



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI FACULTAD DE CIENCIAS
DE LA VIDA Y TECNOLOGIAS**

INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

**ARTICULO CIENTIFICO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

**EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN LAS PROPIEDADES
FUNCIONALES DEL EXTRACTO PROTEICO DE HARINA DE FREJOL
(*Phaseolus lunatus L*)**

AUTOR:

LOPEZ CERVERA ANDRES ERNESTO

TUTOR:

PhD. JOSE LUIS COLOMA HUREL

MANTA – MANABI – ECUADOR

2025 (1)

DECLARACION EXPRESA DE AUTORIA

Yo, Lopez Cervera Andres Ernesto con C.I. 1726074584, declaro que el presente trabajo de titulacion denominado EFECTO DE LA ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL EXTRACTO PROTEICO DE HARINA DE FREJOL (*Phaseolus lunatus* L), es de propia autoria.

Asimismo, autorizo a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabi para que realice la digitalizacion y publicacion de este articulo en el repositorio digital de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la ley organica de educacion superior.

La responsabilidad del contenido presente en este estudio corresponde exclusivamente a mi autoria y el patrimonio intelectual de la investigacion pertenecera a la Univerisad Laica Eloy Alfaro de Manabi

Lo certifico :

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Lopez Andres', is written over a horizontal line.

ANDRES ERNESTO LOPEZ CERVERA

	NOMBRE DEL DOCUMENTO:	CÓDIGO: PAT-04-F-004
	CERTIFICADO DE TUTOR(A).	
	PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	REVISIÓN: 1 Página 1 de 1

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías de la Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular bajo la autoría del estudiante López Cervera Andrés Ernesto, legalmente matriculado/a en la carrera de Ingeniería Agroindustrial período académico 2025-2026, cumpliendo el total de 16 horas, cuyo tema del proyecto es "Efecto de la enzima transglutaminasa en las propiedades funcionales del extracto proteico de harina de frejol (*Phaseolus lunatus* L).".

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad del mismo, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Lugar, 8 de agosto de 2025.

Lo certifico,



PhD José Luis Coloma Hurel
Docente Tutor
Área: Agroindustria

Nota 1: Este documento debe ser realizado únicamente por el/la docente tutor/a y será receptado sin enmendaduras y con firma física original.

Nota 2: Este es un formato que se llenará por cada estudiante (de forma individual) y será otorgado cuando el informe de similitud sea favorable y además las fases de la Unidad de Integración Curricular estén aprobadas.

Dedicatoria

A Dios, por ser mi luz en los momentos de oscuridad, por sostenerme cuando sentí flaquear y por mostrarme siempre el camino correcto. Sin Ti, nada de esto habría sido posible.

A mi familia, que con su amor y apoyo incondicional me enseñaron el verdadero significado de la perseverancia y la unidad.

A mis hijas, que son mi mayor motivo, mi motor y mi razón de luchar. Cada logro en mi vida les pertenece también a ustedes, porque son quienes me inspiran a dar lo mejor de mí.

A mi compañero y esposa que con paciencia, amor y comprensión ha estado a mi lado en los días más difíciles y en las alegrías más grandes. Gracias por creer en mí y caminar juntos este camino.

Agradecimiento

En primer lugar, agradezco profundamente a Dios, quien ha sido mi fortaleza y mi guía a lo largo de este camino. A Él le debo la fe, la paciencia y la sabiduría que me permitieron superar cada dificultad y mantenerme firme ante los retos que se presentaron. Sin su bendición, este logro no habría sido posible.

A mi familia, pilar fundamental de mi vida, quienes con su amor, consejos y apoyo incondicional me acompañaron en todo momento. Gracias por brindarme siempre un espacio de comprensión y motivación, por ser ese refugio seguro al cual siempre puedo regresar.

A mis hijas, que son la fuente más grande de inspiración en mi vida. Ustedes me impulsan a dar lo mejor de mí y a nunca rendirme, porque cada paso que doy está motivado

**EFFECTO DE LA ENZIMA TRANSGLUTAMINASA EN LAS PROPIEDADES
FUNCIONALES DEL EXTRACTO PROTEICO DE HARINA DE FREJOL (*Phaseolus
lunatus* L).**

**EFFECT OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES
OF BEAN FLOUR PROTEIN EXTRACT (*Phaseolus lunatus* L).**

Autor:

López Cervera Andrés Ernesto*; Coloma Hurel José Luis.

Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnología,
Laboratorio de Análisis, 130802 Manta, Manabí, Ecuador.

RESUMEN

El actual estudio tuvo como finalidad determinar el efecto de la adición de la enzima transglutaminasa sobre las propiedades funcionales de un aislado proteico logrado a partir de harina de frejol (*Phaseolus lunatus* L.). Se aplicó un DCA con tres tratamientos: un testigo sin enzima, y dos concentraciones enzimáticas (10 U y 20 U). El contenido proteico del aislado se acrecentó significativamente en un 84,31 % en comparación con la harina original que reflejó un 18,14 %. Se estudiaron criterios como la capacidad de absorción y retención de agua y aceite, actividad y estabilidad emulsionante, y formación de espuma. En respuesta a los análisis, la transglutaminasa incidió de forma significativa la funcionalidad del aislado. Con una superior concentración enzimática disminuyó la capacidad de retención de agua, así también se mejoró notablemente la estabilidad de la emulsión y la capacidad espumante. La variable en concentración (10 U) favoreció la retención de aceite, mientras que la variable (20 U) potenció la formación y estabilidad de espuma. Estos hallazgos sugieren que el uso de transglutaminasa permite adaptar funcionalmente el aislado proteico, lo que lo convierte en un ingrediente prometedor para productos alimenticios que requieren estabilidad estructural, capacidad emulsionante y espumante.

Palabras clave: Transglutaminasa, aislado proteico, propiedades funcionales, emulsión, espuma.

Abstract

This study aimed to determine the effect of transglutaminase addition on the functional properties of a protein isolate obtained from bean (*Phaseolus lunatus* L.) flour. A completely randomized design was used, including a control (0 U) and two enzyme treatments (10 U and 20 U). The protein content of the isolate increased significantly (84.31 %) compared to the original flour (18.14 %). Functional parameters such as water and oil absorption and retention, emulsifying activity and stability, and foaming capacity were evaluated. The

results demonstrated that transglutaminase significantly altered the functional behavior of the isolate. Higher enzyme concentrations reduced water retention capacity but improved emulsion stability and foam formation. The intermediate concentration (10 U) optimized oil retention, while the highest concentration (20 U) enhanced foaming performance. These findings suggest that enzymatic treatment with transglutaminase can strategically enhance the techno-functional properties of the protein isolate, making it suitable as a functional ingredient in food formulations requiring structural stability, emulsification, and foaming capacity.

Keywords: Transglutaminase, protein isolate, functional properties, emulsion, foam.

Introducción.

El frejol (*Phaseolus sp.*) es considerado un alimento trascendental en la dieta de diversas poblaciones a nivel mundial, especialmente en América Latina, donde su ingesta es primordial dentro de la cultura alimentaria (Dumas, 2022). Su distinción como super food no solo recae en su valor nutricional, sino también en los beneficios que proporciona en el ámbito de la salud humana, contribuyendo eficazmente a la prevención y control de diversas enfermedades crónicas (Fernández & Sánchez, 2017).

Nutricionalmente el frijol se distingue por su alto índice de proteínas de origen vegetal, catalogándolo como un componente valioso en dietas vegetarianas y veganas. Así mismo, su contenido graso es bajo mientras que su fibra dietética es alta (Dumas, 2022), lo que brinda beneficios en la función digestiva como la regulación de la glucosa en sangre (Ulloa, 2011). En su perfil nutricional se destaca con una amplia gama de micronutrientes, incluyendo Fe, Mg, K, Zn y vitaminas del complejo B, especialmente ácido fólico (Mendoza, 2022). Según revisiones bibliográficas de estudios de más de 300 genotipos distintos, se han registrado niveles de proteína de entre el 41 y 51%, lípidos entre 14 y 24%, fibra cruda de 7,65%, cenizas de 4,15% y carbohidratos en un 35,77% (Castañeda, 2008).

En base a su aporte nutricional el frejol destaca por su composición baja en sodio y alta en potasio, lo cual incide positivamente en la salud cardiovascular, nivelando la presión arterial. Además, su riqueza en fibra soluble regula el nivel de colesterol malo o LDL. (Milán, 2017). Es importante mencionar que la unión de fibra y proteína presente, generan en el organismo sensación prolongada de saciedad, lo cual es beneficioso para el control de peso corporal (Medina, 2006). Por otra parte, sus compuestos antioxidantes como los polifenoles ejercen una función importante en la prevención de enfermedades como la diabetes tipo 2 y el cáncer. Esto gracias a la capacidad que tienen los antioxidantes para equilibrar los radicales libres presentes en el organismo, reduciendo el deterioro celular y la aparición de procesos degenerativos (Castillo *et al.*, 2025).

De este modo, La aplicación de tecnologías para el mejoramiento de alimentos de consumo como la harina, es de gran relevancia actual, específicamente el uso de enzimas como la transglutaminasa. Esta facilita la conformación de enlaces cruzados entre grupos de proteínas, al actuar los grupos amino de la lisina con grupos acilo de la glutamina, generando isopéptidos (Valencia *et al.*, 2015; Oribe *et al.*, 2020). Este proceso químico, favorece el mejoramiento de las características funcionales de las harinas, ampliando su elasticidad, capacidad de retención de agua y viscosidad, incidiendo directamente en la estabilidad y calidad de productos finales elaborados a partir de la harina, como panes, pastas, entre otros (Chang, 2020). Así, la finalidad de la investigación es determinar el impacto que genera en las propiedades funcionales del aislado proteico de frejol (*Phaseolus lunatus L*) la adición de la enzima transglutaminasa. Esto permitiría diversas aplicaciones tecnológicas para mejorar su aprovechamiento en la industria alimentaria.

Materiales y métodos

Esta investigación experimental se ejecutó en el Laboratorio de Análisis del bloque de Ciencias Agropecuarias de la Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicado en la Av. Circunvalación - vía San Mateo de la ciudad de Manta, provincia de Manabí, Ecuador.

Obtención del aislado proteico

Para la obtención de proteína de harina de frejol (*Phaseolus lunatus L.*), se seleccionó el método efectuado por Fritz et al. (2011) de extracción alcalina sólido-líquido. En el cual se ejecuta una pre limpieza, donde se eliminan elementos extraños evidentes en las semillas de frijol. Luego, se procede a moler las semillas empleando un molino (Bunn, GVH-3 120V) obteniendo una muestra en polvo que será sometida a tamizaje hasta obtener un tamaño de partícula $\leq 500 \mu\text{m}$ (malla N° 35). La harina tamizada fue desgrasada antes de proceder a la extracción proteica. Para ello, se mezclaron 300 g de harina con 1 L de éter de petróleo, manteniéndose bajo agitación durante 16 horas a 500 rpm sin temperatura.

A continuación, se separó el éter de petróleo y la grasa extraída con ayuda de un filtró con papel Whatman N° 3 bajo vacío. Para la fase de secado de la harina obtenida se empleó un secador con aire de recirculación a 30 °C por 24 horas, con el fin de eliminar el solvente residual. Una vez desgrasada, la harina fue analizada proximalmente. Posterior, la muestra una vez desgrasada se combinó con una solución de NaOH 1N hasta alcanzar un pH alcalino de 10, en una proporción 1/4. Esta mezcla fue agitada de forma constante a 200 rpm en un baño maría a 60 °C durante una hora.

Finalmente, se centrifugó la solución a 4000 rpm por 20 minutos, generando un sobrenadante, el cual fue filtrado con papel Whatman N° 1 bajo vacío y la solución resultante fue sometida a un proceso de precipitación para obtener el

aislado proteico mediante la adición de ácido sulfúrico de 98.8% de concentración hasta alcanzar un pH de 4. Se analizó proximalmente a la harina y su aislado proteico para conocer su composición.

Humedad

En base a la norma FIL-26:1964, se determinó el contenido de humedad. Para esto se mensuro 10 gramos de muestra y se colocó en una estufa (HASUC, HSZK6050) a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 2 horas. La materia obtenida se pesó para determinar su porcentaje de humedad, el cual se calculó por diferencia en peso y se expresó en g de $\text{H}_2\text{O}/100$ g de muestra.

Ceniza

Basándose en la metodología de Márquez, 2014 para determinar el contenido de ceniza, se pesó 2 gramos de muestra y se colocó en una mufla a $550^\circ\text{C} \pm 25^\circ\text{C}$ durante 3 horas, hasta obtener cenizas blancas o ligeramente grises y homogéneas. Luego se colocaron los crisoles en un desecador y se pesaron a temperatura ambiente.

Contenido de Proteína

El contenido proteico se obtuvo en base al método de Kjeldahl, el cual es ampliamente admitido en la industria de alimentos. El estudio de proteína se ejecutó en base a la metodología AOAC (2019).

Contenido de Grasa

El contenido de grasa se obtuvo en base al método de extracción Soxhlet estipulado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2000). Para este análisis, se mesuro 4 gramos de muestra previamente deshidratada y se dispone en un cartucho de extracción. El cartucho fue introducido en el equipo

Soxhlet acoplado a un matraz previamente tarado que contenía éter etílico como solvente de extracción.

El proceso de extracción se llevó a cabo durante aproximadamente 6 horas, manteniendo un flujo constante de refrigeración para evitar la pérdida del disolvente por evaporación. Una vez finalizado el proceso, el extracto graso fue secado en estufa a 102 °C hasta alcanzar peso constante. Finalmente, se calculó el porcentaje de grasa por diferencia de pesos.

Contenido de carbohidratos

Para determinar los carbohidratos totales, se realizó un análisis por diferencia, siguiendo los parámetros establecidos por la Organización la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2003). Este método se basa en la determinación del contenido de carbohidratos a partir de la diferencia porcentual de los análisis proximales previamente obtenidos: humedad, proteínas, grasas y cenizas.

Tratamientos enzimáticos

Tras la obtención del aislado proteico de la harina de frejol (*Phaseolus lunatus* L.), se sometió a la muestra a tratamiento enzimático utilizando transglutaminasa. La enzima empleada evidenciaba una actividad específica de 100 U/g de producto, según las especificaciones del fabricante.

Para el análisis, se dispuso dos muestras a concentraciones de transglutaminasa: 10 U y 20 U, las cuales fueron añadidas al aislado proteico previamente reconstituido en agua destilada en una proporción de 1:3. La mezcla fue agitada a 600 rpm en una balanza magnética durante 3 minutos para asegurar una adecuada dispersión de la enzima y promover la interacción con las proteínas presentes en el extracto. Finalizada la reacción, la transglutaminasa fue inactivada térmicamente elevando la temperatura de la

mezcla a 90 °C durante 1 minuto. Posteriormente, las muestras fueron introducidas en la estufa a 50 °C durante 24 horas para su posterior análisis.

Índice de absorción y retención de agua

Para determinar la capacidad de absorber y retener agua (WAC y WHC) de la muestra de frejol, se empleó el método de Chau y Huang (2003). Dentro de la cual se disuelve en un tubo de centrifuga 1 gramo de aislado proteico junto con 30 mL de agua destilada. Para el análisis de WAC, las suspensiones fueron agitadas por un periodo de 1 hora y posteriormente centrifugadas a 3900 g durante 40 minutos. Para la WHC, la suspensión fue agitada durante 24 horas antes de la centrifugación, también a 3900 g durante 40 minutos. Tras la centrifugación, se decantó el excedente y la muestra fue nuevamente medida. Ambos índices obtenidos se expresaron como gramos de agua retenida por cada 100 g de muestra.

Capacidad de absorción y retención de aceite

El método anteriormente descrito es utilizado también para determinar la capacidad de absorción de aceite (OAC) y la capacidad de retención de aceite (OHC) siguiendo los mismos procedimientos, con la diferencia de que se reemplazó el agua por aceite de soya. En este caso los resultados obtenidos fueron expresadas como mililitros de aceite retenido por cada 100 g de muestra.

Actividad emulsionante y estabilidad

Para determinar la actividad de la emulsion (EA) y la estabilidad emulsionante (ES) del aislado proteico se empleó el método utilizado de acuerdo con Sánchez *et al.* (2023). Para evaluar la actividad emulsionante, se midió 1 gramo de harina y se añadió 25 mL de agua destilada, la muestra se dejó reposar a 20 °C por un periodo de 30 minutos. Seguidamente, se añadieron

25 mL de aceite de soya, para someter a la muestra a agitación a 600 rpm por 3 minutos y así permitir la emulsión de la mezcla. La emulsión resultante fue centrifugada a 3900 g durante 5 minutos, para finalmente medir el volumen de la emulsión procedente.

Capacidad y estabilidad en formación de espuma

Para la determinación de la capacidad espumante (FC) y la estabilidad espumante (FS) de las harinas de frejol se empleó el método de Sánchez et al. (2023). Dentro de la cual se añade 1 gramo de harina en 50 mL de agua destilada y se lo lleva a un agitador de hélices a 2900 rpm durante 5 minutos. El volumen de la muestra es medida previamente y posteriormente al batido, la medición se llevó a cabo con un cilindro graduado de 50 mL y los datos obtenidos se expresaron como el porcentaje de volumen incrementado. Para determinar la capacidad espumante o FS, la muestra batida fue mantenida por un periodo de 4 horas a temperatura ambiente, y se midió el volumen final para evaluar el porcentaje de cambio en relación al volumen inicial (tiempo 0 horas), expresado en porcentaje.

Diseño experimental

El diseño experimental que se empleó fue completamente aleatorizado con un enfoque unifactorial, cuya finalidad fue evaluar el impacto que trae consigo adicionar la enzima transglutaminasa en las propiedades funcionales de un extracto proteico de frejol (*Phaseolus lunatus* L.). Se consideró un solo factor: la concentración de enzima transglutaminasa incorporada al extracto, estableciendo tres niveles de tratamiento definidos de la siguiente manera: un tratamiento control sin adición de enzima (T0), un tratamiento con 10 unidades de transglutaminasa (T1) y un tratamiento con 20 unidades de transglutaminasa (T2). Cada uno de los tratamientos fue sometido a tres repeticiones independientes, sumando un total de 9 unidades experimentales.

Los resultados alcanzados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software estadístico InfoStat2020 versión libre. Para la comparación de medias, se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5 % ($p < 0,05$), con el propósito de identificar diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para cada una de las variables evaluadas.

Resultados y Discusión.

Durante el desarrollo de la presente investigación, se obtuvo un rendimiento aproximado de 13 gramos de aislado proteico a partir de 90 gramos de harina de haba, lo cual representa un rendimiento del 14,44%. Este dato resulta relevante, ya que refleja la eficiencia del proceso de extracción y la proporción de proteínas recuperables desde la materia prima. Tal rendimiento puede variar dependiendo de factores como el contenido proteico original de la leguminosa, el método de extracción utilizado y las condiciones del proceso, tal como lo señalan Żmudziński *et al.* (2021), quienes destacan que el rendimiento en aislados proteicos de leguminosas suele oscilar entre el 10% y 20% según el tipo de grano y las condiciones tecnológicas aplicadas. Este porcentaje de obtención es fundamental al momento de proyectar una aplicación industrial o funcional del aislado, pues permite estimar la cantidad de materia prima necesaria para lograr una determinada cantidad de proteína concentrada (Krause *et al.*, 2023).

En la Tabla 1 se presenta la composición proximal de la harina de frejol (*Phaseolus lunatus* L.) y del aislado proteico obtenido. Se observó que todos los componentes evaluados mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ambas muestras.

Tabla 1. Análisis proximales de la harina de frejol y su aislado proteico

Componente	Harina de frejol	Aislado proteico
Carbohidratos	35,19 ± 0,15 ^a	6,21 ± 0,12 ^b
Proteína	18,14 ± 0,20 ^a	84,31 ± 0,18 ^b
Humedad	12,01 ± 0,10 ^a	3,48 ± 0,07 ^b
Grasa	1,77 ± 0,03 ^a	1,53 ± 0,02 ^a
Ceniza	3,22 ± 0,05 ^a	4,47 ± 0,06 ^b

Los valores corresponden al promedio ± desviación estándar (n=3). Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas según Tukey (p<0,05).

El contenido de proteína incrementó de manera notable en el aislado (84,31 %), en contraposición con el contenido en la harina que reflejó un 18,14 %, evidenciando la alta eficiencia del procedimiento de aislamiento proteico.

Así mismo, los carbohidratos se redujeron drásticamente en el aislado (6,21 %) frente a la harina (35,19 %). La humedad descendió considerablemente (3,48 % vs 12,01 %), al igual que la grasa que también disminuyó, aunque en menor proporción (1,53 % vs. 1,77 %). Finalmente, el contenido de ceniza fue significativamente mayor en el aislado (4,47 %) en comparación con la harina (3,22 %).

El elevado contenido de proteína en el aislado (84 %) coincide con lo expuesto por Zambrano *et al.* (2020), quienes consiguieron proteinatos derivados del *Phaseolus lunatus* con contenido proteico en torno al 77 %. Del mismo modo, Chel-Guerrero *et al.* (2002) expresaron que aislados de esta leguminosa contenían entre 71 % y 74 % de proteína, lo cual valida los resultados obtenidos en este estudio.

La disminucion en los resultados obtenidos para el analisis de carbohidratos y humedad en el aislado proteico, es un efecto esperado por el metodo de extracción isoelectrica, en donde se van eliminando fracciones solubles y reduciendo la actividad de agua, lo que incide en mejores propiedades funcionales y microbiológicas (Moon & Cho, 2023). La ligeroa reduccion en los datos obtenidos de grasa para el aislado, puede intervenir negativamente reduciendo interferencias en aplicaciones alimenticias (Vioque *et al.*, 2012). En cuanto al incremento del contenido de ceniza, sugiere la concentración de minerales residuales después de la precipitación isoelectrica, lo cual también fue observado en otros aislamientos similares (Nahid *et al.*, 2010).

Índices de absorción y retención de agua

En la Tabla 2 se detallan los valores de los índices de absorción y retención de agua (WAC y WHC) de los aislados proteicos de frejol tratados con distintas concentraciones de transglutaminasa.

Tabla 2. Índices de absorción y retención de agua del aislado proteico tratado con diferentes concentraciones de transglutaminasa

Tratamiento	WAC (g/100g)	WHC (g/100g)
T1 (20 U)	450.98 ± 3.12 ^c	493.46 ± 2.95 ^c
T2 (10 U)	457.23 ± 2.88 ^b	609.14 ± 3.21 ^b
T3 (0 U)	664.08 ± 4.17 ^a	681.81 ± 3.87 ^a

Los valores corresponden al promedio ± desviación estándar (n=3). Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas según Tukey (p < 0,05).

En base a los resultados obtenidos, se puede mencionar que existieron diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre la capacidad de absorción de agua y retención, entre los tratamientos a diferentes concentraciones de transglutaminasa (TG). El resultado en el tratamineto puro sin la enzima (T3 – 0 U) se obtuvo valores superiores tanto para el WAC (664.08 g/100g) como para el WHC (681.81 g/100g), subsiguientemente el tratamiento con 10 U de enzima (T2). Por otro lado, el tratamiento con 20 U

(T1) evidenció valores más bajos (WAC: 450.98 g/100g; WHC: 493.46 g/100g) respectivamente.

Estas diferencias reflejan que la incorporación de transglutaminasa disminuye significativamente la capacidad del aislado proteico de frejol para absorber y retener agua. Esta conducta se genera por la acción catalítica de la transglutaminasa, que favorece la generación de enlaces covalentes entre residuos de glutamina y lisina, resultando en redes proteicas con poros grandes, los cuales tienen un efecto negativo en la capacidad del aislado proteico para absorber y retener el agua Mengqi *et al.*, 2020. Así, a mayor concentración de la enzima, como en T1, se produce una mayor reticulación proteica que limita la interacción con las moléculas de agua.

En contraste, el tratamiento sin transglutaminasa (T3) mostró estructuras proteicas menos entrecruzadas, lo que permitió una mayor exposición de grupos polares hidrofílicos, favoreciendo así la absorción y retención de agua. Este fenómeno ha sido reportado por otros autores como Nahid *et al.*, (2010), quienes destacan que una estructura proteica más abierta favorece la hidratación al ofrecer más sitios de unión al agua. Un dato interesante se observa en el tratamiento T2 (10 U), el cual presentó un WHC (609.14 g/100g) significativamente mayor que su WAC (457.23 g/100g), sugiriendo que una dosis intermedia de transglutaminasa podría generar una red proteica con capacidad de retener el agua atrapada, sin llegar a ser tan compacta como en T1 (Giosafatto *et al.*, 2012). Este equilibrio puede resultar funcionalmente favorable en aplicaciones alimentarias específicas.

Índice de absorción y retención de aceite

En la Tabla 3 se observan los valores del índice de absorción y retención de aceite (OAC y ORC) de los aislados proteicos de frejol tratados con distintas

concentraciones de transglutaminasa, evidenciando diferencias significativas ($p < 0,05$) en la capacidad funcional de las proteínas frente al aceite.

Los resultados obtenidos evidencian un comportamiento diferencial en la capacidad de absorción (OAC) y retención de aceite (ORC) de los aislados proteicos de frejol, como efecto de la aplicación de transglutaminasa (TGasa) en distintas concentraciones. En cuanto a la OAC, el Tratamiento 1 (20 U) alcanzó el valor más alto (866.59 g/100g), seguido por el Tratamiento 2 (10 U) con 778.55 g/100g, y finalmente el Tratamiento 3 (0 U) con 744.06 g/100g. Esto indica que la adición de la enzima favorece la capacidad del aislado para interactuar con lípidos, probablemente por la formación de una red proteica más densa mediante enlaces isopeptídicos, lo cual ha sido reportado previamente (Nahid *et al.*, 2010).

Tabla 3. Resultado del análisis de absorción y retención de aceite del aislado proteico con transglutaminasa

Tratamiento	OAC (g/100g)	ORC (g/100g)
T1 (20 U)	866.59 ± 3.85 ^a	447.94 ± 2.91 ^c
T2 (10 U)	778.55 ± 3.12 ^b	708.59 ± 3.44 ^a
T3 (0 U)	744.06 ± 3.07 ^c	479.85 ± 2.98 ^b

Nota. Los valores corresponden al promedio ± desviación estándar (n=3). Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0,05$).

Por otro lado, la retención de aceite (ORC), se distingue en el Tratamiento 2 con 10 unidades de enzima transglutaminasa, reflejando un valor de (708.59 g/100g) siendo el mas alto en comparacion con los otros dos tratamientos. Por su parte, el Tratamiento 1 (20 U) y el Tratamiento 3 (0 U) generaron resultados similares y considerablemente más bajos (447.94 y 479.85 g/100g, respectivamente). La proximidad entre estos dos ultimos tratamientos antes mencionados, propone que concentraciones excesivas de transglutaminasa (como en T1) pueden producir redes proteicas demasiado compactas, que

absorben demasiado aceite inicial, pero sin tener la facultad de retenerlo bajo condiciones de centrifugación (Adebawale & Lawal, 2004; Zayas, 1997). A su vez, la proteína no tratada en T3, aunque evidencia una conformación más flexible y natural, no es capaz de formar estructuras suficientemente cohesivas para beneficiar significativamente la retención, aspecto que describe su resultado moderado. Por otro lado, en el tratamiento 2 de 10 unidades de enzima, se puede inferir que obtuvo un equilibrio funcional óptimo. La concentración moderada de transglutaminasa permitió una formación de redes proteicas que retienen mejor el aceite sin sacrificar la capacidad de absorción (Valencia *et. al.*, 2015).

Actividad emulsionante y estabilidad

En la Tabla 4 se tabulan los resultados de la actividad emulsionante y su capacidad estabilizante (EA y ES) de las muestras de aislados proteicos de frejol tratados con distintas concentraciones de transglutaminasa evidenciando diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 4. Resultado del análisis de la actividad emulsionante y estabilidad del aislado proteico.

Tratamiento	EA (%)	ES (%)
T1 (20 U)	61.1 $\pm$ 0.8 ^a	63.2 $\pm$ 1.0 ^a
T2(10 U)	59.7 $\pm$ 1.0 ^b	56.4 $\pm$ 1.3 ^b
T3(0 U)	46.5 $\pm$ 1.2 ^c	41.0 $\pm$ 1.5 ^c

Nota. Los valores corresponden al promedio $\pm$ desviación estándar ($n=3$). Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas según Tukey ($p<0,05$).

El tratamiento con 10 U de transglutaminasa (TG) aumentó la actividad emulsionante (EA) del aislado proteico de frijol a 59.7%, y con 20 U a 61.1%, en comparación con el 46.5% del tratamiento control. Las modificaciones que se dieron a nivel de la estructura en la proteína de haba a través de mecanismos enzimáticos acrecentan la facultad de interacción en sistemas

bifásicos, como las emulsiones, al favorecer la adsorción en la fase aceite-agua. La mejoramiento se genera en su mayoría por la capacidad de la transglutaminasa para producir enlaces covalentes entre residuos de glutamina y lisina, constituyendo estructuras proteicas más estables y funcionales (Faergemand et al., 1997).

En cuanto a la estabilidad emulsionante (ES), también se evidenció una mejora significativa en los tratamientos con TG, alcanzando un 63.2% en el tratamiento con 20 U, frente al 41.0% del control. Este efecto ha sido reportado en aplicaciones similares por Arpi (2015), quien demostró que el uso de proteínas vegetales modificadas con transglutaminasa, como el aislado de soya, permite mantener estructuras de emulsión más estables durante el almacenamiento, debido al aumento de viscosidad y a la formación de redes tridimensionales que retardan la coalescencia de las gotas.

Además, Báez (2013) destaca que las modificaciones inducidas en proteínas por procesos de entrecruzamiento, como los generados por transglutaminasa, no solo aumentan la estabilidad física de las emulsiones, sino que también generan una mayor exposición de grupos hidrofóbicos. Esta modificación superficial mejora la afinidad de las proteínas por las interfaces, incrementando así su capacidad emulsionante.

Capacidad de formación de espuma y estabilidad

En la tabla 5, se presentan los resultados que se generaron de la capacidad de formación de espuma y estabilidad en los aislados proteicos de frejol tratados con distintas concentraciones de transglutaminasa, evidenciando diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tabla 5. Resultado del análisis de la capacidad y estabilidad de formación de espuma del aislado proteico

Tratamiento	FC (%)	FS (%)
T1 (20 U)	85.2 ± 0.76 ^a	69.1 ± 1.52 ^a
T2(10 U)	83.6 ± 0.91 ^b	60.5 ± 1.37 ^b
T3(0 U)	72.3 ± 1.14 ^c	42.8 ± 1.82 ^c

Nota. Los valores corresponden al promedio ± desviación estándar (n=3). Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas según Tukey (p<0,05).

Una vez analizados los resultados obtenidos se puede argumentar que el tratamiento enzimático con transglutaminasa beneficio significativamente tanto la capacidad espumante (FC) como la estabilidad espumante (FS) del aislado proteico de frejol en contraposición con el control. El tratamiento con 10 unidades de enzima TG aumento la FC de 72.3% (control) a 83.6%, mientras que el tratamiento con 20 unidades de enzima reflejo un valor superior de 85.2%. Estos resultados permiten inferir que la enzima posibilita eficazmente la habilidad del sistema proteico para conformar espuma, evento que puede explicarse por los impactos a nivel de estructura que son inducidos sobre las proteínas.

La enzima transglutaminasa estimula la constitución de enlaces de tipo covalente entre residuos generados de glutamina y lisina, permitiendo la formación de cuerpos proteicos reticulados con capacidad estabilizante mucho mayor. Según Benavides (2018), esta enzima es capaz de mejorar las propiedades funcionales de proteínas alimentarias al favorecer la formación de redes que refuerzan la estructura del sistema, siendo ampliamente usada en productos cárnicos por su capacidad de modificar la textura y cohesividad. Aplicado a proteínas vegetales como el aislado de frejol, este efecto puede traducirse en una mayor retención de aire durante el batido, lo que mejora directamente la capacidad espumante.

En cuanto a la estabilidad espumante, los valores aumentaron significativamente con la dosis enzimática: el tratamiento con 10 U alcanzó una FS de 60.5%, mientras que con 20 U se elevó a 69.1%, frente al 42.8% del

control. Esta mejora es coherente con lo reportado por Báez (2013), quien demostró que la modificación estructural de proteínas, particularmente mediante procesos como el entrecruzamiento, incrementa la resistencia de las burbujas de aire al colapso y al drenado. En el estudio se recalca que la red de proteínas más firme tiene la capacidad de constituir películas interfaciales más resistentes, las cuales retrasan cambios físicos como la coalescencia y el colapso de la espuma con el tiempo.

Adicional a esto, la conducta analizada coincide con lo señalado por Urbina (2018), quien determinó que con un cambio a nivel estructural en las proteínas a través de tratamiento de alta presión, aumentan la cohesividad de las matrices y la estabilidad física de los sistemas espumantes. Aunque el mecanismo de acción no fue enzimático, los resultados respaldan la idea de que una mayor compactación proteica y reorganización molecular mejoran las propiedades funcionales como la estabilidad espumosa.

Por su parte, Duarte y Orjuela (2023), en un estudio de revisión sobre proteínas vegetales aplicadas en emulsiones, destacan que una adecuada estructura tridimensional y la presencia de regiones hidrofóbicas expuestas son claves para una buena funcionalidad interfacial, tanto en emulsiones como en espumas.

Conclusiones

En síntesis, la investigación posibilita evidenciar que el frejol (*Phaseolus lunatus* L.) conforma una fuente de proteína vegetal de alto valor, esto cuando se expone a procesos de extracción y concentración adecuados. A su vez los análisis proximales reflejan un aumento sustancial del contenido de proteína en el aislado, esto seguidamente por una disminución significativa en glúcidos, humedad y grasa, lo que infiere la efectividad del método de extracción alcalina

y precipitación isoelectrica para conseguir un alimento funcional con cualidades superiores a la materia prima original.

La adición de la enzima transglutaminasa tuvo un impacto significativo sobre las propiedades funcionales del aislado proteico. Se observó un aumento notable en la capacidad y estabilidad emulsionante, así como en la capacidad y estabilidad de formación de espuma, especialmente con la aplicación de 20 unidades de enzima, lo cual evidencia una mejora en la funcionalidad interfacial del sistema. Además, se identificaron cambios relevantes en la interacción del aislado con agua y aceite: si bien se redujo la capacidad de absorción y retención de agua con el incremento de la concentración enzimática, se mejoró considerablemente la retención de aceite, particularmente en el tratamiento con 10 unidades, sugiriendo que concentraciones intermedias de transglutaminasa pueden favorecer un equilibrio estructural funcionalmente óptimo.

Los resultados indican que la transglutaminasa favorece la formación de redes proteicas reticuladas, lo que mejora la cohesión y estabilidad del sistema sin comprometer el valor nutricional del producto. En consecuencia, el aislado proteico de frejol tratado enzimáticamente se proyecta como un ingrediente versátil y funcional para su aplicación en diversos productos alimentarios, especialmente en aquellos que requieren estabilidad estructural, emulsificación eficiente y capacidad espumante, contribuyendo así al desarrollo de alimentos innovadores y sostenibles.

Referencias

Adebowale, Y., & Lawal, O. (2004). Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flour. *Food Research International*, 37(4), 355–365.

Báez, G. (2013). Modificaciones estructurales de las proteínas del lactosuero y su influencia sobre las propiedades funcionales superficiales: emulsificación y espumado. Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.

Benavides, K. (2018). El uso de la enzima transglutaminasa en productos cárnicos (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2018).

Castillo, Á., Vargas, E., Esperanza, Y., Martínez, J., & Carrillo, G. (2025). Capacidad captadora de radicales libres de compuestos fenólicos recuperados de residuos agroindustriales. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (94).

Chang, Y. (2020). Impactos del almidón resistente y la enzima transglutaminasa en las características tecnológicas de los espaguetis. *Research, Society and Development*, 9(8), e891986219.

Dumas, F., (2022). Información nutricional y actividad biológica del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Ingeniería en Alimentos).

Faergemand, M., Otte, J. y Qvist, KB (1997). Reticulación enzimática de proteínas de suero por una transglutaminasa microbiana independiente de Ca_{2+} de *Streptomyces lydicus*. *Food Hydrocolloids*, 11 (1), 19-25.

Fernández, A., & Sánchez, E., (2017). Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México. *Nova scientia*, 9(18), 133-148.

Giosafatto, C., Mariniello, L., Esposito, M., Di Pierro, P., & Porta, R. (2012). Transglutaminase crosslinked pectin- and chitosan-based edible films: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6), 499–507.

Herrera, M. (2021). Microencapsulación de aceite de nuez (*Juglans regia* L.) con aislado proteico de soya mediante secado por atomización. Repositorio Académico. Universidad de Chile.

Krause, M., Sorensen, J. C., Petersen, I. L., Duque, P., Cappello, C., Tlais, A. & Zannini, E. (2023). Associating compositional, nutritional and techno-functional characteristics of Faba bean (*Vicia faba* L.) protein isolates and their production side-streams with potential food applications. *Foods*, 12(5), 919.

Medina, M., (2006). Desarrollo de una barra nutricional a base de granola y frijol rojo (*Phaseolus vulgaris*) (Doctoral dissertation, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2012).

Mendoza, I. (2022). *Evaluación de las deficiencias nutricionales en el cultivo de haba (phaseolus lunatus l.) en el sector El Carmen* (Doctoral dissertation).

Milán, J., Gutiérrez, R., Cuevas, E., Sánchez, L., Rochín, J., & Reyes, C., (2017). Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro bioprocesados. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 40(4), 451-459.

Moon, S. H., & Cho, S. J. (2023). Effect of microbial transglutaminase treatment on the techno-functional properties of mung bean protein isolate. *Foods*, 12(10), 1998.

Nahid, A, Salma, A, ElShazali, M., & Elfadil, B. (2010). Enlace cruzado de transglutaminasa en aislado proteico de leguminosas: cambios en las propiedades funcionales en función del pH. *Revista Internacional de Investigación Alimentaria ,Alimentaria*, 17 (4).

Ulloa, J., Rosas, P., Ramírez, J., & Ulloa, B., (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. CONACYT.

Urbina, J. (2018). Evaluación de estabilidad reológica y fisicoquímica de geles proteicos aislados de grillo común (*acheta domesticus*) y tratados por altas presiones hidrostáticas. Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria.

Valencia, E., González, S., Quevedo, R., & Leal, M. (2015). Aplicación de la Enzima Transglutaminasa en Salmón, Reineta y Pulpo. *Información tecnológica*, 26(3), 03-08.

Vioque, J., Alaiz, M. & Girón-Calle, J. (2012). Propiedades nutricionales y funcionales de aislados proteicos de Vicia faba y fracciones relacionadas. *Química de alimentos*, 132 (1), 67-72.

Zambrano, M., Vásquez, G., Morales, D., Vilcacundo, R., & Carrillo, W. (2020). Isolation of baby Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) protein fractions and evaluation of their antioxidant activity. *Italian Journal of Food Science*, 32, 275–277.

Zayas, J. (1997). Functionality of proteins in food. *Springer Science & Business Media*

Żmudziński, D., Goik, U. y Ptaszek, P. (2021). Propiedades funcionales y reológicas de los aislados proteicos de Vicia faba L.. *Biomoléculas*, 11 (2), 178.

Mengqi, Z., Yanjun, Y., Nuria, C., Acevedo. (2020). Effects of pre-heating soybean protein isolate and transglutaminase treatments on the properties of egg-soybean protein isolate composite gels. *Food Chemistry* 318 126421