

AISLADOS PROTEICOS DE HARINAS DE GERMINADOS DE FRIJOL Y LENTEJA

María Soledad Córdova Aguilar, Tania Vianey Cruz Sandoval, Isadora Martínez Arellano
Laboratorio de Ingeniería de Proceso, ICAT-UNAM, Ciudad Universitaria, 04510, CDMX
marisol.cordova@icat.unam.mx

Resumen

En este proyecto se llevó a cabo la germinación de frijol y lenteja, seguida de la obtención de aislados proteicos de alta calidad y funcionalidad. Se establecieron condiciones controladas de temperatura y humedad para la germinación de las legumbres, asegurando más del 80% de semilla germinada en un estadio de radícula visible. Posteriormente, se obtuvieron harinas de ambos germinados y se realizó un barrido de pH para identificar el punto isoeléctrico, definiendo así las condiciones de extracción de los aislados proteicos mediante un proceso de hidrólisis alcalina a pH 10 y precipitación ácida a pH 1 y 3, respectivamente, en un reactor con control de pH y temperatura.

Las harinas de los aislados se secaron por aspersión y se caracterizaron fisicoquímica y funcionalmente. Esta caracterización incluyó parámetros como capacidad espumante, retención de agua y aceite, estabilidad de emulsión, color, actividad de agua, humedad, polifenoles, inhibidores de tripsina y grado de hidrólisis, además de realizar un análisis químico proximal y cuantificar la proteína digestible.

Con esta propuesta, se contribuye a la reducción de componentes indeseables, se mejora la digestibilidad de las proteínas, se aumenta la biodisponibilidad mineral y se generan aislados proteicos con propiedades tecnológicas beneficiosas. Estos aislados representan una alternativa valiosa y versátil para la industria alimentaria, siendo competentes para la elaboración de suplementos alimenticios de alta calidad nutricional y como ingredientes funcionales en la elaboración de productos como una harina para elaborar hot cakes.

Palabras clave: *aislados proteicos, germinados, , leguminosas*

Abstract

Black beans and lentils were germinated under controlled temperature and humidity conditions ensuring more than 80% of the seed germinated at a visible radicle stage. Flours from the germinated legumes underwent a pH sweep to identify the enabling optimized extraction of functional protein isolates via alkaline hydrolysis (pH 10) and acid precipitation (pH 4 or 1) in a temperature-controlled reactor.

The isolated flours were spray-dried and characterized for physicochemical and functional properties, such as foaming capacity, water/oil retention, emulsion stability, color, water activity, moisture, polyphenols, trypsin inhibitors, and degree of hydrolysis. Also, a proximate analysis and digestible protein determination were conducted. The approach proposed reduces antinutritional factors, enhances protein digestibility and mineral bioavailability, as well as yields isolates with greater technological attributes, offering a versatile, high-value alternative for being useful as ingredients for nutritional supplements and functional products like pancake mixes.

Key Words: *sprouts, protein isolates, legumes.*

Introducción

Las legumbres son el segundo grupo alimentario más producido mundialmente, solo por detrás de los cereales (Dave et al., 2024). Su versatilidad como fuente de proteínas para humanos y animales, junto con

su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico —mejorando la fertilidad del suelo y reduciendo fertilizantes sintéticos—, las posiciona como pilares de la sostenibilidad agrícola (Magrini, 2022). En las últimas décadas, han evolucionado como fuentes competitivas de proteínas vegetales

adaptables a diversos climas, ricas en carbohidratos complejos (de digestión lenta), fibra dietética, minerales, vitaminas del grupo B y bioactivos como compuestos fenólicos, vitamina C y tocoferoles (Maphosa & Jideani, 2017). El mercado latinoamericano de legumbres alcanzó 8.11 millones de toneladas en 2025 (Choudhury, 2025). El consumo de legumbres está fuertemente impulsado por su bajo costo y el aporte nutricional esencial que proporcionan a la dieta moderna (Guimond Ramos, J. C. 2020). Su alto contenido de fibra dietética contribuye a modular la glucosa postprandial y al metabolismo lipídico, lo que se traduce en una reducción de los niveles de colesterol, glucosa y triglicéridos (Ramdath, D. D., et al. 2016). Asimismo, este segmento se ha visto favorecido por la diversificación de los patrones alimentarios actuales, como el veganismo, el flexitarianismo y las dietas basadas principalmente en plantas (Dagevos, H. 2021; Alcorta et al., 2021), junto con una creciente conciencia por la salud del consumidor y el incremento del uso de harinas y aislados de legumbres en productos procesados (panadería, pastas, snacks), especialmente en la categoría de alimentos funcionales (Urtasun, 2021). A pesar de su riqueza nutricional, las legumbres presentan limitaciones en su digestibilidad y biodisponibilidad debido a compuestos antinutricionales, que dificultan la absorción de algunos nutrientes y causan molestias digestivas (Popova & Mihaylova, 2019).

La germinación constituye un proceso fisiológico que inicia el desarrollo embrionario de las legumbres, mediado por factores ambientales como la disponibilidad hídrica, la humedad, la luz, la temperatura, y la salinidad (Matilla, 2008; Joshi & Varma, 2016). Este tratamiento activa enzimas hidrolíticas que degradan antinutrientes (fitatos, taninos, oxalatos, inhibidores de proteasas), elevando la biodisponibilidad de minerales (Ca, Fe, Zn, Mg, Mn, Cu) y vitaminas (C, β -carotenos). Incrementa de manera relevante el contenido proteico hasta 25.4–37.2%, acompañado de hidrólisis proteica a péptidos y aminoácidos

libres, lo que eleva la digestibilidad y habilita la obtención de aislados proteicos de alta pureza (Xu et al., 2019; Guajardo et al., 2017), así como de fibra dietética: a 4.6–9.2%, con beneficios en la salud gastrointestinal y en la regulación glicémica (Setia, 2019), con reducción en tiempos de cocción (Gunenc et al., 2017; Guajardo et al., 2017). Las legumbres germinadas presentan mejoras cualitativas en propiedades termofuncionales como una menor entalpía de gelatinización del almidón, favoreciendo la digestibilidad, procesamiento térmico y aplicaciones industriales en harinas panificables, pastas y suplementos proteicos de origen vegetal (Gutiérrez, 2019).

Ante la creciente demanda en la industria alimentaria por productos sostenibles y nutritivos, los aislados proteicos derivados de leguminosas son una buena alternativa. Estas proteínas vegetales ofrecen un perfil de aminoácidos completo, alto contenido de fibra y micronutrientes bioactivos, contribuyendo a dietas funcionales contra enfermedades crónicas como diabetes y obesidad (Ed-Saadony et al., 2025). La forma más efectiva de maximizar su funcionalidad consiste en producir aislados (>80-90% de proteína en base seca), concentrados (50-90%) o harinas (<65%) a partir de leguminosas como chícharo, frijol, garbanzo o lenteja (Smiriti et al., 2023). El método más común es el fraccionamiento en húmedo, que involucra extracción alcalina a pH 8-9 (rendimientos del 70-90%), precipitación isoeléctrica a pH < 4.5 (típica de las globulinas de leguminosas) y la deshidratación por secado o liofilización. Estos pasos eliminan eficientemente antinutrientes (ej. inhibidores de tripsina, taninos), grasas y carbohidratos solubles, lo que genera alto rendimiento y pureza, junto con propiedades funcionales como emulsificación, formación de espuma, retención de agua/aceite y solubilidad. Estas características permiten superar las limitaciones sensoriales y funcionales de las leguminosas crudas, estableciendo a los aislados como ingredientes esenciales en

productos innovadores. Así, resultan adecuados para aplicaciones en análogos de carne (texturización por extrusión), bebidas (estabilidad coloidal) y panadería (mejora del volumen en panes sin gluten), entre otras aplicaciones pese a su menor capacidad gelificante (Yeasmen & Orsat, 2024).

Por tanto, este trabajo tuvo como objetivo obtener, caracterizar y aplicar aislados proteicos derivados de harinas obtenidas por germinación de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) y lenteja (*Lens culinaris* Medik.), mediante hidrólisis alcalina seguida de precipitación ácida.

Materiales y Métodos

Germinado de legumbres

Para el proceso de germinación, se utilizaron frijol negro y lenteja pardina secos, a los cuales previamente se les realizó una limpieza con la finalidad de eliminar impurezas y semillas dañadas. Posteriormente, se colocaron en charolas dentro de un germinador a las condiciones establecidas en la Tabla 1.

Tabla 1: Condiciones de germinación para legumbres

Legumbre	Condiciones de germinación
Lenteja	Temperatura de 21°C 76% de Humedad Aspersión cada 2 h De 4 a 5 días para germinar
Frijol	Temperatura de 24°C 80% de Humedad Aspersión cada 4 h De 7 a 10 días para germinar

Obtención de harinas de legumbres germinadas

Una vez finalizado el proceso de germinación, las semillas germinadas se secaron en un deshidratador de charolas (Avantco®) a una temperatura de 60°C durante 12 h. Con un robot industrial (Thermomix®), se molieron las semillas germinadas y secas para obtener una harina fina.

Determinación del punto máximo de solubilidad

Se dispersó 1.0 g de harina de germinado en 10 mL de agua. La mezcla fue centrifugada durante 30 min a 4000 rpm y se utilizó el sobrenadante para realizar un barrido de pH en el intervalo de 7 a 13, para identificar el punto de máxima solubilidad de las proteínas. La cantidad de proteína soluble se determinó mediante el reactivo de Bradford a una absorbancia de 595 nm (espectrofotómetro Shanghai Yoke Instrument 721 ®).

Hidrólisis alcalina

Se adicionaron 200 g de harina y 1 L de agua destilada a un reactor de vidrio con agitación y chaqueta, conectado a un baño térmico que permitió mantener la temperatura constante a 50 °C. Bajo agitación continua durante 1 h, se añadió hidróxido de sodio 1 N hasta alcanzar un pH de 10 para ambas harinas. La mezcla fue centrifugada durante 10 min a 5000 rpm, y el sobrenadante obtenido se almacenó en refrigeración.

Determinación del punto isoeléctrico

A 1 mL del sobrenadante obtenido tras la hidrólisis alcalina aforado a 10 mL con agua destilada, se le realizó un barrido de pH en el intervalo de 1 a 6, con el objetivo de identificar el punto de mínima solubilidad de las proteínas (punto isoeléctrico). La concentración de proteína soluble se determinó mediante el método de Bradford, midiendo la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro (Shanghai Yoke Instrument 721 ®).

Precipitación ácida

Al sobrenadante obtenido de la hidrólisis alcalina se le añadió ácido clorhídrico 1 N bajo agitación constante, hasta alcanzar un pH de 1 en el caso de la harina de frijol y pH de 3 para la harina de lenteja. La mezcla fue centrifugada durante 10 min a 5000 rpm. El precipitado obtenido se solubilizó en la mínima cantidad de agua, se neutralizó con hidróxido de sodio 1 N y se almacenó en refrigeración.

Secado por aspersión

Para la obtención de los aislados en polvo, se realizó el secado del precipitado neutro en un secador por aspersión (Büchi Mini Spray Dryer B-290 ®), ajustando la temperatura de entrada a 140°C y temperatura de salida de 60°C, con un flujo de bomba de 15%, aspirador de 100% y un flujo de volumen de gas pulverizado de 37°C.

Caracterización de las propiedades de las harinas crudas y los aislados

Humedad (%)

Se pesaron 0.15 g de cada muestra (harinas y aislados) y se colocaron en una termobalanza (Sartorius ®). El equipo determinó el porcentaje de humedad de cada muestra por diferencia de masa, mediante la aplicación controlada de calor hasta alcanzar un peso constante.

pH

Se dispersó 1.0 g de cada muestra en 10 mL de agua destilada en tubos falcón. Se homogeneizó durante 20 segundos en un vortex (Vortexer ®) a 3000 rpm. El pH se midió en un potenciómetro (Science Med SM-38W ®).

Actividad de agua (a_w)

Se pesaron 0.5 g de cada muestra y se analizaron en un medidor de actividad de agua por punto de rocío (Aqualab 4TE, Meter Group ®), operado a una temperatura de 25 °C.

Capacidad de retención de agua (CRA):

La CRA se determinó mediante la metodología gravimétrica descrita por Aguilera (2010). Se pesaron 0.05 g de cada muestra y se dispersaron en 1.5 mL de agua destilada en tubos Falcon. La mezcla se homogeneizó durante 20 segundos a 3000 rpm. Posteriormente, se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos, enseguida se centrifugó a 4000 rpm durante 30 minutos. Se decantó el sobrenadante y se pesó el tubo con el sedimento para calcular la capacidad de retención de agua.

Capacidad de retención de aceite (CRE):

La capacidad de retención de aceite se evaluó siguiendo el mismo procedimiento descrito por

Aguilera (2010), con la diferencia de que el medio de dispersión es aceite de soya. Tras decantar el sobrenadante, se determinó la masa del tubo con el sedimento para estimar la CRE.

Ambas propiedades (CRA y CRE) se determinan calculando la relación entre el líquido retenido y el peso seco de la muestra (Ecuación 1) (Smiriti, *et al.*, 2023).

$$\text{CRA o CRE} = \frac{\text{Masa del sedimento} - \text{Masa de la muestra seca}}{\text{Masa de la muestra seca}} \quad (1)$$

Capacidad de espumado (CE):

La capacidad de espumado se determinó siguiendo la metodología descrita por Antonic, *et al.*, (2020). Se pesaron 0.2 g de cada muestra, que se dispersaron en 20 mL de buffer de fosfatos 0.2 M a pH 7. La mezcla se homogeneizó durante 90 segundos a 2200 rpm (Yeipower ®). El volumen de espuma generado se midió en una probeta graduada registrándose las variaciones cada 5 minutos durante un periodo total de 30 minutos. Esta propiedad se cuantifica utilizando la ecuación 2:

$$\%CE = \left(\frac{\text{Volumen total} - \text{Volumen inicial}}{\text{Volumen inicial}} \right) \times 100 \quad (2)$$

Capacidad de gelificación (CG):

Se evaluó la capacidad de gelificación de cada muestra utilizando 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 g disueltas en 5 mL de agua destilada en tubos Falcon. Las mezclas se homogeneizaron durante 20 segundos a 3000 rpm y se colocaron en un baño de agua a 100 °C durante una hora. Inmediatamente se refrigeraron durante una hora. La formación de gel se evaluó cualitativamente mediante observación visual, según el criterio descrito por Chau y Cheung (1998).

Índice de actividad emulsionante (IAE): El IAE se determinó mediante la metodología espectrofotométrica descrita por Kim, *et al.*, (2021). Se pesaron 0.1 g de cada muestra, las cuales se dispersaron en 20 mL de buffer de fosfatos 0.2 M a pH 7. Se añadieron 20 mL de aceite de canola, y la mezcla se homogeneizó durante 90 segundos a 2200 rpm (Yeipower

®). De la emulsión resultante se tomaron 50 µL, se añadieron 10 mL de una solución de dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0.3% m/v. La absorbancia se midió a 500 nm (espectrofotómetro Shanghai Yoke Instrument 721 ®), para calcular el índice de actividad emulsionante. El Índice de Actividad Emulsionante (IAE) se calculó utilizando la ecuación 3:

$$\text{IAE} \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times FD}{1000 \times L \times \theta \times C} \quad (3)$$

Donde:

- A_0 es la absorbancia a tiempo cero,
- FD es el factor de dilución de la muestra,
- L es el largo de la celda (1 cm),
- θ es la proporción de aceite (0.5), y
- C es la concentración de la fase acuosa (g/cm³), es decir, la concentración de prote

Grado de hidrólisis (GH):

Se determinó mediante el método volumétrico descrito por Taylor (1957). Para ello, se pesaron 0.750 g de cada harina y aislado proteico, los cuales se suspendieron en 25 mL de agua destilada. El pH de la mezcla se ajustó a 7.0 utilizando NaOH 0.1 N, se añadieron 5 mL de formaldehído al 38 % (v/v) y la solución se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.5.

Se calcula el grado de hidrólisis mediante la siguiente ecuación 5:

$$\%GH = \frac{\% \text{ grupos amino libres}}{\% \text{ nitrógeno total}} \times 100 \quad (4)$$

% grupos amino libres =

$$\frac{(\text{mL NaOH gastados})(\text{concentración NaOH})(14.007)}{(\text{g muestra})(1000)} *$$

100 (5)

Donde el porcentaje de grupos amino libres es calculado a partir del volumen de base gastada en la titulación, la concentración de la base, la cantidad de muestra utilizada y la masa molar del nitrógeno, y el nitrógeno total se determina mediante el método de Kjeldahl (ecuación 6).

$$\% \text{nitrógeno total} = \frac{\% \text{proteína cruda}}{6.25} \quad (6)$$

Polifenoles totales:

El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de *Folin-Ciocalteu*, conforme a lo descrito por Pérez *et al.*, (2023). Se realizó la extracción de los compuestos fenólicos con la metodología de Hernández *et al.*, (2019). Para ello, se pesaron 1.0 g de muestra, a los que se añadieron 10 mL de agua destilada y 10 mL de etanol. El pH se ajustó a 3.3 con HCl al 1 %. La mezcla fue sometida a agitación durante 3 minutos, seguida de 15 min de sonicación, 30 min más de agitación y nuevamente 15 min de sonicación; posteriormente se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos (centrífuga VELAB VE-4000®). El sobrenadante obtenido se aforó a 25 mL con agua destilada.

A partir del extracto, se tomaron alícuotas de 40 µL, a las que se añadieron 200 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 3.2 mL de agua destilada. Tras un reposo de 8 minutos, se incorporaron 600 µL de una solución de buffer Na₂CO₃ al 20 % y la mezcla se incubó a 20 °C durante 2 horas. Finalmente, la absorbancia se midió a 765 nm (espectrofotómetro Shanghai Yoke Instrument 721 ®). La concentración de polifenoles totales se expresó como miligramos de equivalentes de ácido gálico por mililitro (mg EAG/mL, calculando los polifenoles totales (ec. 7):

$$\text{Polifenoles totales (mg EAG/g)} = \frac{C \times V}{m} \quad (7)$$

Donde C es la concentración obtenida de la curva (mg/mL), V es el volumen total del extracto (mL), y m es la masa de la muestra seca utilizada (g).

Análisis Químico Proximal (AQP):

Se realizó el análisis químico proximal de las harinas de germinados y de los aislados proteicos de acuerdo con los métodos oficiales descritos por la AOAC. Las determinaciones incluyeron: el contenido de proteína total, el extracto etéreo, el contenido de cenizas, la fibra cruda y el extracto libre de nitrógeno.

Proteína cruda y proteína digestible:

La determinación del contenido de proteína cruda se realizó mediante el método de Kjeldahl, conforme a lo descrito en la norma AOAC 2001.11. Por su parte, la proteína digestible se cuantificó a través de la prueba de digestibilidad con pepsina, siguiendo el procedimiento establecido en la norma AOAC 2015.971.09.

Unidades de Tripsina Inhibida (UTI):

La cuantificación de unidades de tripsina inhibida se realizó siguiendo la metodología descrita por Kakade *et al.*, (1974). A partir del extracto se realizaron diluciones seriadas. Para la preparación de los blancos de muestra, se añadieron a cada tubo 250 µL de solución de tripsina y 125 µL de ácido acético al 30 %. A las muestras, se agregaron 250 µL de tripsina a cada tubo, se dejó reposar 5 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se añadieron 625 µL de la solución de BAPNA. Las muestras se incubaron 10 minutos a 37 °C. Se detuvo la reacción mediante la adición de 125 µL de ácido acético al 30 %. Adicionalmente, se preparó un tubo para la lectura de la absorbancia máxima, en el cual se colocaron 250 µL de agua destilada y 250 µL de tripsina; tras 5 minutos de reposo, se añadieron 625 µL de BAPNA, se incubó durante 10 minutos a 37 °C, y finalmente se agregaron 125 µL de ácido acético al 30 %.

De cada tubo se tomaron 250 µL y se transfirieron a una microplaca para la lectura de la absorbancia a 410 nm, utilizando un espectrofotómetro (BioTek Elx808®).

Formulación y elaboración de hot cakes

Se desarrollaron tres formulaciones distintas (Tabla 2).

Tabla 2: Formulaciones de *hot cakes* elaboradas a partir de 100 g de harinas.

INGREDIENTES (%)	FORMULACIONES		
	Control	F1	F2
Avena	25.56	25.56	25.56
Amaranto	4.66	4.66	4.66
Lenteja	4.66	0.00	4.66
Frijol	1.64	1.64	0.00
Aislado de frijol germinado	0.00	0.00	1.64
Aislado de lenteja germinada	0.00	4.66	0.00
Polvo para hornear	3.17	3.17	3.17
Jarabe de agave	1.98	1.98	1.98
Huevo	16.67	16.67	16.67
Aceite	1.98	1.98	1.98
Leche	39.68	39.68	39.68

Análisis de perfil de textura (TPA)

A las muestras de hot cakes se les realizó el análisis de perfil de textura utilizando un analizador de textura (Brookfield CT3®). Las propiedades evaluadas incluyeron dureza, cohesividad y masticabilidad.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. El análisis de los datos se realizó con el software estadístico XLSTAT®, versión 2024.3.0. Las diferencias en las propiedades tecno-funcionales entre las harinas germinadas y los aislados se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba post hoc LSD (Least Significant Difference) para la comparación de medias. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas aquellas con un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Germinado de legumbres

Los germinados de lenteja observados en la Figura 1 se encuentran en una fase avanzada de germinación, la cual corresponde al estado en el que, tras la imbibición y la emergencia de la radícula, se presenta un crecimiento evidente del hipocótilo y el epicótilo, generando tallos delgados y alargados. Sin embargo, la ausencia de luz durante el proceso ha provocado etiolación, evidenciada por tallos amarillentos y débiles, lo que indica

Artículos

que todavía no han desarrollado hojas verdes capaces de realizar fotosíntesis (Xu, *et al.*, 2019).



Figura 1. Germinado de lenteja

Estudios realizados por Fouad & Ali (2015) han señalado que, entre los 3 y 6 días de germinación, tanto en lenteja como en frijol se producen incrementos significativos en aminoácidos libres, compuestos fenólicos, minerales, proteínas y solubilidad proteica, junto con reducciones en factores antinutricionales como fitatos y taninos.

Por su parte, las semillas de frijol (Figura 2) se encuentran en una etapa temprana de plántula, característica de la germinación epigea. Tras la ruptura de la testa, la radícula se convierte en raíz primaria y el hipocótilo se alarga formando un gancho que eleva los cotiledones hacia la superficie. En esta fase, las estructuras foliares aún no aparecen, por lo que la plántula depende de las reservas

nutritivas almacenadas en los cotiledones. No obstante, el embrión ya ha pasado de un estado latente a un organismo activo en crecimiento, consolidando el establecimiento inicial de la plántula.

Los rendimientos obtenidos para ambas harinas de germinados de frijol y lenteja alcanzaron hasta 80 % en ambos casos. Este valor es considerablemente alto en comparación con lo reportado en la literatura (Sotelo, *et al.*, 2022). Durante la germinación, las legumbres absorben agua, lo que activa enzimas endógenas (principalmente amilasas, proteasas y lipasas) y desencadena diversas reacciones bioquímicas, entre ellas la descomposición de macronutrientes como almidones y proteínas. Una vez concluido el proceso germinativo, es necesario someter las semillas a un proceso de secado para detener la actividad biológica.



Figura 2. Germinado de frijol

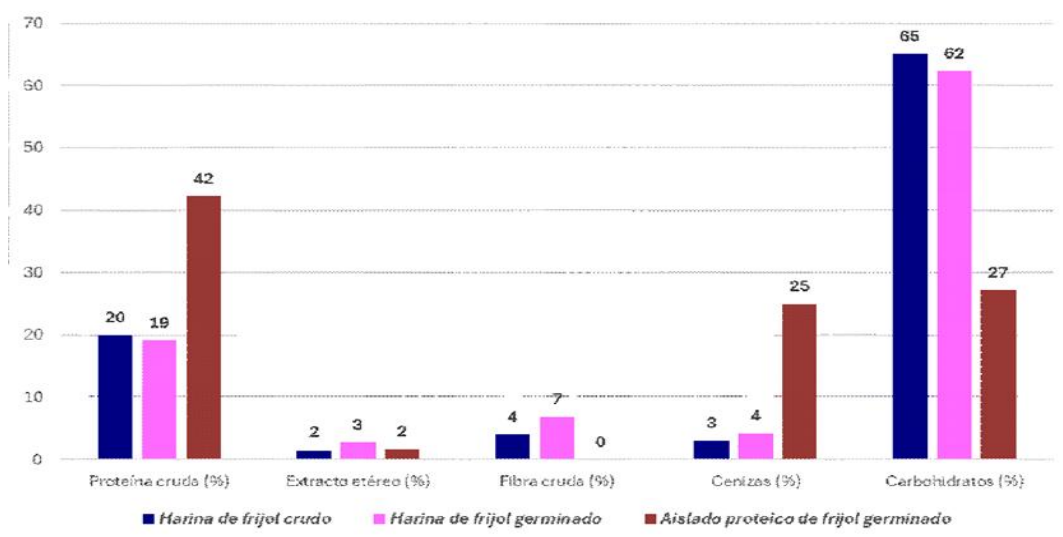


Figura 3. Valores de AQP de la harina de frijol crudo, harina de frijol germinado y del aislado obtenido del frijol germinado

El análisis químico proximal de las harinas y aislados obtenidos a partir de germinados de frijol y lenteja (Figuras 3 y 4) permite evaluar los efectos del proceso de germinación sobre la calidad nutricional y funcional de los aislados.

Se ha demostrado que la germinación puede promover un incremento en el contenido de proteína cruda, como resultado de la activación de rutas biosintéticas durante el desarrollo embrionario (Xu et al., 2019). En condiciones controladas de germinación (temperatura de 20 – 25°C) y humedad suficiente para mantener la imbibición y adecuada oxigenación, se desencadena la degradación de proteínas de reserva y la posterior síntesis de nuevas proteínas a partir de los aminoácidos liberados, lo que generalmente se refleja en un aumento del contenido proteico. El contenido de proteína

cruda se incrementó significativamente en el aislado en comparación con la harina, como resultado del proceso de extracción y concentración proteica, lo cual concuerda con el objetivo del aislamiento. Este aumento sustancial no solo confirma la efectividad del fraccionamiento alcalino e isoelectrico para concentrar proteínas, sino que también refleja un grado de purificación respecto a otros componentes, particularmente carbohidratos y fibra, que son eliminados o reducidos durante el proceso (Barac et al., 2015). En este contexto, el elevado contenido proteico del aislado de frijol germinado no solo representa una mejora nutricional, sino que también abre posibilidades para su uso como ingrediente funcional en formulaciones alimenticias con requerimientos de alto valor proteico, como alimentos fortificados, productos veganos o suplementos.

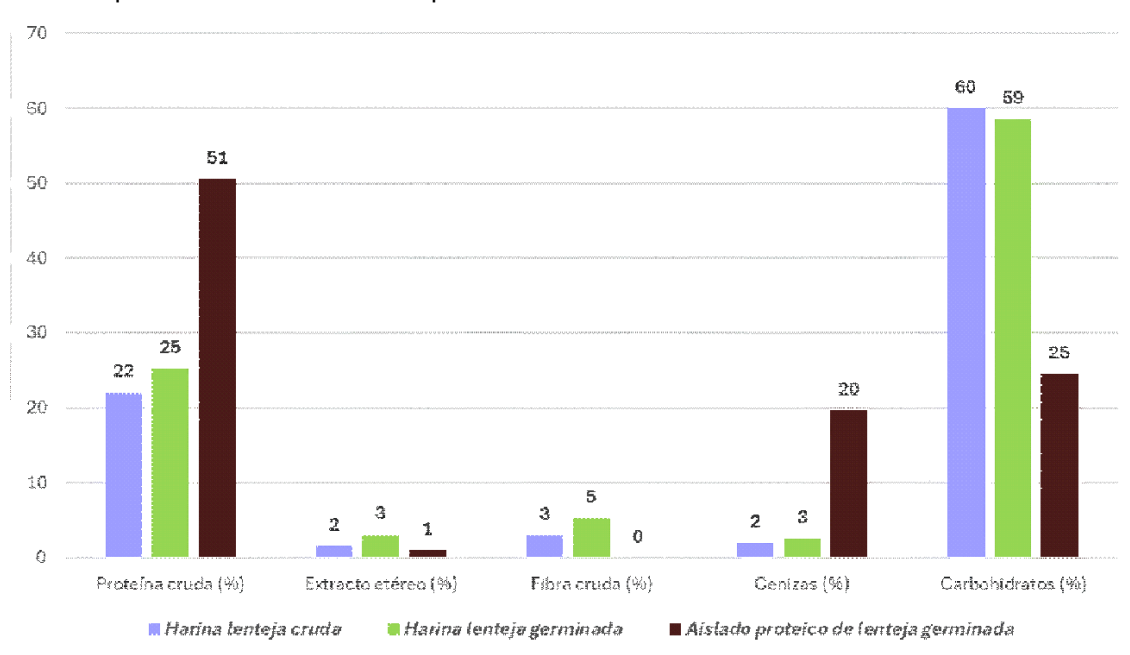


Figura 4. Valores de AQP de la harina lenteja cruda, harina de lenteja germinada y del aislado obtenido de la lenteja germinada

Aislados proteicos

Ambas harinas tuvieron un máximo de solubilización proteica a pH 10. En el caso de la harina de lenteja, además, se identificó un segundo punto de solubilidad a pH 13. Este comportamiento se atribuye a la mayor

heterogeneidad de las proteínas de lenteja, compuestas por diferentes fracciones como globulinas (legumina y vicilina) y albúminas, las cuales presentan distinta estabilidad y respuesta frente a condiciones alcalinas. El primer máximo, alrededor de pH 10,

corresponde a una solubilización funcional de la mayoría de las proteínas, mientras que el segundo máximo observado a pH 13 se relaciona con una solubilización forzada debida a la desnaturalización extrema de fracciones proteicas más resistentes. En estas condiciones, se rompen interacciones internas y se exponen regiones hidrofóbicas, lo que incrementa la solubilidad aparente, pero reduce la estabilidad térmica y afecta negativamente propiedades funcionales como la emulsificación y la gelificación. Además, el uso de pH extremos favorece fenómenos de agregación y precipitación posteriores, comprometiendo la funcionalidad tecnológica del aislado. Por estas razones, aunque la lenteja presente dos puntos de solubilidad, el pH 10 se consideró para la hidrólisis y extracción proteica, al ofrecer un mejor equilibrio entre alta solubilidad y conservación de la estructura proteica.

Es notable observar que el pH de la solubilidad máxima de las proteínas de las harinas de las legumbres germinadas fue más elevado que el de las harinas de legumbres crudas: pH 8 y 9 (Jarpa, 2017; Lima, *et al.*, 2025). Durante la germinación se llevan a cabo diversos cambios bioquímicos, entre ellos la activación de enzimas proteolíticas que modifican la estructura y carga de las proteínas. Este proceso, junto con la reducción de algunos compuestos antinutricionales como los fitatos, favorecen el aumento de la solubilidad proteica y el desplazamiento del pH de solubilidad máxima de las proteínas hacia valores más alcalinos (Ohanenye, *et al.*, 2020). Por otro lado, la determinación del punto de solubilidad mínima; es decir, el pH en el que se produce la mayor precipitación proteica, para la harina de germinado de frijol se alcanzó a pH 1, mientras que para la harina de germinado de lenteja, fue de pH 3.

El rendimiento del proceso en función de la cantidad de harina cruda utilizada y la masa total de aislado seco recuperado fue de 8.31% para el frijol y 7.63% para la lenteja. El bajo rendimiento de los aislados proteicos en

comparación con la harina de la legumbre cruda se debe principalmente a las pérdidas inherentes durante el proceso de extracción. Mientras que la harina de legumbre cruda contiene no solo proteínas, sino también almidones, fibra, lípidos y otros componentes, el aislado proteico es fundamentalmente un concentrado de la fracción proteica, lo que reduce de forma natural el rendimiento final en términos de masa (Stone, *et al.*, 2015).

La caracterización fisicoquímica y tecnofuncional de las harinas y los aislados obtenidos a partir de los germinados de frijol y lenteja se presenta en las figuras 5 y 6.

Los valores de % H, a_w y pH constituyen indicadores esenciales de estabilidad microbológica y funcional durante el almacenamiento y son valores que aseguran una vida útil prolongada.

La capacidad de espumado (CE) en los aislados es alta, lo cual se debe principalmente a la alta pureza y solubilidad. La elevada concentración de proteínas en los aislados incrementa su disponibilidad para migrar y estabilizar la interfase aire-agua, facilitando la formación de espumas estables. La capacidad de retención de agua (CRA) en aislados proteicos se incrementa debido a que la germinación causa cambios estructurales y se puede alterar la conformación proteica mediante la activación de enzimas endógenas, principalmente proteasas, lo que en algunos casos mejora la exposición de grupos hidrofílicos y, por ende, la CRA (Chai, *et al.*, 2018).

En la lenteja, se ha observado un aumento de la CRA en el aislado mientras que, en el aislado de frijol germinado, es menor el CRA. Esta diferencia se atribuye a que en el frijol se dio una hidrólisis proteica excesiva que genera péptidos de bajo peso molecular con menor capacidad de retención hídrica, así como a posibles reordenamientos estructurales que limitan la exposición de grupos polares funcionales. No se observaron diferencias significativas en la CRE entre la harina de legumbre y su aislado proteico.

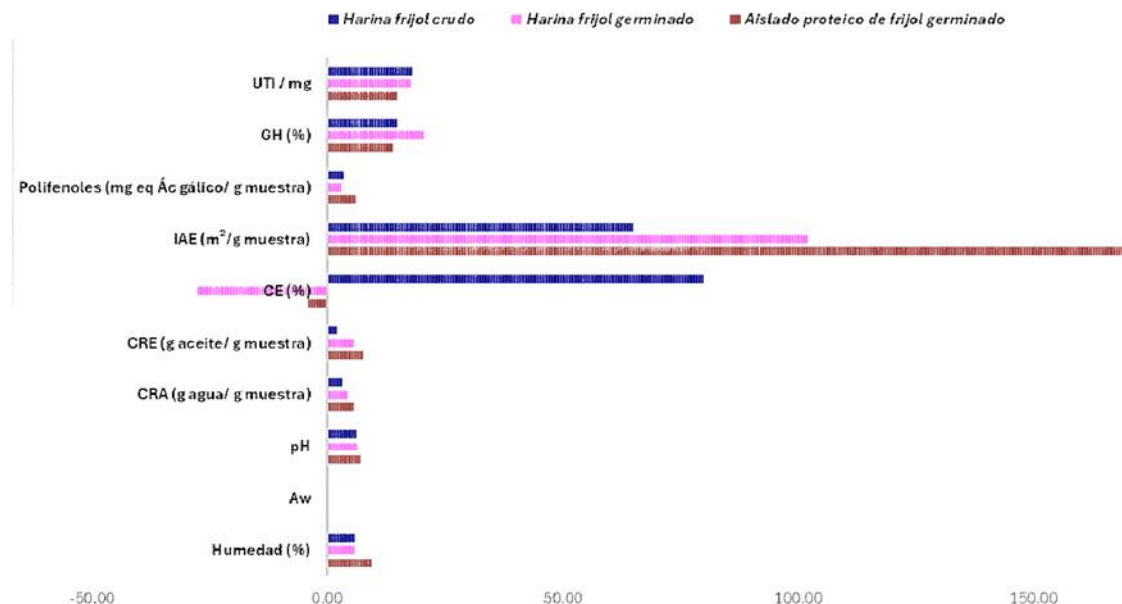


Figura 5. Características fisicoquímicas y funcionales de las harinas y aislados obtenidos a partir de germinados de frijol.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Sotelo *et al.*, (2022), quienes indican que la germinación no induce cambios relevantes en esta propiedad. Por su parte, el índice de actividad emulsificante (IAE) se incrementa debido a que la germinación contribuye positivamente al IAE, al inducir una hidrólisis parcial de las proteínas y mejorar su solubilidad y a que en el aislado, se da la remoción de compuestos no proteicos (como almidones, fibras y compuestos fenólicos), que permite una mayor concentración de fracciones proteicas activas con mayor afinidad superficial. Además, la extracción alcalina y la precipitación isoeléctrica, utilizadas comúnmente en la obtención de aislados, pueden inducir cambios estructurales que favorecen la exposición de dominios hidrofóbicos, facilitando la adsorción en la interfase aceite-agua (Sotelo *et al.*, 2022).

Se observó un aumento significativo en el contenido de polifenoles en los aislados proteicos, lo cual puede atribuirse a la retención selectiva de metabolitos fenólicos durante el proceso de extracción alcalina e isoeléctrica. A pesar de que el objetivo principal de la extracción es obtener

fracciones ricas en proteína, se ha documentado que ciertos polifenoles hidrosolubles, especialmente flavonoides y ácidos fenólicos, precipitan o permanecen adsorbidos a las proteínas durante el fraccionamiento, particularmente cuando existen interacciones no covalentes como puentes de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas (Nguyen, *et al.*, 2019). Este efecto es más notable cuando la germinación ha inducido previamente la síntesis y activación de enzimas fenilpropanoides, como la fenilalanina amoníaco liasa (PAL), que incrementan la biosíntesis de compuestos fenólicos como respuesta a estrés oxidativo (Guajardo *et al.*, 2017). Así, la germinación y el aislamiento proteico actúan de forma sinérgica, potenciando la acumulación relativa de polifenoles en el producto final.

Hay un comportamiento diferenciado entre frijol y lenteja en cuanto al grado de hidrólisis (GH). En el aislado de frijol germinado disminuyó significativamente, mientras que aumentó en el de lenteja germinada. Estas diferencias podrían explicarse por factores intrínsecos de cada leguminosa, como su composición proteica y la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática durante la germinación y

el aislamiento. En el frijol, proteínas como la faseolina podrían haber resistido la hidrólisis o precipitado intactas durante la extracción, reduciendo el GH final (Carrillo *et al.*, 2021). En contraste, en lenteja germinada se ha reportado un incremento en la actividad de enzimas endógenas como proteasas y peptidasas, lo cual facilita una hidrólisis más extensa, generando fragmentos peptídicos más pequeños que permanecen solubles durante el aislamiento (Linsberger, *et al.*, 2022).

Existe una disminución significativa en el contenido de los inhibidores de tripsina (UTI/mg) en los aislados proteicos. Esta reducción se debe tanto al efecto de la germinación como al procesamiento de

aislamiento. Durante la germinación, se activan enzimas que degradan parcialmente estos inhibidores como parte del metabolismo de reservas (El-Mergawi *et al.*, 2019). Posteriormente, en la extracción alcalina y precipitación isoeléctrica, los inhibidores tienden a permanecer en la fase soluble, mientras que las proteínas precipitan, favoreciendo así su separación (Rehman *et al.*, 2022). Además, las condiciones alcalinas extremas pueden desnaturalizar e inactivar estructuralmente estos compuestos (Rani, *et al.*, 2020). Como resultado, los aislados no solo presentan mayor concentración proteica, sino también menor presencia de antinutrientes.

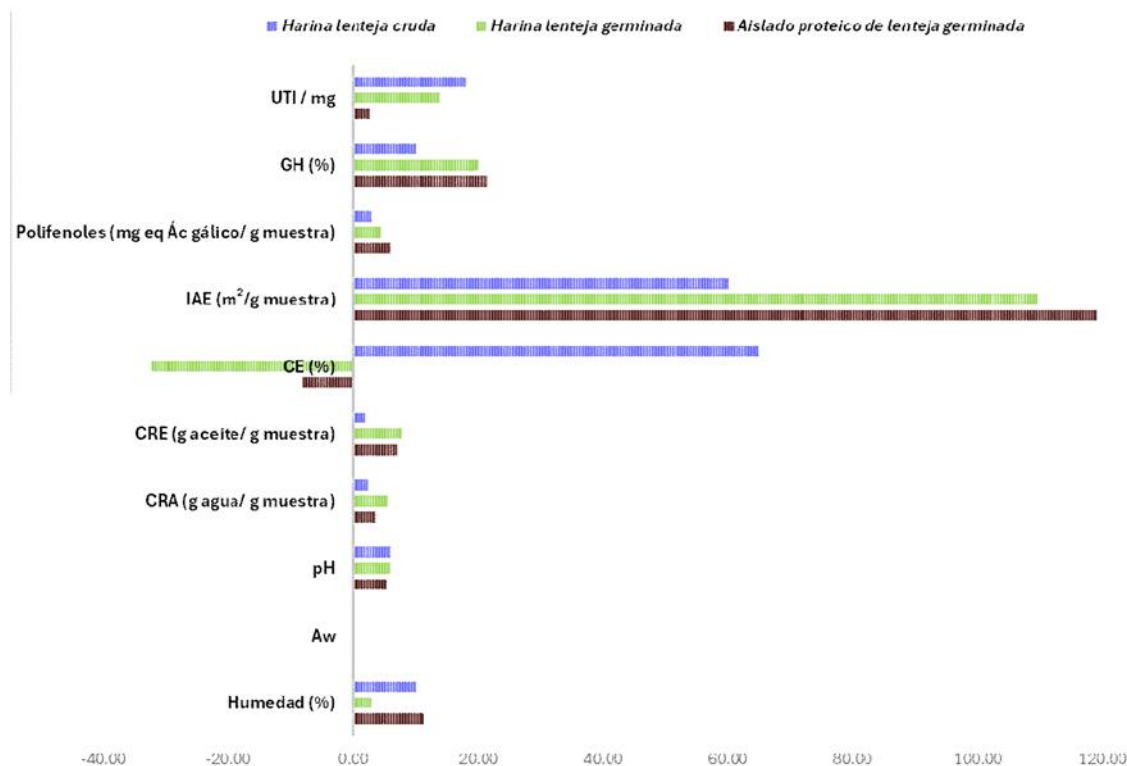


Figura 6. Características fisicoquímicas y funcionales de las harinas y aislados obtenidos a partir de germinados de lenteja.

En cuanto al contenido de proteína cruda y digestible, se observó un incremento significativo en ambos parámetros de los aislados proteicos en frijol y lenteja germinados. En el caso del aislado de frijol, la proteína cruda es de 44.01 %, mientras que la proteína digestible es de 43.79 %. De manera

similar, en la lenteja, el contenido de proteína cruda es 52.81 %, y la proteína digestible es de 50.67 % (figura 7). Estos resultados evidencian la eficiencia del proceso de extracción y aislamiento proteico en la concentración y mejora de la calidad de las proteínas.

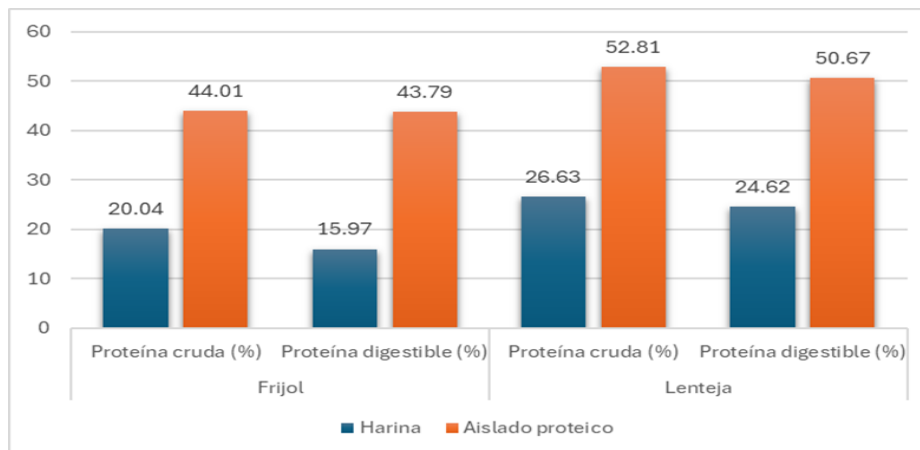


Figura 7. Proteína cruda y proteína digestible de las harinas y aislados de frijol y lenteja germinados

El aumento en la digestibilidad observado en los aislados puede deberse a la desnaturalización parcial de las proteínas por el tratamiento alcalino durante la digestión (Gunenc et al., 2017), aunado a la reducción de inhibidores de proteasas durante la germinación al mejorar la accesibilidad de las proteínas a las enzimas digestivas (Kaur & Singh, 2017).

Aplicación

En la figura 8 se presenta el análisis de perfil de textura de los *hot cakes* elaborados con harinas cocidas y con los aislados obtenidos de los germinados. En general, la incorporación de los aislados no afectó negativamente las propiedades de estructura interna ni la facilidad de masticación. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en la deformación y la adhesividad, siendo más alta en los *hotcakes* con lenteja, lo que podría mejorar la percepción de jugosidad en boca (Škrbić, et al., 2022), aunque en exceso puede ser desfavorable para productos de consumo rápido. La dureza en ambos ciclos fue ligeramente mayor en el tratamiento con aislado de frijol, seguido por lenteja y el control, lo cual sugiere una mayor firmeza en la mordida inicial (Ares et al., 2016). La fracturabilidad presentó la misma tendencia, indicando que la incorporación de aislados no

debilitó la estructura del producto. La deformación fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en los *hotcakes* con lenteja germinada (50.03 %), lo que implica una mayor capacidad de elasticidad antes de romperse, confiriendo una textura más suave y flexible, favorable para la percepción sensorial (Rosell et al., 2020).

El *hotcake* elaborado con aislado de lenteja germinada mostró mejor desempeño sensorial y funcional, al presentar mayor deformación y adhesividad, propiedades deseables para productos suaves y de buena palatabilidad.

Las formulaciones experimentales mostraron superioridad en el contenido proteico. El *hotcake* de lenteja germinada contiene 19 g de proteína, seguido por el aislado de frijol germinado con 18 g, y el control (mezcla con legumbres cocidas) con 17 g. En contraste, la mezcla comercial presenta sólo 7.87 g de proteína, lo que evidencia la funcionalidad de los aislados proteicos de leguminosas germinadas como ingredientes enriquecedores del valor proteico.

Otro de los aspectos más destacables de los *hot cakes* experimentales es su contenido de fibra dietética, que oscila entre 8 y 9 g, frente a apenas 1.1 g en la harina comercial. Esto representa una mejora importante en términos de funcionalidad y beneficios para la salud digestiva.

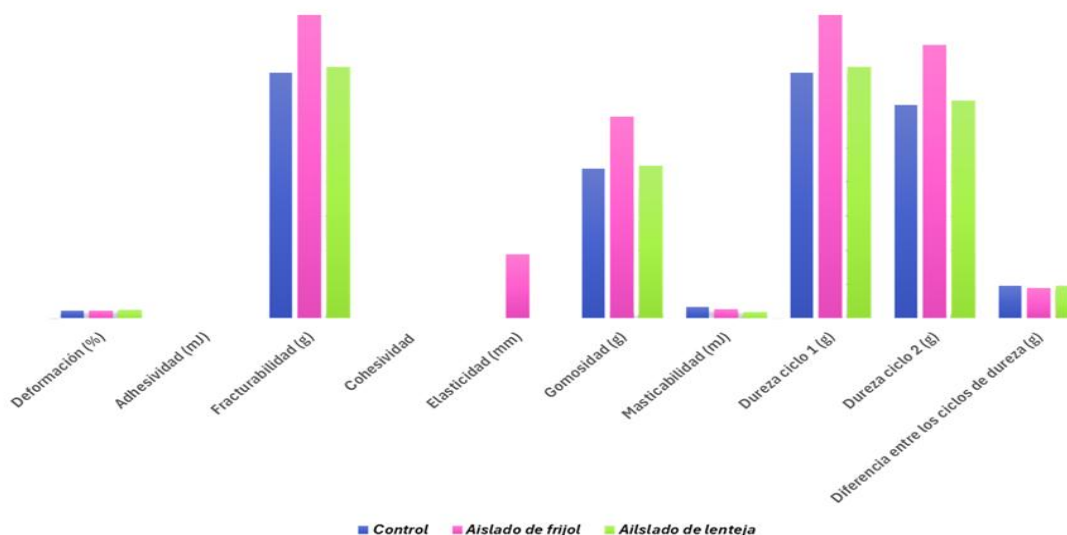


Figura 8. Perfil de textura de los *hot cakes* elaborados con harinas cocidas y aislados proteicos de frijol y lenteja.

Conclusiones

La germinación mejoró las propiedades funcionales de los aislados de frijol y lenteja, destacando una mayor solubilidad, capacidad emulsificante y formación de geles para el caso del frijol germinado. En contraste, en el caso de la lenteja germinada se observó una reducción significativa de inhibidores de tripsina, un mayor contenido de polifenoles y un grado de hidrólisis elevado, lo que refleja un mayor potencial nutricional y funcional frente al frijol.

El proceso de extracción alcalina seguido de precipitación isoelectrica aplicado a harinas de leguminosas germinadas resultó altamente eficaz, ya que permitió obtener aislados con un incremento significativo en el contenido de proteína cruda y en la digestibilidad proteica.

La incorporación de aislados proteicos obtenidos de leguminosas germinadas representa una estrategia efectiva para mejorar la calidad nutricional de los alimentos, al tiempo que ofrece una alternativa viable para el desarrollo de productos más saludables y con propiedades funcionales superiores.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Lucio Abel Vázquez León, del SECIHTI-Instituto Tecnológico de Tehuacán, por el apoyo

técnico brindado en el proceso de secado por aspersión de los aislados.

Referencias

Aguilera, Y., 2010. *Harinas de leguminosas deshidratadas: caracterización nutricional y valoración de sus propiedades tecnofuncionales*. [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Ciencias].

Alcorta A, Porta A, Tárrega A, Alvarez MD, Vaquero MP. Foods for Plant-Based Diets: Challenges and Innovations. *Foods*. 2021 Feb 1;10(2):293. <https://doi.org/10.3390/foods10020293>.

Antonic, B., Dordevic, D., Jancikova, S., Tremlova, B., Nejezchlebova, M., Goldová, K., Tremel, J., 2021. Reused plant fried oil: A case study with home-made soaps. *Processes*. 9(3), 529

Ares, G., & Varela, P., 2016. Multivariate analysis in sensory and consumer science: Application of statistical methods. *Woodhead Publishing*.

Barac, M., Cabrilo, S., Stanojevic, S., Pesic, M., Zilic, S., Macej, O., 2015. Profile and functional properties of seed proteins from six pea (*Pisum sativum*) genotypes. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(6), 1364–1371.

- Carrillo, A., Serna, S., & Chuck, C., 2021. Isolation and characterization of protein concentrates and hydrolysates from germinated beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Biochemistry*, 45(1), e13594.
- Chai, W., Zhang, C., Liu, Y., Liu, X., 2018. Effect of germination on nutritional and physicochemical properties of chickpea protein isolate. *Food Chemistry*, 262, 1–8.
- Chau, C. & Cheung, P., 1998. Functional properties of flour prepared from three Chinese indigenous legume seeds. *Food Chemistry*, 61, 429–433.
- Choudhury, N.R., (2025). Latin America Pulses Market Outlook – Size, Demand & Forecast 2025–2035. May 2025. www.futuremarketinsights.com/reports/latin-america-pulses-market.
- Dagevos, H. (2021) Finding flexitarians: Current studies on meat eaters and meat reducers, *Trends in Food Science & Technology*, 114: 530–539, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.021>.
- Dave, K., Kumar, A., Dave, N., Jain, M., Dhanda, P. S., Yadav, A., & Kaushik, P. (2024). Climate Change Impacts on Legume Physiology and Ecosystem Dynamics: A Multifaceted Perspective. *Sustainability*, 16(14), 6026. <https://doi.org/10.3390/su16146026>.
- El-Mergawi, R., Othman, B., & Dawood, M., 2019. Effect of germination on trypsin inhibitors and nutritional quality of some legume seeds. *Legume Research*, 42(2), 270–275.
- El-Saadony MT, Saad AM, Mohammed DM, Alkafaas SS, Abd El-Mageed TA, Fahmy MA, Ezzat Ahmed A, Algopishi UB, Abu-Elsaoud AM, Mosa WFA, AbuQamar SF, El-Tarabily KA. Plant bioactive compounds: extraction, biological activities, immunological, nutritional aspects, food application, and human health benefits-A comprehensive review. *Front Nutr*. 2025 Dec 19;12:1659743. <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1659743>.
- Fouad AA, Rehab FM. Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2015 Jul-Sep;14(3):233–246. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2015.3.25>.
- Guajardo, D., Gutiérrez, J. & Serna, S., 2017. Phenolic content and antioxidant capacity of dehydrated germinated legumes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 250–256.
- Guimond R., J.C. (2020). Relación entre el nivel de ingreso y el consumo de alimentos de baja calidad nutricional *Tesis de Maestría en Desarrollo Regional*, CIAD. <https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jsp/ui/bitstream/1006/1554/1/Juan%20Carlos%20Guimond%20Ramos.pdf>.
- Gunenc, A., Abdelhamid, A., El-Sohaimy, S., & Al-Subaie, A., 2017. Effect of germination on the nutritional and antinutritional properties of legumes: A review. *Legume Science*, 5(4), e138.
- Gutiérrez, J., 2019. *Influencia de la Germinación sobre los cambios microestructurales del almidón de cebada*. [Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.]
- Jarpa, M., 2018. Lentil protein: a review of functional properties and food application. An overview of lentil protein functionality. In *International Journal of Food Science and Technology*, 53, 892–903
- Joshi P, Varma K., 2016. Efecto de la germinación y el descascarado en el valor nutritivo de la soja. *Nutrition & Food Science*, 46, 595–603.
- Kakade, M., Rackis, J., McGhee, J., & Puski, G., 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry* 51(3), 376–82.
- Kaur, M., & Singh, N., 2017. Protein isolates from different legumes: Physicochemical, functional and nutritional properties. *Legume Science*, 5(2), 54–62.
- Kim, T., Yong, H., Kang, M., Jung, S., Jang, H., Choi, Y., 2021. Effects of high hydrostatic pressure on technical functional properties of

edible insect protein. *Food Science of Animal Resources*, 41, 185.

Lima, J., Azevedo, T., Galdeano, M., Felberg, I., Mellinger, C., 2025. Common bean processing to obtain a protein ingredient for the plant-based market. *Brazilian Journal of Food Technology*, 28.

Linsberger, G., Lametsch, R., & Meinlschmidt, P., 2022. Germination as a tool to improve the functional and nutritional quality of legumes: A review. *Food Research International*, 152, 110899.

Magrini, A. Assessment of agricultural sustainability in European Union countries: a group-based multivariate trajectory approach. *ASTA Adv Stat Anal* **106**, 673–703 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10182-022-00437-9>.

Maphosa, Y. & Jideani, A., 2017. The role of legumes in human nutrition. In M. C. Hueda. Ed.12, *IntechOpen*, pp. 103.

Matilla, A. (2008). "Desarrollo y germinación de las semillas." *Fundamentos de fisiología vegetal* 2: 549.

Nguyen, T., Nguyen, T., & Vuong, Q., 2019. Impact of protein–polyphenol interaction on the functional and biological properties of legume proteins. *Current Opinion in Food Science*, 28, 1–7.

Ohanenye, I., Tsopmo, A., Ejike, C., Udenigwe, C., 2020. Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins. In *Trends in Food Science and Technology*, 101.

Perez, M., Dominguez, I., & Lamuela, R., 2023. The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553

Popova A, Mihaylova D. Antinutrients in Plant-based Foods: A Review . *Open Biot J*, 2019; 13: <http://dx.doi.org/10.2174/1874070701913010068>.

Ramdath D, Renwick S, Duncan AM. The Role of Pulses in the Dietary Management of Diabetes. *Can J Diabetes*. 2016 Aug;40(4):355-63. <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2016.05.015>.

Rani, A., Singh, A., Sharma, N., & Chauhan, G., 2018. Comparative assessment of physicochemical and nutritional properties of protein isolates from legumes. *Journal of Food Science and Technology*, 55(8), 3150–3158.

Rehman, Z., 2022. Protein extraction and antinutritional factor reduction from legume flours using alkaline and isoelectric precipitation methods. *Food Bioscience*, 47, 101692.

Rosell, C. M., Bajerska, J., & Lamothe, L., 2020. Understanding texture and texture-modifying ingredients in bakery products. In *Bread and bakery products* (pp. 145–178).

Setia, R., Sharma, P., & Singh, R., 2019. Functional properties of sprouted pulse flours and their application in bakery products. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(8), 2301–2309.

Škrbić, B., Filipčev, B., & Ćurić, D., 2022. Effect of flour type and dietary fiber addition on texture and sensory properties of baked goods. *Food Science and Nutrition*, 10(1), 181–191.

Smiriti, A., Kumar, A., & Singhal, R., 2023. Advances in extraction and functional applications of legume proteins: A review. *Food Hydrocolloids*, 137, 108288.

Sotelo, I., Delgado, E., Heredia, E., García, S., Jacobo-Velázquez, D., 2022. Effect of germination on the functional properties of legume flours and their protein isolates. *LWT. Food Science and Technology*, 154.

Taylor, W., 1957. Formol Titration: An Evaluation of its Various Modifications. *Analyst*, 82(976), 488–498.

Urtasun, L. (2021) Mimetizar las características nutricionales y sensoriales, el reto de la "nueva ola" de proteínas alternativas, *Tecnología alimentaria y packaging* 35: 38–39.

Artículos

Xu, B., Zhang, Y., & Wang, S., 2019. Impact of germination on nutritional and physicochemical properties of legumes: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 1–13.

Yeasmen, N., & Orsat, V.(2025). Industrial processing of chickpeas (*Cicer arietinum*) for protein production. *Crop Science*, 65, e21361. <https://doi.org/10.1002/csc2.21361>