El procedimiento comprende el acondicionamiento inicial de la materia prima, extracción alcalina para una relación sólido:líquido y valor de pH fijos, precipitación isoelectrica con diferentes agentes precipitantes, y secado por aspersión con y sin agentes encapsulantes. Las condiciones operativas específicas utilizadas en cada etapa del proceso se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de agentes encapsulantes

Parámetro operativo	Valor
Materia prima	Arveja amarilla comercial (AC) Arveja verde comercial (VC)
ACONDICIONAMIENTO	
Fración para extracción (µm)	150 – 710 (media)
Fración usada como encapsulante (µm)	<150 (fina)
EXTRACCIÓN ALCALINA	
Temperatura (°C)	60
Número de ciclos (-)	3
Tiempo por ciclo (min)	15
Relación sólido:líquido (p/p)	1:10
pH (-)	8,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA	
pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
Agente precipitante	Ácido clorhídrico (HCL) Bacterias ácido-lácticas (BAL)
Temperatura (°C)	4 (para HCL)

37,5 (para BAL)

NEUTRALIZACIÓN

Temperatura (°C)	20
pH (-)	7
Velocidad de agitación (rpm)	300

SECADO POR ASPERSIÓN

Temperatura de entrada del aire (°C)	160
Temperatura de salida del aire (°C)	60
Caudal (l/h)	0,3
Diámetro de la boquilla (mm)	0,5
Relación sólidos producto húmedo:encapsulante (p/p)	1:1

3.4.1 Resultados y discusión: Composición y propiedades tecnológicas de las fracciones finas y medias

Durante la molienda, la fracción gruesa se reprocesa hasta que solo permanecen las fracciones media y fina, por lo que la fracción media representa el 95 % del total molido, mientras que la fracción fina constituye el 5 % restante.

Las fracciones media y fina de arveja amarilla y verde comercial se caracterizan determinando sus contenidos de proteína, carbohidratos, almidón, lípidos, cenizas y humedad, así como la solubilidad proteica en hidróxido de sodio (NaOH), según se presenta en la Tabla 11.

Se observa que la fracción fina está compuesta principalmente por carbohidratos y proteínas. Las proteínas se consideran materiales de pared y emulsificantes adecuados por su naturaleza anfifílica (Jarzębski et al., 2019). A su vez, el almidón de leguminosas y los polisacáridos solubles pueden emplearse eficazmente como agentes encapsulantes debido a su baja viscosidad a alta concentración de sólidos y capacidad de solubilización; no obstante, suelen carecer por sí solos de propiedades interfaciales suficientes para lograr alta eficiencia de microencapsulación y se combinan con proteínas o gomas (Gharsallaoui et al., 2007). En este marco, se confirma la selección de las fracciones finas de arvejas amarilla y verde comercial como agentes encapsulantes para el secado por aspersión, dado que integran proteínas, almidón y polisacáridos solubles, los cuales deberían actuar de manera sinérgica para desempeñar eficazmente dicho rol.

Tabla 11. Composición química de los agentes encapsulantes utilizados es el secado

Muestra	Proteína	Solubilidad proteica	Carbohidratos	Almidón	Lípidos	Cenizas	Humedad
	% bs	% bs	% bs	% bs	% bs	% bs	% bh
Harina de arveja amarilla (AC)	24,87	71,88	69,35	39,19	2,16	3,61	12,60
	± 0,05	± 8,01	± 0,05	± 1,05	± 0,02	± 0,00	± 0,00
	b	a	c	b	b	a	a
Harina de arveja verde (VC)	26,46	74,13	67,94	39,42	2,53	3,05	10,49
	± 0,19	± 12,29	± 0,33	± 2,67	± 0,06	± 0,07	± 0,00
	a	a	d	b	a	b	b
Encapsulante de arveja amarilla (AC)	19,15		75,29	55,23	2,06	3,06	12,46
	± 0,75	-	± 0,12	± 0,09	± 0,07	± 0,02	± 0,28
	d		a	a	b	b	a
Encapsulante de arveja verde (VC)	22,59		72,07	54,06	2,58	2,71	10,98
	± 0,27	-	± 0,53	± 3,07	± 0,02	± 0,05	± 0,28
	c		b	a	a	c	b

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Tabla 12. Propiedades tecnológicas de los agentes encapsulantes utilizados es el secado

Muestra	Color - L*	Color - a*	Color - b*	WI _{CIELab}	Tiempo de humectación	Actividad de agua
	-	-	-	-	min	-
Harina de arveja amarilla (AC)	84,33	3,84	17,84	72,04	0,13	0,58
	± 0,41	± 0,12	± 10,37	± 0,59	± 0,00	± 0,00
	c	a	a	c	c	a
Harina de arveja verde (VC)	75,80	5,07	22,43	66,62	0,03	0,51
	± 0,45	± 0,09	± 0,25	± 0,51	± 0,00	± 0,00
	d	c	a	d	c	c
Encapsulante de arveja amarilla (AC)	89,96	0,86	15,44	81,57	39,50	0,56
	± 0,18	± 0,01	± 0,15	± 0,18	± 1,55	± 0,00
	a	b	a	a	a	b

	86,89	-4,97	18,87	76,49	36,12	0,52
Encapsulante de arveja verde (VC)	± 0,22	± 0,01	± 0,10	± 0,09	± 1,13	± 0,00
	b	c	a	b	b	c

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Tabla 13. Propiedades tecnológicas de los agentes encapsulantes utilizados es el secado

Muestra	Fluidez - CI	Cohesividad - HI	Granulometría - D10	Granulometría - D50	Granulometría - D90	Densidad
	%	-	µm	µm	µm	g/ml
Harina de arveja amarilla (AC)	16,87	1,20	163,560	336,47	554,49	1,18
	± 0,88	± 0,01	± 0,919	± 1,41	± 0,45	± 0,00
	ab	ab	b	b	b	d
Harina de arveja verde (VC)	9,88	1,11	181,885	414,49	686,56	1,77
	± 3,71	± 0,04	± 0,749	± 0,02	± 0,58	± 0,00
	b	b	a	a	a	a
Encapsulante de arveja amarilla (AC)	17,29	1,21	5,22	45,87	108,74	1,50
	± 0,29	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,51	± 0,00
	ab	ab	c	d	c	c
Encapsulante de arveja verde (VC)	28,90	1,41	4,21	65,35	128,96	1,54
	± 6,26	± 0,12	± 0,02	± 0,57	± 0,37	± 0,00
	a	a	c	c	d	b

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Las características tecnológicas de las fracciones fina y media de ambas variedades, densidad, actividad de agua, tiempo de humectación, fluidez, cohesividad, granulometría y color (L^* , a^* , b^*), se presentan en la Tabla 12 y Tabla 13. Las fracciones finas de arveja amarilla y verde comercial muestran valores similares de densidad, humedad y actividad de agua respecto de las fracciones medias. Como era esperable según los percentiles D10, D50 y D90, las fracciones medias están constituidas por partículas de mayor tamaño (Nkurikiye et al., 2023; Pulivarthi et al., 2021), lo que se asocia con menores tiempos de humectación al facilitar la penetración de agua en los espacios interparticulares más grandes (Silva & O'Mahony, 2017). Por otro lado, la fluidez y la cohesividad no difieren entre fracciones para

ambas variedades. Asimismo, ambas fracciones finas resultan más claras que sus respectivas fracciones medias, con un W_{CIELab} y L^* más elevado, pero sin observarse una tendencia consistente en a^* y b^* ; estas diferencias de color pueden relacionarse con el contenido proteico, la presencia de compuestos coloreados y/o reacciones de pardeamiento, entre otros factores (Sharan et al., 2021).

3.4.2 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos

La Tabla 14 presenta el contenido de proteína, sodio y humedad y la Tabla 15 el rendimiento de recuperación proteica, la productividad, el consumo específico de agua y el rendimiento de secado de los productos obtenidos a partir de ambas variedades de arveja, con ambos agentes precipitantes y con/sin uso de encapsulante. Se detectan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores) en función de la variedad, el precipitante y el uso del encapsulante. El producto con mayor contenido proteico ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores) se obtiene utilizando arveja verde comercial como materia prima, HCl como agente precipitante y sin adición de la fracción fina como encapsulante; no obstante, bajo esas condiciones los restantes indicadores de desempeño no resultan favorables.

En términos generales, el uso de encapsulante no modifica de forma significativa o disminuye levemente el contenido proteico respecto de los productos elaborados sin encapsulante. Esta tendencia se explica porque la fracción fina utilizada como encapsulante posee mayor proporción de carbohidratos y menor contenido de proteínas que el producto húmedo correspondiente.

De manera atípica, en el producto obtenido a partir de arveja amarilla comercial con HCl como precipitante, el contenido proteico aumenta al emplear encapsulante. Durante los ensayos se observa alta variabilidad en el desempeño del atomizador de laboratorio, reflejada, entre otros aspectos, en la cantidad de polvo de baja calidad adherido a las paredes de la cámara. Ese polvo presenta bajo contenido proteico y alto contenido de carbohidratos (no reportados aquí); por lo tanto, una mayor pérdida de ese material en la pared eleva el contenido proteico del polvo efectivamente recuperado, contribuyendo a la diferencia observada.

El contenido de sodio de los productos proteicos obtenidos se sitúa entre 0,88 y 1,90 % bs para ambas variedades, valores del mismo orden de magnitud que los informados en la bibliografía para condiciones comparables: 1,1 % para aislados de lenteja por precipitación isoelectrica (Alonso-Miravalles et al., 2019), aproximadamente 2–3 % para aislados de arveja (Sajib et al., 2023), 0,5 % para aislado de haba (Vogelsang-O'Dwyer et al., 2020), y 1,5 % para un aislado comercial de arveja (McCarthy et al., 2016).

Tabla 14. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes arvejas bajo diferentes condiciones de secado

Muestra	Precipitante	Contenido de proteína	Contenido de sodio	Humedad
		% bs	% bs	% bh
Producto proteico de arveja amarilla (AC) sin encapsulante	HCL	41,41 ± 0,74	1,35 ± 0,02	9,01 ± 0,93
		d	c	a
	LAB	38,88 ± 0,76	1,65 ± 0,00	6,34 ± 0,19
		de	b	bcd
Producto proteico de arveja verde (VC) sin encapsulante	HCL	59,11 ± 0,72	1,90 ± 0,03	7,23 ± 0,09
		a	a	ab
	LAB	50,58 ± 0,60	1,90 ± 0,02	4,60 ± 0,17
		b	a	cde
Producto proteico de arveja amarilla (AC) con encapsulante	HCL	51,02 ± 1,44	1,00 ± 0,04	4,40 ± 0,07
		b	e	de
	LAB	36,39 ± 0,74	0,88 ± 0,02	3,60 ± 0,27
		e	f	e
Producto proteico de arveja verde (VC) con encapsulante	HCL	45,81 ± 0,29	1,11 ± 0,00	6,67 ± 1,08
		c	d	bc
	LAB	48,06 ± 2,36	1,18 ± 0,00	4,21 ± 0,12
		bc	d	e

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Respecto a la etapa de secado por aspersión, Akbarbaglu et al. (2021) estudiaron la encapsulación mediante secado por aspersión de compuestos bioactivos en matrices proteicas y concluyeron que la optimización de las variables de proceso es necesaria para lograr un método práctico, eficiente y aplicable a escala industrial. De manera similar, García Arteaga et al. (2021) observaron que el secado por aspersión a escala de laboratorio puede impactar negativamente en el rendimiento del proceso, como consecuencia de las elevadas pérdidas asociadas a esta escala. Por otro lado, Kurek & Pratap-Singh (2020) encontraron que la combinación de proteínas vegetales con portadores basados en polisacáridos mejoró la estructura, las propiedades funcionales y el valor nutricional de los productos en polvo.

Tabla 15. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes arvejas bajo diferentes condiciones de secado

Muestra	Precipitante	Rendimiento de recuperación de proteína, Y_T	Productividad, P_{T2}	Consumo específico de agua, G_{w2}	Rendimiento de secado, Y_D
		% bs	kg producto bs/kg harina bs	kg agua/kg producto final bs	% bs
Producto proteico de arveja amarilla (AC) sin encapsulante	HCL	26,53 ± 0,08	0,25 ± 0,00	122,38 ± 0,92	51,05 ± 0,38
		bc	g	b	f
	LAB	19,83 ± 0,58	0,23 ± 0,00	134,22 ± 0,00	62,69 ± 0,00
		e	h	a	e
Producto proteico de arveja verde (VC) sin encapsulante	HCL	14,99 ± 0,19	0,27 ± 0,00	112,75 ± 0,08	68,82 ± 0,05
		f	f	c	d
	LAB	22,45 ± 0,04	0,30 ± 0,00	102,48 ± 0,10	71,30 ± 0,07
		de	e	d	c
Producto proteico de arveja amarilla (AC) con encapsulante	HCL	31,19 ± 1,02	0,48 ± 0,00	52,96 ± 0,06	62,89 ± 0,07
		a	b	g	e
	LAB	24,07 ± 0,46	0,51 ± 0,00	52,58 ± 0,14	85,34 ± 0,24
		cd	a	g	a
Producto proteico de arveja verde (VC) con encapsulante	HCL	28,83 ± 0,33	0,46 ± 0,00	56,67 ± 0,45	72,44 ± 0,58
		ab	c	f	b
	LAB	25,98 ± 1,73	0,41 ± 0,00	62,39 ± 0,01	61,95 ± 0,01
		bc	d	e	e

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

3.4.3 Resultados y discusión: Propiedades tecnológicas de los productos

Las Tabla 16 y Tabla 17 presentan las características tecnológicas de los productos proteicos de arveja amarilla y verde comercial obtenidos con y sin agente encapsulante, incluyendo su densidad, actividad de agua, tiempo de humectación, fluidez, cohesividad, granulometría y color (L^* , a^* , b^*).

Tabla 16. Propiedades tecnológicas de los productos de diferentes arvejas obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos bajo diferentes condiciones de secado

Muestra	Precipitante	Color - L*	Color - a*	Color - b*	W _{ICIELab}	Tiempo de humectación min	Actividad de agua
		-	-	-	-		-
Producto proteico de arveja amarilla (AC) sin encapsulante	HCL	90,03 ± 0,11	1,03 ± 0,02	11,3 ± 0,11	84,82 ± 0,06	8,18 ± 0,08	0,41 ± 0,00
		a	b	e	a	d	a
	LAB	88,76 ± 0,17	1,98 ± 0,06	12,74 ± 0,12	82,88 ± 0,17	2,32 ± 0,04	0,33 ± 0,00
		b	a	c	b	f	c
Producto proteico de arveja verde (VC) sin encapsulante	HCL	86,12 ± 0,48	-2,19 ± 0,01	18,17 ± 0,24	77,02 ± 0,48	30,18 ± 0,02	0,35 ± 0,00
		c	d	b	c	a	b
	LAB	85,15 ± 0,71	-1,22 ± 0,05	18,94 ± 0,07	75,89 ± 0,48	2,19 ± 0,03	0,21 ± 0,00
		d	c	a	d	f	f
Producto proteico de arveja amarilla (AC) con encapsulante	HCL	89,06 ± 0,35	1,06 ± 0,07	12,94 ± 0,24	83,01 ± 0,37	14,29 ± 0,12	0,33 ± 0,00
		b	b	c	b	c	c
	LAB	88,67 ± 0,14	1,98 ± 0,04	12,31 ± 0,06	83,15 ± 0,14	2,29 ± 0,08	0,32 ± 0,00
		b	a	d	b	f	d
Producto proteico de arveja verde (VC) con encapsulante	HCL	85,31 ± 0,04	-3,34 ± 0,0	19,14 ± 0,06	75,64 ± 0,06	29,36 ± 0,09	0,31 ± 0,00
		c	f	a	d	b	e
	LAB	85,75 ± 0,26	-2,5 ± 0,00	18,44 ± 0,07	76,54 ± 0,22	3,49 ± 0,06	0,21 ± 0,00
		c	e	b	c	e	f

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Tabla 17. Propiedades tecnológicas de los productos de diferentes arvejas obtenidos del proceso de recuperación proteica sin pretratamientos bajo diferentes condiciones de secado

Muestra	Precipitante	Fluidez - CI	Cohesividad - HI	Granulometría - D10	Granulometría - D50	Granulometría - D90	Densidad
		%	-	µm	µm	µm	g/ml
Producto proteico de arveja amarilla (AC) sin encapsulante	HCL	28,34 ± 2,02	1,39 ± 0,03	2,49 ± 0,00	10,58 ± 0,01	24,83 ± 0,06	1,35 ± 0,00
		a	a	a	b	e	a
	LAB	18,18 ± 1,11	1,22 ± 0,01	1,82 ± 0,00	7,42 ± 0,02	74,38 ± 0,13	1,23 ± 0,00
		bcd	bc	f	f	c	d
Producto proteico de arveja verde (VC) sin encapsulante	HCL	25,14 ± 0,20	1,33 ± 0,00	1,66 ± 0,00	5,86 ± 0,05	20,64 ± 0,86	1,00 ± 0,00
		ab	ab	h	g	g	f
	LAB	28,52 ± 1,25	1,40 ± 0,02	2,09 ± 0,00	8,73 ± 0,01	22,98 ± 0,07	1,27 ± 0,00
		a	a	e	d	f	c
Producto proteico de arveja amarilla (AC) con encapsulante	HCL	14,32 ± 0,43	1,16 ± 0,00	2,22 ± 0,00	9,37 ± 0,02	27,56 ± 0,20	1,19 ± 0,00
		d	c	c	c	d	e
	LAB	15,24 ± 0,86	1,18 ± 0,01	1,76 ± 0,00	8,73 ± 0,01	24,45 ± 0,16	1,28 ± 0,00
		cd	c	g	d	e	b
Producto proteico de arveja verde (VC) con encapsulante	HCL	23,34 ± 5,24	1,30 ± 0,00	2,37 ± 0,00	7,75 ± 0,04	87,15 ± 0,50	1,25 ± 0,00
		abc	abc	b	e	b	c
	LAB	18,79 ± 1,48	1,23 ± 0,02	2,20 ± 0,00	10,72 ± 0,04	90,75 ± 0,34	1,25 ± 0,00
		bcd	bc	d	a	a	c

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

3.4.3.1 Color

Como tendencia general, se obtienen valores elevados del parámetro de luminosidad L^* para la mayoría de los productos proteicos. En algunos casos se registran valores menores de L^* , que se atribuyen a ineficiencias derivadas de la implementación del secado por aspersión a escala de laboratorio (García Arteaga et al., 2021). Los productos proteicos obtenidos a partir de arveja amarilla comercial presentan valores positivos de a^* y b^* , correspondientes a un

polvo de tonalidad amarillenta; mientras que los productos de arveja verde comercial muestran valores negativos de a^* y positivos de b^* , correspondientes a un polvo de tonalidad verdosa. El índice de blancura de Hunter, calculado con coordenadas CIELab según Shevkani et al. (2014), arroja valores entre 75–85, lo que indica que los productos proteicos obtenidos corresponden a polvos de coloración clara, similares a los disponibles comercialmente (Zhao et al., 2020).

3.4.3.2 Tiempo de humectación

Los productos proteicos precipitados con bacterias ácido-lácticas presentan menores tiempos de humectación, con valores promedio de 2,19–3,49 min. En contraste, todos los productos obtenidos con HCl como agente precipitante exhiben tiempos de humectación significativamente mayores, en el rango de 8,18–30,18 min ($p < 0,05$; ANOVA de tres factores). En particular, Yadav et al. (2022) postularon que los menores tiempos de humectación de aislados de proteína de soja precipitadas biológicamente se deben al menor tamaño de partícula y a un mayor grado de hidrólisis proteica, lo que incrementa la exposición de grupos hidrofílicos y, en consecuencia, las interacciones con moléculas de agua.

3.4.3.3 Actividad acuosa

En general, la actividad acuosa de los productos proteicos obtenidos empleando las fracciones finas de arveja amarilla y verde comercial como agente encapsulante es menor (0,21–0,33) en comparación con la de los productos obtenidos sin dicho agente encapsulante (0,31–0,41). Diversos factores influyen en la actividad acuosa de productos en polvo formulados con mezclas de proteínas y carbohidratos como agentes encapsulantes, tales como la capacidad de las proteínas ubicadas en la superficie de las partículas para adsorber y retener agua (grado de unión al agua por parte de proteínas superficiales), la disponibilidad, distribución y disposición de grupos polares en el polisacárido, la formación de enlaces entre cadenas macromoleculares (proteína–proteína, proteína–polisacárido o polisacárido–polisacárido) y el tamaño de partícula resultante, entre otros (Locali Pereira et al., 2019). Asimismo, todos los valores de actividad acuosa se mantienen por debajo del umbral de 0,6, lo que asegura que no ocurra proliferación microbiana en los productos en polvo bajo condiciones de almacenamiento estándar (Beuchat et al., 2013).

3.4.3.4 *Fluidez y cohesividad*

La fluidez y cohesión de los polvos se evalúan mediante el índice de Carr (CI) y el índice de Hausner (HI), respectivamente (Turchiuli et al., 2005). En general, todos los productos proteicos presentan una capacidad de flujo buena o aceptable, dado que los valores de CI son inferiores al 30 %. Adicionalmente, los productos obtenidos utilizando agente encapsulante en la etapa de secado muestran mejores valores de fluidez que aquellos obtenidos sin encapsulante, con diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores).

En cuanto a la cohesión, todos los productos proteicos presentan valores de HI inferiores a 1,4, lo que indica cohesividad intermedia o baja. El uso de la fracción fina de arvejas amarillas y verdes comercial como agente encapsulante durante la etapa de secado por aspersión resulta en productos con menores valores de HI. Según Pulivarthi et al. (2021), valores bajos de HI implican polvos con baja cohesión y, en consecuencia, excelente capacidad de flujo

3.4.3.5 *Granulometría*

La mayoría de las partículas obtenidas mediante secado por aspersión presentan tamaños inferiores a aproximadamente 25 μm , de acuerdo con los percentiles 10, 50 y 90 de la distribución de tamaño de partículas. No obstante, se observa cierta aglomeración debido a las ineficiencias del secador por aspersión a escala de laboratorio, lo cual se refleja en mayores valores del percentil 90 para algunos productos proteicos, con tamaños de partícula cercanos a 90 μm . La distribución de tamaño de partícula desempeña un papel relevante en diversas propiedades funcionales y tecnológicas de los polvos proteicos, tales como la capacidad de retención de agua y aceite, la textura, la densidad aparente y el color, entre otras (Rashwan et al., 2023).

En la literatura se han reportado diversos estudios de caso sobre encapsulación y secado por aspersión de diferentes matrices, donde los tamaños de partícula se encontraban en el mismo orden de magnitud. En la microencapsulación de aceite de lino con aislado de proteína de arveja hidrolizada, Bajaj et al. (2017) obtuvieron tamaños de partícula de 9, 25 y 50 μm para los percentiles 10, 50 y 90, respectivamente. Para el diámetro medio volumétrico De Broucker ($D_{4,3}$) de microcápsulas de aceite de cáñamo encapsulado con una combinación de proteínas y maltodextrina, Kurek & Pratap-Singh (2020) reportaron valores entre 34 y 56 μm , dependiendo del contenido inicial de aceite. Locali Pereira et al. (2019) obtuvieron microcápsulas de aceite esencial de pimienta rosa utilizando aislado de proteína de soja, pectina de alto metoxilo y maltodextrina como materiales de pared, con tamaños de partícula de aproximadamente 4, 15 y 45 μm para los percentiles 10, 50 y 90.

3.4.3.5 Densidad de partícula

Como tendencia general, se obtienen valores mayores de densidad de partícula para los polvos proteicos (1,19–1,28 g/ml) cuando se emplea la fracción fina de arvejas amarillas y verdes comercial como agente encapsulante en la etapa de secado por aspersión, en comparación con aquellos productos obtenidos sin encapsulante (1,00–1,27 g/ml). Según Düsenberg et al. (2023), valores mayores de densidad de partícula en un producto en polvo implican una menor compactación y, en consecuencia, un mejor comportamiento de fluidez.

Valores similares de densidad de partícula se han reportado en la literatura para productos encapsulados obtenidos mediante secado por aspersión. Locali Pereira et al. (2019) informaron valores cercanos a 1 g/ml para la densidad de microcápsulas de aceite esencial de pimienta rosa producidas a partir de emulsiones de una o dos capas, con una porosidad de aproximadamente 56–61 %. A partir de los valores de densidad aparente y porosidad reportados por García-Segovia et al. (2021) para la microencapsulación de remolacha con proteína de arveja mediante secado por aspersión, la densidad de partícula se estimó en torno a 1,475 g/ml, con escasa variación en función del contenido de proteína y de la temperatura de entrada del aire de secado.

Capítulo 4

EVALUACIÓN DE PROCESOS DE RECUPERACIÓN PROTEICA CON PRETRATAMIENTOS A PARTIR DE ARVEJAS: INDICADORES DE PERFORMANCE, CARACTERIZACIÓN Y PROPIEDADES DE LOS PRODUCTOS

4.1 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoelectrica incluyendo una etapa previa de fermentación en estado sólido

Se procesa arveja amarilla pre-comercial (*Pisum sativum* L.) según el esquema de la Figura 6.

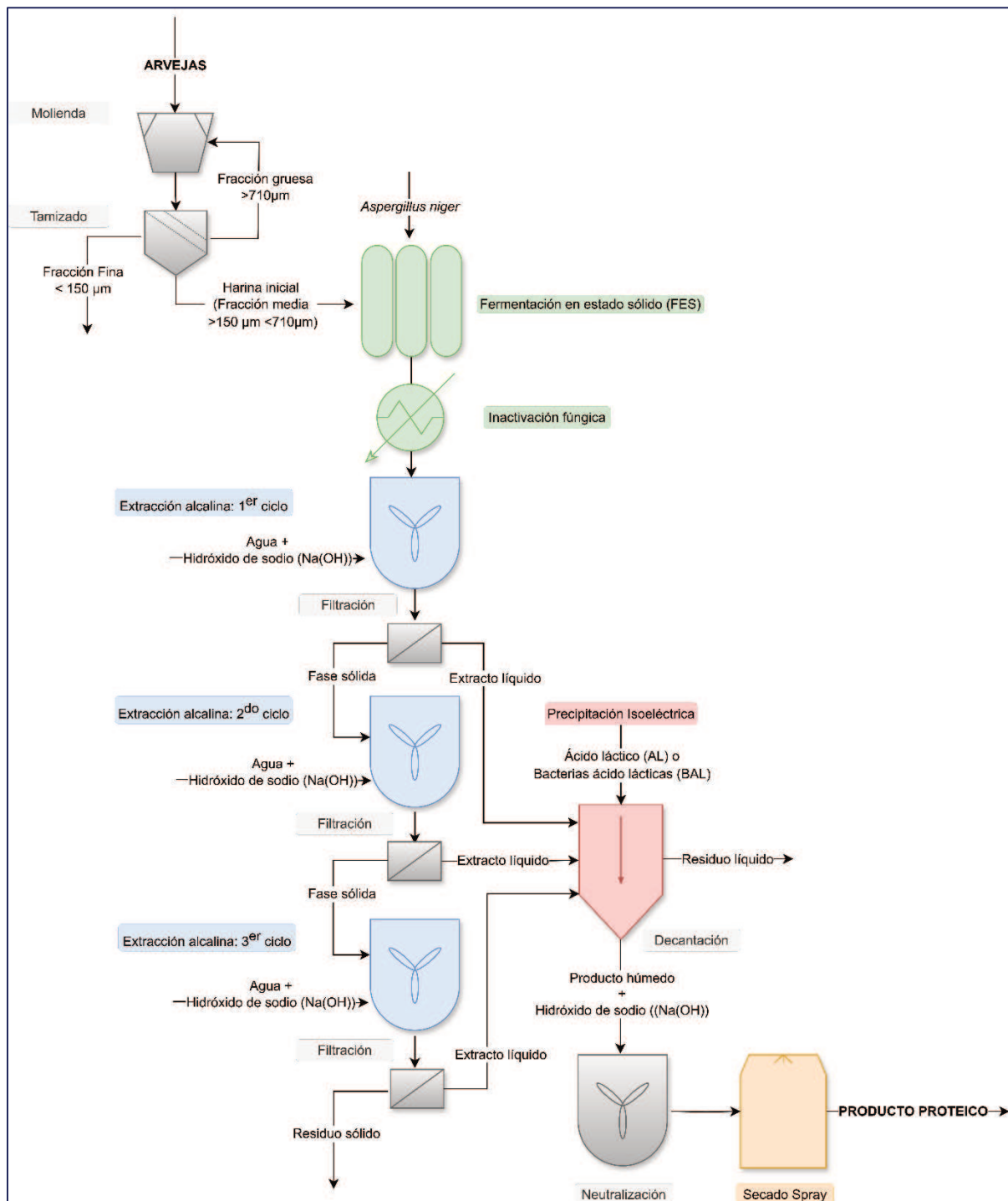


Figura 6. Proceso de recuperación proteica, utilizando fermentación en estado sólido como pretratamiento

El procedimiento comprende el acondicionamiento inicial de la materia prima, seguido de un proceso de fermentación en estado sólido, y luego el proceso de recuperación proteica conformado por la extracción alcalina con una relación sólido:líquido y valor de pH fijos, la precipitación isoelectrica con diferentes agentes precipitantes, y secado por aspersión. Las condiciones operativas específicas de todas las etapas del proceso se presentan en la Tabla 18.

Tabla 18. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de fermentación en estado sólido como pretratamiento

Parámetro operativo	Valor
Materia prima	Arveja amarilla pre-comercial (AP)
ACONDICIONAMIENTO	
Fracción para extracción (μm)	150 – 710 (media)
FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO	
<i>A. niger</i> (esporas/g)	1×10^7
Temperatura de FES ($^{\circ}\text{C}$)	30-40
Tiempo de FES (h)	6 (FES I)
	24 (FES II)
	96 (FES III)
	168 (FES IV)
Humedad (%)	30
Temperatura de inactivación FES ($^{\circ}\text{C}$)	95
Tiempo de inactivación FES (min)	2
EXTRACCIÓN ALCALINA	
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	60
Número de ciclos (-)	3
Tiempo por ciclo (min)	15
Relación sólido:líquido (p/p)	1:10
pH (-)	8,5

Velocidad de agitación (rpm)	300
PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA	
pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
Agente precipitante	Ácido láctico (AL) Bacterias ácido-lácticas (BAL)
Temperatura (°C)	4 (para AL) 37,5 (para BAL)
NEUTRALIZACIÓN	
Temperatura (°C)	20
pH (-)	7
Velocidad de agitación (rpm)	300
SECADO POR ASPERSIÓN	
Temperatura de entrada del aire (°C)	160
Temperatura de salida del aire (°C)	60
Caudal (l/h)	0,3
Diámetro de la boquilla (mm)	0,5

4.1.1 Resultados y discusión: Composición de las harinas fermentadas

El contenido de proteína, lípidos, cenizas, carbohidratos y humedad, así como el recuento celular de *A. niger* de la harina de arveja amarilla pre-comercial no fermentada y de las harinas fermentadas en diferentes tiempos se presentan en la Tabla 19.

Se encuentran diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en el contenido de proteína entre la harina no fermentada y las harinas fermentadas. La harina no fermentada presenta un menor contenido proteico que las harinas fermentadas, siendo el contenido de proteína de la harina fermentada durante 96 h el significativamente más elevado. No se encuentran diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de un factor) en el contenido de proteína entre las harinas fermentadas durante 6 y 24 h.

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en el contenido de carbohidratos, mostrando la harina de arveja amarilla pre-comercial no fermentada el mayor

valor de carbohidratos y las harinas fermentadas durante 96 h el valor más bajo, lo que representa un incremento del 96,05 % en el contenido proteico en comparación con la harina no fermentada. Esta reducción en el contenido de carbohidratos con el tiempo de fermentación indica claramente que la matriz de arveja constituye una fuente adecuada de carbono para el crecimiento de *A. niger*, sustentado en el consumo de monosacáridos, disacáridos y moléculas complejas como el almidón (Kumitch et al., 2020; Xiao et al., 2021; Yafetto, 2018).

Tabla 19. Composición química de la harina de arveja no fermentada y las harinas de arveja fermentadas

Muestra	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Humedad	Recuento celular de <i>A. niger</i>
	% bs	% bs	% bs	% bs	% bh	esporas/g bs
Harina de arveja amarilla (AP) no fermentada	24,85 ± 0,63 d	1,82 ± 0,89 a	2,89 ± 0,07 c	70,44 ± 1,45 a	9,77 ± 1,50 c	ND
Harina de arveja amarilla (AP) fermentada 6 h (FES I)	31,68 ± 0,95 c	1,58 ± 0,10 a	2,73 ± 0,25 c	64,00 ± 0,60 b	32,83 ± 1,20 b	1,48 × 10 ⁷ ± 5,58 × 10 ⁶ c
Harina de arveja amarilla (AP) fermentada 24 h (FES II)	31,48 ± 3,53 c	2,54 ± 0,19 a	2,76 ± 0,26 c	63,21 ± 3,07 b	34,18 ± 7,00 b	1,12 × 10 ⁷ ± 7,07 × 10 ⁵ c
Harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III)	48,72 ± 1,36 a	2,44 ± 0,25 a	6,89 ± 0,09 a	41,94 ± 1,01 d	61,36 ± 13,58 a	4,44 × 10 ⁹ ± 7,77 × 10 ⁷ b
Harina de arveja amarilla (AP) fermentada 168 h (FES IV)	39,14 ± 1,36 b	1,50 ± 0,11 a	4,06 ± 0,00 b	55,30 ± 1,48 c	59,30 ± 6,00 a	5,48 × 10 ⁹ ± 6,36 × 10 ⁷ a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detectó actividad.

La relación carbono/nitrógeno (C/N) de la harina de arveja amarilla se estima en aproximadamente 10:1, en función de su composición macro nutricional típica (~25 % de

proteína y ~60 % de carbohidratos en base seca), y puede considerarse favorable para el crecimiento de *A. niger*, dado que relaciones C/N balanceadas favorecen la producción de biomasa fúngica y la síntesis enzimática (Aboyeji et al., 2020). En ausencia de suplementación con fuentes externas de nitrógeno, como urea, el hongo consume el nitrógeno orgánico e inorgánico disponible en el sustrato, lo que puede resultar en una reducción del contenido proteico del material fermentado (Yafetto, 2018). Una disminución en el contenido de proteína durante fermentaciones sólidas prolongadas también se observa en otros estudios (Aruna, 2019; Maftukhah & Abdullah, 2018), dado que el microorganismo puede recurrir al uso de fuentes internas de nitrógeno, como las proteínas, para sustentar su actividad metabólica y la producción de enzimas bajo condiciones limitantes de nutrientes (como la baja disponibilidad de azúcares) (Maftukhah & Abdullah, 2018).

Con base a lo discutido previamente y en los resultados del ANOVA, se seleccionan los tiempos de fermentación de 6 y 96 h para evaluar el desempeño global del proceso de recuperación de proteínas y las características de los productos proteicos de arveja amarilla pre-comercial obtenidos. La condición de 96 h se elige debido a su contenido proteico significativamente mayor, mientras que la de 6 h se selecciona entre los tratamientos restantes por ser el tratamiento de menor duración y reportar valores proteicos significativamente superior respecto de la harina sin fermentar.

4.1.2 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos

La Tabla 20 presenta los contenidos de proteína, lípidos, cenizas y carbohidratos, y el recuento de *A. niger*, y la Tabla 21 muestra el rendimiento de recuperación proteica, la productividad y el consumo específico de agua de los productos proteicos obtenidos a partir de harinas de arveja amarilla pre-comercial no fermentada y fermentada, utilizando ácido láctico (AL) o bacterias ácido-lácticas (LAB) como agentes precipitantes. Se encuentran diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en los indicadores de proceso de la recuperación proteica con respecto al uso de FES y del agente precipitante.

La performance del proceso de recuperación de proteínas a partir de diferentes leguminosas ha sido revisada previamente por diversos autores (Feng et al., 2024; Stone et al., 2015; Tanger et al., 2020), quienes observan que el rendimiento y el contenido proteico en el producto final dependen de la relación biomasa/solvente, del tipo de solvente, del pH de extracción, la temperatura y el tiempo, entre otras variables de proceso (Sanalibaba & Cakmak, 2016). También concluyen que la recuperación de proteínas a partir de ciertas matrices, como la soja y otros cereales, resulta más sencilla en comparación con fuentes novedosas,

presumiblemente porque las proteínas se encuentran más disponibles y las condiciones de procesamiento han sido mejor ajustadas (Stone et al., 2015; Tanger et al., 2020).

Tabla 20. Composición química de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica para diferentes tiempos de fermentación en estado sólido

Muestra	Precipitante	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Recuento <i>A. niger</i>
		% bs	% bs	% bs	% bs	esporas/g bs
Producto Proteico de harina amarilla (AP) de arveja no fermentada	AL	65,69	1,15	6,44	26,71	ND
		± 5,20	± 0,05	± 0,30	± 0,36	
		ab	b	b	c	
	BAL	49,25	1,10	7,66	41,99	ND
		± 7,53	± 0,04	± 0,38	± 0,32	
		bc	b	a	b	
Producto Proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 6 h (FES I)	AL	36,80	1,71	1,62	59,86	1,68 10 ⁰⁷
		± 3,66	± 0,00	± 0,02	± 3,68	± 2,54 10 ⁰⁶
		c	a	c	a	b
	BAL	41,09	1,61	1,31	55,98	2,94 10 ⁰⁷
		± 4,01	± 0,00	± 0,09	± 3,91	± 4,94 10 ⁰⁵
		c	a	c	a	b
Producto Proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III)	AL	72,28	1,57	1,94	24,21	1,71 10 ⁰⁸
		± 2,62	± 0,13	± 0,10	± 2,38	± 8,13 10 ⁰⁷
		a	a	c	c	ab
	BAL	40,83	0,92	2,12	56,11	2,96 10 ⁰⁸
		± 0,14	± 0,06	± 0,00	± 0,09	± 2,75 10 ⁰⁷
		c	b	c	a	a

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detectó actividad.

Tabla 21. Performance del proceso de recuperación proteica para diferentes tiempos de fermentación en estado sólido

Muestra	Precipitante	Rendimiento, Y_T	Productividad, P_{T1}	Consumo específico de agua, G_{w1}
		% bs	kg producto/kg harina bs	kg agua/kg producto bs
Producto Proteico de harina de arveja amarilla (AP) no fermentada	AL	66,19 ± 5,77	0,26 ± 0,04	129,00 ± 21,40
		ab	bc	b
	BAL	66,94 ± 0,63	0,36 ± 0,05	94,92 ± 13,62
		a	abc	bc
Producto Proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 6 h (FES I)	AL	75,11 ± 8,35	0,54 ± 0,11	59,03 ± 12,27
		a	a	c
	BAL	56,30 ± 7,01	0,36 ± 0,01	87,07 ± 2,21
		ab	abc	bc
Producto Proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III)	AL	46,36 ± 0,50	0,17 ± 0,00	186,14 ± 3,05
		b	c	a
	BAL	62,05 ± 0,41	0,40 ± 0,00	78,62 ± 1,52
		ab	ab	c

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Como se muestra en la Tabla 21, la productividad de los productos proteicos precipitados con BAL resulta significativamente mayor ($p < 0,05$, ANOVA de un factor). Este incremento puede atribuirse a la síntesis de exopolisacáridos (EPS), que genera un aumento en la masa del producto proteico, pero con un menor contenido de proteína ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en comparación con los productos no fermentados y aquellos fermentados durante 96 h y precipitados con AL. Según Korcz & Varga (2021), los EPS sintetizados por BAL interactúan con las proteínas, generando variabilidad en cuanto a su cantidad, composición monomérica, peso molecular, carga y estructura. Estas variaciones influyen en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los productos proteicos debido a la presencia de EPS, lo cual reduce el contenido de proteína, pero mejora las aplicaciones potenciales en diversos sectores de la industria alimentaria al optimizar la textura, estabilidad y funcionalidad (Nguyen et al., 2020; Valerio et al., 2020).

Con base en los resultados presentados, la evaluación de las propiedades funcionales se centrará en los dos productos proteicos con mayor contenido de proteína: el producto obtenido a partir de harina de arveja pre-comercial no fermentada utilizando ácido láctico (AL) como agente precipitante, y el producto obtenido a partir de harina de arveja pre-comercial fermentada durante 96 h y precipitada con AL.

4.1.3 Resultados y discusión: Propiedades funcionales

Como se muestra en la Tabla 22 y Tabla 23, las propiedades funcionales se evalúan para los productos proteicos obtenidos a partir de harinas de arveja amarilla pre-comercial sin fermentar y fermentadas durante 96 h, utilizando ácido láctico (AL) como agente precipitante. Dado que las posibles ventajas de incorporar proteínas de arveja en alimentos como emulsiones, espumas o geles pueden potenciarse al explorar el efecto del pH sobre sus propiedades funcionales, se seleccionan cinco valores de pH (2, 4,5, 7, 9,5 y 12) para este análisis.

Tabla 22. Propiedades funcionales a diferentes pH de los de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido

Muestra	pH	Solubilidad, S	Capacidad emulsionante, EC	Estabilidad de la emulsión, ES	Capacidad espumante, FC
		%	%	%	%
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin fermentar precipitado con AL	2	91,64	43,48	96,70	135,45
		± 4,18	± 9,37	± 4,66	± 8,10
		a	b	a	c
	4,5	14,62			137,68
		± 0,00	ND	ND	± 11,70
		c			bc
	7	71,30	66,77	63,66	163,44
		± 2,35	± 11,93	± 0,02	± 1,80
		b	ab	c	ab
	9,5	79,11	79,10	98,44	178,68
		± 10,17	± 17,60	± 2,21	± 5,20
		ab	a	a	a

		90,32	76,27	95,47	143,32
	12	± 5,11	± 11,43	± 6,41	± 11,36
		a	ab	a	bc
		92,08	47,28	79,70	153,34
	2	± 3,95	± 1,88	± 0,41	± 3,15
		a	ab	b	abc
		11,52	57,52	76,94	98,34
	4,5	± 0,00	± 0,15	± 0,67	± 2,35
		c	ab	b	d
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III) precipitado con AL		88,66	55,90	100,00	146,67
	7	± 4,65	± 2,14	± 0,00	± 4,72
		ab	ab	a	bc
		93,66	55,90	98,38	158,33
	9,5	± 4,01	± 2,14	± 2,28	± 2,35
		a	ab	a	abc
		96,49	53,01	91,88	178,33
	12	± 0,00	± 3,05	± 2,65	± 7,07
		a	ab	a	a

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detectó actividad.

Tabla 23. Propiedades funcionales a diferentes pH de los de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido

Muestra	pH	Estabilidad de la espuma a 30 min, FS30	Estabilidad de la espuma a 60 min, FS60	Capacidad de retención de agua, WHC	Capacidad de retención de aceite, OHC
		%	%	g/g	g/g
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin		87,34	82,81	3,33	1,40
	2	± 1,69	± 8,10	± 0,47	± 0,42
		a	a	b	c

fermentar precipitado con AL		92,63	78,94	1,60	0,84
	4,5	± 5,60	± 2,36	± 0,17	± 0,18
		a	ab	c	c
		92,10	85,74	1,25	1,37
	7	± 7,13	± 3,26	± 0,26	± 0,33
		a	a	c	c
		84,61	66,21	1,67	1,46
	9,5	± 5,60	± 5,73	± 0,86	± 0,02
		a	bc	c	c
		74,07	58,80	1,20	1,37
	12	± 10,68	± 4,47	± 0,12	± 0,03
		a	c	c	c
		19,58	1,45	5,57	8,50
	2	± 1,43	± 0,02	± 0,16	± 0,53
		cd	f	a	a
		3,39		3,45	5,66
	4,5	± 0,08	ND	± 0,15	± 0,49
		d		b	b
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III) precipitado con AL		44,27	39,72	2,16	5,79
	7	± 3,40	± 3,54	± 0,09	± 0,41
		b	d	bc	b
		46,34	42,11	1,67	6,60
	9,5	± 3,67	± 0,62	± 0,10	± 0,46
		b	d	c	b
		30,84	20,57	1,64	5,78
	12	± 0,09	± 0,81	± 0,10	± 0,21
		bc	e	c	b

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detectó actividad.

4.1.3.1 Solubilidad proteica (S)

La Tabla 22 presenta la solubilidad de los productos proteicos de arveja amarilla pre-comercial sin fermentar y fermentados durante 96 h. No se observan diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de dos factores) en la solubilidad entre los productos proteicos en el rango de valores de pH evaluados. Independientemente de si el producto proteico está fermentado o no, los valores de solubilidad siguen una tendencia similar a la reportada por Stone et al. (2024). En contraste, otros autores informan una reducción en la solubilidad proteica durante la fermentación de diferentes matrices con diversos microorganismos (García Arteaga et al., 2021; Kumitch et al., 2020). La reducción del tamaño de partícula y el cambio de la carga superficial a través de la hidrólisis proteica pueden promover interacciones proteína-agua y mejorar la solubilidad. Sin embargo, la agregación proteica puede ocurrir entre las regiones hidrofóbicas recién expuestas, disminuyendo el efecto beneficioso de la reducción de tamaño sobre la solubilidad (Kumitch et al., 2020).

4.1.3.2 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de la emulsión (ES)

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en la capacidad emulsionante (EC) y la estabilidad de la emulsión (ES) entre los productos proteicos fermentados durante 96 h y los no fermentados en el rango de valores de pH evaluados (Tabla 22). En contraste, no se detectan variaciones en la capacidad emulsionante a lo largo del rango de valores de pH evaluados para el producto fermentado durante 96 h. La capacidad emulsionante se correlaciona con el índice de solubilidad, siendo mayor en los valores de pH de 2, 7, 9,5 y 12, donde la solubilidad generalmente es más alta, como se observa en la Tabla 22 (Adebiyi & Aluko, 2011). Según diferentes autores (Ahmed et al., 2011; Kumitch et al., 2020), las propiedades emulsionantes de las proteínas se ven influenciadas significativamente por factores de fermentación como el pH, el tiempo de fermentación y el tipo de cepa, que afectan la flexibilidad conformacional de las proteínas y, en consecuencia, la exposición de sus regiones hidrofóbicas.

La estabilidad de la emulsión se mantiene muy alta en todos los niveles de pH, con valores superiores a 63,6 % para ambos productos proteicos. De acuerdo con (Stone et al., 2015), valores elevados de estabilidad de la emulsión implican que el aceite añadido se dispersa completamente en la fase acuosa debido a la adecuada resistencia viscoelástica de la película en la interfase, así como a la repulsión de carga y/o impedimento estérico suficiente entre gotas que previene su coalescencia.

Se destaca que el producto proteico obtenido tras 96 h de fermentación con *A. niger* exhibe capacidad emulsionante a pH de 4,5, a diferencia del producto sin fermentar, en el cual las

proteínas solubilizadas se aglutinan y precipitan en este pH, correspondiente a su punto isoeléctrico (Ladjal-Ettoumi et al., 2016). De manera similar, Aluko et al. (2009) reportan que los productos proteicos de arveja obtenidos por fermentación presentan mayor contenido de azúcares, lo cual podría favorecer la solubilidad y, en consecuencia, la capacidad emulsionante incluso en el punto isoeléctrico.

4.1.3.3 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma a 30 min (FS30) y a 60 min (FS60)

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en la capacidad espumante, y la estabilidad de la espuma a 30 min y a 60 min entre los productos proteicos fermentados durante 96 h y los no fermentados (Tabla 22 y Tabla 23). Los valores de capacidad espumante oscilan entre aproximadamente 178 % para el producto sin fermentar a pH 9,5 y el producto fermentado a pH de 12, y 98,3 % a pH de 4,5 para el producto sin fermentar. Como tendencia general, el producto fermentado exhibe menores valores de capacidad espumante para el mismo pH. La estabilidad de la espuma a los 30 y 60 min se mantiene muy alta en todos los valores de pH para el producto sin fermentar. En contraste, el producto proteico fermentado muestra menor estabilidad a ambos tiempos en todo el rango de pH evaluado.

La capacidad espumante sigue la misma tendencia que los valores de solubilidad, sin observarse mejoras para los productos fermentados durante 96 h en comparación con los no fermentados. El valor de pH en el punto isoeléctrico afecta la capacidad de la proteína de alcanzar la interfase aire-agua (Aluko et al., 2009), generando un valor mínimo de solubilidad y consecuentemente menores valores de capacidad espumante.

4.1.3.4 Capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de retención de aceite (OHC)

Como se muestra en la Tabla 23, los productos fermentados exhiben en general mejores capacidades de retención de agua y aceite en todos los valores de pH evaluados, con los valores más altos correspondientes a un pH de 2 para ambas propiedades ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores). Estudios similares reportan mejoras en la WHC de garbanzo, haba, frijol caupí y frijol rojo mediante fermentación (Chandra-Hioe et al., 2016; Chawla et al., 2017; Xiao et al., 2018), atribuidas a la actividad proteolítica del hongo que fragmenta las proteínas en péptidos más pequeños y expone sitios hidrofílicos adicionales. También se informan incrementos en la OHC en procesos con etapa de fermentación (Avramenko et al., 2013; Kumitch et al., 2020), atribuidos a la exposición de regiones hidrofóbicas por acción de

proteasas secretadas por los hongos, que fragmentan las proteínas y permiten que estas se agreguen en cúmulos con microcapilares que atrapan físicamente el aceite.

4.1.4 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes

La Tabla 24 presenta los valores experimentales de la actividad antioxidante de los productos proteicos obtenidos de harinas sin fermentar y fermentadas durante 96 h, obtenidos a partir de arvejas amarillas pre-comercial y utilizando ácido láctico (AL) en la etapa de precipitación isoeléctrica.

Tabla 24. Actividad antioxidante de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido

Muestra	Actividad de captura de radicales libres, DPPH	Actividad antioxidante equivalente Trolox por DPPH, TEAC _{DPPH}	Actividad de captura de radicales libres, ABTS	Actividad antioxidante equivalente Trolox por ABTS, TEAC _{ABTS}
	%	mg TE/100 g muestra	%	mg TE/100 g muestra
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin fermentar precipitado con AL	4,16 ± 0,88 b	233,20 ± 14,50 b	2,36 ± 0,31 b	56,18 ± 7,04 b
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III) precipitado con AL	32,86 ± 2,38 a	3.592,00 ± 275,00 a	9,17 ± 0,01 a	236,85 ± 5,11 a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

La actividad antioxidante del producto proteico fermentado durante 96 h, expresada como DPPH (%) y TEAC_{DPPH} (mg TE/100 g de muestra bs), muestra valores significativamente más altos ($p < 0,05$, ANOVA de un factor), siendo aproximadamente 7 y 14 veces mayores, respectivamente, que los valores del producto sin fermentar. Durante la FES, el *A. niger* produce enzimas exógenas como proteasas, lo que conduce a la generación de péptidos bioactivos con propiedades antioxidantes, como el dipéptido tirosina-prolina (Gomez Rojas &

Mosquera Martinez, 2023; Sandhu et al., 2016). Además, se informa que diferentes cepas de *Aspergillus* liberan cantidades variables de compuestos bioactivos debido a sus procesos metabólicos selectivos y acciones hidrolíticas, lo que resulta en variaciones en la actividad antioxidante de los productos proteicos (De Villa et al., 2023; Ritthibut et al., 2021).

La actividad antioxidante del producto proteico fermentado durante 96 h, expresada como ABTS (%) y TEAC_{ABTS} (mg TE/100 g de muestra bs), también reporta valores significativamente más altos ($p < 0,05$, ANOVA de un factor), siendo aproximadamente 3 y 4 veces mayores, respectivamente, que los valores del producto sin fermentar. Para los productos fermentados, los valores de ABTS y DPPH muestran una correlación positiva entre sí, con un coeficiente de correlación de Pearson $r = 0,996$, lo que coincide con valores reportados previamente por otros autores (Dudonné et al., 2009; Feitosa et al., 2020; Floegel et al., 2011).

4.1.5 Resultados y discusión: Calidad proteica

Esta sección presenta los valores experimentales de la actividad ureásica, los perfiles proteicos y de aminoácidos de los productos proteicos obtenidos a partir de harinas de arveja amarilla pre-comercial sin fermentar y fermentadas durante 96 h, utilizando ácido láctico (AL) en la etapa de precipitación isoelectrónica.

4.1.5.1 Actividad ureásica

La actividad ureásica del producto proteico de harina fermentada durante 96 h muestra valores significativamente más bajos ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) que el producto de harina sin fermentar, con valores de $0,02 \pm 0,00$ y $0,15 \pm 0,00$, respectivamente. Los menores valores de UA obtenidos para los productos fermentados se atribuyen a la degradación de la urea durante la fermentación y, en consecuencia, a una disminución significativa de la actividad ureásica y de la actividad de inhibición de tripsina, lo que a su vez incrementa la digestibilidad y la disponibilidad de aminoácidos de las harinas fermentadas (Ibáñez et al., 2020; Kumitch et al., 2020; van Eys et al., 2004). Estos resultados muestran que la FES constituye un método factible para reducir o incluso inactivar antinutrientes y, de esta forma, mitigar el problema de la presencia de componentes antinutricionales en productos proteicos (Li et al., 2020; Sukhikh et al., 2022).

4.1.5.2 Perfiles proteicos por electroforesis SDS-PAGE

La electroforesis SDS-PAGE se utiliza para determinar el impacto de la FES sobre el perfil polipeptídico de las harinas sin fermentar y fermentadas, y de los productos proteicos obtenidos a partir de dichas harinas, como se muestra en la Figura 7. Las harinas fermentadas con *A. niger* durante 6, 24, 96 y 168 h presentan péptidos de menor peso molecular en comparación con la harina sin fermentar, debido a la hidrólisis. Sin embargo, cuando el tiempo de fermentación supera las 96 h, solo se observan convicilina y subunidades ácidas de legumina de aproximadamente 15 y 20 kDa, respectivamente. Por otro lado, los perfiles peptídicos de los dos productos proteicos presentan similitudes composicionales, en particular en lo referido a la presencia de subunidades polipeptídicas de legumina (subunidades ácidas de aproximadamente 20 y 37 kDa) y subunidades α , β y γ de vicilina (aproximadamente 50 kDa), así como subunidades polipeptídicas de convicilina (aproximadamente 15 kDa). El producto proteico obtenido por FES durante 96 h presenta una mayor cantidad de subunidades peptídicas entre aproximadamente 37–50 kDa en comparación con la harina fermentada durante 96 h, que presenta subunidades peptídicas de menor peso molecular (aproximadamente 15–20 kDa). Esto puede deberse al proceso de pH-shifting, que genera agregación proteica y, en consecuencia, incrementa el peso molecular de los péptidos en el producto (Jiang et al., 2017; Ladjal-Ettoumi et al., 2016).

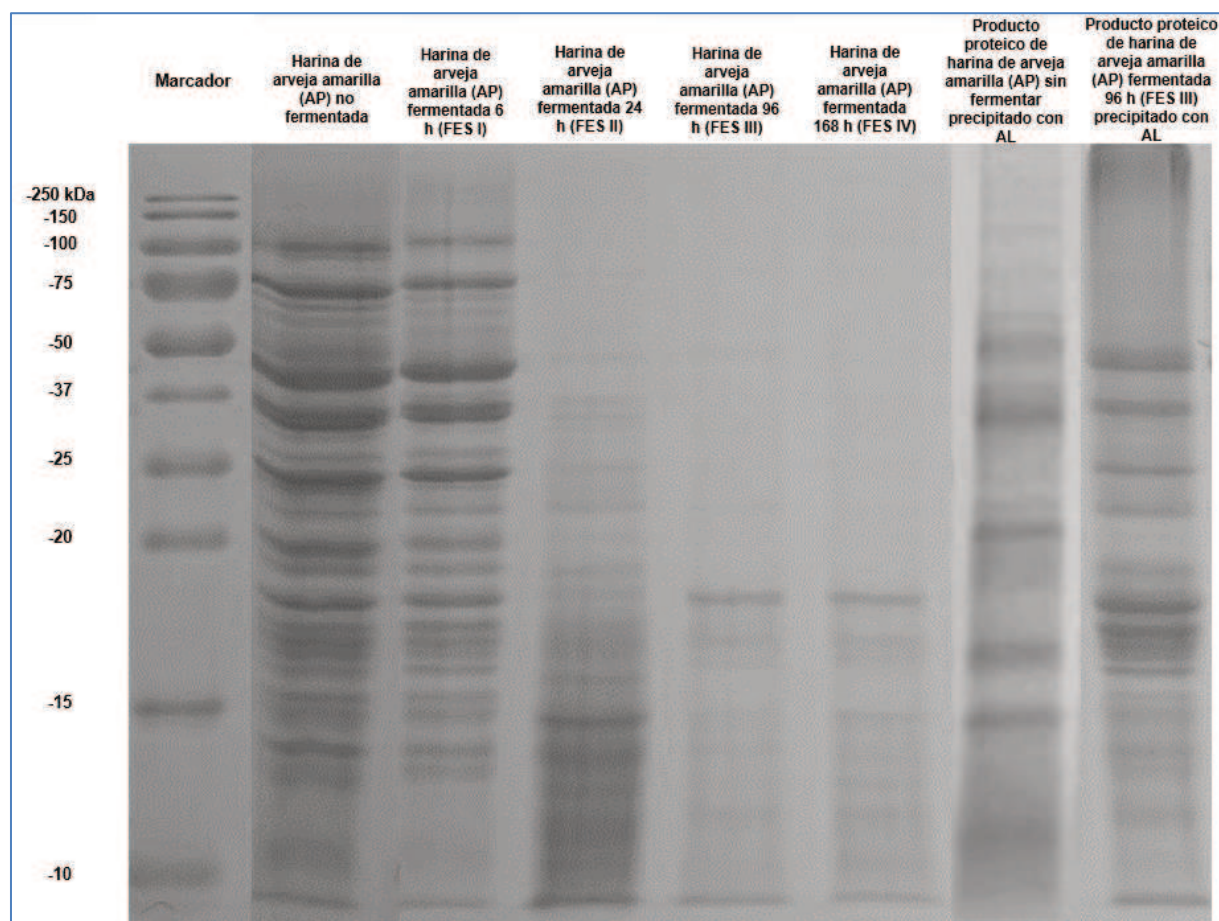


Figura 7. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de harinas y polvos proteicos sin fermentar y fermentados

4.1.5.3 Perfiles de aminoácidos por HPLC

La composición completa de aminoácidos de la harina de arveja pre-comercial sin fermentar, el producto proteico de harina sin fermentar y el producto proteico de harina fermentada durante 96 h se presenta en la Tabla 25. No se observan cambios en los valores de TEAA y TAA entre la harina de arveja amarilla pre-comercial sin fermentar y el respectivo producto proteico, lo que coincide con lo informado por (Tang et al., 2021). En contraste, el producto proteico obtenido a partir de harina fermentada durante 96 h muestra mejoras en la calidad nutricional, con mayores valores de TEAA y TAA. Los aminoácidos limitantes (LAA) de la harina de arveja amarilla son comúnmente los aminoácidos azufrados (SAA), como metionina y cisteína (Lu et al., 2020). En este sentido, la fermentación durante 96 h resulta en un incremento de la cisteína, mientras que el contenido de metionina muestra una disminución. Esta reducción se asocia al metabolismo fúngico, dado que la metionina puede utilizarse como precursor en rutas biosintéticas microbianas (Kumitch et al., 2020). No obstante, los SAA del producto fermentado durante 96 h muestran un aumento en relación con el producto proteico sin fermentar, lo que sugiere una recuperación parcial de estos aminoácidos limitantes

durante la fermentación. Los hallazgos en la literatura sobre la calidad de los perfiles proteicos después de la FES son variados, dependiendo del tipo de matriz, microorganismo y condiciones de fermentación estudiadas (Cui et al., 2021; Imelda et al., 2008; Khorsandi, 2022; Kumitch et al., 2020).

Tabla 25. Composición de aminoácidos de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con fermentación en estado sólido

		Muestra		
		Harina de arveja amarilla (AP) sin fermentar	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin fermentar precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentada 96 h (FES III) precipitado con AL
Ácido aspártico (Asp)	%	4,62 ± 0,71	2,89 ± 0,41	3,16 ± 0,52
Ácido glutámico (Glut)	%	2,78 ± 0,48	5,47 ± 0,71	6,46 ± 0,98
Glicina (Gly)	%	2,89 ± 0,42	1,01 ± 0,10	1,74 ± 0,31
Serina (Ser)	%	1,85 ± 0,33	1,33 ± 0,21	2,27 ± 0,30
Treonina (Thr) b	%	1,88 ± 0,34	0,94 ± 0,12	1,58 ± 0,22
Histidina (His) b	%	1,09 ± 0,25	0,70 ± 0,12	1,54 ± 0,24
Tirosina (Tyr)	%	1,25 ± 0,29	0,69 ± 0,01	1,13 ± 0,20
Arginina (Arg)	%	1,14 ± 0,28	2,56 ± 0,44	4,23 ± 0,62
Alanina (Ala)	%	1,09 ± 0,27	1,12 ± 0,23	1,72 ± 0,30
Metionina (Met) ab	%	0,97 ± 0,11	0,33 ± 0,01	0,51 ± 0,11
Valina (Val) b	%	1,05 ± 0,22	1,29 ± 0,25	1,65 ± 0,21
Triptófano (Trp) b	%	1,18 ± 0,22	0,24 ± 0,02	0,58 ± 0,11
Fenilalanina (Phe) b	%	0,86 ± 0,10	1,05 ± 0,10	2,10 ± 0,32
Isoleucina (Ile) b	%	0,73 ± 0,11	1,52 ± 0,21	1,97 ± 0,33
Leucina (Leu) b	%	0,44 ± 0,11	2,34 ± 0,33	3,03 ± 0,31
Lisina (Lys) b	%	0,44 ± 0,10	1,87 ± 0,30	3,91 ± 0,32
Prolina (Pro)	%	0,21 ± 0,08	0,98 ± 0,10	1,47 ± 0,22
Cisteína (Cys) a	%	0,13 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,31 ± 0,01
Aminoácidos azufrados totales (SAA)	%	1,10 ± 0,21	0,68 ± 0,02	0,82 ± 0,11
Aminoácidos esenciales totales (TEAA)	%	8,67 ± 1,30	10,28 ± 1,51	16,87 ± 2,01
Aminoácidos totales (TAA)	%	24,63 ± 3,61	26,68 ± 3,71	39,36 ± 5,21
SAA/TAA	%	4,46 ± 0,71	2,54 ± 0,31	2,08 ± 0,31

TEAA/TAA	%	35,20 ± 5,21	38,53 ± 5,61	42,86 ± 3,33
----------	---	--------------	--------------	--------------

Las determinaciones se realizan por duplicado en cada muestra. ^a Indica aminoácido azufrado.

^b Indica aminoácido esencial.

4.2 Recuperación proteica mediante extracción alcalina y precipitación isoeléctrica incluyendo una etapa previa de hidrólisis enzimática

Se procesa arveja amarilla pre-comercial (*Pisum sativum* L.) según el esquema de la Figura 8. El procedimiento comprende el acondicionamiento inicial de la materia prima, seguido de un proceso de hidrólisis enzimática, y luego el proceso de recuperación proteica conformado por la extracción alcalina con una relación sólido:líquido y valor de pH fijos, la precipitación isoeléctrica con diferentes agentes precipitantes, y secado por aspersión. Las condiciones operativas específicas de todas las etapas del proceso se presentan en la Tabla 26.

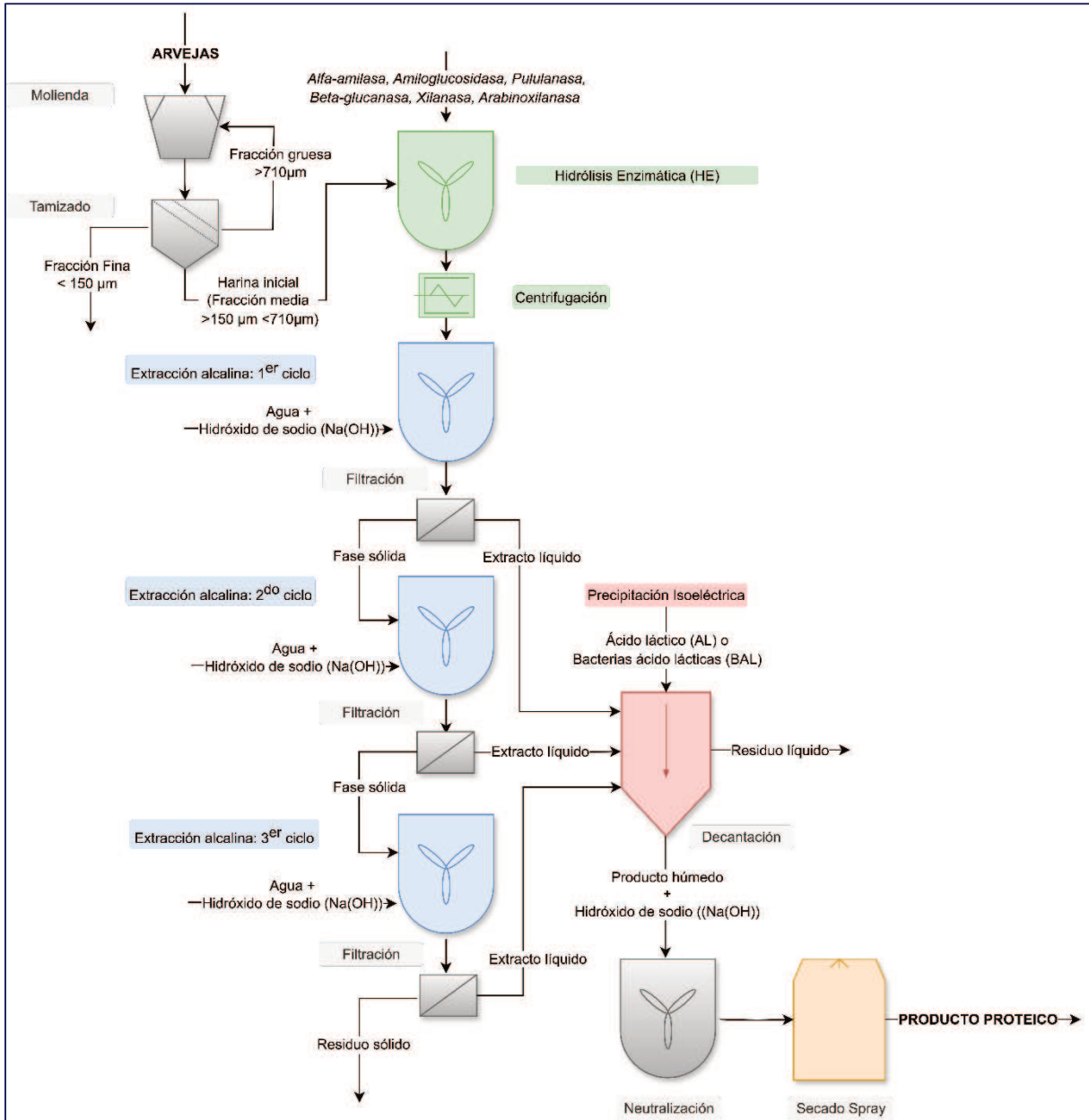


Figura 8. Proceso de recuperación proteica utilizando hidrólisis enzimática como pretratamiento

Tabla 26. Condiciones operativas del proceso de recuperación proteica para la evaluación del uso de hidrólisis enzimática como pretratamiento

Parámetro operativo	Valor
Materia prima	Arveja amarilla pre-comercial (AP)
ACONDICIONAMIENTO	
Fracción para extracción (μm)	150 – 710 (media)
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	

Endozym AGP120 (% p/p)	3
α -amilasa, amiloglucosidasa, pululanasa	
Prodooze BG (% p/p)	1,6
β -glucanasa, xilanasa, arabinoxilanasa	
Temperatura de HE (°C)	60
Tiempo de HE (h)	1 (HE I)
	2 (HE II)
	3 (HE III)
	6 (HE IV)
Humedad del ambiente (%)	80
Relación sólido:líquido (p/p)	1:10
pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	850

EXTRACCIÓN ALCALINA

Temperatura (°C)	60
Número de ciclos (-)	3
Tiempo por ciclo (min)	15
Relación sólido:líquido (p/p)	1:10
pH (-)	8,5
Velocidad de agitación (rpm)	300

PRECIPITACIÓN ISOELÉCTRICA

pH (-)	4,5
Velocidad de agitación (rpm)	300
Agente precipitante	Ácido láctico (AL)
	Bacterias ácido-lácticas (BAL)
Temperatura (°C)	4 (para AL)
	37,5 (para BAL)

NEUTRALIZACIÓN

Temperatura (°C)	20
-------------------------	----

pH (-)	7
Velocidad de agitación (rpm)	300
SECADO POR ASPERSIÓN	
Temperatura de entrada del aire (°C)	160
Temperatura de salida del aire (°C)	60
Caudal (l/h)	0,3
Diámetro de la boquilla (mm)	0,5

4.2.1 Resultados y discusión: Composición de las harinas hidrolizadas

Las harinas de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y las harinas hidrolizadas a diferentes tiempos de operación se caracterizan mediante la determinación de su contenido de proteína, lípidos, cenizas, carbohidratos y humedad, como se muestra en la Tabla 27.

Se encuentran diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en el contenido proteico entre la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y las harinas hidrolizadas. La harina sin hidrolizar presenta un menor contenido proteico que las harinas hidrolizadas, mientras que no se observan diferencias significativas en el contenido proteico entre las harinas hidrolizadas durante 1, 2, 3 y 6 h. Una tendencia similar se observa para el contenido de carbohidratos, pero en dirección opuesta, ya que la harina de arveja pre-comercial sin hidrolizar muestra el nivel más alto de carbohidratos. En contraste, las harinas hidrolizadas durante 1, 2, 3 y 6 h presentan contenidos de carbohidratos progresivamente menores, correspondientes a incrementos en el contenido proteico de 17,90 %, 20,32 %, 25,43 % y 27,44 %, respectivamente, en comparación con la muestra sin hidrolizar. No se observan diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de un factor) en el contenido de lípidos entre las muestras, mientras que sí se encuentran algunas diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de un factor) en los valores de cenizas y humedad.

La reducción observada en el contenido de carbohidratos durante la hidrólisis enzimática indica claramente la degradación de moléculas complejas como polisacáridos no amiláceos y almidón, junto con la liberación de proteínas asociadas en la matriz de la harina de arveja. Debido a la hidrólisis, los carbohidratos resultantes más simples pueden solubilizarse en el agua utilizada durante el tratamiento enzimático y ser eliminados posteriormente con la corriente líquida residual de la etapa de hidrólisis. La selección de carbohidrasas específicas, adaptadas a la composición polisacárida del sustrato, resulta esencial no solo para degradar carbohidratos complejos, sino también para aumentar la disponibilidad de proteínas en la

matriz de la harina (Niemi et al., 2013). Este efecto, combinado con la eliminación de carbohidratos solubilizados en la fase líquida, contribuye al incremento observado en la concentración proteica tras la hidrólisis. En concordancia con esta tendencia, diversos autores reportan resultados similares al aplicar carbohidrasas sobre matrices vegetales ricas en almidón y fibra (Scarabattoli et al., 2023; Sedlar et al., 2025). Estos resultados confirman que la acción sinérgica de las carbohidrasas constituye una estrategia eficaz para liberar y concentrar proteínas en matrices vegetales complejas, en concordancia con los incrementos observados en las harinas de arveja analizadas en este estudio.

Tabla 27. Composición química de la harina de arveja no hidrolizada y las harinas de arveja hidrolizadas

Muestra	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos	Humedad
	% bs	% bs	% bs	% bs	% bh
Harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	24,85 ± 0,63 b	1,82 ± 0,89 a	2,89 ± 0,07 a	70,44 ± 1,45 a	9,77 ± 1,50 b
Harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	29,30 ± 0,64 a	2,43 ± 0,02 a	1,74 ± 0,00 b	66,51 ± 0,63 b	78,35 ± 0,69 a
Harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 2 h (HE II)	29,90 ± 1,25 a	2,26 ± 0,29 a	1,65 ± 0,02 bc	66,19 ± 1,58 b	76,69 ± 3,36 a
Harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 3 h (HE III)	31,17 ± 0,53 a	2,49 ± 0,33 a	1,64 ± 0,03 bc	64,70 ± 0,90 b	78,37 ± 1,13 a
Harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 6 h (HE IV)	31,67 ± 0,27 a	2,47 ± 0,14 a	1,55 ± 0,01 c	64,30 ± 0,43 b	78,90 ± 0,70 a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey. ND = no se detectó actividad.

Con base en los resultados del ANOVA y en la discusión previa sobre el compromiso entre tiempo de hidrólisis y concentración proteica, se selecciona un tiempo de hidrólisis de 1 h para evaluar el desempeño global del proceso de recuperación de proteínas y las características

de los productos proteicos obtenidos a partir de arveja amarilla pre-comercial. Esta elección permite analizar si el enriquecimiento proteico moderado observado en tiempos más cortos de hidrólisis, combinado con el uso de AL y BAL como agentes precipitantes, puede mejorar la eficiencia del proceso y las propiedades tecno-funcionales de los productos proteicos.

4.2.3 Resultados y discusión: Indicadores de proceso y composición de los productos

La Tabla 28 presenta el contenido de proteína, lípidos, cenizas y carbohidratos de los productos proteicos obtenidos a partir de harinas de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar e hidrolizadas, utilizando ácido láctico o bacterias ácido-lácticas como agentes precipitantes, y la Tabla 29 reporta el rendimiento de recuperación proteica, la productividad y el consumo específico de agua del proceso implementado para la obtención de dichos productos.

Tabla 28. Composición química de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica incluyendo hidrólisis enzimática

Muestra	Precipitante	Proteína	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos
		% bs	% bs	% bs	% bs
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	AL	65,69	1,15	6,44	26,71
		± 5,20	± 0,05	± 0,30	± 0,36
		ab	c	b	c
	BAL	49,25	1,10	7,66	41,99
		± 7,53	± 0,04	± 0,38	± 0,32
		b	c	a	a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	71,07	4,03	1,82	23,08
		± 0,12	± 0,11	± 0,01	± 0,23
		a	a	c	d
	BAL	63,75	2,91	1,93	31,39
		± 0,43	± 0,09	± 0,00	± 0,54
		ab	b	c	b

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Tabla 29. Performance del proceso de recuperación proteica incluyendo hidrólisis enzimática

Muestra	Precipitante	Rendimiento de recuperación proteica, Y_T	Productividad, P_{T1}	Consumo específico de agua, G_{W1}
		% bs	kg producto bs/kg harina bs	kg agua/kg producto final bs
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	AL	66,19	0,26	129,00
		$\pm 5,77$	$\pm 0,04$	$\pm 21,4$
		a	a	a
	BAL	66,94	0,36	94,92
		$\pm 0,63$	$\pm 0,05$	$\pm 13,62$
		a	a	a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	52,08	0,29	135,13
		$\pm 1,21$	$\pm 0,00$	$\pm 0,53$
		b	a	a
	BAL	48,07	0,29	137,84
		$\pm 0,34$	$\pm 0,00$	$\pm 0,14$
		b	a	a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en el contenido de proteína, lípidos, cenizas y carbohidratos de los productos en función de la inclusión de la etapa de hidrólisis enzimática y del agente precipitante utilizado. Como tendencia general, se observa una reducción en el contenido de carbohidratos, acompañada por un incremento en la concentración proteica en los productos hidrolizados precipitados con el mismo agente. Por lo tanto, durante la hidrólisis enzimática los carbohidratos se degradan en moléculas más simples, de manera simultánea con la liberación de proteínas asociadas en la matriz de la harina de arveja (Niemi et al., 2013).

Asimismo, se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en el rendimiento de recuperación proteica del proceso, en función de la inclusión de la etapa de hidrólisis enzimática y del agente precipitante utilizado, pero no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de dos factores) en la productividad y en el consumo específico de agua del proceso de recuperación proteica. En relación con el rendimiento de

recuperación proteica, se observan valores más bajos en los productos hidrolizados. Esto podría atribuirse a que la hidrólisis favorece la pureza de la fracción proteica mediante la eliminación efectiva de componentes interferentes como lípidos y carbohidratos (Islam et al., 2020). Cabe destacar que, a pesar de la inclusión de una etapa adicional de hidrólisis enzimática que requiere agua, no se observan diferencias estadísticamente significativas en el consumo específico de agua entre los procesos con y sin hidrólisis. Esto indica que el uso de hidrólisis enzimática no compromete la sustentabilidad global del proceso en términos de uso de agua. Esta interpretación es consistente con reportes donde carbohidrasas (α -amilasa, amiloglucosidasa y Viscozyme®) mejoran la recuperación proteica al hidrolizar polisacáridos de pared, con efectos que van de ligeros incrementos (~2–3 %) a aumentos sustantivos (~56–70 %) según matriz y protocolo (Jodayree et al., 2012; Machida et al., 2022; Rosset et al., 2014). En consecuencia, todos los indicadores evaluados hasta el momento respaldan la factibilidad de esta estrategia como un enfoque técnico y ambientalmente ventajoso para la producción de ingredientes proteicos funcionales a partir de harina de arveja amarilla.

4.2.4 Resultados y discusión: Propiedades funcionales

Las Tabla 30 y Tabla 31 resumen los resultados de las propiedades funcionales tales como de solubilidad, capacidad emulsionante y estabilidad de emulsión, capacidad espumante y estabilidad de espuma a 30 y 60 min, así como la capacidad de retención de agua y de aceite, para de los productos proteicos de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar e hidrolizados durante 1 h, precipitados con AL y BAL como agentes precipitantes y evaluados en cinco valores de pH (2, 4,5, 7, 9,5 y 12) con el objetivo de examinar la aplicabilidad potencial de los productos proteicos resultantes en una amplia gama de formulaciones alimentarias.

Tabla 30. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrólisis enzimática

Muestra	pH	Solubilidad, S	Capacidad emulsionante, EC	Estabilidad de la emulsión, ES	Capacidad espumante, FC
		%	%	%	%
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con AL	2	91,64	43,48	96,70	135,45
		$\pm 4,18$	$\pm 9,37$	$\pm 4,66$	$\pm 8,10$
		abc	b	a	cd
	4,5	14,62	ND	ND	137,68
		$\pm 0,00$			$\pm 11,70$

		ef			bcd
		71,3	66,77	63,66	163,44
	7	± 2,35	± 11,93	± 0,02	± 1,80
		d	ab	b	abc
		79,11	79,10	98,44	178,68
	9,5	± 10,17	± 17,60	± 2,21	± 5,20
		cd	a	a	ab
		90,32	76,27	95,47	143,32
	12	± 5,11	± 11,43	± 6,41	± 11,36
		abc	a	a	bcd
		96,72	63,60	95,01	168,58
	2	± 3,34	± 3,39	± 1,51	± 9,08
		a	ab	a	abc
		11,61	76,66	90,00	131,80
	4,5	± 0,00	± 9,43	± 14,20	± 25,80
		f	a	ab	cd
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con BAL		13,75	75,12	86,10	109,84
	7	± 2,78	± 11,94	± 15,70	± 2,58
		ef	a	ab	de
		94,53	73,16	100,00	137,92
	9,5	± 3,26	± 12,13	± 0,00	± 3,72
		ab	ab	a	bcd
		94,00	66,63	86,70	112,20
	12	± 3,25	± 7,60	± 18,80	± 17,20
		ab	ab	ab	de
		81,85	63,34	96,30	137,50
	2	± 0,09	± 4,72	± 5,24	± 17,70
		bcd	ab	a	cd
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h precipitado con AL (HE I)		24,93	ND	ND	50,00
	4,5	± 0,07			± 0,00
		e			f
		94,46	63,09	92,45	50,00
	7	± 1,38	± 1,69	± 0,19	± 0,00

Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h precipitado con BAL (HE I)	9,5	ab	ab	ab	f
		92,03	55,56	100,00	72,50
		± 0,19	± 0,00	± 0,00	± 3,54
	12	ab	ab	a	ef
		85,65	63,34	87,96	200,00
		± 0,25	± 4,72	± 6,55	± 0,00
	2	abc	ab	ab	a
		85,37	66,67	100,00	137,50
		± 0,24	± 0,00	± 0,00	± 17,70
	4,5	abc	ab	a	cd
		22,77			50,00
		± 0,39	ND	ND	± 0,00
	7	ef			f
		95,69	62,50	24,00	50,00
		± 1,11	± 0,00	± 0,00	± 0,00
	9,5	a	ab	c	f
		94,36	66,67	100,00	50,00
		± 1,46	± 0,00	± 0,00	± 0,00
	12	ab	ab	a	f
		93,22	66,67	83,33	150,00
		± 1,51	± 0,00	± 0,00	± 0,0
		ab	ab	ab	bcd

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Tabla 31. Propiedades funcionales a diferentes pH de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática

Muestra	pH	Estabilidad de la espuma a 30 min, FS30	Estabilidad de la espuma a 60 min, FS60	Capacidad de retención de agua, WHC	Capacidad de retención de aceite, OHC
		%	%	g/g	g/g
Producto proteico de harina de arveja	2	87,34	82,81	3,33	1,40
		± 1,69	± 8,10	± 0,47	± 0,42

amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con AL		a	ab	abc	f
		92,63	78,94	1,60	0,84
4,5		± 5,6	± 2,36	± 0,17	± 0,18
		a	ab	fgh	f
		92,10	85,74	1,25	1,37
7		± 7,13	± 3,26	± 0,26	± 0,33
		a	a	h	f
		84,61	66,91	1,67	1,46
9,5		± 5,60	± 5,73	± 0,86	± 0,02
		ab	bc	fgh	f
		74,07	58,80	1,20	1,37
12		± 10,68	± 4,47	± 0,12	± 0,03
		abc	cd	h	f
		28,81	17,52	1,65	1,49
2		± 0,33	± 8,61	± 0,07	± 0,19
		fg	gh	fgh	f
		27,03	21,11	1,83	1,55
4,5		± 8,91	± 7,86	± 0,22	± 0,41
		fg	fg	efgh	f
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con BAL		2,72		1,52	1,85
7		± 3,85	ND	± 0,00	± 0,51
		h		gh	f
		25,25	3,69	1,68	1,67
9,5		± 6,11	± 5,23	± 0,28	± 0,47
		g	h	fgh	f
		63,12	48,52	1,19	1,38
12		± 4,41	± 4,99	± 0,04	± 0,23
		cd	de	h	f
		52,34	32,66	3,39	5,79
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h precipitado con AL (HE I)		± 6,13	± 0,94	± 0,19	± 0,35
2		de	efg	abc	de
		56,00		2,62	4,77
4,5		± 5,66	ND	± 0,12	± 0,19

		cde		bcdef	e
		50,00	47,50	2,79	6,04
	7	± 0,00	± 3,54	± 0,01	± 0,29
		de	de	bcde	d
		37,86	34,52	3,50	8,83
	9,5	± 3,03	± 1,68	± 0,02	± 0,07
		efg	ef	ab	b
		66,25	37,50	1,90	7,77
	12	± 5,30	± 0,00	± 0,06	± 0,43
		bcd	ef	efgh	bc
		63,34	47,33	3,84	5,83
	2	± 4,72	± 0,94	± 0,04	± 0,26
		cd	de	a	de
		47,50		2,45	4,88
	4,5	± 3,54	ND	± 0,14	± 0,00
		def		cdefg	e
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h precipitado con BAL (HE I)		47,50		2,50	5,22
	7	± 3,54	ND	± 0,11	± 0,17
		def		bcdefg	de
		50,00	40,00	3,06	7,52
	9,5	± 0,00	± 0,00	± 0,17	± 0,09
		de	e	abcd	c
		50,00	41,66	2,03	12,84
	12	± 0,00	± 2,35	± 0,00	± 0,00
		de	e	defgh	a

ANOVA de tres factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

4.2.4.1 Solubilidad proteica (S)

No se observan diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de tres factores) en la solubilidad entre los productos proteicos de harinas hidrolizadas durante 1 h y los productos de harinas no hidrolizadas en todo el rango de valores de pH evaluados y para los distintos agentes precipitantes utilizados, excepto en algunos productos a pH de 7 y 9,5, como se indica en la Tabla 30. Los valores más bajos de solubilidad se registran en el punto isoeléctrico (pH de

4,5), mientras que los valores más altos se obtienen bajo condiciones ácidas o alcalinas. Las diferencias significativas observadas en la solubilidad de los productos proteicos a valores específicos de pH dentro del rango evaluado pueden atribuirse, al menos en parte, a la influencia de la carga neta superficial de las proteínas en función del pH. Ladjal-Ettoumi et al. (2016) investigaron el comportamiento de la solubilidad de proteínas de arveja, garbanzo y lenteja, y encontraron que sus perfiles de solubilidad a diferentes niveles de pH reflejan estrechamente las tendencias del potencial zeta correspondiente. La correlación entre solubilidad y potencial zeta observada por estos autores refuerza la noción de que la solubilidad proteica está fuertemente modulada por interacciones electrostáticas, las cuales están gobernadas por el estado de ionización de los grupos funcionales en la superficie proteica. A medida que el pH se aleja del punto isoeléctrico, el aumento de la repulsión entre moléculas con carga similar favorece la dispersión de las proteínas en fase acuosa, mejorando así su solubilidad.

Chao & Aluko (2018) reportaron valores de solubilidad de aproximadamente 28 % para aislados de proteína de arveja a pH 7, precipitados con ácido clorhídrico y sin hidrólisis enzimática. En comparación, Cui et al. (2020) informaron para un rango de pH de 3 a 8 índices de solubilidad más elevados, en el rango de 5-80 % para productos proteicos también obtenidos sin hidrólisis enzimática a partir de cultivares de arveja amarilla con similar contenido proteico inicial y utilizando ácido clorhídrico para la precipitación. En ese estudio también se destaca que los resultados de solubilidad evaluados en distintos niveles de pH para proteínas extraídas bajo condiciones alcalinas variables son dependientes de cada caso.

La ausencia de diferencias significativas entre los productos hidrolizados y no hidrolizados podría explicarse por la acción limitada de las carbohidrasas sobre las fracciones proteicas. Estas enzimas actúan principalmente sobre los polisacáridos estructurales de la pared celular y no sobre los enlaces peptídicos, por lo que su efecto se restringe a una liberación parcial de proteínas atrapadas en la matriz sin inducir cambios conformacionales que favorezcan su solubilidad. En consecuencia, la aplicación individual de carbohidrasas suele generar leves o nulas mejoras en la solubilidad proteica, tal como se ha reportado para diferentes matrices vegetales ricas en fibra y almidón (Arte et al., 2016; Scarabattoli et al., 2023).

4.2.4.2 Capacidad emulsionante (EC) y estabilidad de emulsión (ES)

Como tendencia general, no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$, ANOVA de tres factores) en la capacidad emulsionante (EC) y en la estabilidad de la emulsión (ES) entre los productos proteicos de harinas hidrolizadas durante 1 h y los productos proteicos de harinas no hidrolizadas, en todo el rango de pH evaluado y para los diferentes agentes precipitantes

utilizados, como se muestra en la Tabla 30. En general, se registran valores de capacidad emulsionante superiores al 60 % en la mayoría de las muestras, excepto en el producto de harina sin hidrolizar precipitado con AL a pH de 2, que presenta un valor de 43,48 %. Este comportamiento amplía su potencial uso en el desarrollo de diversos productos alimenticios.

Diversos autores han reportado que la hidrólisis enzimática puede reducir la capacidad emulsionante y la estabilidad de emulsión cuando se realiza bajo condiciones que promueven la desnaturalización proteica. En estos casos, el tratamiento térmico asociado puede inducir disociación, reordenamientos estructurales y posterior agregación de las proteínas, disminuyendo su capacidad para formar y mantener emulsiones estables. En concordancia con estos antecedentes, la ausencia de diferencias significativas en EC y ES entre los productos no hidrolizados e hidrolizados podría atribuirse al hecho de que ambos fueron sometidos al mismo proceso de extracción y temperatura, limitando posibles variaciones en su comportamiento funcional (Badia-Olmos et al., 2024; Ricarte et al., 2024).

Por otro lado, los productos proteicos sin hidrolizar precipitados con BAL presentan capacidad emulsionante incluso en el valor de pH isoeléctrico. Según Aluko et al. (2009), los productos proteicos de arveja obtenidos por precipitación con bacterias ácido-lácticas presentan mayor contenido de azúcares, lo que podría favorecer la solubilidad de los productos obtenidos y, en consecuencia, mejorar su capacidad emulsionante.

4.2.4.3 Capacidad espumante (FC) y estabilidad de la espuma a 30 min (FS30) y a 60 min (FS60)

Se observan diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores) en la capacidad espumante, la estabilidad de espuma a 30 min y la estabilidad de espuma a 60 min entre los productos proteicos de harinas hidrolizadas durante 1 h y los productos proteicos de harinas no hidrolizadas en todo el rango de pH evaluado y para los diferentes agentes precipitantes utilizados, como se muestra en la Tabla 30. Como tendencia general, los productos proteicos sin hidrolizar precipitados con AL exhiben los valores más altos de FC, alcanzando un máximo de $178,68 \pm 5,20$ % a pH 9,5, estadísticamente superior a los valores para las demás condiciones evaluadas. A pH 7, este mismo producto también presenta un alto valor de FC ($163,44 \pm 1,80$ %), significativamente mayor que para varias de las alternativas hidrolizadas. En contraste, los productos proteicos hidrolizados durante 1 h exhiben en general valores reducidos de FC, particularmente a pH 4,5 y 7, donde se registra un valor mínimo de $50,00 \pm 0,00$ % para ambos agentes precipitantes, lo que indica una capacidad espumante significativamente menor respecto de las demás condiciones. Esta reducción puede atribuirse a una desnaturalización parcial de las proteínas inducida por el tratamiento enzimático, que

podría limitar su capacidad para formar y estabilizar burbujas de aire (Panizzolo & Añón, 2015). Sin embargo, se observa una excepción destacada en el producto hidrolizado con AL a pH 12, que alcanza una FC de $200,00 \pm 0,00$ %, el valor más alto registrado en el conjunto de datos. Esto sugiere que, bajo condiciones fuertemente alcalinas, ciertas fracciones proteicas pueden adoptar conformaciones más favorables para la incorporación de aire (Tang et al., 2009). Los productos sin hidrolizar precipitados con BAL también presentan buena capacidad espumante, con valores superiores al 130 % para valores de pH de 2, 4,5 y 9,5. Este comportamiento puede relacionarse con la posible presencia de compuestos hidrofílicos residuales generados durante la fermentación, que favorecerían la dispersión proteica y la estabilización en la interfase aire-líquido (Padalino et al., 2013).

En cuanto a la estabilidad de espuma a 30 min, los valores oscilan entre $2,72 \pm 3,85$ % y $92,63 \pm 5,60$ %, mostrando una amplia variabilidad entre condiciones experimentales. La mayor estabilidad se observa en el producto sin hidrolizar precipitado con AL a pH 7, probablemente asociada con la alta capacidad espumante de este producto y su potencial para formar películas cohesivas en la interfase aire-líquido (Murray & Ettelaie, 2004). En contraste, los productos hidrolizados precipitados con BAL exhiben los valores más bajos de estabilidad de espuma en casi todos los niveles de pH evaluados. Se observan mínimas diferencias entre los valores para pH de 4,5 y 9,5, siendo consistentemente inferiores al 5 %. Este comportamiento puede atribuirse a la reducción del peso molecular y a la pérdida de la estructura terciaria causada por la hidrólisis, lo que compromete la integridad de las películas interfaciales necesarias para mantener espumas estables. Además, la precipitación con BAL puede dar lugar a fracciones proteicas menos hidrofóbicas, más propensas al colapso de la espuma (Wang et al., 2021).

De forma similar, la estabilidad de la espuma a 60 min presenta un rango amplio de valores entre $3,69 \pm 5,23$ % y $85,74 \pm 3,26$ %, este último correspondiente también al producto de harina sin hidrolizar precipitado con AL a pH de 7. Se observa una clara tendencia a la disminución de la estabilidad en el tiempo, particularmente marcada en los productos de harinas hidrolizadas, cuya estabilidad de espuma desciende prácticamente a cero en varias condiciones. En general, los productos de harina sin hidrolizar precipitados con AL muestran los perfiles de estabilidad más favorables, especialmente a pH de 7 y 9,5, con valores superiores al 60 % después de 60 min. Esta estabilidad sostenida puede estar asociada a estructuras proteicas nativas capaces de formar películas viscoelásticas en la interfase aire-líquido, así como a una mejor capacidad para retener aire durante el reposo (Wang et al., 2021).

4.2.4.4 Capacidad de retención de agua (WHC) y capacidad de retención de aceite (OHC)

La capacidad de retención de agua y de aceite de los productos proteicos de harina sin hidrolizar y de los productos de harinas hidrolizadas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores) en el rango de valores de pH evaluados y para los diferentes agentes precipitantes utilizados, como se muestra en la Tabla 30. Los productos proteicos de harinas hidrolizadas durante 1 h exhiben valores de WHC marcadamente superiores en comparación con sus contrapartes de harinas sin hidrolizar. En particular, el producto de harina hidrolizada precipitado con BAL a pH de 2 presenta el valor más alto del conjunto de datos ($3,84 \pm 0,04$ g/g). Le siguen el producto de harina hidrolizada precipitado con AL a pH de 9,5 ($3,50 \pm 0,02$ g/g) y a pH de 2 ($3,39 \pm 0,19$ g/g), confirmando que la hidrólisis enzimática combinada con valores extremos de pH promueve una mayor capacidad de retención de agua. En contraste, los productos de harinas sin hidrolizar muestran valores menores de WHC, con diferencias estadísticamente significativas. El valor más bajo se registra en el producto de harina sin hidrolizar precipitado con AL a pH de 12 ($1,20 \pm 0,12$ g/g), que no difiere significativamente de otros valores dentro de la misma categoría para pH de 4,5, 7 y 9,5. Estos resultados sugieren que la hidrólisis por carbohidrasas incrementa la exposición de fragmentos peptídicos con alta afinidad por el agua, favoreciendo así la absorción hídrica (Mokni Ghribi et al., 2015; Scilingo & Añón, 2004).

En concordancia con esta tendencia, diversos estudios recientes confirman que la hidrólisis enzimática puede mejorar la capacidad de retención de agua al inducir modificaciones estructurales en la matriz vegetal. La acción de las enzimas favorece la exposición de grupos hidrofílicos y lipofílicos, lo que incrementa la interacción con el agua y los lípidos, contribuyendo así a una mejor respuesta funcional de las proteínas vegetales (Kong et al., 2023; Ricarte et al., 2024).

En cuanto a la OHC, esta propiedad funcional muestra variaciones más marcadas entre los productos obtenidos mediante diferentes tratamientos y ajustados a diferentes valores de pH. Se encuentran diferencias significativas ($p < 0,05$, ANOVA de tres factores) entre productos de harinas hidrolizadas y sin hidrolizar. El valor más alto se observa en los productos de harinas hidrolizadas precipitados con BAL a pH de 12 ($12,84 \pm 0,00$ g/g), seguido por los productos precipitados con AL a pH de 9,5 ($8,83 \pm 0,07$ g/g) y a pH 12 ($7,77 \pm 0,43$ g/g), todos estadísticamente superiores a los productos de harinas sin hidrolizar. En contraste, los productos de harinas sin hidrolizar presentan valores considerablemente menores y más homogéneos (entre 0,84 y 1,85 g/g), sin diferencias significativas entre los niveles de pH ni entre los agentes precipitantes. Esta diferencia sugiere que la hidrólisis enzimática no solo facilita la liberación de segmentos hidrofóbicos, sino que también mejora la capacidad del

sistema proteico para interactuar con fases lipídicas, un factor crítico en matrices con contenido de grasa (Tang et al., 2009).

De manera consistente, diversos estudios han señalado que la hidrólisis enzimática puede modificar la capacidad de retención de aceite de las proteínas vegetales. Si bien algunos trabajos no evidencian cambios significativos, otros reportan incrementos asociados a la ruptura de enlaces glicosídicos y a la exposición de grupos hidrofóbicos capaces de interactuar con las fases lipídicas. Estas diferencias reflejan que el efecto de las enzimas sobre la OHC depende del grado de hidrólisis y de la naturaleza estructural de la matriz vegetal (Kong et al., 2023; Ricarte et al., 2024).

4.2.5 Resultados y discusión: Propiedades antioxidantes

La Tabla 32 presenta los valores experimentales de la actividad antioxidante de los productos proteicos de harinas sin hidrolizar e hidrolizados durante 1 h, obtenidos a partir de harinas de arveja amarilla pre-comercial utilizando ácido láctico (AL) y bacterias ácido-lácticas (BAL) como agentes precipitantes.

Se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) en la actividad antioxidante de los productos proteicos evaluados, tanto en términos de porcentaje de inhibición de radicales libres como de capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC), utilizando los ensayos DPPH y ABTS.

En el ensayo DPPH, el producto de harina sin hidrolizar precipitado con BAL exhibe el mayor porcentaje de inhibición de radicales libres ($18,94 \pm 0,63 \%$). Las demás muestras, incluidas las obtenidas de harinas hidrolizadas, presentan valores de inhibición que oscilan entre $2,94 \%$ y $4,16 \%$, sin diferencias significativas entre ellas. Cuando se expresa como $TEAC_{DPPH}$, el producto proteico de harina hidrolizada y precipitado con BAL muestra el valor más alto ($2.495,00 \pm 180,00$ mg TE/100 g bs), seguido por el producto proteico de harina hidrolizada y precipitado con AL y el producto proteico de harina sin hidrolizar precipitado con BAL, que no difieren significativamente entre sí. El valor más bajo de $TEAC_{DPPH}$, registrado en el producto de harina sin hidrolizar precipitado con AL ($233,20 \pm 14,50$ mg TE/100 g bs), resulta aproximadamente 10 veces menor.

Tabla 32. Actividad antioxidante de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática

Muestra	Precipitante	Actividad de captura de radicales libres, DPPH	Actividad antioxidante equivalente Trolox por DPPH, TEAC _{DPPH}	Actividad de captura de radicales libres, ABTS	Actividad antioxidante equivalente Trolox por ABTS, TEAC _{ABTS}
		%	mg TE/100 g muestra	%	mg TE/100 g muestra
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	AL	4,16	233,20	2,36	56,18
		± 0,88	± 14,50	± 0,31	± 7,04
		b	c	c	c
	BAL	18,94	1.799,30	27,50	771,80
		± 0,63	± 70,40	± 4,37	± 76,00
		a	b	a	a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	2,94	1.974,70	12,01	324,40
		± 0,23	± 135,60	± 0,84	± 19,40
		b	b	b	b
	BAL	4,03	2.495,00	5,76	145,38
		± 0,36	± 180,00	± 0,48	± 11,30
		b	a	bc	c

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Se observa una tendencia similar en el ensayo ABTS, donde el producto de harina sin hidrolizar precipitado con BAL presenta la mayor capacidad antioxidante, con un porcentaje de inhibición de $27,50 \pm 4,37$ % y un valor de TEAC_{ABTS} de $771,80 \pm 76,00$ mg TE/100 g bs. En comparación, la actividad antioxidante en el producto proteico de harina hidrolizada y precipitado con AL se reduce aproximadamente a la mitad de estos valores. Las demás muestras, incluido el producto de harina sin hidrolizar y precipitado con AL, exhiben únicamente una actividad antioxidante mínima.

Estos resultados confirman que tanto el tratamiento enzimático como la elección del agente precipitante influyen significativamente en la actividad antioxidante. En particular, el uso de BAL como agente precipitante, combinado o no con hidrólisis, ejerce un efecto potenciador sobre la capacidad antioxidante, posiblemente debido a la liberación de péptidos bioactivos

y/o metabolitos con propiedades reductoras (de Castro & Sato, 2015; Emkani et al., 2022; Gomez Rojas & Mosquera Martinez, 2023; Youssef et al., 2019).

Diversos estudios en matrices vegetales de distinta naturaleza han reportado efectos similares, donde los tratamientos enzimáticos favorecen la liberación de compuestos bioactivos con capacidad reductora, como péptidos antioxidantes, isoflavonas agliconas y ácidos fenólicos (Bautista-Expósito et al., 2020; Damuliené et al., 2023; Ricarte et al., 2024). Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la disrupción de componentes estructurales durante la hidrólisis contribuye a incrementar la disponibilidad de moléculas con potencial antioxidante, tal como se observa en los productos proteicos obtenidos a partir de arveja amarilla.

4.2.6 Resultados y discusión: Calidad proteica

La calidad proteica, medida por la actividad ureasa, el perfil peptídico y el perfil de aminoácidos, se determina para la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y para los productos proteicos de harinas sin hidrolizar e hidrolizadas durante 1 h, obtenidos con ácido láctico (AL) o bacterias ácido-lácticas (BAL) como agentes precipitantes.

4.2.6.1 Actividad ureásica

Los valores de actividad ureásica muestran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) entre los distintos productos proteicos evaluados, como se presenta en la Tabla 33. Los productos obtenidos a partir de harina de arveja sin hidrolizar precipitados con AL o con BAL presentan los valores más altos de actividad ureásica, sin diferencias significativas entre ellos. En contraste, los productos proteicos derivados de harina hidrolizada durante 1 h presentan una reducción significativa en la actividad ureásica. El producto proteico hidrolizado y precipitado con AL exhibe un valor intermedio, mientras que el producto hidrolizado precipitado con BAL presenta una actividad significativamente menor que todas las demás muestras.

La ureasa es una enzima común en las leguminosas, capaz de hidrolizar la urea en dióxido de carbono y amoníaco (Bracco et al., 2019). Dado que la ureasa puede inactivarse mediante tratamiento térmico, su actividad residual se utiliza como un indicador indirecto de procesamiento insuficiente y de la posible presencia de compuestos antinutricionales, como los inhibidores de tripsina (Ibáñez et al., 2020). Según el método oficial AOCS BA. 9-58 (AOCS, 2017), valores de actividad ureásica superiores a 0,30 unidades de pH indican un procesamiento inadecuado. En este contexto, los resultados confirman que el tratamiento enzimático aplicado antes de la etapa de precipitación isoeléctrica contribuye

significativamente a disminuir la actividad ureásica, mejorando así la inocuidad y la adecuación nutricional de los productos proteicos al reducir los factores antinutricionales residuales.

Tabla 33. Actividad ureásica de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática

Muestra	Precipitante	Actividad Ureásica
		(-)
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	AL	0,15 ± 0,00 a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	BAL	0,13 ± 0,00 a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	0,07 ± 0,00 b
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	BAL	0,01 ± 0,00 c

ANOVA de dos factores para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

Geng et al. (2023) evaluaron la actividad ureásica en cascarillas de soja tras un tratamiento combinado de fermentación microbiana e hidrólisis enzimática con celulasa y xilanasas bajo condiciones optimizadas: 33 °C, relación sólido:líquido de 1:2,1, tiempo de fermentación de 6 días y relación enzimática de 1:2,5. Los autores informaron una disminución significativa de la actividad ureásica ($p < 0,05$), con valores que descienden de $0,81 \pm 0,12$ U/g en la muestra control a $0,02 \pm 0,02$ U/g en la muestra tratada, lo que representa una reducción aproximada del 97,5 %. Según los autores, esta marcada disminución en la actividad ureásica indica que el tratamiento combinado enzimático y microbiano resulta efectivo para eliminar factores antinutricionales, lo que mejora la digestibilidad y la inocuidad del ingrediente vegetal procesado para aplicaciones en nutrición humana.

4.2.6.2 Perfiles proteicos por electroforesis SDS-PAGE

La electroforesis SDS-PAGE se utiliza para determinar el perfil polipeptídico de la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y de los productos proteicos de harinas sin hidrolizar e hidrolizadas precipitados con AL y BAL, como se muestra en la Figura 9.

Las proteínas de arveja están compuestas principalmente por globulinas de reserva, en particular legumina (clasificada como 11S) y vicilina (clasificada como 7S) (Liang & Tang, 2013). La legumina presenta una estructura hexamérica formada por seis subunidades interconectadas mediante enlaces disulfuro. Cada subunidad está compuesta por un polipéptido ácido (~20 kDa) y un polipéptido básico (~40 kDa), lo que da como resultado una masa individual de aproximadamente 60 kDa y una masa molecular nativa cercana a 360 kDa. La vicilina, que representa alrededor del 35 % del contenido proteico total de la arveja, se organiza como un trímero compuesto por tres subunidades unidas de manera no covalente, cada una con un peso molecular entre 47 y 50 kDa, alcanzando una masa total de aproximadamente 150 kDa para la proteína ensamblada. En el presente estudio, el análisis por SDS-PAGE de la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar revela un rango de subunidades proteicas entre ~10 y ~100 kDa, en concordancia con los perfiles moleculares previamente reportados para proteínas de arveja (Ladjal-Ettoumi et al., 2016).

Se observa un patrón de bandas diferencial entre los perfiles proteicos de los productos derivados de harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y aquellos derivados de harinas sometidas a hidrólisis enzimática durante 1 h seguida de precipitación con AL o BAL. Las intensidades relativas medidas mediante densitometría porcentual de las principales bandas correspondientes a vicilina (~47, ~35, ~33, ~25 kDa), convicilina (~70 kDa) y legumina (~40, ~23, ~22 kDa) muestran variaciones atribuibles a las condiciones específicas de procesamiento aplicadas.

En este contexto, el perfil densitométrico revela diferencias en la intensidad relativa de las principales bandas proteicas entre la harina sin hidrolizar y los productos proteicos. En particular, la banda correspondiente a convicilina (~70 kDa) disminuye en todos los productos proteicos respecto de la harina sin hidrolizar (16,01 %). Esta reducción es más pronunciada en los productos precipitados con BAL, tanto de harinas sin hidrolizar como hidrolizadas (8,00 % y 10,49 % respectivamente), seguida por los precipitados con AL (13,32 % y 12,17 % respectivamente). Esto sugiere una mayor susceptibilidad de esta fracción a la degradación bajo condiciones de procesamiento realizados con BAL. Por el contrario, la banda de vicilina (~25 kDa), representativa de fragmentos de menor peso molecular, muestra un aumento notable en los productos precipitados con BAL sin hidrolizar e hidrolizados (12,27 % y 10,67 % respectivamente) en comparación con la harina y los productos precipitados con AL sin

hidrolizar e hidrolizados (5,57 %, 6,97 % y 7,90 % respectivamente). Tendencias similares se observan en la banda de legumina (~22 kDa), con intensidades más altas en los productos precipitados con BAL sin hidrolizar e hidrolizados (11,33 % y 9,62 % respectivamente) en relación con la harina original y las muestras precipitadas con AL sin hidrolizar e hidrolizadas (6,56 %, 5,59 % y 8,49 % respectivamente).

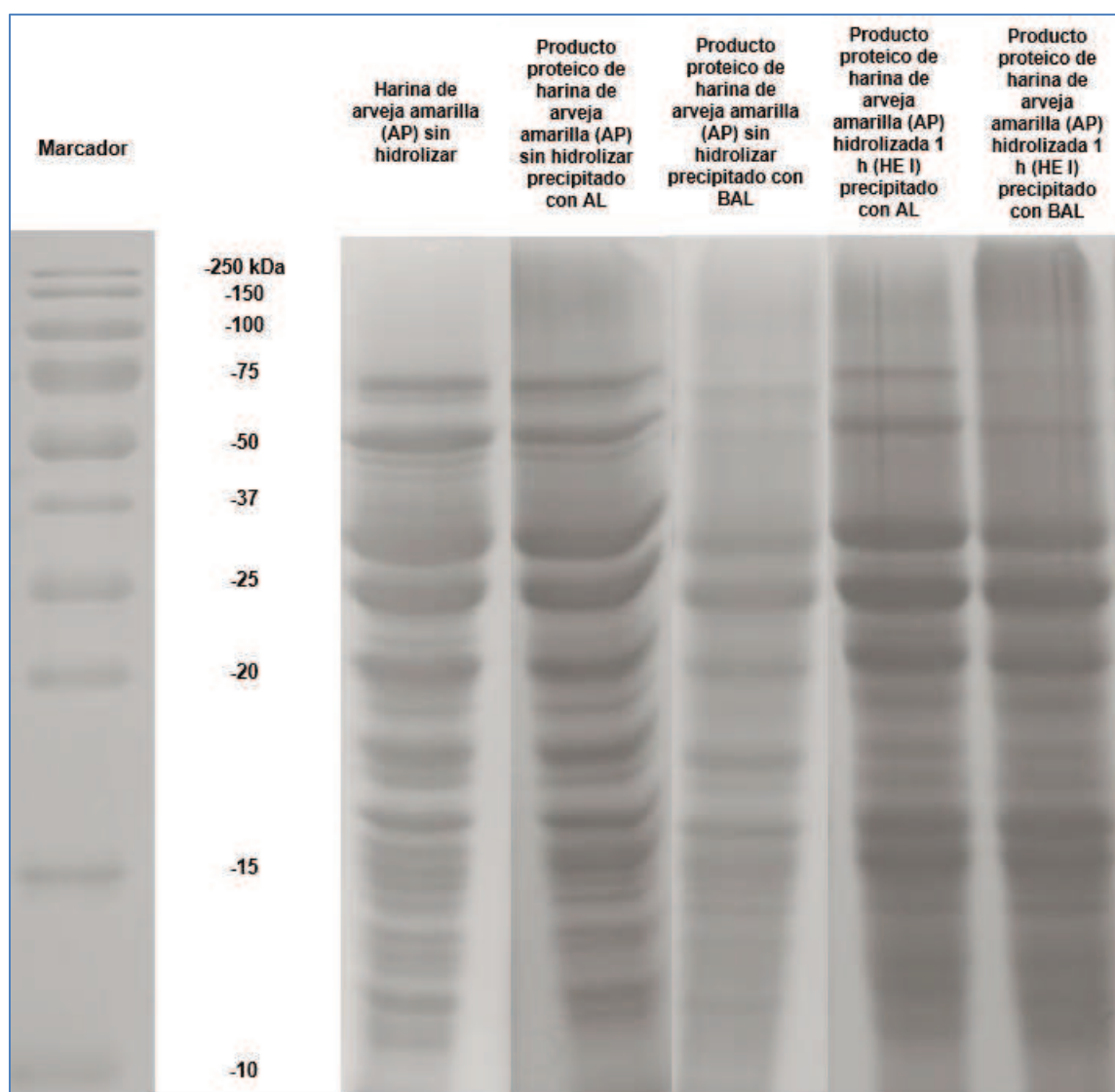


Figura 9. Perfiles proteicos (SDS-PAGE) de harina sin hidrolizar y polvos proteicos hidrolizados

En conjunto, estos resultados indican que la hidrólisis enzimática dirigida principalmente a componentes carbohidratos no afecta de manera significativa el peso molecular de las fracciones peptídicas principales. Más bien, el agente precipitante desempeña un papel crítico en la redistribución de las fracciones proteicas, con un enriquecimiento relativo en

subunidades de bajo peso molecular, como vicilina (~25 kDa) y legumina (~22 kDa), particularmente bajo condiciones de precipitación con bacterias ácido-lácticas. Este efecto puede atribuirse a la actividad de proteasas endógenas producidas durante la fermentación con BAL, capaces de inducir una mayor fragmentación peptídica, o a patrones diferenciales de solubilidad proteica influenciados por el mecanismo de precipitación empleado (Aguirre et al., 2008; Emkani et al., 2022).

4.2.6.3 Perfiles de aminoácidos por HPLC

La composición completa de aminoácidos de la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y de los productos proteicos sin hidrolizar e hidrolizados durante 1 h se presenta en la Tabla 34.

El análisis de aminoácidos revela diferencias entre la harina de arveja amarilla pre-comercial sin hidrolizar y los productos proteicos obtenidos de harina hidrolizada durante 1 h y utilizando diferentes agentes precipitantes. En comparación con la harina sin tratar, que presenta un contenido total de aminoácidos (TAA) de 24,63 g/100 g, el producto de harina hidrolizada y precipitado con AL muestra un incremento del 108,8 %, mientras que el producto de harina hidrolizada precipitado con BAL exhibe un aumento del 104,3 %. También se observa que la hidrólisis enzimática genera un aumento del 92,8 % en el contenido de TAA para productos precipitados con AL respecto a productos de harina sin hidrolizar obtenidos utilizando el mismo agente precipitante; mientras que dicha comparación en el caso del uso de BAL como agente precipitante, el contenido de TAA se incrementa un 18,8 %.

En cuanto al análisis de aminoácidos esenciales totales (TEAA), también se observan diferencias entre la harina sin hidrolizar y los productos proteicos de harinas sometidas a hidrólisis enzimática durante 1 h y obtenidos con ambos agentes precipitantes. En comparación con la harina sin tratar, que presenta un contenido de TEAA de 8,67 g/100 g, el producto de harina hidrolizada y precipitado con AL muestra un incremento del 134,5 %, mientras que el producto de harina hidrolizada precipitado con BAL exhibe un aumento del 142,2 %. Estos resultados destacan la efectividad de la hidrólisis enzimática para mejorar la recuperación de aminoácidos esenciales a partir de la matriz vegetal original. La hidrólisis produce un aumento del 85,5 % en el contenido de TEAA al comparar los productos de harina hidrolizada y precipitados con AL contra su contraparte obtenida de harina sin hidrolizar; mientras que, en la misma comparación, pero usando BAL como agente precipitante, el incremento alcanza el 19,9 %. Estos resultados sugieren que el tratamiento enzimático, en combinación con AL o BAL como agentes precipitantes, potencia la liberación de aminoácidos esenciales, siendo más efectivo bajo condiciones de hidrólisis controlada.

Tabla 34. Composición de aminoácidos de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática

		Muestra				
		Harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) sin hidrolizar precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I) precipitado con BAL
Ácido aspártico (Asp)	%	4,62 ± 0,71	2,89 ± 0,41	4,29 ± 0,63	5,02 ± 0,74	4,79 ± 0,03
Ácido glutámico (Glut)	%	2,78 ± 0,48	5,47 ± 0,71	8,18 ± 1,20	8,92 ± 1,31	8,32 ± 0,38
Glicina (Gly)	%	2,89 ± 0,42	1,01 ± 0,10	1,60 ± 0,23	2,23 ± 0,32	2,15 ± 0,10
Serina (Ser)	%	1,85 ± 0,33	1,33 ± 0,21	2,11 ± 0,31	2,84 ± 0,32	2,66 ± 0,44
Treonina (Thr) b	%	1,88 ± 0,34	0,94 ± 0,12	1,69 ± 0,24	1,91 ± 0,28	1,78 ± 0,27
Histidina (His) b	%	1,09 ± 0,25	0,70 ± 0,12	1,11 ± 0,16	1,31 ± 0,19	1,70 ± 0,20
Tirosina (Tyr)	%	1,25 ± 0,29	0,69 ± 0,01	1,10 ± 0,18	1,59 ± 0,23	1,86 ± 0,19
Arginina (Arg)	%	1,14 ± 0,28	2,56 ± 0,44	3,86 ± 0,50	5,74 ± 0,84	5,07 ± 0,75
Alanina (Ala)	%	1,09 ± 0,27	1,12 ± 0,23	1,78 ± 0,26	2,14 ± 0,21	2,01 ± 0,18
Metionina (Met) ab	%	0,97 ± 0,11	0,33 ± 0,01	0,52 ± 0,07	0,75 ± 0,11	0,23 ± 0,02
Valina (Val) b	%	1,05 ± 0,22	1,29 ± 0,25	2,15 ± 0,30	2,72 ± 0,20	2,61 ± 0,16
Triptófano (Trp) b	%	1,18 ± 0,22	0,24 ± 0,02	0,38 ± 0,05	0,76 ± 0,09	0,70 ± 0,11
Fenilalanina (Phe) b	%	0,86 ± 0,10	1,05 ± 0,10	1,87 ± 0,27	2,12 ± 0,30	2,98 ± 0,35
Isoleucina (Ile) b	%	0,73 ± 0,11	1,52 ± 0,21	2,41 ± 0,35	2,90 ± 0,40	3,17 ± 0,41
Leucina (Leu) b	%	0,44 ± 0,11	2,34 ± 0,33	3,71 ± 0,50	4,46 ± 0,56	4,88 ± 0,25
Lisina (Lys) b	%	0,44 ± 0,10	1,87 ± 0,30	2,97 ± 0,40	3,40 ± 0,42	2,95 ± 0,35
Prolina (Pro)	%	0,21 ± 0,08	0,98 ± 0,10	2,06 ± 0,30	2,25 ± 0,30	2,10 ± 0,25
Cisteína (Cys) a	%	0,13 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,56 ± 0,08	0,37 ± 0,04	0,37 ± 0,05
Aminoácidos azufrados totales (SAA)	%	1,10 ± 0,21	0,68 ± 0,02	1,08 ± 0,04	1,12 ± 0,14	0,60 ± 0,01

Aminoácidos esenciales totales (TEAA)	%	8,67 ± 1,30	10,28 ± 1,51	17,37 ± 2,55	20,33 ± 2,99	21,00 ± 1,5
Aminoácidos totales (TAA)	%	24,63 ± 3,61	26,68 ± 3,71	42,3 ± 6,22	51,43 ± 6,75	50,33 ± 5,5
SAA/TAA	%	4,46 ± 0,71	2,54 ± 0,31	2,5 ± 0,37	2,17 ± 0,22	1,19 ± 0,14
TEAA/TAA	%	35,20 ± 5,21	38,53 ± 5,61	41,0 ± 6,02	39,52 ± 3,81	41,72 ± 3,10

Las determinaciones se realizan una vez sobre cada muestra, ^a Indica aminoácido azufrado, ^b Indica aminoácido esencial.

Los aminoácidos limitantes (LAA) en la harina de arveja amarilla son típicamente aminoácidos azufrados, como metionina y cisteína, denominados SAA (Frias et al., 2011; Kotlarz et al., 2011; Lu et al., 2020). En este contexto, los SAA muestran cambios en su concentración luego de los distintos tratamientos aplicados a la harina de arveja. En comparación con la muestra sin hidrolizar, que presenta un contenido de metionina de 0,97 g/100 g, todos los productos proteicos muestran una reducción de dicho compuesto. En particular, la disminución es de 65,98 % en el producto de harina sin hidrolizar precipitado con AL, de 46,39 % en el producto de harina sin hidrolizar precipitado con BAL, de 22,68 % en el producto de harina hidrolizada precipitado con AL y de hasta 76,29 % en el producto de harina hidrolizada precipitado con BAL. La reducción consistente en el contenido de metionina en todos los productos en relación con la harina original puede atribuirse a diversos mecanismos estructurales y químicos asociados al procesamiento. La metionina es ampliamente reconocida como un aminoácido azufrado altamente propenso a la oxidación, transformándose en derivados como metionina sulfóxido o sulfono, que no son detectables mediante análisis convencionales posteriores a la hidrólisis ácida (Karimi et al., 2016; Z. Wang et al., 2021). Esta susceptibilidad se ve exacerbada bajo condiciones de precipitación ácida, donde la disrupción estructural puede exponer residuos previamente protegidos localizados en el interior de la proteína (Karimi et al., 2016).

En contraste, el contenido de cisteína de la harina sin tratar es de 0,13 g/100 g y aumenta en todos los productos proteicos. El incremento alcanza un 169,23 % en el producto proteico de harina sin hidrolizar precipitado con AL, un 330,77 % en el producto proteico de harina sin hidrolizar precipitado con BAL y un 184,62 % en ambos productos de harinas hidrolizadas precipitados con AL y BAL. Este comportamiento puede asociarse con la mayor exposición de residuos de cisteína previamente embebidos en regiones internas de las proteínas o involucrados en enlaces disulfuro, los cuales pueden quedar accesibles debido al desdoblamiento y la disrupción estructural inducida por los cambios de pH durante la etapa de precipitación (Karimi et al., 2016).

4.2.7 Resultados y discusión: Propiedades tecnológicas

La Tabla 35 y la Tabla 36 presentan las características tecnológicas de los productos proteicos de harinas hidrolizadas, incluyendo el color (L^* , a^* , b^*) e índice de blancura, el tiempo de humectación, la actividad de agua, la fluidez, la cohesividad, la granulometría y la densidad.

Tabla 35. Características tecnológicas de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrólisis enzimática

Muestra	Precipitante	Color - L^*	Color - a^*	Color - b^*	WI_{CIELab}	Tiempo de humectación min	Actividad de agua
		-	-	-	-		-
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	88,04 ± 0,82 a	1,67 ± 0,14 a	9,24 ± 0,27 a	84,79 ± 0,83 a	0,49 ± 0,04 b	0,46 ± 0,00 b
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	BAL	89,44 ± 0,76 a	1,38 ± 0,15 a	10,68 ± 0,48 a	84,92 ± 0,88 a	1,07 ± 0,09 a	0,58 ± 0,00 a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

4.2.7.1 Color

Los productos proteicos presentan valores L^* elevados, lo que indica un alto grado de luminosidad, y muestran coordenadas a^* y b^* positivas, consistentes con una tonalidad amarillenta; mientras que el índice de blancura CIELab alcanza valores notablemente altos para los productos hidrolizados con AL y BAL. Estos resultados indican que el tratamiento enzimático seguido de la precipitación con AL o BAL produce polvos de aspecto claro, como lo evidencia su índice de blancura cercano a 100, valor de referencia para el blanco puro. La luminosidad de los polvos, reflejada en el índice de blancura, puede atribuirse a modificaciones microestructurales y a cambios en las características superficiales de las partículas, así como a una dispersión más eficiente de compuestos cromóforos durante la hidrólisis y el secado (Zhao et al., 2020). Desde una perspectiva sensorial, esta intensidad de color resulta particularmente ventajosa en aplicaciones de alto valor, donde la apariencia

visual del ingrediente desempeña un papel crítico en la aceptación del consumidor (Shevkani et al., 2014). En este sentido, los valores obtenidos coinciden con los reportados para proteínas vegetales comerciales de color claro, específicamente diseñadas para matrices alimentarias en las que se requiere un perfil visual neutro (Zhao et al., 2020).

Tabla 36. Características tecnológicas de los productos obtenidos del proceso de recuperación proteica con hidrolisis enzimática

Muestra	Precipitante	Fluidez - CI	Cohesividad - HI	Granulometría - D10	Granulometría - D50	Granulometría - D90	Densidad
		%	-	µm	µm	µm	g/ml
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	AL	13,53	1,16	1,46	5,01	12,92	1,39
		±	±	±	±	±	±
		1,07	0,01	0,00	0,00	0,06	0,07
		a	a	b	b	b	a
Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizada 1 h (HE I)	BAL	16,82	1,20	1,51	6,40	16,74	1,43
		±	±	±	±	±	±
		1,46	0,02	0,00	0,01	0,04	0,04
		a	a	a	a	a	a

ANOVA de un factor para cada respuesta, donde letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas según pruebas post-hoc de Tukey.

4.2.7.2 Tiempo de humectación

El tiempo de humectación presenta diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) entre los productos proteicos, lo que resalta la influencia del agente precipitante en esta propiedad funcional. El producto obtenido de harina hidrolizada seguido de precipitación con ácido láctico exhibe el menor tiempo de humectación, que representa una reducción del 54,2 % en comparación con el producto de harina hidrolizada precipitado con bacterias ácido-lácticas. Estos resultados indican que la hidrólisis enzimática, en combinación con el agente precipitante, influye directamente en la humectabilidad del producto final, un atributo crítico en aplicaciones tecnológicas como bebidas instantáneas o mezclas en polvo reconstituibles. La mejora observada puede atribuirse a una mayor exposición de grupos hidrofílicos generados durante la hidrólisis o la precipitación, así como

a la reducción del tamaño de partícula, que incrementa la superficie de contacto con el agua (Ren et al., 2024). Además, distintos reportes compilados por Rashwan et al. (2023) y Emkani et al. (2022) destacan casos en los que la fermentación láctica se emplea para modificar el desempeño funcional y tecnológico de proteínas de origen vegetal.

4.2.7.3 Actividad de agua

La actividad de agua muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, ANOVA de dos factores) entre los productos proteicos obtenidos de harina hidrolizada durante 1 h y precipitados con diferentes agentes, donde el valor más bajo se registra en el producto de harina hidrolizada precipitado con AL. Estos resultados sugieren que la elección del agente precipitante también influye en la cantidad de humedad disponible en el sistema, posiblemente debido a diferencias estructurales en los agregados proteicos formados durante la precipitación (García Arteaga et al., 2020). Asimismo, el secado por aspersión puede contribuir a reducir la actividad de agua al eliminar rápidamente la humedad y generar polvos estables, como se observa en otras matrices donde los polvos atomizados presentan baja actividad de agua y bajo contenido de humedad (Araújo et al., 2022). Desde una perspectiva tecnológica, la actividad de agua registrada en los productos hidrolizados resulta especialmente relevante para mejorar la estabilidad de los polvos durante el almacenamiento, dado que valores por debajo de 0,60 se asocian con menor susceptibilidad al deterioro microbiano y a reacciones químicas indeseadas (Beuchat et al., 2013).

4.2.7.4 Fluidez y cohesividad

La fluidez y la cohesividad de los polvos se evalúan mediante el índice de Carr (CI) y el índice de Hausner (HI), respectivamente (Turchiuli et al., 2005). Aunque se observan ligeras diferencias, no se detectan diferencias estadísticamente significativas entre los productos proteicos ($p > 0,05$; ANOVA de dos factores). Según la clasificación de Carr, valores de CI inferiores al 20 % indican propiedades de flujo buenas a muy buenas, lo que sugiere que el proceso de precipitación proteica, independientemente del agente utilizado, no afecta de manera negativa la fluidez de los polvos obtenidos. En cuanto a la cohesividad, los valores de todos los productos permanecen por debajo del umbral de 1,4, lo que indica cohesividad intermedia a baja. Este comportamiento es deseable desde el punto de vista tecnológico, dado que valores bajos de HI se asocian con mejor fluidez, menor aglomeración y manipulación más eficiente durante el procesamiento y almacenamiento (Pulivarthi et al., 2021). En conjunto, los resultados de CI y HI demuestran que los productos proteicos obtenidos mediante hidrólisis enzimática y posterior precipitación con AL o BAL mantienen propiedades de flujo

adecuadas, lo que los hace aptos para su aplicación en polvos rehidratables o como ingredientes funcionales en formulaciones secas.

4.2.7.5 Granulometría

Se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$; ANOVA de dos factores) entre la granulometría de los polvos proteicos de harina hidrolizada. En particular, los valores de D10, D50 y D90 de los productos precipitados con BAL representan valores 3,4 %, 27,8 % y 29,6 % mayores, respectivamente, que de los productos precipitados con AL. Estos resultados confirman la ausencia de fracciones de gran tamaño en las muestras procesadas, contribuyendo a una distribución de tamaño más acotada. En conjunto, estos hallazgos indican que los agentes precipitantes promueven la fragmentación de la matriz particulada, generando polvos más finos y homogéneos, lo que puede contribuir a mejorar propiedades tecno-funcionales como la rehidratación, la dispersabilidad, la capacidad de retención de agua y aceite, la textura, la densidad aparente y el color, entre otras (Rashwan et al., 2023).

4.2.7.6 Densidad de partícula

La densidad de partícula entre los productos proteicos de harina hidrolizada durante 1 h no muestra diferencias estadísticamente significativas respecto del agente precipitante utilizado ($p > 0,05$; ANOVA de dos factores). Las ligeras variaciones observadas pueden atribuirse a alteraciones estructurales inducidas por la hidrólisis enzimática, que generan partículas menos compactas o más porosas, así como a la fragmentación de proteínas en moléculas más pequeñas y menos voluminosas, lo que influye en la manera en que las partículas ocupan el volumen total del polvo. Además, el tipo de agente precipitante puede influir en la naturaleza de los agregados proteicos formados, contribuyendo a las ligeras diferencias observadas en la densidad final del producto (Adebiyi et al., 2016; Rajkumar et al., 2024). Desde una perspectiva tecnológica, una menor densidad aparente puede favorecer la dispersión de los polvos en sistemas líquidos, dependiendo de la aplicación prevista del producto final.

Capítulo 5

ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD TÉCNICO-ECONÓMICA DE LOS PROCESOS PARA LA RECUPERACIÓN DE PROTEÍNAS A PARTIR DE ARVEJAS

Este capítulo presenta el análisis de factibilidad técnico-económica de los procesos de recuperación de proteínas a partir de arvejas seleccionados en función del contenido proteico alcanzado de los respectivos productos. El análisis de factibilidad considera tanto los aspectos operativos de producción como los indicadores financieros y económicos que permiten evaluar la viabilidad del proyecto. Se propone una planificación de la producción a escala industrial, seguida de un análisis de indicadores de evaluación de proyectos para el precio de mercado. En este contexto, se presenta además un análisis de sensibilidad de indicadores económicos en función de indicadores técnico-productivos.

Para tal fin se seleccionaron el producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL (PA-SP-AL), el producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado durante 96 h y precipitado con AL (PA-FES-AL), el producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado durante 1 h y precipitado con AL (PA-HE-AL), el producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL (PA-SP-BAL) y el producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado durante 1 h y precipitado con BAL (PA-HE-BAL). Dado que el PA-FES-BAL presentó un contenido proteico cercano al 40 %, su incorporación en el análisis de factibilidad técnico-económica no resulta pertinente. Si bien su rendimiento de recuperación fue intermedio respecto de los demás tratamientos, el bajo contenido proteico lo excluye como opción viable para un eventual escalado industrial. En particular, un producto con ~40 % de proteína no alcanza el umbral mínimo para ser considerado un concentrado proteico de arveja, categoría que, según la literatura, requiere al menos 48–55 % de proteína en base seca (Boukid et al., 2021; Tulbek et al., 2024). Valores inferiores, como los obtenidos para PA-FES-BAL, comprometen tanto la funcionalidad tecnológica (directamente asociada al contenido proteico) como la viabilidad comercial, ya que el producto no podría clasificarse ni comercializarse como concentrado proteico. En consecuencia, y desde una perspectiva productiva y de mercado, el tratamiento PA-FES-BAL queda excluido del análisis de escalado por no cumplir con el requisito mínimo de concentración proteica aceptado en la industria de ingredientes vegetales.

5.1 Programación de la producción

La base de cálculo del proceso fue establecida considerando una capacidad de procesamiento de 1 tonelada de arveja por lote y un régimen de trabajo continuo de 24 h por día, 7 días por semana, durante 48 semanas al año. Ello resulta en una capacidad media de procesamiento en régimen continuo de 16 tn de arveja/día. En la Tabla 37 se reportan los principales indicadores técnicos del proceso productivo, los cuales se obtuvieron en base a

los rendimientos y productividades obtenidos a escala experimental, así como en criterios de escalado industrial y disponibilidad de recursos.

En la Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 y Figura 14 se presenta la distribución de las entradas y salidas de cada uno de los procesos evaluados mediante diagramas de flujos de materia. En este contexto, se observa la magnitud relativa de cada corriente, lo cual permite comparar los cinco procesos en términos de requerimientos de agua, generación de residuos y eficiencia global de conversión.

Tabla 37. Indicadores técnico-productivos para la producción a escala industrial de diferentes productos proteicos

Ítem		Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Nº de lotes anuales	unidad	5372	5308	5372	5361	5360
Productividad P_{T2}	tn/tn	0,22	0,10	0,25	0,33	0,24
Consumo específico de agua G_{W2}	tn/tn	152,45	316,37	156,75	103,52	166,55
Cantidad de producto por año	tn	1182	531	1343	1772	1283

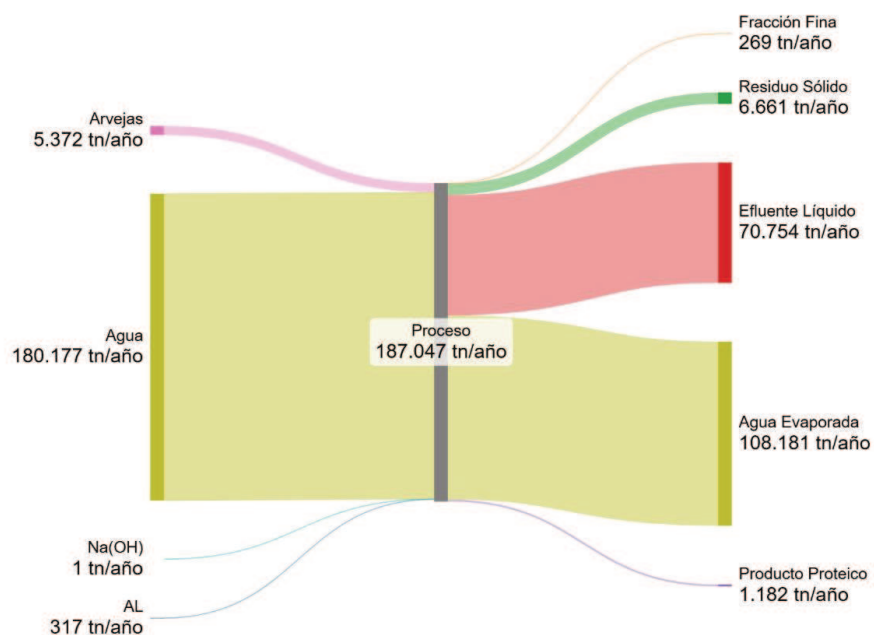


Figura 10. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con ácido láctico (PA-SP-AL)

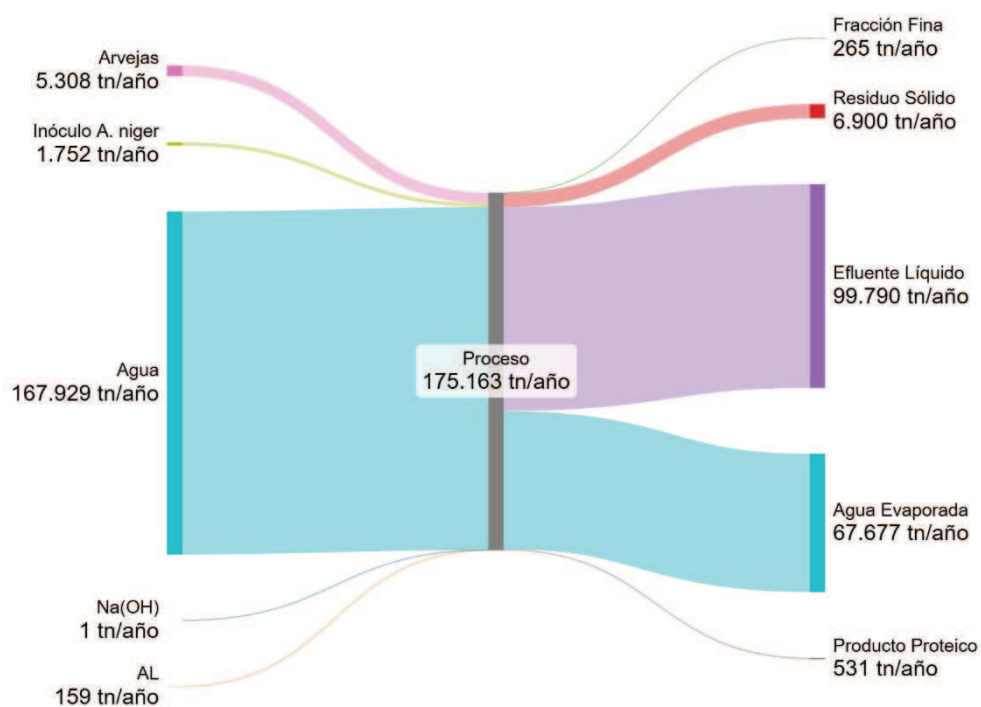


Figura 11. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con fermentación en estado sólido y precipitado con ácido láctico (PA-FES-AL)

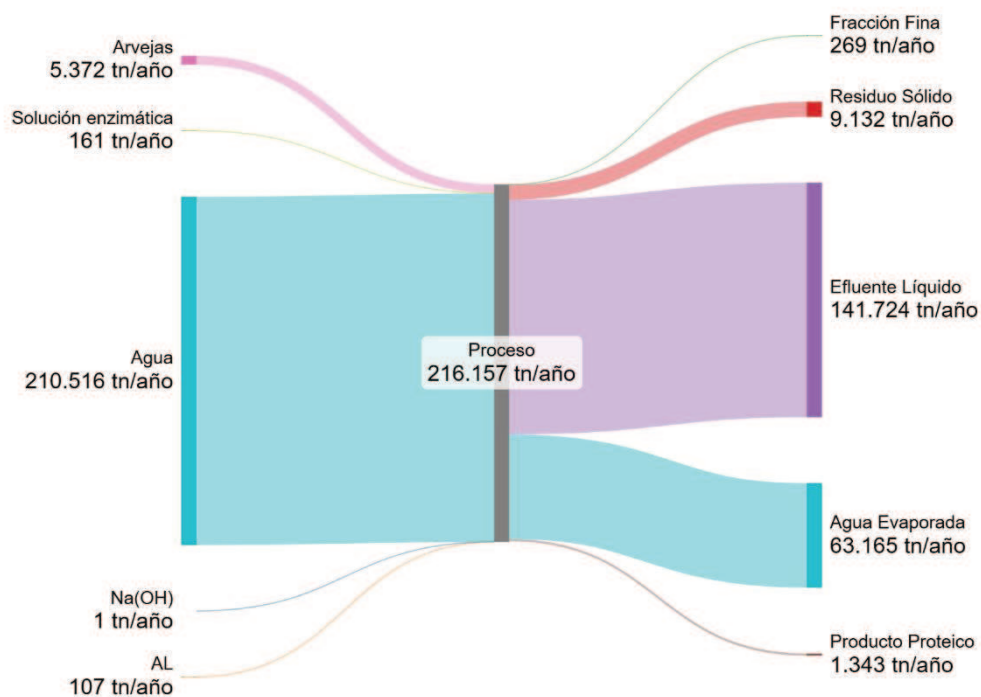


Figura 12. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con ácido láctico (PA-HE-AL)

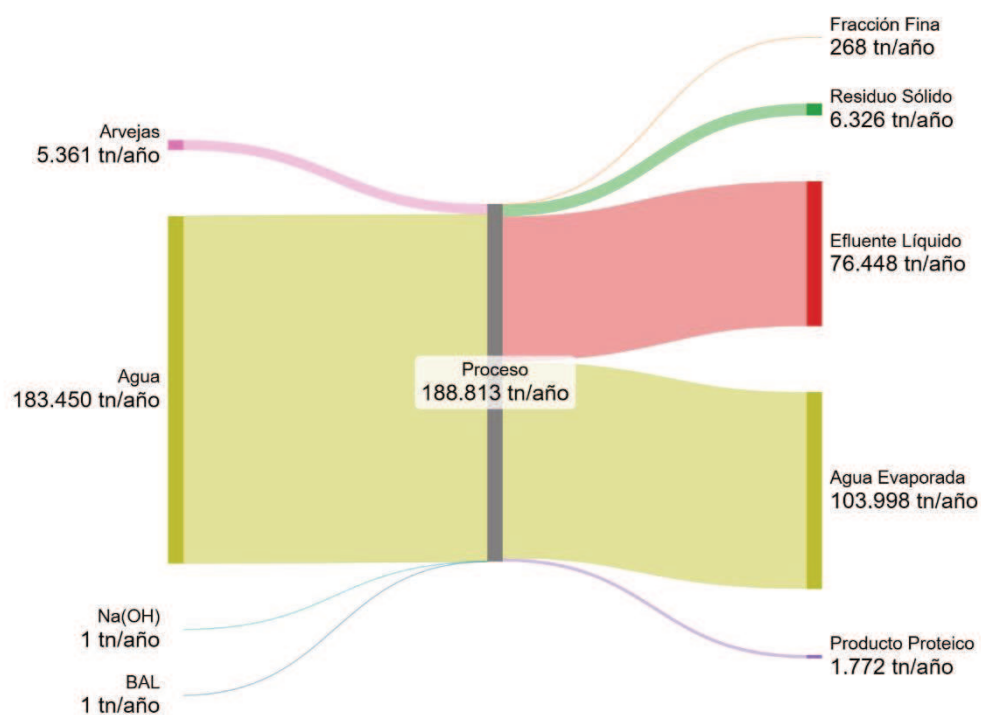


Figura 13. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-SP-BAL)

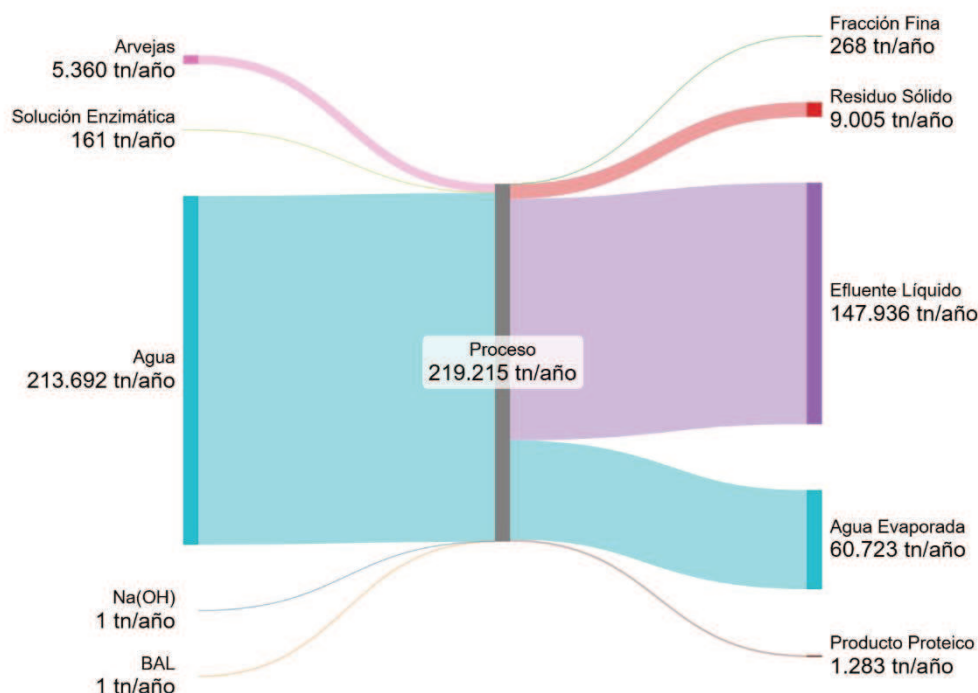


Figura 14. Diagrama de flujos de materia para la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-HE-BAL)

La planificación temporal de las actividades de cada proceso se presenta en los diagramas de programación de la producción correspondientes a las Figura 15, Figura 16, Figura 17, Figura 18 y Figura 19. En ellas se visualizan las tareas críticas, así como las actividades que pueden desarrollarse en paralelo dentro de un ciclo productivo tipo, correspondiente a 48 semanas continuas de operación al año. Los cronogramas permiten estimar la duración total del proceso por lote y organizar la producción mensual y anual según los diferentes procesos de obtención de los productos proteicos.

Para el producto PA-SP-AL representado en la Figura 15, la programación de la producción refleja la secuencia de tareas dentro de un ciclo productivo. Dado que el sistema opera bajo un esquema continuo de múltiples lotes diarios, el diagrama se organizó de manera tal que la operación del secadero spray sea continua. En el primer día de producción anual (a) se incluye tanto la carga inicial del proceso como la activación progresiva de las distintas operaciones, representando el tiempo necesario para completar el primer ciclo del día. A partir del segundo día (b), se alcanza el régimen de producción estable, en el cual las operaciones se desarrollan en paralelo y de forma cíclica, con tiempos que permiten optimizar el uso de los equipos e instalaciones. Finalmente, el último día de operación (c) de producción anual muestra el cierre progresivo de actividades, considerando los tiempos de finalización del último lote procesado y el vaciado de líneas.

Para el producto PA-FES-AL representado en la Figura 16, se debe considerar el tratamiento previo mediante fermentación en estado sólido. En este contexto, los primeros cuatro días (a) de producción anual representan la carga de los 5 biorreactores de fermentación de forma escalonada para permitir una producción continua en los siguientes días. A partir del quinto día (b), se comienza el procesamiento de los primeros lotes fermentados. A partir del sexto día (c), el proceso alcanza su régimen continuo y estable. Finalmente, el último día de producción anual (d) representa el cierre del ciclo productivo de 336 días continuos de operación, en el cual se finaliza el procesamiento de los últimos lotes fermentados y se detienen progresivamente las operaciones.

En la Figura 17, el producto PA-HE-AL requiere la incorporación de una etapa de hidrólisis enzimática, por lo que el diagrama contempla los tiempos asociados a dicha operación y su impacto sobre el ciclo general de producción. La programación muestra el primer día de producción anual (a), donde se detalla la secuencia inicial de carga de materias primas y puesta en marcha de la hidrólisis. Este día permite establecer el punto de partida del proceso y contempla los tiempos necesarios para alcanzar las condiciones operativas estables. A partir del segundo día (b), se representa el régimen continuo de producción. Finalmente, el último día de producción anual (c) muestra el cierre del proceso.

La Figura 18 representa la planificación anual del proceso productivo del producto PA-SP-BAL, incorporando la secuencia temporal de las operaciones necesarias para obtener el producto final bajo condiciones de precipitación isoelectrica con bacterias ácido-lácticas. En el primer día de producción anual (a) se representan las actividades iniciales asociadas a la carga de materias primas, puesta en marcha del sistema de inoculación con bacterias ácido-lácticas, y ejecución de la primera corrida de producción. Esta etapa establece el punto de partida para el ciclo productivo continuo. Se destaca que, por cuestiones de simplicidad en la presentación de este diagrama de programación de la producción, la precipitación isoelectrica con BAL corresponde solo al primer lote del primer día operativo, mientras que para los subsiguientes lotes se cuenta con 11 precipitadores adicionales que comienzan su operación al finalizar los respectivos ciclos de extracción alcalina. A partir del día 2 (b), el sistema alcanza su régimen estable de operación, y el último día de producción anual (c) muestra el cierre del proceso productivo.

La Figura 19 corresponde a la programación operativa anual del proceso productivo del producto PA-HE-BAL, el cual integra las etapas de hidrólisis enzimática y precipitación isoelectrica con bacterias ácido-lácticas. En el primer día de producción anual (a) se detallan las actividades iniciales, incluyendo la carga de materias primas, la ejecución del primer ciclo de hidrólisis y precipitación isoelectrica con BAL solo para el primer lote del primer día (similar al proceso anterior). A partir del día 2 (b), el proceso entra en su fase de producción continua.

La hidrólisis enzimática, la inoculación con bacterias ácido-lácticas, la recuperación del producto y su secado se coordinan temporalmente para permitir una producción continua. El último día de producción anual (c) corresponde al cierre progresivo del proceso, en el que se completan los lotes en curso y se procede a la detención de los equipos y tareas finales de limpieza como en los procesos descritos anteriormente.

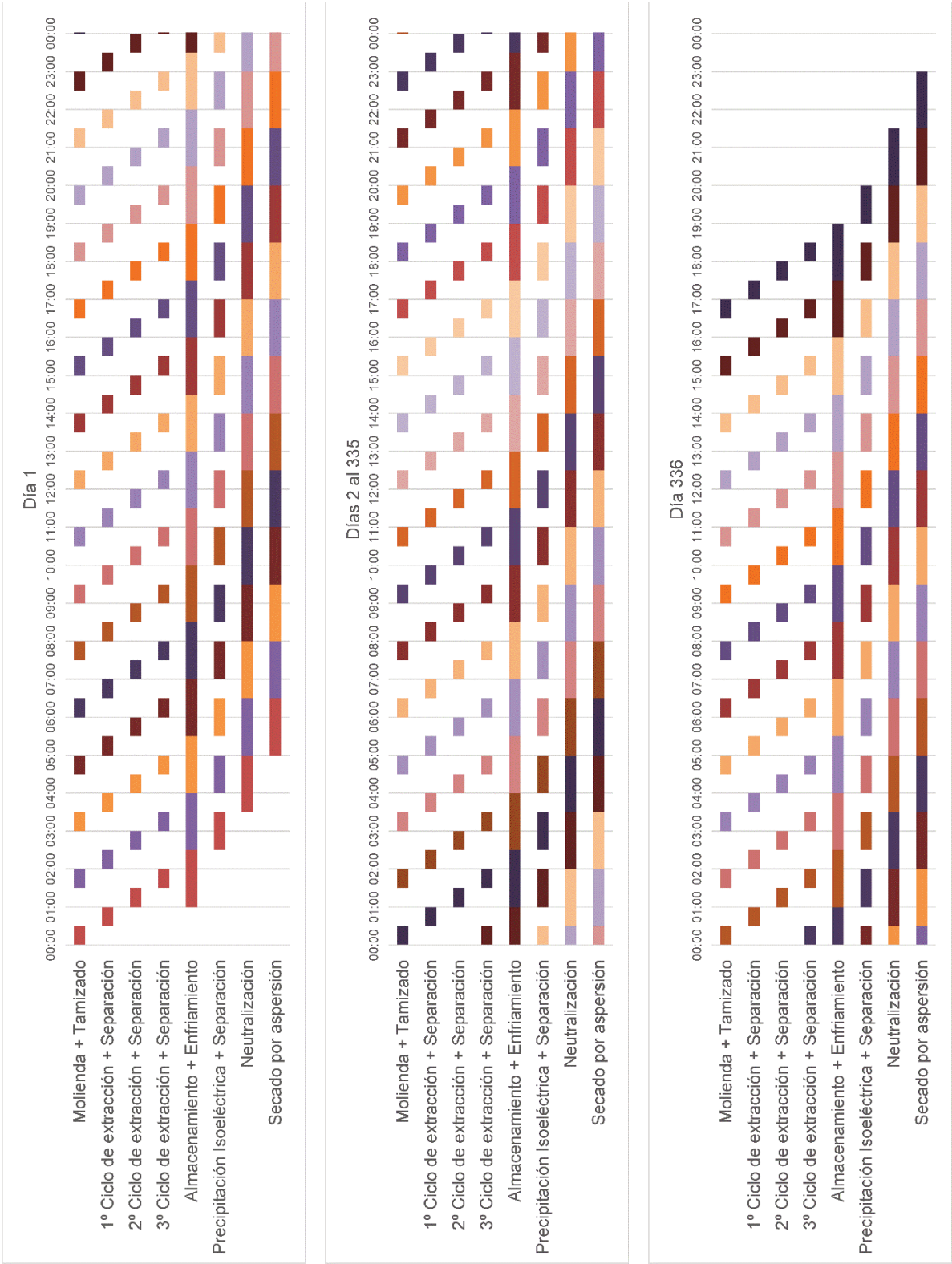
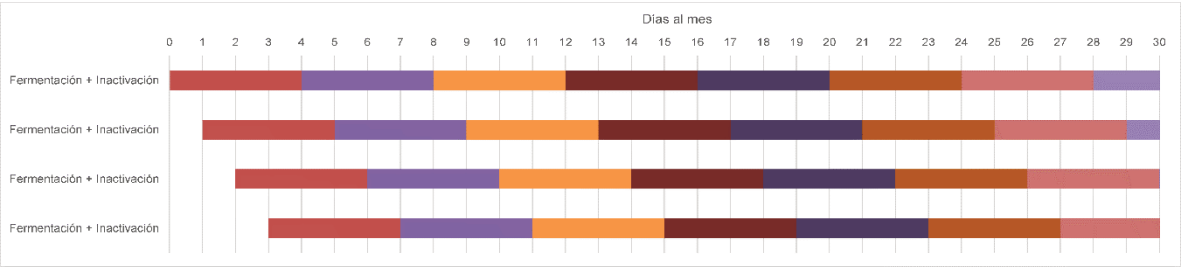
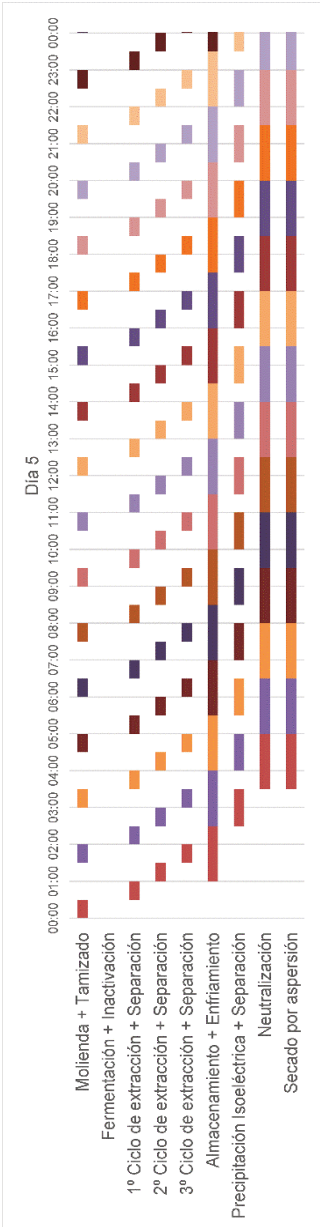


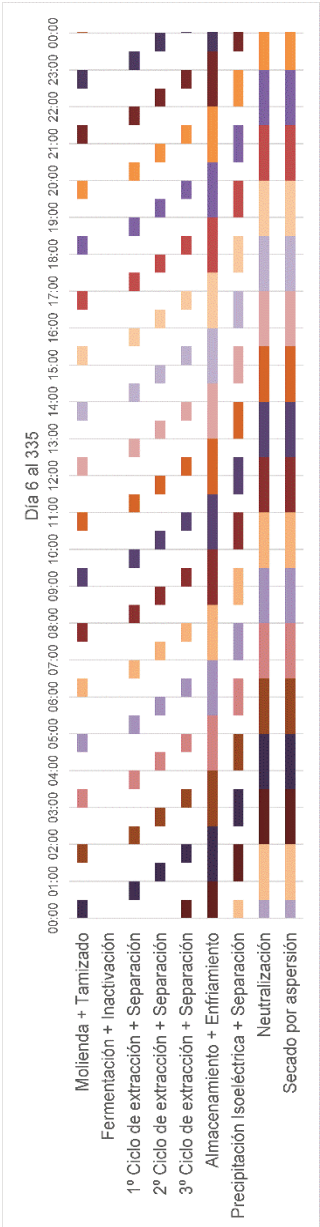
Figura 15. Programación de la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con ácido láctico (PA-SP-AL)



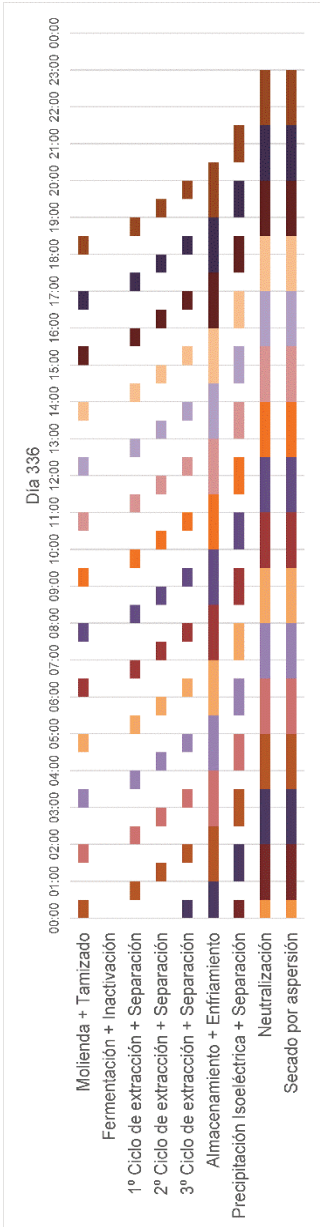
a. Inicio de lote de fermentación anual. Para los días 1 a 4 de operación al año



b. Para el día 5 de operación al año



c. Para los días 6 al 335 de operación al año



d. Para el último día de operación al año (Día 336)

Figura 16. Programación de la producción del producto proteico con fermentación en estado sólido y precipitado con ácido láctico (PA-FES-AL)

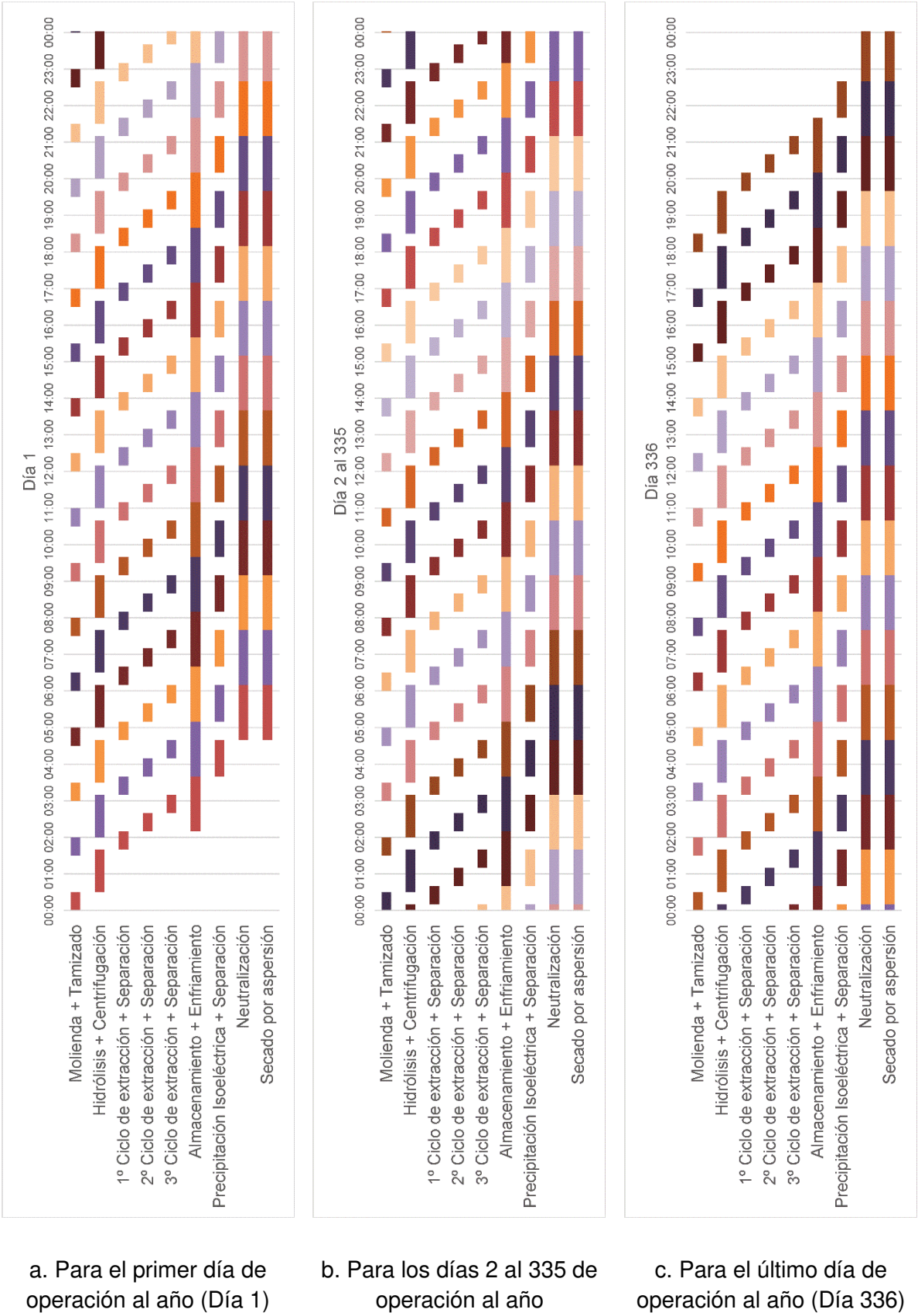
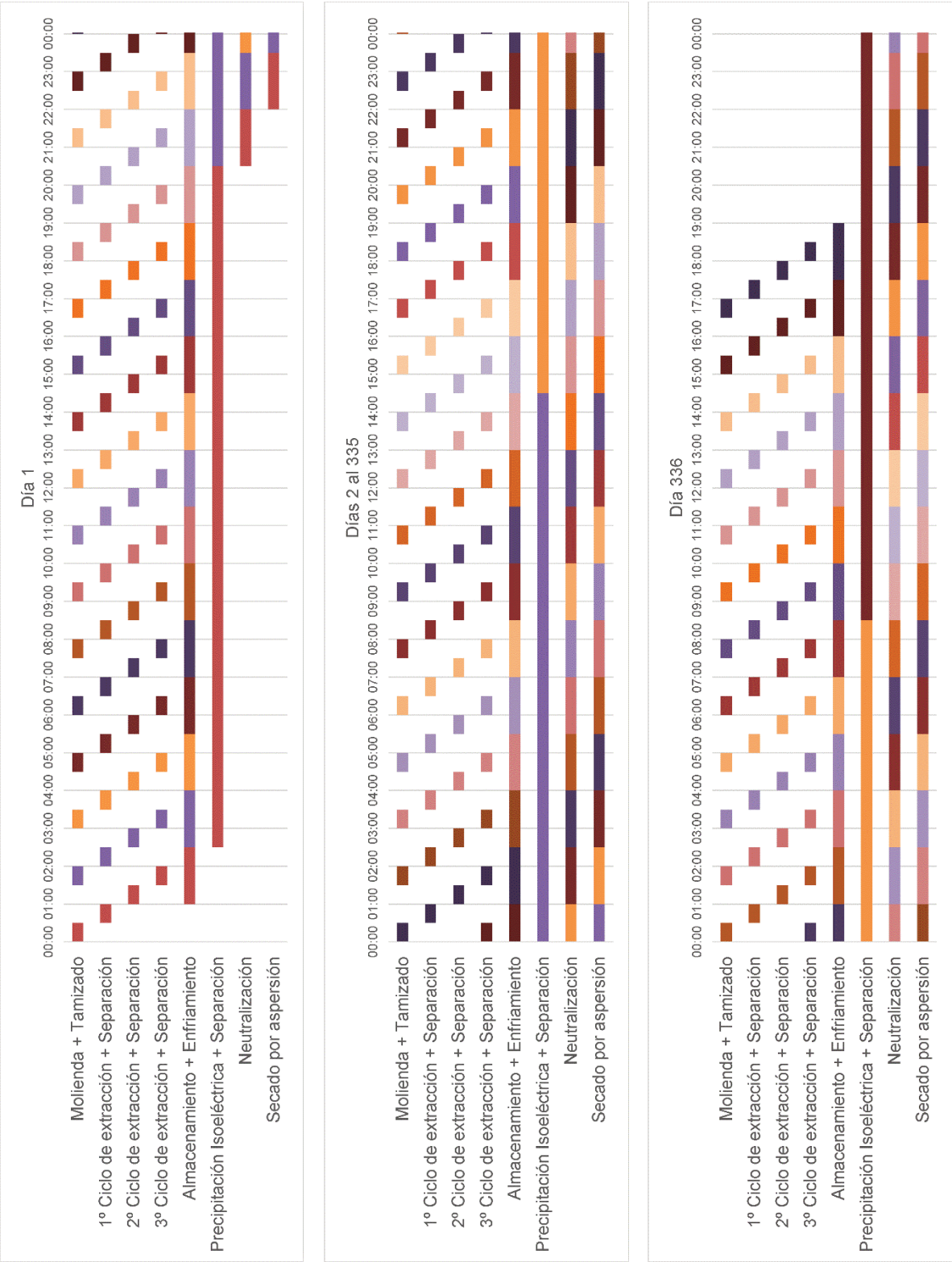


Figura 17. Programación de la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con ácido láctico (PA-HE-AL)

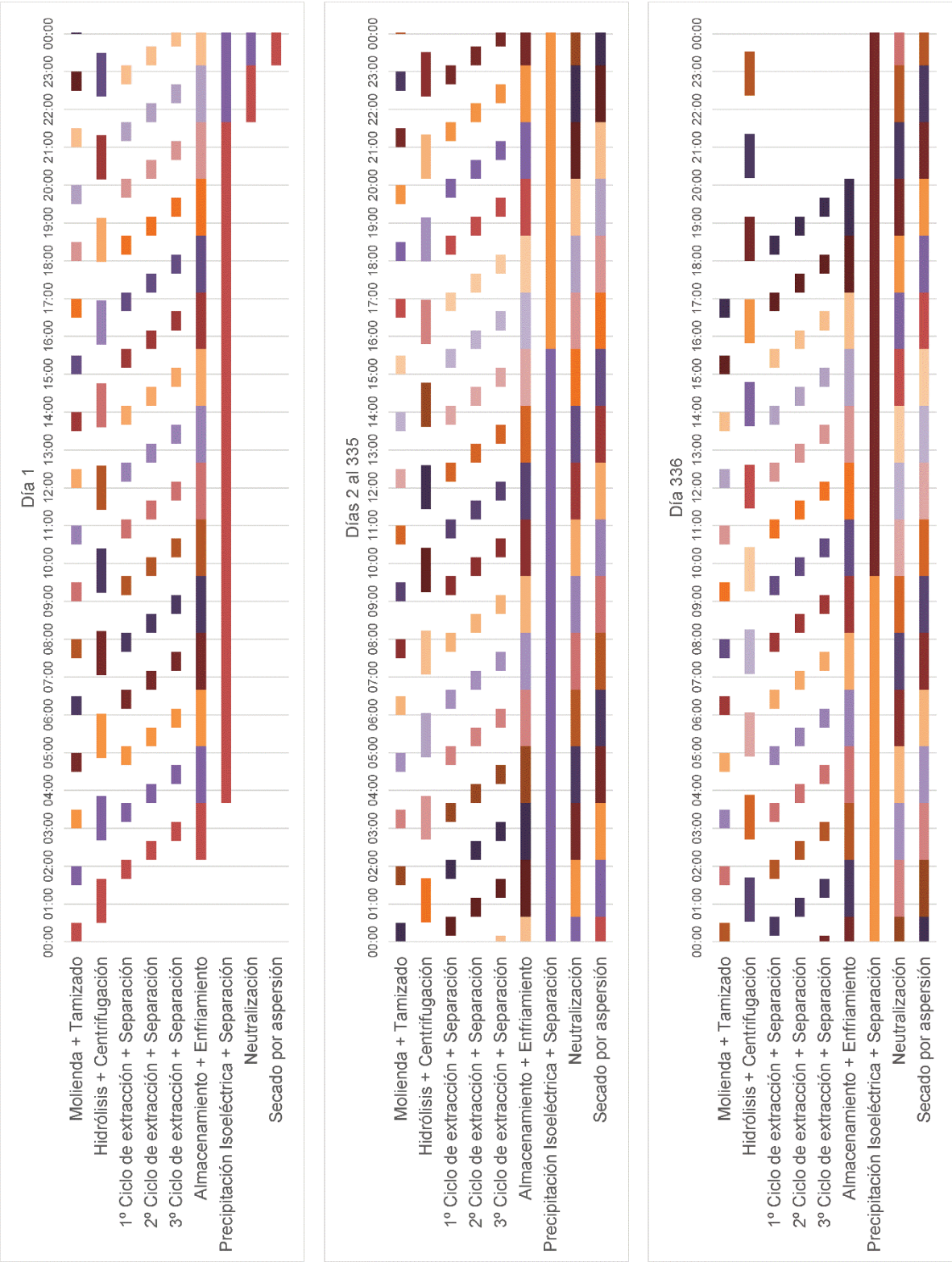


a. Para el primer día de
operación al año (Día 1)

b. Para los días 2 al 335 de
operación al año

c. Para el último día de
operación al año (Día 336)

Figura 18. Programación de la producción del producto proteico sin pretratar y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-SP-BAL)



a. Para el primer día de operación al año (Día 1)

b. Para los días 2 al 335 de operación al año

c. Para el último día de operación al año (Día 336)

Figura 19. Programación de la producción del producto proteico con hidrólisis enzimática y precipitado con bacterias ácido-lácticas (PA-HE-BAL)

5.2 Análisis de los indicadores económicos-financieros del proyecto

En la Tabla 38, Tabla 39 y Tabla 40 se reportan los principales costos operativos asociados a los diferentes procesos productivos. La principal diferencia en el ítem de materias primas e insumos se debe al elevado costo del ácido láctico y a los volúmenes requeridos, en contraste con el menor costo y la menor cantidad necesaria de bacterias ácido-lácticas. Asimismo, la variación en los costos de servicios está determinada principalmente por el gasto energético asociado al funcionamiento de biorreactores y fermentadores, tanto en el proceso con FES como en aquellos que emplean precipitación con BAL.

En la Tabla 41 se presenta el equipamiento requerido para los distintos procesos productivos, junto con su precio unitario. Las mayores diferencias en cantidad y costos de equipos se asocian a la incorporación de equipos específicos según la tecnología empleada. La Tabla 42 presenta la inversión de capital necesaria para cada proceso productivo, discriminada en total de equipos, equipos instalados, capital fijo y capital de trabajo.

Tabla 38. Personal requerido en los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial

Ítem	Salario mensual (USD/mes)	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Profesionales y Supervisores	3.000	4	4	4	4	4
Operarios	1.500	8	8	8	8	8

Tabla 39. Consumos mensuales de servicios de los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial

Ítem	Precio Unitario (USD/unidad)	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Electricidad (kWh)	0,1195	3.266.983	186.840.957	3.429.934	6.187.399	6.348.832
Agua (m³)	0,3741	154.646	145.802	186.770	147.402	189.617
Gas (m³)	0,0062	237	237	237	237	237

Tabla 40. Costos operativos de los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial

Ítem		Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Materias primas e insumos	USD	4.417.477	3.054.525	2.577.597	1.532.516	1.524.366
Sueldos	USD	312.000	312.000	312.000	312.000	312.000
Servicios	USD	453.441	2.291.890	484.924	799.590	834.667

Tabla 41. Equipamiento necesario para los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial

Ítem	Precio Unitario (USD)	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Molino de martillo (1 tn/h)	60.000	1	1	1	1	1
Tamizador (1 tn/h)	20.000	1	1	1	1	1
Tanques de agitado (12.000 l/h)	60.000	3	3	3	3	3
Tanque mezclador almacenamiento pool (27.000 l)	15.000	2	2	2	2	2
Bombas de transferencia de mezcla (1 HP)	1.300	13	14	14	14	14
Enfriador (150 kW)	129.600	1	1	1	1	1
Tanque Decantador (80 m ²)	84.000	1	1	1	1	1
Tanque Mezclador de neutralización (27.000 l)	15.000	1	1	1	1	1
Caldera (20 tn/h)	30.000	1	1	1	1	1
Secadero spray (10 tn/h)	541.667	1	1	1	1	1

Fermentador encamisado							
FES	59.940	-	5	-	-	-	-
(4.000 l)							
Ventilador de aire							
(1 HP)	5.000	-	5	-	-	-	-
Tanque encamisado HE							
(4.000 l)	59.940	-	-	1	-	-	1
Centrifuga HE							
(30.000 l)	36.284	-	-	1	-	-	1
Fermentador encamisado							
BAL	59.940	-	-	-	12	-	12
(4.000 l)							

Tabla 42. Inversión de capital necesaria para los diferentes procesos de recuperación proteica a escala industrial

Ítem		Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Total de equipos	USD	1.107.167	1.433.167	1.204.691	1.826.447	1.922.671
Equipos instalados	USD	1.741.574	2.254.372	1.894.979	2.873.001	3.024.361
Capital fijo	USD	2.351.124	3.043.402	2.558.222	3.878.552	4.082.888
Capital de trabajo	USD	235.112	304.340	255.822	387.855	408.289
Inversión de capital	USD	2.586.237	3.347.742	2.814.044	4.266.407	4.491.177

Los procesos con precipitación mediante BAL presentan las inversiones más elevadas, debido al requerimiento de múltiples fermentadores necesarios para realizar las 18 h de precipitación

isoeléctrica biológica. De los productos precipitados con BAL, el PA-HE-BAL requiere una aún mayor inversión por el equipamiento requerido para la hidrólisis, transformándose de este modo en el proceso con mayor inversión de capital. El proceso PA-FES-AL se ubica en un valor intermedio, pero con un capital fijo considerablemente más alto que los restantes métodos que utilizan AL, consecuencia de la incorporación de equipos especializados tales como los biorreactores para la fermentación en estado sólido. En contraste, los procesos PA-SP-AL y PA-HE-AL demandan menor inversión total, reflejando menores necesidades en infraestructura y equipamiento.

En todos los casos, el secador spray representa una proporción sustancial del capital fijo requerido, mientras que los equipos de apoyo, como molinos de martillo, tamizadores, bombas de transferencia y tanques mezcladores, implican costos relativamente menores, pero son esenciales para garantizar la operatividad de cada línea de producción.

En la Tabla 43 se presentan los indicadores económico-financieros asociados a la producción de los distintos productos proteicos, tomando como referencia el valor de mercado vigente, que se estimó en 5.500 USD/tn, equivalente al registrado para concentrados proteicos de arveja con propiedades funcionales y nutricionales comparables (Rogers et al., 2024; Smith & Strumwasser, 2023; USDA & GAIN, 2024).

En este escenario, se observa una clara diferenciación entre los procesos evaluados en cuanto a su rentabilidad y viabilidad financiera. Los productos BAL se destacan como las opciones con menor costo unitario de producción y más rentables a pesar de tener mayor inversión de equipamiento. El PA-SP-BAL genera la mayor utilidad neta y TIR además de un VAN positivo y un periodo de recupero de capital de un año y cuatro meses. El PA-HE-BAL también muestra un excelente desempeño con una TIR inferior, VAN positivo y una recuperación de capital en dos años y seis meses. Estos resultados reflejan una sólida viabilidad económica cuando el producto se comercializa a un precio competitivo y en línea con el mercado.

En contraste, los procesos PA-SP-AL y PA-FES-AL presentan bajos costos de inversión en equipamiento, pero un elevado costo de materia prima asociado al uso de ácido láctico de grado alimentario, conducen a pérdidas significativas y VAN negativos, sin alcanzar rentabilidad a la tasa de descuento aplicada. Estos resultados indican que no son económicamente viables si el precio de venta se ajusta al valor de mercado, y que requerirían una reestructuración del proceso o una revalorización sustancial del producto para lograr sostenibilidad. El proceso PA-HE-AL se posiciona en una situación intermedia, con una TIR del 57,20 % y un periodo de recuperación de capital de 2 años y 4 meses.

Tabla 43. Indicadores económico-financieros para la producción a escala industrial de diferentes productos proteicos

Ítem		Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) fermentado 96 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con AL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) precipitado con BAL	Producto proteico de harina de arveja amarilla (AP) hidrolizado 1 h precipitado con BAL
Precio de mercado actual del producto	USD/tn	5.500	5.500	5.500	5.500	5.500
Ingreso total	USD	6.500.120	2.919.400	7.386.500	9.746.000	7.056.500
Costo total	USD	8.524.504	8.252.536	5.561.603	4.415.951	4.478.448
Utilidad después de ganancias	USD	-2.121.886	-5.376.927	1.114.165	369.138	1.607.832
Valor actual neto	USD	-9.934.737	-24.633.285	4.511.650	14.359.741	6.437.986
Tasa interna de retorno	%	-	-	57.20	97.10	53.30
Periodo de recupero de capital	años	>10	>10	2	1	2
	meses	-	-	4	4	6
Precio de equilibrio del producto	USD/tn	7.451	16.155	4.327	2.672	3.749
Costo unitario	USD/kg	7,70	16,96	4,61	3,03	4,27

En lo que respecta al precio de equilibrio, los procesos con BAL registran los valores más bajos, ya que no incurren en el elevado costo asociado al uso de ácido láctico, lo que les otorga una mayor competitividad. En contraste, el proceso con FES presenta el precio de equilibrio más alto debido a su elevado costo unitario, consecuencia del mayor requerimiento energético propio de esta tecnología y de la baja productividad alcanzada. De los productos analizados, particularmente el PA-SP-BAL ofrece el mayor margen de seguridad y rentabilidad.

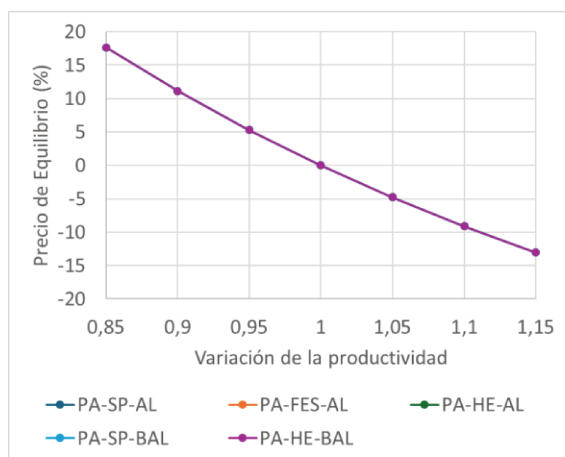
De este modo, la evaluación económica bajo el precio de mercado confirma la mayor viabilidad para PA-SP-BAL, luego para PA-HE-BAL y por último para PA-HE-AL.

5.3 Análisis de sensibilidad de indicadores financieros seleccionados

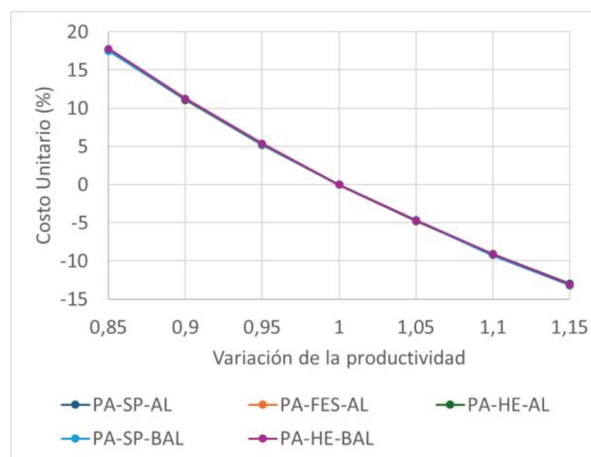
La Figura 20 presenta el análisis de sensibilidad del precio de equilibrio y del costo unitario frente a variaciones en la productividad, en la producción anual y en la tasa de descuento. La productividad se ajustó en $\pm 15\%$ con el fin de evaluar el impacto en los indicadores financieros dentro de un margen posible de fluctuación de dicho parámetro al escalar el proceso desde condiciones de laboratorio a escala industrial. Por otro lado, la producción anual se incrementó hasta un 10% por encima de la capacidad nominal, debido a la capacidad adicional disponible en los equipos seleccionados, y hasta un 50% por debajo de la capacidad nominal, para evaluar el impacto de posibles fluctuaciones en la demanda del mercado y para evitar así la acumulación innecesaria de inventario de un producto perecedero. Por su parte, la tasa de descuento se varía en un rango de 1 a 21% , considerando preferentemente escenarios en los que la tasa de referencia pueda descender y el mercado perciba un menor riesgo asociado al proyecto.

En la Figura 20a se observa que un incremento en la productividad se traduce en una reducción sostenida del precio de equilibrio en todos los procesos, con comportamientos similares entre los productos evaluados. En consecuencia, la productividad constituye un factor crítico en la determinación del precio de equilibrio, ya que un mayor aprovechamiento de las materias primas e insumos permite distribuir los costos totales sobre un volumen mayor de producto, disminuyendo de manera proporcional el precio mínimo requerido para alcanzar la rentabilidad.

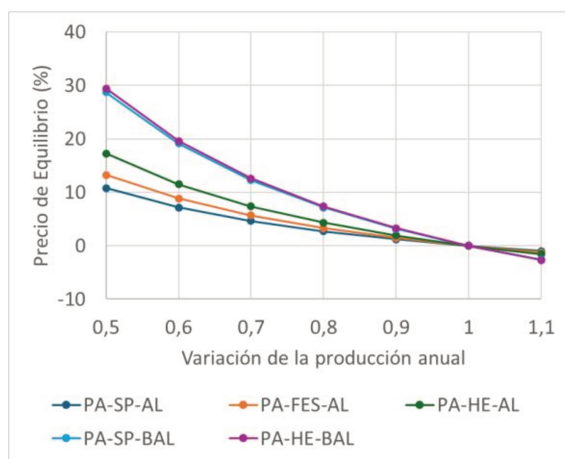
En la Figura 20b se observa que el costo unitario presenta una tendencia decreciente frente al incremento de la productividad, lo cual evidencia que este parámetro ejerce una influencia directa sobre la rentabilidad del proceso. La mejora en la productividad permite compensar los costos energéticos y de materia prima e insumos por unidad de producto, con idéntica tendencia para todos los procesos.



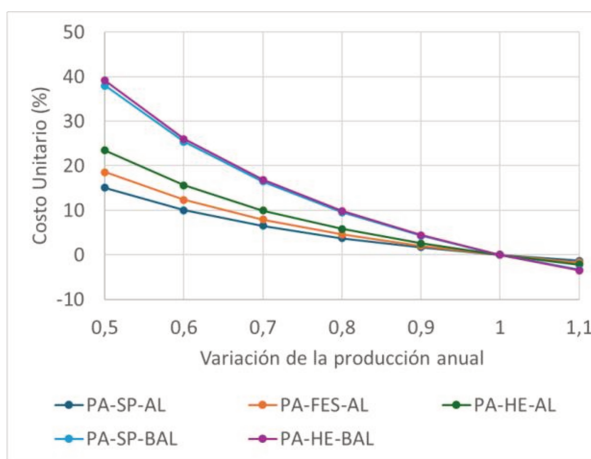
a. Precio de equilibrio vs productividad



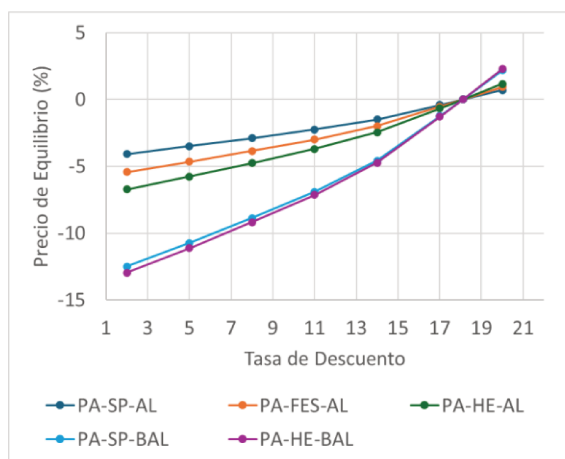
b. Costo unitario vs productividad



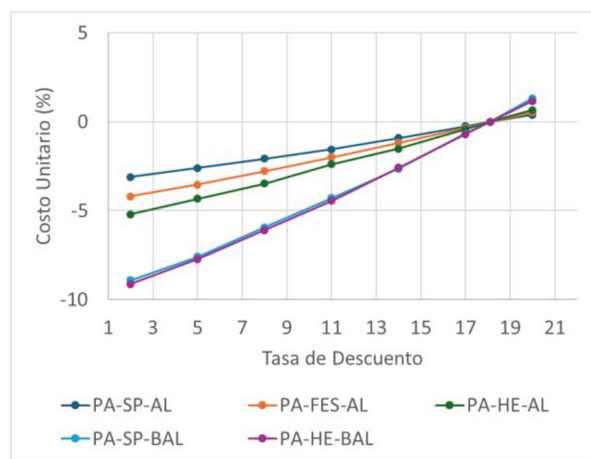
c. Precio de equilibrio vs producción anual



d. Costo unitario vs producción anual



e. Precio de equilibrio vs tasa de descuento



f. Costo unitario vs tasa de descuento

Figura 20. Variación del precio de equilibrio y el costo unitario en función de la productividad, producción anual y tasa de descuento

En la Figura 20c se observa que la reducción de la producción anual conduce a un aumento del precio de equilibrio lo que refleja la fuerte dependencia de los costos respecto de la escala productiva. Este comportamiento obedece al efecto de las economías de escala; cuando disminuye el volumen procesado, los costos fijos se reparten entre una menor cantidad de producto, lo que eleva el precio mínimo necesario para cubrir los gastos. Sin embargo, la magnitud de esta sensibilidad no es uniforme entre procesos dado que los sistemas con precipitación mediante BAL muestran mayor sensibilidad. Tanto PA-SP-BAL como PA-HE-BAL presentan incrementos mucho más marcados del precio de equilibrio frente a caídas de producción, asociado a que estos procesos requieren una proporción de inversión de capital más elevada (particularmente en fermentadores y, equipamiento adicional) en relación con sus costos operativos, lo cual incrementa el impacto de las variaciones en la escala. En cambio, los procesos PA-SP-AL y PA-FES-AL exhiben una menor variabilidad, ya que la estructura de costos está más vinculada al insumo principal (ácido láctico) y los requerimientos energéticos de la fermentación, que al capital fijo. En términos comparativos, el proceso PA-HE-AL aparece con una sensibilidad intermedia frente a reducciones de producción. Esto sugiere que, aunque requiere una etapa adicional (hidrólisis enzimática), su estructura de costos logra una cierta estabilidad que amortigua la sensibilidad frente a variaciones de escala.

En la Figura 20d se muestra que una reducción de la producción anual genera aumentos marcados en el costo unitario, especialmente en los procesos que emplean BAL donde los incrementos superan el 45–50 % y en PA-HE-AL donde los incrementos superan el 25 %. En contraste, los procesos PA-FES-AL y PA-SP-AL exhiben menor sensibilidad, con aumentos en torno al 20 %. Este comportamiento indica que, si bien los procesos BAL resultan competitivos en la condición base, su sensibilidad frente a caídas en la producción anual es más acentuada que en los procesos con AL. Esto se debe a que, en los procesos BAL, la proporción de la inversión de capital es relativamente más elevada respecto de los costos operativos, lo que incrementa su sensibilidad a disminuciones en el nivel de producción.

En la Figura 20e se observa que un incremento en la tasa de descuento se traduce en un aumento sostenido del precio de equilibrio en todos los procesos, con diferencias en la pendiente de crecimiento según el producto evaluado. Este comportamiento indica que el precio de equilibrio es altamente sensible a la tasa de descuento, ya que una mayor exigencia en la rentabilidad financiera eleva el valor mínimo requerido para que el proyecto sea viable. Entre los procesos, se destaca que PA-SP-BAL Y PA-HE-BAL presentan la mayor variación relativa, lo cual evidencia una mayor vulnerabilidad de este esquema frente a cambios.

En la Figura 20f se observa que el CU sigue una tendencia creciente conforme aumenta la tasa de descuento, aunque con menor magnitud relativa respecto del precio de equilibrio. Esto muestra que la tasa de descuento impacta de manera directa en la estructura de costos,

principalmente a través de la actualización de inversiones y gastos financieros. En este caso, los procesos mantienen una tendencia similar, siendo PA-SP-BAL y PA-HE-BAL los de mayor sensibilidad, mientras que PA-FES-AL, PA-HE-AL y PA-SP-AL exhiben un comportamiento más estable.

5.4 Discusión y comparación con resultados reportados en la bibliografía

Los resultados económico-financieros de este trabajo se comparan con estudios previos reportados en la literatura. Yang et al. (2025) analizaron la factibilidad técnico-económica de la extracción acuosa (AEP) y la extracción acuosa asistida con enzimas (EAEP) de proteínas de poroto negro en un modelo industrial de 10.000 tn/año de proteína en 330 días de operación, considerando inversión de capital y costos operativos a un precio fijo de USD 16,50/kg. Sus resultados muestran que EAEP alcanza mayor rentabilidad que AEP (18,2 % vs. 12,5 %), dado que el uso de enzimas incrementa de manera significativa los rendimientos de extracción. En este capítulo se obtienen rentabilidades del mismo orden para los procesos con hidrólisis enzimática, siendo 14,34 % para PA-HE-AL y 20,85 % para PA-HE-BAL, mientras que el proceso sin pretratamiento PA-SP-BAL, con menores costos unitarios y mayor productividad, alcanza una rentabilidad del 58,63 % debido a la reducción de gastos vinculados al ácido láctico. Por su parte, Petersen et al. (2022) evaluaron la factibilidad técnico-económica de una planta de arvejas con capacidad de 2.000 kg/h destinada a producir ingredientes proteicos mediante extracción alcalina con etanol, y reportaron una productividad de 0,17 tn/tn, valor dentro del rango observado en este estudio (0,10–0,33 tn/tn). Para capacidades comparables, estimaron un precio mínimo de venta de 3,59–3,09 USD/kg con una TIR del 10,60 %, mientras que, en este trabajo, para PA-SP-BAL, se obtuvo una TIR del 18,11 % y un precio de equilibrio de 2,67 USD/kg. En conjunto, los indicadores financieros aquí reportados se encuentran en el mismo orden de magnitud que los de dichos autores, y las diferencias se explican por la composición de la materia prima, con mayor contenido de carbohidratos y menor contenido proteico en el poroto negro, que exige etapas tecnológicas adicionales para obtener productos proteicos con valor comercial, lo cual repercute en la inversión, los costos operativos y los criterios de estimación empleados.

De manera complementaria, el estudio de Allotey et al. (2024) analizó la prefactibilidad técnica y económica de tres rutas de fraccionamiento seco de proteínas de arveja, un proceso base sin pretratamientos y dos variantes con acondicionamiento por radiofrecuencia e infrarrojo. Aunque los pretratamientos mejoraron indicadores técnicos como la eficiencia de separación y la pureza proteica, los nuevos procesos presentaron deterioro de los indicadores económicos debido al aumento en la inversión de capital y los costos operativos derivados del uso de equipos específicos y su mayor consumo energético, lo que hizo que el escenario base

resultara más competitivo en términos de VAN, retorno sobre la inversión y periodo de recupero. En la presente tesis, la incorporación de una etapa previa de FES requirió de una elevada inversión de capital y altos costos operativos, que condujeron a un VAN negativo y pérdidas económicas, situación que coincide con lo reportado por Allotey et al. (2024). Por el contrario, se observan resultados opuestos al incorporar una hidrólisis enzimática como etapa de previa (PA-HE-BAL y PA-SP-BAL), la cual generó procesos más productivos que compensaron los costos adicionales y mejoraron los indicadores financieros del proyecto. Es importante señalar que dicho estudio consideró únicamente indicadores técnicos y económicos, sin incluir propiedades funcionales ni calidad tecnológica, lo que limita la vinculación entre desempeño tecnológico y competitividad. Por su parte, esta tesis evalúa propiedades tecno-funcionales de los productos proteicos, lo que permitiría orientar su adecuación a distintas aplicaciones en la industria alimentaria. En conjunto, ambos trabajos coinciden en que la viabilidad de un proceso depende de un equilibrio entre simplicidad operativa, calidad del producto y rentabilidad financiera.

Capítulo 6

CONCLUSIONES

6.1 Enfoque Integral para el Análisis de Procesos y la Caracterización de Productos Proteicos

El conjunto de metodologías experimentales desarrolladas permite establecer una base sólida para la caracterización integral de harinas y productos proteicos obtenidos a partir de arvejas. La combinación de técnicas fisicoquímicas, funcionales, tecnológicas y bioquímicas asegura una evaluación exhaustiva de las características de los productos a lo largo de las diferentes etapas del proceso, desde la extracción alcalina hasta el secado por aspersión, y permite así comprender de forma integral el impacto de las condiciones de proceso sobre las propiedades finales.

La metodología de recuperación proteica propuesta se distingue por su enfoque integral y reproducible, que articula el control de parámetros operativos críticos (pH y relación sólido:líquido de extracción, agente precipitante utilizado en la precipitación isoelectrica, y etapa de pretratamiento) con la determinación de indicadores de performance (eficiencia de recuperación, productividad y consumo específico de agua), complementados con el análisis estadístico multivariable. Esta estructura experimental permite correlacionar los resultados composicionales con las propiedades funcionales y tecnológicas de los productos, en vistas de su potencial de transferencia hacia empresas del sector agroalimentario.

6.2 Efectos de las condiciones de extracción alcalina, precipitación isoelectrica y secado en la recuperación proteica a partir de arvejas

En términos comparativos, los productos proteicos obtenidos mediante extracción alcalina a pH 8,5 presentaron un contenido proteico hasta 75 % superior ($p < 0,05$) respecto a los obtenidos a pH 10 (hasta 37 %), con similar tendencia para los diferentes agentes precipitantes sin evidenciar diferencias significativas ($p > 0,05$) en el rendimiento de recuperación proteica, que se mantuvo entre 66 % y 72 %. Estos resultados sugieren que un pH de extracción menos alcalino favorece la conservación de la integridad proteica sin afectar la eficiencia del proceso, constituyendo una condición más adecuada desde el punto de vista funcional y composicional debido a una menor desnaturalización proteica.

Los procesos alternativos de pH-shifting aplicados para la recuperación de proteínas de arveja amarilla, tanto cuando se emplean distintas relaciones harina:agua en la extracción alcalina como cuando se utilizan diferentes agentes precipitantes en la precipitación isoelectrica, resultan en productos con contenidos proteicos comparables y rendimientos de recuperación similares. Sin embargo, se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) en el consumo específico de agua y la productividad del proceso de recuperación proteica, donde el proceso

con bacterias ácido lácticas y una relación harina:solvente de 1:10 (p/p) muestra el menor consumo específico de agua a la vez que se mantiene la productividad.

Asimismo, los productos proteicos obtenidos con ácido clorhídrico, ácido láctico y/o bacterias ácido lácticas presentan propiedades funcionales adecuadas en un amplio rango de valores de pH, incluyendo solubilidad, capacidad de retención de agua y aceite, y capacidades espumantes y emulsionantes. En particular, las proteínas precipitadas con bacterias ácido lácticas exhiben capacidad emulsionante incluso en su punto isoeléctrico y una elevada capacidad antioxidante, entre 7 y 22 veces mayor respecto de los productos obtenidos con ácido láctico y ácido clorhídrico respectivamente.

Al analizar los efectos del secado por aspersión sobre los indicadores de performance y características tecnológicas de los productos proteicos obtenidos a partir de arvejas amarillas y verdes, se observa que el uso de la fracción fina de las arvejas amarillas molidas como adyuvante o agente encapsulante durante el secado de productos proteicos precipitados con bacterias ácido lácticas, da lugar a un proceso altamente eficiente, con el doble de productividad y el 50 % del consumo específico de agua respecto del mismo producto sin encapsular. Además, como tendencia general, el contenido proteico no se ve significativamente influenciado cuando se usa encapsulante, mientras que el rendimiento se ve favorecido para todas las opciones de procesamiento cuando se usa agente encapsulante.

El parámetro de luminosidad (L^*) alcanza valores entre 85 y 90, indicando una elevada claridad en todos los productos evaluados. El tiempo de humectación varía significativamente, siendo considerablemente menor en los productos precipitados con bacterias ácido lácticas en comparación con aquellos obtenidos con ácido clorhídrico. La actividad acuosa presenta valores más bajos en los productos obtenidos con la fracción fina de arveja como encapsulante frente a los elaborados sin encapsulante.

Las propiedades de flujo y cohesividad también se ven afectadas por las condiciones operativas, registrándose valores del índice de Carr y del índice de Hausner que indican una buena fluidez y baja a intermedia cohesividad para los productos encapsulados. El uso de bacterias ácido lácticas y la incorporación de la fracción fina de arveja durante el secado por aspersión mejoran significativamente estas propiedades, demostrando el potencial de estos tratamientos para diseñar productos proteicos en polvo con características tecnológicas ajustables para diversas aplicaciones en alimentos.

6.3 Efecto de la fermentación en estado sólido en la recuperación proteica a partir de arvejas

La fermentación en estado sólido con *Aspergillus niger* produce un aumento significativo en la concentración proteica y una reducción en el contenido de carbohidratos de las harinas de arveja, observándose el mayor incremento proteico tras 96 h de fermentación. El producto proteico obtenido a partir de la harina fermentada durante 96 h y precipitado con ácido láctico presenta el mayor contenido de proteína y el menor contenido de carbohidratos, lo que evidencia el potencial de la fermentación para mejorar la eficiencia de extracción proteica.

El análisis de las propiedades funcionales muestra que, aunque la solubilidad no varía entre los productos fermentados y no fermentados, los primeros exhiben mayor capacidad de retención de agua y aceite, así como mayor actividad antioxidante. Además, la reducción observada en la actividad ureásica de los productos fermentados sugiere una disminución de los factores antinutricionales, mientras que el perfil de aminoácidos refleja un aumento en el contenido total y de aminoácidos esenciales, indicando una mejora en la calidad proteica. Estos resultados respaldan la fermentación en estado sólido como una estrategia eficaz para mejorar las propiedades nutricionales y funcionales de los productos proteicos de arveja amarilla destinados al uso alimentario.

6.4 Efecto de la hidrólisis enzimática en la recuperación proteica

El pretratamiento enzimático con carbohidrasas produce mejoras notables en los atributos tecno-funcionales de los productos proteicos de arveja amarilla en comparación con sus contrapartes no hidrolizadas, aunque no genera un aumento estadísticamente significativo en el contenido final de proteína. Los productos hidrolizados presentan mayor capacidad de retención de agua y aceite, baja actividad acuosa, elevado índice de blancura, rápida humectabilidad y buena fluidez y cohesividad, características altamente deseables para el desarrollo de sistemas alimentarios en polvo y rehidratables.

El proceso también favorece la liberación de aminoácidos esenciales y totales. En cuanto a los azufrados la cisteína evidencia un comportamiento diferencial de la metionina según las condiciones de tratamiento aplicadas, observándose un incremento bajo condiciones de hidrólisis respecto de la harina sin hidrolizar. La incorporación de la etapa de hidrólisis enzimática no produce un aumento estadísticamente significativo en el consumo específico de agua del proceso global de recuperación proteica, preservando así la sostenibilidad ambiental del método.

6.5 Análisis de factibilidad técnico-económica

El análisis económico-financiero demuestra que la viabilidad de los procesos de recuperación proteica depende de las decisiones adoptadas al configurar y fijar las variables de diseño y operativas de los mismos.

De esta manera, el esquema que incorpora la precipitación con ácido láctico en combinación con pretratamiento de FES aportan buena calidad proteica y funcionalidad del producto, aunque requieren ajustes operativos para incrementar la productividad (como podría ser el uso de encapsulantes) y de esta manera alcanzar indicadores económicos comparables con esquemas que utilizan bacterias ácido-lácticas como agente precipitante.

Los procesos que emplean bacterias ácido-lácticas como agentes precipitantes presentan los mejores indicadores de desempeño económico-financieros, con mayores rentabilidades, VAN positivos y periodos de recupero de capital inferiores a 2,5 años, además de los menores precios de equilibrio.

En contraste, los procesos con ácido láctico sin pretratamiento y con pretratamiento con FES implican mayores costos totales, sin margen de rentabilidad bajo las condiciones analizadas. Por su parte, el proceso con ácido láctico y pretratamiento con hidrólisis enzimática muestra un comportamiento intermedio, similar a su análogo con bacterias ácido lácticas como agente precipitante.

Los resultados obtenidos abren nuevas oportunidades para el desarrollo de procesos biotecnológicos orientados a la valorización integral de la arveja. Los productos proteicos obtenidos presentan propiedades fisicoquímicas, funcionales y tecnológicas favorables, que los posicionan como ingredientes versátiles para su incorporación en una amplia gama de formulaciones alimentarias, tales como productos de panificación y lácteos, alimentos libres de gluten, aderezos y otras matrices innovadoras.

El proceso de pH-shifting propuesto se perfila como una alternativa sostenible y técnicamente viable para pequeñas y medianas empresas agroindustriales, al permitir agregar valor a la arveja y diversificar la oferta de proteínas vegetales mediante tecnologías de bajo impacto ambiental.

6.6 Perspectivas futuras

En una etapa futura, resulta relevante profundizar en el estudio de la fermentación en estado sólido, explorando distintos microorganismos, combinaciones de sustratos, tiempos y condiciones de fermentación, con el fin de optimizar la producción de metabolitos bioactivos, mejorar el contenido y digestibilidad de proteínas, y potenciar las propiedades funcionales de

los productos obtenidos. Asimismo, quedan abiertas líneas de trabajo orientadas a integrar FES con hidrólisis enzimática secuencial para evaluar sinergias entre ambos pretratamientos, así como explorar la co-fermentación con probióticos para obtener productos proteicos con potencial funcional y nutracéutico.

Además, el escalado industrial y la evaluación de la viabilidad técnica, económica y ambiental de estos nuevos procesos constituirán pasos clave para avanzar hacia la producción sustentable de ingredientes proteicos de alto valor tecnológico. Ello necesariamente deberá incluir la evaluación de la estabilidad y desempeño funcional durante el almacenamiento de los polvos proteicos obtenidos, en vistas de su producción e implementación en productos comerciales.

Estas líneas de investigación permitirán fortalecer el conocimiento sobre los mecanismos de transformación biotecnológica en legumbres, optimizar la eficiencia del proceso, y avanzar hacia una producción sustentable de ingredientes proteicos de alto valor tecnológico.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdul Manan, M., & Webb, C. (2017). Modern microbial solid state fermentation technology for future biorefineries for the production of added-value products. *Biofuel Research Journal*, 4(4), 730–740. <https://doi.org/10.18331/BRJ2017.4.4.5>
- Aboyeji, O. O., Oloke, J. K., Arinkoola, A. O., Oke, M. A., & Ishola, M. M. (2020). Optimization of media components and fermentation conditions for citric acid production from sweet potato peel starch hydrolysate by *Aspergillus niger*. *Scientific African*, 10, e00554. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00554>
- Accoroni, C., Godoy, E., & Reinheimer, M. A. (2020). Performance evaluation of protein recovery from Argentinian soybean extruded-expelled meals under different operating conditions. *Journal of Food Engineering*, 274, 109849. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109849>
- Adebiyi, A. P., & Aluko, R. E. (2011). Functional properties of protein fractions obtained from commercial yellow field pea (*Pisum sativum* L.) seed protein isolate. *Food Chemistry*, 128(4), 902–908. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.116>
- Adebiyi, J. A., Obadina, A. O., Mulaba-Bafubandi, A. F., Adebo, O. A., & Kayitesi, E. (2016). Effect of fermentation and malting on the microstructure and selected physicochemical properties of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) flour and biscuit. *Journal of Cereal Science*, 70, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.026>
- Adebowale, Y. A., Schwarzenbolz, U., & Henle, T. (2011). Protein Isolates from Bambara Groundnut (*Voandzeia Subterranean* L.): Chemical Characterization and Functional Properties. *International Journal of Food Properties*, 14(4), 758–775. <https://doi.org/10.1080/10942910903420743>
- Aguirre, L., Garro, M. S., & Savoy de Giori, G. (2008). Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. *Food Chemistry*, 111(4), 976–982. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.018>
- Ahmed, S. H., Ahmed, I. A. M., Eltayeb, M. M., Ahmed, S. O., & Babiker, E. E. (2011). Functional properties of selected legumes flour as influenced by pH. In *Journal of Agricultural Technology* (Vol. 7, Issue 5). <http://www.ijat-aatsea.com>
- Akbarbaglu, Z., Peighambaroust, S. H., Sarabandi, K., & Jafari, S. M. (2021). Spray drying encapsulation of bioactive compounds within protein-based carriers; different options and applications. *Food Chemistry*, 359, 129965. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129965>
- Akhtar, N., Gupta, K., Goyal, D., & Goyal, A. (2016). Recent advances in pretreatment technologies for efficient hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 35(2), 489–511. <https://doi.org/10.1002/ep.12257>
- Alhamad, L., Alrashed, A., Al Munif, E., & Miskimins, J. (2020). Organic Acids for Stimulation Purposes: A Review. *SPE Production & Operations*, 35(04), 952–978. <https://doi.org/10.2118/199291-PA>
- Allotey, D. K., Kwofie, E. M., Adewale, P., Samaranayaka, A. G. P., Rajagopalan, N., Asavajaru, P., Klassen, D., & Ngadi, M. (2024). Techno-eco-environmental assessment of dry fractionation of protein concentrates from yellow peas with different pre-treatment

- methods: An eco-efficiency approach. *Journal of Cleaner Production*, 457, 142298. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.142298>
- Alonso-Miravalles, L., Jeske, S., Bez, J., Detzel, A., Busch, M., Krueger, M., Wriessnegger, C. L., O'Mahony, J. A., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2019). Membrane filtration and isoelectric precipitation technological approaches for the preparation of novel, functional and sustainable protein isolate from lentils. *European Food Research and Technology*, 245(9), 1855–1869. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03296-y>
- Aluko, R. E., Mofolasayo, O. A., & Watts, B. M. (2009). Emulsifying and Foaming Properties of Commercial Yellow Pea (*Pisum sativum* L.) Seed Flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9793–9800. <https://doi.org/10.1021/jf902199x>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. AOAC International.
- AOAC. (2018). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. AOAC International.
- AOCS. (2017). *Official Methods and Recommended Practices of the AOCS*. The American Oil Chemists' Society.
- Araújo, C. da S., Vimercati, W. C., Macedo, L. L., Saraiva, S. H., Teixeira, L. J. Q., da Costa, J. M. G., & Pimenta, C. J. (2022). Encapsulation of phenolic and antioxidant compounds from spent coffee grounds using spray-drying and freeze-drying and characterization of dried powders. *Journal of Food Science*, 87(9), 4056–4067. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16281>
- Arte, E., Katina, K., Holopainen-Mantila, U., & Nordlund, E. (2016). Effect of Hydrolyzing Enzymes on Wheat Bran Cell Wall Integrity and Protein Solubility. *Cereal Chemistry*, 93(2), 162–171. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-15-0060-R>
- Aruna, T. E. (2019). Production of value-added product from pineapple peels using solid state fermentation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102193. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102193>
- Asen, N. D., Aluko, R. E., Martynenko, A., Utioh, A., & Bhowmik, P. (2023). Yellow Field Pea Protein (*Pisum sativum* L.): Extraction Technologies, Functionalities, and Applications. *Foods*, 12(21), 3978. <https://doi.org/10.3390/foods12213978>
- Augustin, M. A., & Hemar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38(4), 902–912. <https://doi.org/10.1039/B801739P>
- Avramenko, N. A., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2013). The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate. *Food Research International*, 51(1), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.020>
- Ayodele, T., Tijani, A., Liadi, M., Alarape, K., Clementson, C., & Hamed, A. (2024). Biomass-Based Microbial Protein Production: A Review of Processing and Properties. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 16(4). <https://doi.org/10.31083/j.fbe1604040>
- Badia-Olmos, C., Sánchez-García, J., Laguna, L., Zúñiga, E., Mónica Haros, C., Maria Andrés, A., & Tarrega, A. (2024). Flours from fermented lentil and quinoa grains as ingredients with new techno-functional properties. *Food Research International*, 177, 113915. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113915>
- Bajaj, P. R., Bhunia, K., Kleiner, L., Joyner (Melito), H. S., Smith, D., Ganjyal, G., & Sablani, S. S. (2017). Improving functional properties of pea protein isolate for microencapsulation

- of flaxseed oil. *Journal of Microencapsulation*, 34(2), 218–230. <https://doi.org/10.1080/02652048.2017.1317045>
- Balzarini, M. F., Reinheimer, M. A., Ciappini, M. C., & Scenna, N. J. (2018). Comparative study of hot air and vacuum drying on the drying kinetics and physicochemical properties of chicory roots. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4067–4078. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3333-5>
- Bautista-Expósito, S., Tomé-Sánchez, I., Martín-Diana, A. B., Frias, J., Peñas, E., Rico, D., Casas, M. J. G., & Martínez-Villaluenga, C. (2020). Enzyme Selection and Hydrolysis under Optimal Conditions Improved Phenolic Acid Solubility, and Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Wheat Bran. *Antioxidants*, 9(10), 984. <https://doi.org/10.3390/antiox9100984>
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (Spirulina) platensis protein isolate. *Food Chemistry*, 194, 1056–1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>
- Bernfeld, P. (1955). Amylases, α and β . In *Methods in Enzymology* (Vol. 1, pp. 149–158). Elsevier.
- Beuchat, L. R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R. P., Bourdichon, F., Fanning, S., Joosten, H. M., & Ter Kuile, B. H. (2013). Low-Water Activity Foods: Increased Concern as Vehicles of Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 76(1), 150–172. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-211>
- Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Boukid, F., Rosell, C. M., & Castellari, M. (2021). Pea protein ingredients: A mainstream ingredient to (re)formulate innovative foods and beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.040>
- 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>
- Bracco, L. F., Levin, G. J., Urtasun, N., Navarro del Cañizo, A. A., Wolman, F. J., Miranda, M. V., & Cascone, O. (2019). Covalent immobilization of soybean seed hull urease on chitosan mini-spheres and the impact on their properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101093. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101093>
- Brubaker, J., & Moghtadernejad, S. (2024). A Comprehensive Review of the Rheological Properties of Powders in Pharmaceuticals. *Powders*, 3(2), 233–254. <https://doi.org/10.3390/powders3020015>
- Calderón-Chiu, C., Calderón-Santoyo, M., Herman-Lara, E., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2021). Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) leaf as a new source to obtain protein hydrolysates: Physicochemical characterization, techno-functional properties and antioxidant capacity. *Food Hydrocolloids*, 112, 106319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106319>

- Chalermthai, B., Ashraf, M. T., Bastidas-Oyanedel, J.-R., Olsen, B. D., Schmidt, J. E., & Taher, H. (2020). Techno-Economic Assessment of Whey Protein-Based Plastic Production from a Co-Polymerization Process. *Polymers*, 12(4), 847. <https://doi.org/10.3390/polym12040847>
- Chandra-Hioe, M. V., Wong, C. H. M., & Arcot, J. (2016). The Potential Use of Fermented Chickpea and Faba Bean Flour as Food Ingredients. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(1), 90–95. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0532-y>
- Chao, D., & Aluko, R. E. (2018). Modification of the structural, emulsifying, and foaming properties of an isolated pea protein by thermal pretreatment. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 357–366. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1406536>
- Chawla, P., Bhandari, L., Sadh, P. K., & Kaushik, R. (2017). Impact of Solid-State Fermentation (*Aspergillus oryzae*) on Functional Properties and Mineral Bioavailability of Black-Eyed Pea (*Vigna unguiculata*) Seed Flour. *Cereal Chemistry*, 94(3), 437–442. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-16-0128-R>
- Chen, S.-K., Lin, H.-F., Wang, X., Yuan, Y., Yin, J.-Y., & Song, X.-X. (2023). Comprehensive analysis in the nutritional composition, phenolic species and in vitro antioxidant activities of different pea cultivars. *Food Chemistry: X*, 17, 100599. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100599>
- Cheng, M.-H., Sekhon, J. J. K., Rosentrater, K. A., Wang, T., Jung, S., & Johnson, L. A. (2018). Environmental impact assessment of soybean oil production: Extruding-expelling process, hexane extraction and aqueous extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 108, 58–68. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.01.001>
- Coutinho, I. B., Quezadas, M. B., de Souza, L. F. G., Nitz, M., & Andreola, K. (2022). Spray drying of avocado pulp using the seed as an adjuvant. *Powder Technology*, 408, 117738. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2022.117738>
- Cui, L., Bandillo, N., Wang, Y., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Functionality and structure of yellow pea protein isolate as affected by cultivars and extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 108, 106008. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106008>
- Cui, Y., Li, J., Deng, D., Lu, H., Tian, Z., Liu, Z., & Ma, X. (2021). Solid-state fermentation by *Aspergillus niger* and *Trichoderma koningii* improves the quality of tea dregs for use as feed additives. *Plos One*, 16(11), e0260045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260045>
- Custodio-Mendoza, J. A., Pokorski, P., Aktaş, H., & Kurek, M. A. (2024). Rapid and efficient high-performance liquid chromatography-ultraviolet determination of total amino acids in protein isolates by ultrasound-assisted acid hydrolysis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 111, 107082. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107082>
- Damulienė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., & Maruška, A. (2023). The Influence of Enzymatic Hydrolysis on Bee Pollen Antioxidant and Antibacterial Activities. *Foods*, 12(19), 3582. <https://doi.org/10.3390/foods12193582>
- de Castro, R. J. S., & Sato, H. H. (2015). A response surface approach on optimization of hydrolysis parameters for the production of egg white protein hydrolysates with antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(1), 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2014.07.001>
- De Villa, R., Roasa, J., Mine, Y., & Tsao, R. (2023). Impact of solid-state fermentation on factors and mechanisms influencing the bioactive compounds of grains and processing

- by-products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(21), 5388–5413. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2018989>
- D'Emanuele Ares, C., Accoroni, C., Feriguti, L., Godoy, E., & Reinheimer, M. A. (2017). Analysis of soybean expeller milling operation by performance evaluation of different mills. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 415–424. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim722>
- Di Yenno, F., D'Angelo, G., Frattini, C., & Terré, E. (2022). La Arveja, un cultivo que crece y aporta valor a la economía argentina.
- Ding, H., Li, B., Boiarkina, I., Wilson, D. I., Yu, W., & Young, B. R. (2020). Effects of Morphology on the Bulk Density of Instant Whole Milk Powder. *Foods*, 9(8), 1024. <https://doi.org/10.3390/foods9081024>
- Dudonné, S., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative Study of Antioxidant Properties and Total Phenolic Content of 30 Plant Extracts of Industrial Interest Using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768–1774. <https://doi.org/10.1021/jf803011r>
- Düsenberg, B., Schmidt, J., Sensoy, I., & Bück, A. (2023). Flowability of plant-based food powders: Almond, chestnut, chickpea, coconut, hazelnut and rice. *Journal of Food Engineering*, 357, 111606. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111606>
- Eghbal, N., & Choudhary, R. (2018). Complex coacervation: Encapsulation and controlled release of active agents in food systems. *LWT*, 90, 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.036>
- Ellis, T. H. N., Smýkal, P., Maxted, N., Coyne, C. J., Domoney, C., Burstin, J., Bouchenak-Khelladi, Y., & Chayut, N. (2024). The Taxonomic Status of Genera within the Fabaeae (Vicieae), with a Special Focus on Pisum. *Diversity*, 16(7), 365. <https://doi.org/10.3390/d16070365>
- Emkani, M., Oliete, B., & Saurel, R. (2021). Pea Protein Extraction Assisted by Lactic Fermentation: Impact on Protein Profile and Thermal Properties. *Foods*, 10(3), 549. <https://doi.org/10.3390/foods10030549>
- Emkani, M., Oliete, B., & Saurel, R. (2022). Effect of Lactic Acid Fermentation on Legume Protein Properties, a Review. *Fermentation*, 8(6), 244. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060244>
- Engels, W., Siu, J., van Schalkwijk, S., Wesselink, W., Jacobs, S., & Bachmann, H. (2022). Metabolic Conversions by Lactic Acid Bacteria during Plant Protein Fermentations. *Foods*, 11(7), 1005. <https://doi.org/10.3390/foods11071005>
- Espitia-Hernández, P., Ruelas-Chacón, X., Chávez-González, M., Ascacio-Valdés, J., Flores-Naveda, A., & Sepúlveda-Torre, L. (2022). Solid-State Fermentation of Sorghum by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*: Effects on Tannin Content, Phenolic Profile, and Antioxidant Activity. *Foods*, 11(19), 3121. <https://doi.org/10.3390/foods11193121>
- FAO. (2021, August 25). *Food balance sheets*. <https://www.fao.org/4/X9892e/X9892e05.htm>
- FAO. (2025). *FAOSTAT*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fathi, F., N. Ebrahimi, S., Matos, L. C., P. P. Oliveira, M. B., & Alves, R. C. (2022). Emerging drying techniques for food safety and quality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1125–1160. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12898>

- Feed Tables. (2025, August 25). *Pea*. <https://www.feedtables.com/content/pea>.
- Feitosa, P. R. B., Santos, T. R. J., Gualberto, N. C., Narain, N., & de Aquino Santana, L. C. L. (2020). Solid-state fermentation with *Aspergillus niger* for the bio-enrichment of bioactive compounds in *Moringa oleifera* (moringa) leaves. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 27, 101709. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101709>
- Feng, X., Ng, K., Ajlouni, S., Zhang, P., & Fang, Z. (2024). Effect of Solid-State Fermentation on Plant-Sourced Proteins: A Review. *Food Reviews International*, 40(9), 2580–2617. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2274490>
- Fitzpatrick, J. J., Salmon, J., Ji, J., & Miao, S. (2017). Characterisation of the Wetting Behaviour of Poor Wetting Food Powders and the Influence of Temperature and Film Formation. *KONA Powder and Particle Journal*, 34(0), 282–289. <https://doi.org/10.14356/kona.2017019>
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2022). LA FAO y los Objetivos de Desarrollo Sostenible. In *LA FAO y los Objetivos de Desarrollo Sostenible*. FAO. <https://doi.org/10.4060/cc2063es>
- Fraś, A., Gzowska, M., & Wiśniewska, M. (2024). Nutritional Value Evaluation of New Pea Genotypes (*Pisum sativum* L.) Based on Their Chemical, Amino Acids and Dietary Fiber Composition. *Molecules*, 29(21), 5033. <https://doi.org/10.3390/molecules29215033>
- Frias, J., Giacomino, S., Peñas, E., Pellegrino, N., Ferreyra, V., Apro, N., Carrión, M. O., & Vidal-Valverde, C. (2011). Assessment of the nutritional quality of raw and extruded *Pisum sativum* L. var. laguna seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 44(5), 1303–1308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.025>
- Furuta, T., & Neoh, T. L. (2021). Microencapsulation of food bioactive components by spray drying: A review. *Drying Technology*, 39(12), 1800–1831. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862181>
- Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Cui, L., Ohm, J.-B., Chen, B., & Rao, J. (2020). Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea protein isolate. *Food Research International*, 131, 109045. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109045>
- García Arteaga, V., Apéstegui Guardia, M., Muranyi, I., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2020). Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65, 102449. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102449>
- García Arteaga, V., Kraus, S., Schott, M., Muranyi, I., Schweiggert-Weisz, U., & Eisner, P. (2021). Screening of Twelve Pea (*Pisum sativum* L.) Cultivars and Their Isolates Focusing on the Protein Characterization, Functionality, and Sensory Profiles. *Foods*, 10(4), 758. <https://doi.org/10.3390/foods10040758>
- García-Segovia, P., Igual, M., & Martínez-Monzó, J. (2021). Beetroot Microencapsulation with Pea Protein Using Spray Drying: Physicochemical, Structural and Functional Properties. *Applied Sciences*, 11(14), 6658. <https://doi.org/10.3390/app11146658>

- Garcia-Vaquero, M., Lopez-Alonso, M., & Hayes, M. (2017). Assessment of the functional properties of protein extracted from the brown seaweed *Himanthalia elongata* (Linnaeus) S. F. Gray. *Food Research International*, 99, 971–978. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.023>
- Garrido-Galand, S., Asensio-Grau, A., Calvo-Lerma, J., Heredia, A., & Andrés, A. (2021). The potential of fermentation on nutritional and technological improvement of cereal and legume flours: A review. *Food Research International*, 145, 110398. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110398>
- Geng, L., Zhu, W., & Hang, S. (2023). Optimization of Fermentation and Enzymatic Hydrolysis Conditions for Soybean Hull. *Journal of Animal Nutrition*, 35(5), 3361–3371. <https://doi.org/https://doi.org/10.12418/CJAN2023.312>
- Germec, M., Gürler, H. N., Ozcan, A., Erkan, S. B., Karahalil, E., & Turhan, I. (2020). Medium optimization and kinetic modeling for the production of *Aspergillus niger* inulinase. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43(2), 217–232. <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02219-1>
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*, 40(9), 1107–1121. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Gomez Rojas, M. P., & Mosquera Martinez, O. M. (2023). Whey Protein Fermentation with *Aspergillus niger*: Source of Antioxidant Peptides. <https://doi.org/10.5772/intechopen.111895>
- Gouseti, O., Larsen, M. E., Amin, A., Bakalis, S., Petersen, I. L., Lametsch, R., & Jensen, P. E. (2023). Applications of Enzyme Technology to Enhance Transition to Plant Proteins: A Review. *Foods*, 12(13), 2518. <https://doi.org/10.3390/foods12132518>
- Gravel, A., Dubois-Laurin, F., Turgeon, S. L., & Doyen, A. (2023). Combination of Ultrafiltration/Diafiltration and Ammonium Sulfate Precipitation for the Purification of 11S and 7S Pea Globulin Fractions. *ACS Food Science & Technology*, 3(12), 2208–2218. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00418>
- Gultekin Subasi, B., Forghani, B., & Abdollahi, M. (2024). Exploring Swedish pea varieties suitable for protein isolation, focusing on antinutrients and off-flavors. *Journal of Food Composition and Analysis*, 128, 105988. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.105988>
- Hadnadjev, M., Dapcevic-Hadnadjev, T., Pojic, M., Saric, B., Misan, A., Jovanov, P., & Sakac, M. (2017). Progress in vegetable proteins isolation techniques: A review. *Food and Feed Research*, 44(1), 11–21. <https://doi.org/10.5937/FFR1701011H>
- Haider, J., Majeed, H., Williams, P. A., Safdar, W., & Zhong, F. (2017). Formation of chitosan nanoparticles to encapsulate krill oil (*Euphausia superba*) for application as a dietary supplement. *Food Hydrocolloids*, 63, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.020>
- Han, H., & Baik, B. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(11), 1971–1978. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01800.x>
- Hertzler, S. R., Lieblein-Boff, J. C., Weiler, M., & Allgeier, C. (2020). Plant Proteins: Assessing Their Nutritional Quality and Effects on Health and Physical Function. *Nutrients*, 12(12), 3704. <https://doi.org/10.3390/nu12123704>

- Hogekamp, S., & Schubert, H. (2003). Rehydration of Food Powders. *Food Science and Technology International*, 9(3), 223–235. <https://doi.org/10.1177/1082013203034938>
- Holzapfel, W. H. (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, 75(3), 197–212.
- Hopf, A., Agarwal, D., Skylas, D. J., Whiteway, C., Buckow, R., & Dehghani, F. (2024). Techno-Functional Properties of Dry and Wet Fractionated Pulse Protein Ingredients. *Legume Science*, 6(4). <https://doi.org/10.1002/leg3.70005>
- Hradilová, I., Trněný, O., Válková, M., Cechová, M., Janská, A., Prokešová, L., Aamir, K., Krezdorn, N., Rotter, B., Winter, P., Varshney, R. K., Soukup, A., Bednář, P., Hanáček, P., & Smýkal, P. (2017). A Combined Comparative Transcriptomic, Metabolomic, and Anatomical Analyses of Two Key Domestication Traits: Pod Dehiscence and Seed Dormancy in Pea (*Pisum sp.*). *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00542>
- Ibáñez, M. A., de Blas, C., Cámara, L., & Mateos, G. G. (2020). Chemical composition, protein quality and nutritive value of commercial soybean meals produced from beans from different countries: A meta-analytical study. *Animal Feed Science and Technology*, 267, 114531. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114531>
- Imelda, J., Paulraj, R., & Bhatnagar, D. (2008). Effect of solid-state fermentation on nutrient composition of selected feed ingredients. *Indian Journal of Fisheries*, 55, 327–332.
- Instituto Adolfo Lutz. (2008). Métodos físico-químicos para análise de alimentos (4th ed.). Instituto Adolfo Lutz .
- Islam, N., Kotha, R. R., Luthria, D. L., & Natarajan, S. (2020). Enhanced separation and analysis of low abundant soy proteins by dual washing extraction process. *Analytical Biochemistry*, 610, 113931. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113931>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jarunglumlert, T., Chantanuson, R., Hayashi, R., Katano, Y., Kusakari, T., Nagamine, S., Matsumiya, K., Kobayashi, T., & Nakagawa, K. (2023). Techno-economic assessment of plant-based meat analogue produced by the freeze alignment technique. *Future Foods*, 8, 100269. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100269>
- Jarzębski, M., Fathordoobady, F., Guo, Y., Xu, M., Singh, A., Kitts, D. D., Kowalczewski, P. Ł., Jeżowski, P., & Singh, A. P. (2019). Pea Protein for Hempseed Oil Nanoemulsion Stabilization. *Molecules*, 24(23), 4288. <https://doi.org/10.3390/molecules24234288>
- Jiang, S., Ding, J., Andrade, J., Rababah, T. M., Almajwal, A., Abulmeaty, M. M., & Feng, H. (2017). Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shifting and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 835–842. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.046>
- Jiménez Gutiérrez, Arturo. (2021). *Diseño de procesos en ingeniería química* (Reverte, Ed.). Editorial Reverte.
- Jiménez-Munoz, L., Torp Nielsen, M., Roman, L., & Corredig, M. (2023). Variation of in vitro digestibility of pea protein powder dispersions from commercially available sources. *Food Chemistry*, 401, 134178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134178>

- Jinapong, N., Supphantharika, M., & Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194–205. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.032>
- Jodayree, S., Smith, J. C., & Tsopmo, A. (2012). Use of carbohydrase to enhance protein extraction efficiency and antioxidative properties of oat bran protein hydrolysates. *Food Research International*, 46(1), 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.12.004>
- Juarez-Enriquez, E., Olivas, G. I., Zamudio-Flores, P. B., Perez-Vega, S., Salmeron, I., Ortega-Rivas, E., & Sepulveda, D. R. (2022). A review on the influence of water on food powder flowability. *Journal of Food Process Engineering*, 45(5). <https://doi.org/10.1111/jfpe.14031>
- Juliano, P., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2010). Food Powders Flowability Characterization: Theory, Methods, and Applications. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 211–239. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.102308.124155>
- Kaleda, A., Sharma, N., Jakobson, K., Stulova, I., & Rosenvald, S. (2025). Fermentation by lactic acid bacteria during pea protein isolation reduces undesirable flavors and changes techno-functional properties. *Food Chemistry*, 492, 145380. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.145380>
- Kamal, H., Le, C. F., Salter, A. M., & Ali, A. (2021). Extraction of protein from food waste: An overview of current status and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2455–2475. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12739>
- Karaca, A. C., Low, N., & Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44(9), 2742–2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>
- Karimi, M., Ignasiak, M. T., Chan, B., Croft, A. K., Radom, L., Schiesser, C. H., Pattison, D. I., & Davies, M. J. (2016). Reactivity of disulfide bonds is markedly affected by structure and environment: implications for protein modification and stability. *Scientific Reports*, 6(1), 38572. <https://doi.org/10.1038/srep38572>
- Khazaei, Subedi, Nickerson, Martínez-Villaluenga, Frias, & Vandenberg. (2019). Seed Protein of Lentils: Current Status, Progress, and Food Applications. *Foods*, 8(9), 391. <https://doi.org/10.3390/foods8090391>
- Khorsandi, A. (2022). *The use of solid-state fermentation to improve the protein quality, functionality and flavour of pulse protein isolates*. University of Saskatchewan Room 3E08 Agriculture Building 51 Campus Drive Saskatoon.
- Kim, H. J., & Kim, B. K. (2015). Comparison of soy protein concentrates produced using membrane ultrafiltration and acid precipitation. *Food Science and Biotechnology*, 24(1), 67–73. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0011-5>
- Kleekayai, T., Khalesi, M., Amigo-Benavent, M., Cermeño, M., Harnedy-Rothwell, P., & FitzGerald, R. J. (2023). Enzyme-Assisted Extraction of Plant Proteins. In *Green Protein Processing Technologies from Plants* (pp. 131–178). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-16968-7_6
- Kobayashi, T., Tanaka, T., Shimada, N., & Kawaguchi, T. (2013). DEM–CFD analysis of fluidization behavior of Geldart Group A particles using a dynamic adhesion force model. *Powder Technology*, 248, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.02.028>
- Kolpakova, V. V., Kulikov, D. S., Ulanova, R. V., Gaivoronskaya, I. S., & Chumikina, L. V. (2021). Technological solutions and prospects for obtaining protein preparations and composites

- from legumes. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 659(1), 012139. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/659/1/012139>
- Kong, C., Duan, C., Zhang, S., Liu, R., Sun, Y., & Zhou, S. (2023). Effects of Co-Modification by Extrusion and Enzymatic Hydrolysis on Physicochemical Properties of Black Wheat Bran and Its Prebiotic Potential. *Foods*, 12(12), 2367. <https://doi.org/10.3390/foods12122367>
- Konieczna, I., Zarnowiec, P., Kwinkowski, M., Kolesinska, B., Fraczyk, J., Kaminski, Z., & Kaca, W. (2012). Bacterial Urease and its Role in Long-Lasting Human Diseases. *Current Protein and Peptide Science*, 13(8), 789–806. <https://doi.org/10.2174/138920312804871094>
- Korcz, E., & Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>
- Kotlarz, A., Sujak, A., Strobel, W., & Grzesiak, W. (2011). Chemical Composition and Nutritive Value of Protein of the Pea Seeds - Effect of Harvesting Year and Variety. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 75(1), 57–69. <https://doi.org/10.2478/v10032-011-0018-2>
- Krishnan, V., Khodadadi Tirkolaei, H., & Kavazanjian, E. (2023). An Improved Method for Determining Urease Activity from Electrical Conductivity Measurements. *ACS Omega*, 8(15), 13791–13798. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08152>
- Kristo, E., & Corredig, M. (2014). Functional Properties of Food Proteins. In *Applied Food Protein Chemistry* (pp. 47–73). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118860588.ch5>
- Kumitch, H. M., Stone, A., Nosworthy, M. G., Nickerson, M. T., House, J. D., Korber, D. R., & Tanaka, T. (2020). Effect of fermentation time on the nutritional properties of pea protein-enriched flour fermented by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. *Cereal Chemistry*, 97(1), 104–113. <https://doi.org/10.1002/ccche.10234>
- Kurek, M. A., & Pratap-Singh, A. (2020). Plant-Based (Hemp, Pea and Rice) Protein–Maltodextrin Combinations as Wall Material for Spray-Drying Microencapsulation of Hempseed (*Cannabis sativa*) Oil. *Foods*, 9(11), 1707. <https://doi.org/10.3390/foods9111707>
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., & Romero, A. (2016). Pea, Chickpea and Lentil Protein Isolates: Physicochemical Characterization and Emulsifying Properties. *Food Biophysics*, 11(1), 43–51. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9411-6>
- Lam, A. C. Y., Can Karaca, A., Tyler, R. T., & Nickerson, M. T. (2018). Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, 34(2), 126–147. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1242135>
- Lestari, L. A., Rohman, A., Riswahyuli, Purwaningsih, S., Kurniawati, F., & Irnawati. (2022). Analysis of amino acids in food using High Performance Liquid Chromatography with derivatization techniques: a review. *Food Research*, 6(3), 435–442. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(3\).442](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(3).442)
- L'Hocine, L., Boye, J. I., & Arcand, Y. (2006). Composition and Functional Properties of Soy Protein Isolates Prepared Using Alternative Defatting and Extraction Procedures. *Journal of Food Science*, 71(3), C137–C145. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15609.x>
- Li, S., Jin, Z., Hu, D., Yang, W., Yan, Y., Nie, X., Lin, J., Zhang, Q., Gai, D., Ji, Y., & Chen, X. (2020). Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional value,

- isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour. *LWT*, 125, 109264. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109264>
- Liang, H.-N., & Tang, C.-H. (2013). pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum* (L.)] proteins. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.005>
- Lingiardi, N., Galante, M., & Spelzini, D. (2025). Development of Bioactive Quinoa Protein Hydrolysate-based Emulsion Gels: Evaluation of Their Antioxidant and Rheological Properties. *Food Biophysics*, 20(1), 3. <https://doi.org/10.1007/s11483-024-09899-7>
- Liu, Y., Zhou, Y., Zhu, C., Meng, Y., Wang, J., Chen, X., Hou, Y., Liao, A., Pan, L., & Huang, J. (2024). Optimization of Fermentation Process of Wheat Germ Protein by *Aspergillus niger* and Analysis of Antioxidant Activity of Peptide. *Fermentation*, 10(3), 121. <https://doi.org/10.3390/fermentation10030121>
- Locali Pereira, A. R., Gonçalves Cattelan, M., & Nicoletti, V. R. (2019). Microencapsulation of pink pepper essential oil: Properties of spray-dried pectin/SPI double-layer versus SPI single-layer stabilized emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 581, 123806. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123806>
- Lu, Z. X., He, J. F., Zhang, Y. C., & Bing, D. J. (2020). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2593–2605. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1651248>
- Ma, K. K., Grossmann, L., Nolden, A. A., McClements, D. J., & Kinchla, A. J. (2022). Functional and physical properties of commercial pulse proteins compared to soy derived protein. *Future Foods*, 6, 100155. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100155>
- Machida, K., Huang, Y.-P., Furlan Gonçalves Dias, F., Barile, D., & Leite Nobrega de Moura Bell, J. M. (2022). Leveraging Bioprocessing Strategies to Achieve the Simultaneous Extraction of Full-Fat Chickpea Flour Macronutrients and Enhance Protein and Carbohydrate Functionality. *Food and Bioprocess Technology*, 15(8), 1760–1777. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02847-8>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Maftukhah, S., & Abdullah, A. (2018). Cellulase Enzyme Production from Rice Straw Using Solid State Fermentation and Fungi *Aspergillus niger* ITBCC L74. *MATEC Web of Conferences*, 156, 01010. <https://doi.org/10.1051/matecconf/201815601010>
- McCarthy, N. A., Kennedy, D., Hogan, S. A., Kelly, P. M., Thapa, K., Murphy, K. M., & Fenelon, M. A. (2016). Emulsification properties of pea protein isolate using homogenization, microfluidization and ultrasonication. *Food Research International*, 89, 415–421. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.024>
- McClements, D. J. (2018). Encapsulation, protection, and delivery of bioactive proteins and peptides using nanoparticle and microparticle systems: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 253, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.02.002>
- Meramo-Hurtado, S. I., & González-Delgado, Á. D. (2020). Application of Techno-economic and Sensitivity Analyses as Decision-Making Tools for Assessing Emerging Large-Scale Technologies for Production of Chitosan-Based Adsorbents. *ACS Omega*, 5(28), 17601–17610. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02064>

- Mohammed, Y. A., Chen, C., Walia, M. K., Torrion, J. A., McVay, K., Lamb, P., Miller, P., Eckhoff, J., Miller, J., & Khan, Q. (2018). Dry pea (*Pisum sativum* L.) protein, starch, and ash concentrations as affected by cultivar and environment. *Canadian Journal of Plant Science*, 98(5), 1188–1198. <https://doi.org/10.1139/cjps-2017-0338>
- Mokni Ghribi, A., Maklouf Gafsi, I., Sila, A., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., Bougatef, A., & Besbes, S. (2015). Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate. *Food Chemistry*, 187, 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.109>
- Mora-Villalobos, J. A., Montero-Zamora, J., Barboza, N., Rojas-Garbanzo, C., Usaga, J., Redondo-Solano, M., Schroedter, L., Olszewska-Widdrat, A., & López-Gómez, J. P. (2020). Multi-Product Lactic Acid Bacteria Fermentations: A Review. *Fermentation*, 6(1), 23. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010023>
- Moreira, M. T. C., Martins, E., Perrone, Í. T., de Freitas, R., Queiroz, L. S., & de Carvalho, A. F. (2021). Challenges associated with spray drying of lactic acid bacteria: Understanding cell viability loss. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3267–3283. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12774>
- Muhoza, B., Harimana, Y., Kayitesi, E., Uriho, A., & Liu, Q. (2025). Insight into the Effect of Extraction and Spray Drying Conditions on the Nutritional and Techno-Functional Properties of Legume Protein Powder: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 18(2), 1141–1159. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03541-7>
- Murray, B. S., & Ettelaie, R. (2004). Foam stability: proteins and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.004>
- Naurzbayeva, G., Smolnikova, F., Baytukenova, S., Kapshakbayeva, Z., Mustafayeva, A., Baytukenova, S., Smailova, Z., Dikhanbayeva, F., Temerbayeva, M., & Baybalinova, G. (2023). Incorporating carrot pomace-based emulsion to enhance the nutritional value and shelf life of butter. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2455–2475. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2251718>
- Nguyen, P.-T., Nguyen, T.-T., Bui, D.-C., Hong, P.-T., Hoang, Q.-K., & Nguyen, H.-T. (2020). Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria: the manipulation of environmental stresses for industrial applications. *AIMS Microbiology*, 6(4), 451–469. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2020027>
- Niemi, P., Martins, D., Buchert, J., & Faulds, C. B. (2013). Pre-hydrolysis with carbohydrases facilitates the release of protein from brewer's spent grain. *Bioresource Technology*, 136, 529–534. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.076>
- Nkurikiye, E., Pulivarthi, M. K., Bhatt, A., Siliveru, K., & Li, Y. (2023). Bulk and flow characteristics of pulse flours: A comparative study of yellow pea, lentil, and chickpea flours of varying particle sizes. *Journal of Food Engineering*, 357, 111647. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111647>
- Owusu-Ansah, Y. J., & Mc curdy, S. M. (1991). Pea proteins: A review of chemistry, technology of production, and utilization. In *Food Reviews International* (Vol. 7, Issue 1, pp. 103–134). <https://doi.org/10.1080/87559129109540903>
- Padalino, L., Mastromatteo, M., & Del Nobile, M. A. (2013). Contents Digest. *Trends in Food Science & Technology*, 29(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.12.001>
- Paleologo, M. F. O. (2021). *Rheological analysis of complex interfaces and bulk behaviour of starches and pea protein*. University of Calabria.

- Panizzolo, A. L., & Añón, M. C. (2015). Foaming Properties of Soy Protein Isolate Hydrolysates. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20150301.11>
- Pei, M., Zhao, Z., Chen, S., Reshetnik, E. I., Gribanova, S. L., Li, C., Zhang, G., Liu, L., & Zhao, L. (2022). Physicochemical properties and volatile components of pea flour fermented by *Lactobacillus rhamnosus* L08. *Food Bioscience*, 46, 101590. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101590>
- Pelgrom, P. J. M., Vissers, A. M., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2013). Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. *Food Research International*, 53(1), 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.05.004>
- Peter, R. (2018). *Properties of aqueous-alcohol-washed protein concentrates prepared from air-classified pea protein and other air-classified pulse protein fractions*. University of Saskatchewan.
- Petersen, A. M., Annon-Quarshie, J., van Rensburg, E., & Görgens, J. F. (2022). Optimizing the processes of extracting proteins from yellow peas and ethanol production from spent pea residues. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(7), 2913–2924. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00851-6>
- Poeta, F., Frattini, C., & Calzada, J. (2025). *Arveja verde- márgenes ajustados, pero con espacio en la rotación*. <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal/arveja-verde>
- Ponnal, R. P., Wood, J. E., Gill, B. D., Bergonia, C. A., Longstaff, W. M., Slabbert, V., Bainbridge-Smith, L. C., & Crawford, R. A. (2021). Colorimetry of dairy products. *International Dairy Journal*, 113, 104886. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104886>
- Pontieri, P., Del Giudice, F., Dimitrov, M. D., Pesheva, M. G., Venkov, P. V., Di Maro, A., Pacifico, S., Gadgil, P., Herald, T. J., Tuinstra, M. R., Pizzolante, G., Romano, R., & Del Giudice, L. (2016). Measurement of biological antioxidant activity of seven food-grade sorghum hybrids grown in a Mediterranean environment. *Australian Journal of Crop Science*, 10(07), 904–910. <https://doi.org/10.21475/ajcs.2016.10.07.pne18>
- Przybylska-Balcerek, A., Frankowski, J., & Stuper-Szablewska, K. (2019). Bioactive compounds in sorghum. *European Food Research and Technology*, 245(5), 1075–1080. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3207-0>
- Pudžiuvytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatoniene, J. (2025). Spray-Drying Microencapsulation of Natural Bioactives: Advances in Sustainable Wall Materials. *Pharmaceuticals*, 18(7), 963. <https://doi.org/10.3390/ph18070963>
- Pulivarthi, M. K., Nkurikiye, E., Watt, J., Li, Y., & Siliveru, K. (2021). Comprehensive Understanding of Roller Milling on the Physicochemical Properties of Red Lentil and Yellow Pea Flours. *Processes*, 9(10), 1836. <https://doi.org/10.3390/pr9101836>
- Qi, J. (2004). *Microencapsulation of beta-carotene in pea protein wall system* [University of Manitoba]. https://dam-oclc.bac-lac.gc.ca/download?is_thesis=1&oclc_number=1357557549&id=0fcb31db-99fb-472c-91fc-168fe7a90b60&fileName=Qi_Microencapsulation_of.pdf
- Rabilloud, T. (2010). Variations on a theme: Changes to electrophoretic separations that can make a difference. *Journal of Proteomics*, 73(8), 1562–1572. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2010.04.001>

- Rajkumar, H., Muthu, I., James, P., Baskaran, S., Lakshmanan, K., Vellaichamy, M., Jeyaraj, S., & Pandi, P. (2024). Enhancing Nutritional Profile, Functional Properties, Therapeutic Attributes of Finger Millet (*Eleusinecoracana*) by Germination: A Comprehensive Exploration. *Natural Product Communications*, 19(12). <https://doi.org/10.1177/1934578X241293027>
- Ramatsui, L., Sithole, T., Mzimkulu-Ncoyi, N. H., Malgas, S., & Pletschke, B. I. (2023). The use of xylanases as additives to feeds: a mini-review of their effect on feed digestion and growth performance of monogastric animals. In *Microbial Bioprocesses* (pp. 83–105). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95332-0.00003-X>
- Rashwan, A. K., Osman, A. I., Abdelshafy, A. M., Mo, J., & Chen, W. (2023). Plant-based proteins: advanced extraction technologies, interactions, physicochemical and functional properties, food and related applications, and health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–28. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2279696>
- Ray, M. S., & Sneesby, M. G. (2020). *Chemical engineering design project: a case study approach: (production of phthalic anhydride)* (CRC Press, Ed.; Second Edition). CRC Press.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reinheimer, M. A., Medina, J. R., Scenna, N. J., Mussati, S. F., Freyre, M., & Pérez, G. A. (2014). Mathematical modeling and simulation of soluble protein extraction during leaching process in surimi elaboration. *Journal of Food Engineering*, 120, 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.07.030>
- Ren, S., Du, Y., Zhang, J., Zhao, K., Guo, Z., & Wang, Z. (2024). Commercial Production of Highly Rehydrated Soy Protein Powder by the Treatment of Soy Lecithin Modification Combined with Alcalase Hydrolysis. *Foods*, 13(12), 1800. <https://doi.org/10.3390/foods13121800>
- Rezvani, F., Ardestani, F., & Najafpour, G. (2017). Growth kinetic models of five species of *Lactobacilli* and lactose consumption in batch submerged culture. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.12.007>
- Ricarte, G. N., Barreto, N. M. B., Perrone, D., Lemes, A. C., Almeida, E. L., Ribeiro, B. D., & Zarur Coelho, M. A. (2024). Techno-functional properties of whole okara flour hydrolyzed with a carbohydrase complex. *Food Bioscience*, 60, 104353. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104353>
- Ritthibut, N., Oh, S.-J., & Lim, S.-T. (2021). Enhancement of bioactivity of rice bran by solid-state fermentation with *Aspergillus* strains. *LWT*, 135, 110273. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110273>
- Rodrigues, I. M. M. A., Carvalho, M. G. V. S., & Rocha, J. M. S. (2014). Increasing the protein content of rapeseed meal by enzymatic hydrolysis of carbohydrates. *BioResources*, 9(2), 2010–2025.
- Rogers, H., Dora, M., Tsolakis, N., & Kumar, M. (2024). Plant-based Food Supply Chains: Recognising Market Opportunities and Industry Challenges of Pea Protein. *Applied Food Research*, 4(2), 100440. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2024.100440>

- Rosenthal, A., Pyle, D. L., & Niranjan, K. (1998). Simultaneous Aqueous Extraction of Oil and Protein from Soybean: Mechanisms for Process Design. *Food and Bioprocess Processing*, 76(4), 224–230. <https://doi.org/10.1205/096030898532124>
- Rosset, M., Acquaro, V. R., & Beléia, A. D. P. (2014). Protein Extraction from Defatted Soybean Flour with Viscozyme L Pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784–790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>
- Ruíz-Leza, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J. C., & Aguilar, C. N. (2007). Bio-reactors desing for solid state fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1), 33–40.
- Sajib, M., Forghani, B., Kumar Vate, N., & Abdollahi, M. (2023). Combined effects of isolation temperature and pH on functionality and beany flavor of pea protein isolates for meat analogue applications. *Food Chemistry*, 412. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135585>
- Sanalibaba, P., & Cakmak, G. A. (2016). Exopolysaccharides Production by Lactic Acid Bacteria. *Applied Microbiology: Open Access*, 2(2). <https://doi.org/10.4172/2471-9315.1000115>
- Sandhu, K. S., Punia, S., & Kaur, M. (2016). Effect of duration of solid-state fermentation by *Aspergillus awamori* on antioxidant properties of wheat cultivars. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.008>
- Santhalakshmy, S., Don Bosco, S. J., Francis, S., & Sabeena, M. (2015). Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. *Powder Technology*, 274, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.01.016>
- Santos, S. da C., Kaspchak, E., Coelho, A. A., Arbach, C. T., Nabeshima, E. H., Pacheco, M. T. B., & Sadahira, M. S. (2025). Techno-functional properties of soy, rice, and carioca bean protein blends. *International Journal of Food Science and Technology*, 60(1). <https://doi.org/10.1093/ijfood/vvae066>
- Sarabandi, K., Gharehbeglou, P., & Jafari, S. M. (2020). Spray-drying encapsulation of protein hydrolysates and bioactive peptides: Opportunities and challenges. *Drying Technology*, 38(5–6), 577–595. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1689399>
- Sari, Y. W., Mulder, W. J., Sanders, J. P. M., & Bruins, M. E. (2015). Towards plant protein refinery: Review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance. *Biotechnology Journal*, 10(8), 1138–1157. <https://doi.org/10.1002/biot.201400569>
- Scarabattoli, L., Sangiorgio, S., Romagnuolo, F., Gelati, L., Cavuoto, D., Rabuffetti, M., Morelli, C. F., Lupinelli, S., & Speranza, G. (2023). Use of carbohydrases to promote protein extraction from rice bran and soybean meal: A comparative study. *LWT*, 184, 115060. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115060>
- Schutyser, M., Novoa, S. C., Wetterauw, K., Politiek, R., & Wilms, P. (2025). Dry Fractionation for Sustainable Production of Functional, Nutritional and Palatable Grain Legume Protein Ingredients. *Food Engineering Reviews*, 17(2), 344–358. <https://doi.org/10.1007/s12393-024-09394-2>
- Scilingo, A. A., & Añón, M. C. (2004). Characterization of soybean protein isolates. The effect of calcium presence. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81(1), 63–69. <https://doi.org/10.1007/s11746-004-0858-y>

- Sedlar, T., Pasković, I., Dragojlović, D., Popović, S., Vidosavljević, S., Goreta Ban, S., & Popović, L. (2025). Enzyme-Assisted Extraction of Proteins from Cauliflower and Broccoli Waste Leaves. *Horticulturae*, 11(2), 148. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11020148>
- Shah, R. B., Tawakkul, M. A., & Khan, M. A. (2008). Comparative Evaluation of Flow for Pharmaceutical Powders and Granules. *AAPS PharmSciTech*, 9(1), 250–258. <https://doi.org/10.1208/s12249-008-9046-8>
- Shand, P. J., Ya, H., Pietrasik, Z., & Wanasundara, P. K. J. P. D. (2007). Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels. *Food Chemistry*, 102(4), 1119–1130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.060>
- Shanthakumar, P., Klepacka, J., Bains, A., Chawla, P., Dhull, S. B., & Najda, A. (2022). The Current Situation of Pea Protein and Its Application in the Food Industry. *Molecules*, 27(16), 5354. <https://doi.org/10.3390/molecules27165354>
- Sharan, S., Zanghelini, G., Zotzel, J., Bonerz, D., Aschoff, J., Saint-Eve, A., & Maillard, M. (2021). Fava bean (*Vicia faba* L.) for food applications: From seed to ingredient processing and its effect on functional properties, antinutritional factors, flavor, and color. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 401–428. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12687>
- Shen, L., Wang, X., Wang, Z., Wu, Y., & Chen, J. (2008). Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods. *Food Chemistry*, 107(2), 929–938. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.047>
- Shenoy, P., Viau, M., Tammel, K., Innings, F., Fitzpatrick, J., & Ahrné, L. (2015). Effect of powder densities, particle size and shape on mixture quality of binary food powder mixtures. *Powder Technology*, 272, 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.11.023>
- Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., & Rana, J. C. (2014). Physicochemical, Pasting, and Functional Properties of Amaranth Seed Flours: Effects of Lipids Removal. *Journal of Food Science*, 79(7). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12493>
- Shi, Y., Singh, A., Kitts, D. D., & Pratap-Singh, A. (2021). Lactic acid fermentation: A novel approach to eliminate unpleasant aroma in pea protein isolates. *LWT*, 150, 111927. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111927>
- Silva, J. V. C., & O'Mahony, J. A. (2017). Flowability and wetting behaviour of milk protein ingredients as influenced by powder composition, particle size and microstructure. *International Journal of Dairy Technology*, 70(2), 277–286. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12368>
- Smith, B., & Strumwasser, S. (2023). *Protein Pricing Comparison Summary, Year End 2023 A Green Circle Whitepaper*. <https://www.un.org/en/desa/world-population-projected-reach-98-billion-2050-and-112-billion-2100>
- Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*, 76, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017>
- Stone, A. K., Shi, D., Liu, E., Jafarian, Z., Xu, C., Bhagwat, A., Lu, Y., Akhov, L., Gerein, J., Han, X., Zaharia, L. I., Rajagopalan, N., Tanaka, T., Korber, D. R., & Nickerson, M. T. (2024). Effect of solid-state fermentation on the functionality, digestibility, and volatile profiles of pulse protein isolates. *Food Bioscience*, 61, 104580. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104580>

- Sukhikh, S., Kalashnikova, O., Ivanova, S., Prosekov, A., Krol, O., Kriger, O., Fedovskikh, N., & Babich, O. (2022). Evaluating the Influence of Microbial Fermentation on the Nutritional Value of Soybean Meal. *Fermentation*, 8(9), 458. <https://doi.org/10.3390/fermentation8090458>
- Sunley, N. C. (1995). *Soya protein isolate production by various methods*. <http://researchspace.ukzn.ac.za/handle/10413/5055>
- Szablińska-Piernik, J., & Lahuta, L. B. (2023). Changes in Polar Metabolites during Seed Germination and Early Seedling Development of Pea, Cucumber, and Wheat. *Agriculture*, 13(12), 2278. <https://doi.org/10.3390/agriculture13122278>
- Szulc, K., & Lenart, A. (2016). Effect of composition on physical properties of food powders. *International Agrophysics*, 30(2), 237–243. <https://doi.org/10.1515/intag-2015-0084>
- Tamm, F., Herbst, S., Brodkorb, A., & Drusch, S. (2016). Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules. *Food Hydrocolloids*, 58, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.032>
- Tang, C.-H., Sun, X., & Yin, S.-W. (2009). Physicochemical, functional and structural properties of vicilin-rich protein isolates from three Phaseolus legumes: Effect of heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 1771–1778. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.008>
- Tang, J., Yao, D., Xia, S., Cheong, L., & Tu, M. (2024). Recent progress in plant-based proteins: From extraction and modification methods to applications in the food industry. *Food Chemistry: X*, 23, 101540. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101540>
- Tang, Z., Ying, R., & Shi, L. (2021). Physicochemical and functional characteristics of proteins treated by a pH-shift process: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(2), 515–529. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14758>
- 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>
- Tarahi, M., & Ahmed, J. (2023). Recent advances in legume protein-based colloidal systems. *Legume Science*, 5(4). <https://doi.org/10.1002/leg3.185>
- Thavarajah, D., Lawrence, T., Boatwright, L., Windsor, N., Johnson, N., Kay, J., Shipe, E., Kumar, S., & Thavarajah, P. (2023). Organic dry pea (*Pisum sativum* L.): A sustainable alternative pulse-based protein for human health. *PLOS ONE*, 18(4), e0284380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284380>
- Tulbek, M. C., Lam, R. S. H., Wang, Y. C., Asavajaru, P., & Lam, A. (2017). Pea. In *Sustainable Protein Sources* (pp. 145–164). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3>
- Tulbek, M. C., Wang, Y. (Lindsay), & Hounjet, M. (2024). Pea—A Sustainable Vegetable Protein Crop. In *Sustainable Protein Sources* (pp. 143–162). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91652-3.00027-7>
- Turchiuli, C., Eloualia, Z., El Mansouri, N., & Dumoulin, E. (2005). Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. *Powder Technology*, 157(1–3), 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2005.05.024>
- Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2012). Food Protein-Derived Bioactive Peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Food Science*, 77(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02455.x>

- Ueda, J. M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, A., Barros, L., Caroch, M., & Heleno, S. A. (2023). Powdered Foods: Structure, Processing, and Challenges: A Review. *Applied Sciences*, 13(22), 12496. <https://doi.org/10.3390/app132212496>
- USDA, & GAIN. (2024). *FAS China Pea Market Insights from the China Pea 2024 and Plant-Based Congress*.
- Valerdi, R., & Ron J. K. (2004). *An Approach to Technology Risk Management*. <https://www.researchgate.net/publication/228752216>
- Valerio, F., Bavaro, A. R., Di Biase, M., Lonigro, S. L., Logrieco, A. F., & Lavermicocca, P. (2020). Effect of Amaranth and Quinoa Flours on Exopolysaccharide Production and Protein Profile of Liquid Sourdough Fermented by *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00967>
- van Eys, J. E., Offner, A., & Bach, A. (2004). *Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry*. US Soybean Export Council. <https://ussec.org/wp-content/uploads/2015/10/Manual-of-Quality-Analyses.pdf>
- Vassaux, M., Wan, S., Edeling, W., & Coveney, P. V. (2021). Ensembles Are Required to Handle Aleatoric and Parametric Uncertainty in Molecular Dynamics Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17(8), 5187–5197. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00526>
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Hernández, A., Martín-Alvarez, P. J., Sierra, I., Rodríguez, C., Blazquez, I., & Vicente, G. (2003). Assessment of nutritional compounds and antinutritional factors in pea (*Pisum sativum*) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(4), 298–306. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1309>
- Vita Larrieu, E., & Prieto, G. (2021). *Relevamiento de cultivos de invierno campaña 2020-2021 en Sudeste de Santa Fe y Nordeste de Buenos Aires*.
- Vogelsang-O'Dwyer, M., Petersen, I. L., Joehnke, M. S., Sørensen, J. C., Bez, J., Detzel, A., Busch, M., Krueger, M., O'Mahony, J. A., Arendt, E. K., & Zannini, E. (2020). Comparison of Faba bean protein ingredients produced using dry fractionation and isoelectric precipitation: Techno-functional, nutritional and environmental performance. *Foods*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030322>
- Wang, X., & Zhao, Z. (2023). A mini-review about direct steam heating and its application in dairy and plant protein processing. *Food Chemistry*, 408, 135233. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135233>
- Wang, Z., Zhang, L., Zhang, X., Zeng, M., He, Z., & Chen, J. (2021). Interfacial Rheology and Foaming Properties of Soy Protein and Hydrolysates under Acid Condition. *Food Biophysics*, 16(4), 484–491. <https://doi.org/10.1007/s11483-021-09685-9>
- Wen, C., Liu, G., Ren, J., Deng, Q., Xu, X., & Zhang, J. (2022). Current Progress in the Extraction, Functional Properties, Interaction with Polyphenols, and Application of Legume Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(4), 992–1002. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07576>
- Winther, L., Rasmussen, S. K., Poulsen, G., & Lange, C. B. A. (2023). Assessment of Genetic Diversity and Protein Content of Scandinavian Peas (*Pisum sativum*). *Agronomy*, 13(9), 2307. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092307>
- World Flora Online (WFO). (2025, August 25). *Pisum sativum* L. <http://www.worldfloraonline.org/Taxon/Wfo-0000212718>.

- Xiao, Y., Huang, Y., Chen, Y., Fan, Z., Chen, R., He, C., Li, Z., & Wang, Y. (2021). Effects of Solid-State Fermentation with *Eurotium cristatum* YL-1 on the Nutritional Value, Total Phenolics, Isoflavones, Antioxidant Activity, and Volatile Organic Compounds of Black Soybeans. *Agronomy*, 11(6), 1029. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061029>
- Xiao, Y., Sun, M., Zhang, Q., Chen, Y., Miao, J., Rui, X., & Dong, M. (2018). Effects of *Cordyceps militaris* (L.) Fr. fermentation on the nutritional, physicochemical, functional properties and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of red bean (*Phaseolus angularis* [Willd.] W.F. Wight.) flour. *Journal of Food Science and Technology*, 55(4), 1244–1255. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3035-z>
- Yadav, D. N., Tushir, S., Sethi, S., Mir, N. A., Wadhwa, R., & Bansal, S. (2022). A superior approach for production of protein isolates from de-oiled soy meal and its comparison with conventional method. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(9), 6245–6254. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15954>
- Yafetto, L. (2018). Protein enrichment of cassava pulp by solid-state fermentation using *Aspergillus niger*. *Studies in Fungi*, 3(1), 7–18. <https://doi.org/10.5943/sif/3/1/2>
- Yang, J. S., Dias, F. F. G., McDonald, K. A., & de Moura Bell, J. M. L. N. (2025). Integrating functional and techno-economic analyses to optimize black bean protein extraction: a holistic framework for process development. *Current Research in Food Science*, 10, 101078. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2025.101078>
- Yoshida, B. Y., & Prudencio, S. H. (2020). Physical, chemical, and technofunctional properties of okara modified by a carbohydrase mixture. *LWT*, 134, 110141. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110141>
- Youssef, F. S., Ashour, M. L., Singab, A. N. B., & Wink, M. (2019). A Comprehensive Review of Bioactive Peptides from Marine Fungi and Their Biological Significance. *Marine Drugs*, 17(10), 559. <https://doi.org/10.3390/md17100559>
- Zhang, Y., Herneke, A., Langton, M., Johansson, M., & Corredig, M. (2025). Effect of pH and ionic strength on heat-induced pea protein isolate aggregation and gel formation. *Food Hydrocolloids*, 167, 111393. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111393>
- Zhao, C. J., Schieber, A., & Gänzle, M. G. (2016). Formation of taste-active amino acids, amino acid derivatives and peptides in food fermentations – A review. *Food Research International*, 89, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.042>
- Zhao, H., Shen, C., Wu, Z., Zhang, Z., & Xu, C. (2020). Comparison of wheat, soybean, rice, and pea protein properties for effective applications in food products. *Journal of Food Biochemistry*, 44(4). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13157>
- Zuorro, A., Moreno-Sader, K. A., & González-Delgado, Á. D. (2020). Economic Evaluation and Techno-Economic Sensitivity Analysis of a Mass Integrated Shrimp Biorefinery in North Colombia. *Polymers*, 12(10), 2397. <https://doi.org/10.3390/polym12102397>