



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS CÓRDOBA**

**POSTGRADO EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE**

## **MICROENCAPSULACIÓN DE INULINA DE AGAVE Y ACEITE DE SEMILLA DE CHÍA PARA SU ADICIÓN A UNA MATRIZ CÁRNICA**

**HÉCTOR MANUEL ROCHA DÍAZ**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

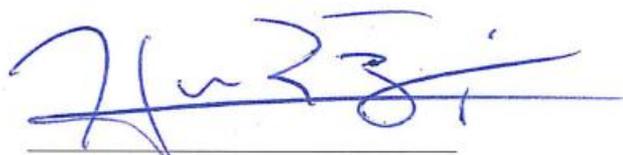
**AMATLÁN DE LOS REYES, VERACRUZ, MÉXICO**

**2018**

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Héctor Manuel Rocha Díaz, Alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realice en esta institución, bajo la dirección de la Profesora Aleida Selene Hernández Cázares, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Microencapsulación de inulina de agave y aceite de semilla de chía para su adición a una matriz cárnica** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Amatlán de los Reyes, Veracruz a 10 de diciembre del 2018.



---

Alumno

Héctor Manuel Rocha Díaz



---

Vo. Bo. del Consejero

Dra. Aleida Selene Hernández Cázares

La presente tesis, titulada: **Microencapsulación de inulina de agave y aceite de semilla de chía para su adición a una matriz cárnica**, realizada por el alumno: **Héctor Manuel Rocha Díaz**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN INNOVACIÓN AGROALIMENTARIA SUSTENTABLE  
CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERA:   
DRA. ALEIDA SELENE HERNÁNDEZ CÁZARES

ASESORA:   
DRA. MARICARMEN THALÍA RECILLAS MOTA

ASESOR:   
DR. JOSAFHAT SALINAS RUIZ

ASESOR:   
DR. JOSÉ ANDRÉS HERRERA CORREDOR

Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, a 10 de diciembre del 2018.

## MICROENCAPSULACIÓN DE INULINA DE AGAVE Y ACEITE DE SEMILLA DE CHÍA PARA SU ADICIÓN A UNA MATRIZ CÁRNICA

Héctor Manuel Rocha Díaz, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2018

### RESUMEN

El nuevo estilo de vida ha contribuido con el incremento en el consumo de alimentos de origen animal, pasando de 26 Kg *per cápita* en 1970 a 41 Kg en los últimos años. No obstante, el consumo de carne ha sido asociado a algunos padecimientos crónico – degenerativos. La inulina de agave proveniente de la industria tequilera tiene la función de fibra dietaria soluble y el aceite de semilla de chía (ASC) es una excelente alternativa como fuente de ácidos grasos omega y tienen capacidad antioxidante. Aunque, éste es susceptible al deterioro por la interacción con factores del medio. La microencapsulación preserva la integridad de compuestos bioactivos por mayor tiempo y facilita su posterior liberación controlada, y la coacervación es una técnica común para este fin. En este estudio, se obtuvieron microesferas (ME) de 5% de inulina de agave con 2% de ASC mediante dicha técnica. Se utilizó espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) para la caracterización de los polímeros y del ASC, así como la carga y la estabilidad del ASC tras 15 d de almacenamiento. Las pruebas de hinchamiento demostraron estabilidad por 120 min a pH neutro, mientras que a pH 6.2 las ME liberaron los compuestos bioactivos tras 15 min (Capítulo II). Posteriormente, las ME se adicionaron en diferentes niveles de inclusión (0, 3, 6 y 12 g ME/Kg de carne, tomando como base su contenido de ASC) a “patties” de carne de pierna de cerdo molidas, cocinadas y almacenadas en refrigeración. Las propiedades fisicoquímicas a los 0, 3, 6, 9 y 12 d de almacenamiento en refrigeración a 4 °C se evaluaron. El pH, acidez titulable, color y  $a_w$  no mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) del control (0 g de ME) con respecto a los tratamientos. La adición de las ME tuvo un efecto significativo en el análisis de perfil de textura (TPA) en el parámetro de dureza (N); el cual se redujo significativamente como efecto de la adición de inulina de agave microencapsulada. También se observó aumento en los parámetros de % rendimiento por cocción (RC) y % de humedad. La evaluación de la oxidación lipídica dio como resultado una disminución significativa en el valor de TBAR ( $1.82 \pm 0.21$  mg MDA/kg muestra) en la carne adicionada con 12 g de ME a los 12 d de almacenamiento en refrigeración, resultado similar a la evaluación de la oxidación proteica por FTIR (Capítulo III). La adición de las ME en carne de pierna de cerdo mejora significativamente las propiedades de textura y rendimiento, a la vez que disminuye la oxidación lipídica y proteica, por lo que las ME pueden utilizarse como ingrediente alimentario.

**Palabras clave:** Microencapsulación, compuestos bioactivos, antioxidantes, FTIR, TBAR.

## **AGAVE INULIN AND CHIA SEED OIL MICROENCAPSULATION FOR ITS ADDITION TO A MEAT MATRIX**

Héctor Manuel Rocha Díaz, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2018

### **ABSTRACT**

The new lifestyles have caused an increase in the consumption of animal origin food, going from 26 kg *per capita* in 1970 to 41 kg in the last years. Meat consumption has been associated with some chronic-degenerative diseases. Agave inulin from the tequila industry has the function of soluble dietary fiber while chia seed oil (CSO) is an excellent alternative as an omega fatty acids source and they have antioxidant capacity. Although, this is susceptible to deterioration due to the interaction with environmental factors. Microencapsulation preserves the integrity of bioactive compounds for a longer time and facilitates their subsequent controlled release, and coacervation is a common technique for this purpose. In this study, microspheres (MS) of 5% of agave inulin with 2% of CSO were obtained by this technique. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was used to characterize the polymers and the CSO, as well as the loading and stability of the CSO after 15 d of storage. The swelling tests showed stability for 120 min at neutral pH, while at pH 6.2 the MS released the bioactive compounds after 15 min (Chapter II). Later, these MS were added at different levels (0, 3, 6 and 12 g of MS/kg of meat, using CSO content as basis) to ground, cooked and refrigeration stored pork patties. Physicochemical properties were evaluated at 0, 3, 6, 9 and 12 d. For pH, titratable acidity, color and  $a_w$  parameters there were no significant differences ( $p < 0.05$ ) of the the Control (0 g of MS) with respect to treatments. MS addition did not have a significant effect on the texture profile analysis TPA, except for the hardness parameter (N), which was significantly reduced as an effect of the microencapsulated agave inulin. This was also observed in the parameters of cooking yield % and moisture %. The evaluation of lipid oxidation resulted in a significant decrease in the TBAR value ( $1.82 \pm 0.21$  mg MDA/kg at 12 g of MS at 12 d of storage), similar result to the evaluation of protein oxidation by FTIR (Chapter III). The addition of MS in pork meat significantly improves the properties of texture and yield, while decreasing lipid and protein oxidation, so MS and can be used as a food ingredient.

**Key words:** Microencapsulation, bioactive compounds, antioxidants, FTIR, TBAR.

## **DEDICATORIA**

A Dios que nunca me ha soltado de su mano.

A mi abuela Tita, quien me guía y me aconseja desde el cielo y a quien a cada momento  
siento en mi corazón.

A mi madre, Marcela Díaz Peña, mi guía y ejemplo de fortaleza.

A mis amigos y compañeros de vida.

A quienes forman parte de la Fraternidad del Espíritu por el Camino del Destino Feliz, que  
Dios los bendiga y conserve hasta entonces.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), y a los millones de mexicanos que pagan sus impuestos, quienes creyeron en mi mediante el otorgamiento de la beca No. 618264.

Al Colegio de Postgraduados (CP) Campus Córdoba, por tener a bien aceptarme en su Programa de Posgrado en Innovación Agroalimentaria Sustentable.

A la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento (LGAC) 2: Innovación y desarrollo de procesos agroalimentarios para el bienestar social del Programa de Postgrado en Innovación Agroalimentaria Sustentable del CP Campus Córdoba

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) Unidad Hermosillo por abrirme las puertas para realizar mi estancia de investigación durante tres meses fundamentales para la realización de este trabajo.

A la M. en C. María Magdalena Ramírez Gómez, profesora y amiga, ejemplo de dedicación y de amor por la Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

A la Dra. Aleida Selene Hernández Cázares, mi Consejera, por darme el impulso de siempre salir adelante, de quien recibí grandes enseñanzas en lo profesional y en lo personal, por no dejarme rendir, por sus gratas charlas y consejos, y por siempre haberme apoyado incondicionalmente desde mi ingreso al Colegio de Postgraduados.

A la Dra. Maricarmen Thalía Recillas Mota, mi asesora externa, por recibirme en el CIAD Unidad Hermosillo, por las largas y divertidas jornadas en el laboratorio y por su paciencia, también agradezco a todos los integrantes del Grupo de Investigación de Biopolímeros del CIAD Unidad Hermosillo, de quienes me llevo gratos recuerdos.

Al Dr. Josafhat Salinas Ruiz, y al Dr. José Andrés Herrera Corredor, valiosos integrantes de mi Consejo Particular, por su invaluable apoyo.

A la Dra. María Antonieta Ríos Corripio, del Programa Cátedras CONACyT y al Dr. Marlon Rojas López del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada (CIBA – IPN) Tlaxcala, por su valioso apoyo para llevar a cabo algunos análisis complementarios de esta investigación.

Al Laboratorio de Ciencias de los Alimentos y a su técnico IA. Paulina Chávez Zepeda, por las facilidades otorgadas para la realización del experimento.

A mis compañeros del Programa de Postgrado y compañeros de laboratorio de Ciencias de los Alimentos del CP Campus Córdoba, y del CIAD unidad Hermosillo, por su apoyo, amistad y compañerismo.

## CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	12
1. Planteamiento del problema .....	12
2. Hipótesis.....	13
3. Objetivos .....	13
3.1 General.....	13
3.2 Específicos.....	13
4. Innovación .....	13
5. Sustentabilidad .....	14
6. Revisión de literatura.....	16
6.1 Carne de cerdo .....	16
6.2 Estadística de producción de carne de cerdo en México.....	17
6.3 Conversión de músculo a carne .....	20
6.4 Factores que determinan la calidad en carne de cerdo. ....	25
6.5 Fibra dietaria soluble: estructura, funcionalidad y composición química de la inulina	30
6.6 Capacidad antioxidante de los ácidos grasos omega – 3.....	32
6.6.1 Ácidos grasos poliinsaturados: el aceite de semilla de chía como fuente alternativa	33
de antioxidantes .....	33
6.7 Microencapsulación de compuestos bioactivos por coacervación simple. ....	36
7. Literatura citada .....	39
<b>CAPÍTULO I. Innovación tecnológica de alimentos adicionados con inulina</b> .....	49
1.1.Introducción.....	50
1.2 Alternativas de consumo de la inulina.....	51
1.3 La inulina y su interacción con matrices alimentarias .....	52
1.4 Conclusiones .....	54
1.5 Literatura citada .....	54
<b>CHAPTER II. Elaboration and characterization of agave inulin and chia seed oil microspheres</b>	
<b>with potential for application in food matrixes</b> .....	59
2.1 Introduction .....	60
2.2 Materials and methods .....	61
2.2.1 Materials .....	61
2.2.2 Methods .....	61
2.2.2.1 Microspheres preparation.....	61
2.2.2.2 Morphology and average size .....	61
2.2.2.3 Materials characterization .....	61
2.2.2.4 Oil load.....	62
2.2.2.5 Oil stability.....	62

2.2.2.6 Swelling .....	62
2.3 Results and discussion .....	63
2.3.1 Morphology and average size .....	63
2.3.2 Materials characterization.....	64
2.3.3 Oil load .....	66
2.3.4 Oil stability .....	67
2.3.5 Swelling .....	67
2.4 Conclusion.....	68
2.5 References .....	69
<b>CAPÍTULO III. Adición de microesferas de inulina de agave y aceite de semilla de chía en una matriz cárnica .....</b>	<b>75</b>
3.1 Introducción.....	77
3.2 Materiales y métodos .....	79
3.2.1 Materiales .....	79
3.2.2 Métodos .....	79
3.2.2.1 Obtención de las muestras .....	79
3.2.2.2 Rendimiento por cocción (RC).....	80
3.2.2.3 pH .....	80
3.2.2.4 Acidez titulable.....	80
3.2.2.5 Humedad.....	80
3.2.2.6 Actividad de agua ( $a_w$ ).....	81
3.2.2.7 Análisis de perfil de textura (TPA).....	81
3.2.2.8 Color .....	81
3.2.2.9 Oxidación lipídica (TBAR) .....	81
3.2.2.10 Oxidación proteica (FTIR) .....	82
3.2.2.11 Análisis estadístico .....	82
3.3 Resultados y discusión .....	82
3.3.1 Propiedades fisicoquímicas.....	82
3.3.2 Oxidación lipídica.....	85
3.3.3 Oxidación proteica.....	87
3.4 Conclusión.....	89
3.5. Literatura citada .....	90
<b>CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>95</b>
Conclusiones generales.....	95
Recomendaciones.....	96
<b>ANEXOS.....</b>	<b>98</b>
<b>A 1. Anexos del Capítulo II .....</b>	<b>98</b>

A 2. Anexos del Capítulo III..... 99

### LISTA DE CUADROS

**Cuadro 1.** Avance acumulado a julio 2018 de la producción pecuaria nacional: carne en canal de porcino.....18

**Cuadro 2.** Comparativo de la capacidad antioxidante de compuestos de origen vegetal cuantificada mediante diversas técnicas.....35

**Cuadro 3.** Comparación de ácidos grasos omega – 3 de aceites por CG – EM.....36

### CAPÍTULO III

**Cuadro 1.** Características fisicoquímicas de la carne de pierna de cerdo, molida, cocida y almacenada en refrigeración a 4°C en forma de patties adicionada con microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina y 2% aceite de semilla de chía a diferentes niveles de inclusión.....84

**Cuadro 2.** Contraste ortogonal polinomial del efecto de la adición de diferentes niveles de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chía: 0 (Control), 3 (T1), 6 (T2) y 12 (T3) g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.....86

### LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Relación importación – exportación (miles de toneladas) de carne de porcino en México de 2006 a 2017.....19

**Figura 2.** Precios mensuales promedio por kilogramo de carne de porcino años del 2012 al 2015.....19

**Figura 3.** Cambios bioquímicos *post mortem* de la carne de cerdo.....23

**Figura 4.** Interconversiones redox de la mioglobina visibles en la superficie de la carne.....28

**Figura 5.** Representación del átomo de la cadena de inulina.....31

**Figura 6.** Estructura representativa del alginato.....37

**Figura 7.** Modelo “caja de huevo”.....38

## CHAPTER II

<b>Figure 1. A.</b> Morphology of a multinucleated microsphere of sodium alginate with inulin and chia seed oil (magnification 40X).....	64
<b>Figure 1.B.</b> Measurement of the average size of the MS (magnification 10X).....	64
<b>Figure 2A.</b> FTIR spectra of food grade agave inulin and analytical grade Sigma-Aldrich chicory inulin.....	65
<b>Figure 2.B.</b> FTIR spectra of sodium alginate Cosmopolita ©.....	65
<b>Figure 3.</b> FTIR spectra of chia seed oil.....	66
<b>Figure 4.</b> FTIR spectra of alginate-inulin biopolymer matrix, chia seed oil and loaded microsphere.....	66
<b>Figure 5</b> FTIR spectra of chia seed oil extracted from the microspheres at different times.....	67
<b>Figure 6.</b> Swelling behavior of agave inulin and chia seed oil microspheres in different dissolution pH. ■ bidistilled watter pH 7.0, ▲ buffer citrate pH 6.2.....	68

## CAPÍTULO III

<b>Figura 1.</b> Modelo polinomial lineal de la evolución de la oxidación lipídica (mg MDA/kg carne) en carne de cerdo molida, cocida y almacenada en refrigeración a 4°C durante 0, 3, 6, 9 y 12 d adicionada con diferentes niveles de inclusión de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chía 0 (Control) ■, 3 (T1) ●, 6 (T2) ▲ y 12 (T3) ▼ g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.....	86
<b>Figura 2.</b> Segunda derivada de los espectros FTIR de la evolución de la oxidación proteica en carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C de 0 a 12 d, con diferentes niveles de inclusión de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chía: (A) Control-0 ; (B) T1-3; (C) T2-6; y (D) T3-12 g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.....	88

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1. Planteamiento del problema

En años recientes, instancias como la Organización Mundial de la Salud (OMS), y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), han detectado que a nivel mundial alrededor de 1.9 billones de personas padecen de sobrepeso y obesidad, y se estima que hay alrededor de 41 millones de niños menores de 5 años de edad con sobrepeso (Fanzo, 2015). Como consecuencia de esto, la OMS señala que los padecimientos de hipertensión, diabetes, sobrepeso e hipercolesterolemia representan en la actualidad 4 de los 10 mayores factores de riesgo asociados con la mortandad (Lacroix *et al.*, 2017). Sans y Combris (2015) señalan que los nuevos estilos de vida han ocasionado un incremento en el consumo de alimentos de origen animal durante los últimos 50 años, pasando de 26 kg *per cápita* en 1970 a 41 kg en los últimos años. En este sentido, el consumo de carne ha sido asociado al padecimiento de enfermedades crónicas tales como el cáncer y las coronarias (Kerry, *et al.*, 2002). Como una medida para revertir dichos efectos, autores como Han y Bertram (2017) proponen la inclusión de compuestos funcionales como lo son las fibras dietarias en productos cárnicos.

La conservación de los alimentos es uno de los retos más interesantes. En carne su calidad es afectada por cambios físicos y bioquímicos que se dan durante la conversión *post mortem* de músculo a carne principalmente (Aristoy y Toldrá, 1998). Dichos cambios continúan durante su procesamiento, almacenamiento y transporte hasta su lugar de venta al detalle, siendo la oxidación lipídica y proteica los factores que contribuyen a la pérdida de calidad, con el consecuente desarrollo de atributos sensoriales indeseables y posibles enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) (Ganhão *et al.*, 2010). Así, la formulación de alimentos con propiedades funcionales y mayor vida de anaquel ha sido una prioridad en materia de investigación, desarrollo e innovación de productos agroalimentarios en los últimos años, lo cual se abordará durante el desarrollo de este proyecto.

## **2. Hipótesis**

La adición de microesferas de inulina de agave y aceite de semilla de chía mejorará las características funcionales y de estabilidad oxidativa de la carne de cerdo molida, cocinada y almacenada en refrigeración por 12 d.

## **3. Objetivos**

### **3.1 General**

Analizar el efecto de la inclusión de microesferas a base de inulina de agave y aceite de semilla de chía en carne de cerdo a fin de mejorar sus características funcionales y de estabilidad oxidativa.

### **3.2 Específicos**

1. Elaborar y caracterizar microesferas de inulina de agave y aceite de semilla de chía dentro de una matriz biopolimérica empleando la técnica de coacervación simple.
2. Adicionar las microesferas elaboradas en diferentes niveles de inclusión a carne de pierna de cerdo molida, evaluar las propiedades fisicoquímicas y de estabilidad oxidativa después de su cocción y almacenamiento en refrigeración.

## **4. Innovación**

Kahn (2018) define a la innovación de dos maneras: como “la introducción de algo nuevo” o, “una nueva idea, método o dispositivo”. Aunque estas definiciones son similares, tienen grandes diferencias, la primera se refiere a la innovación como el resultado de algo, mientras que la segunda presenta a la innovación como un proceso. La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) la definió en el año 2005 como: “la implementación de un nuevo o significativamente mejorado producto (bien o servicio), o proceso, un nuevo método de mercadotecnia, o un nuevo método organizacional en las prácticas de negocios dentro de la organización, o bien, en sus relaciones externas.” Gault (2018) menciona que para que una innovación pueda ser denominada como tal, ésta debe ser implementada. Un nuevo o mejorado producto está implementado cuando ya está en el mercado. Los nuevos procesos, métodos de mercadotecnia u organizacionales se implementan cuando ya se encuentran en uso en las firmas operacionales.

La innovación se considera como el proceso central del crecimiento económico; así como de la sustentabilidad en cuanto a las ventajas competitivas tanto entre compañías como entre naciones. Además, la innovación conlleva un crecimiento socioeconómico global sustentable (Chen *et al.*, 2018). Esta orientación ha traído consigo grandes retos y por ello ha surgido la necesidad del estudio y la puesta en marcha de los aspectos que involucra dicho proceso en gran cantidad de Centros de Investigación a nivel mundial

En el Programa de Posgrado donde se enmarca la presente Tesis de Investigación, se considera a la innovación agroalimentaria como un tema de prioridad que debe ser contemplado dentro de los proyectos que se desarrollan dentro de la misma, los cuales deben ser factibles de poner en marcha a nivel de campo o industrial. Es por ello que en el presente proyecto de Investigación se considera como innovador, la microencapsulación de compuestos bioactivos como la inulina de agave como fibra dietaria soluble, y el aceite de semilla de chía como agente antioxidante, puede ser aplicado a la mejora de procesos agroindustriales con miras a la generación de nuevos productos funcionales con un valor agregado. En principio, se puedan conservar las propiedades de los compuestos bioactivos por mayor tiempo, mejora sus propiedades reológicas y de textura por medio de la aplicación de la inulina de agave, misma que ha demostrado efectos benéficos sobre el organismo al momento de su consumo y teniendo un efecto antioxidante significativo sobre la matriz alimentaria a la que se aplique (en este caso carne de cerdo). Seguido que la microencapsulación ha demostrado ser una técnica biocompatible que mejora las propiedades de presentación y facilidad de transporte de gran cantidad de materiales que en su naturaleza se presentan en estado sólido, líquido o semilíquido.

## **5. Sustentabilidad**

En el contexto ya mencionado en el apartado anterior, la sustentabilidad de los procesos productivos y de investigación ha sido también tema de interés a nivel mundial (Schönborn *et al.*, 2018). Ante situaciones reales como lo son la escasez de algunos insumos y recursos naturales, la crisis alimentaria prevista para el año 2050 y el crecimiento demográfico ha inducido una alta competitividad a nivel industrial, por lo que el reto actual de las compañías es la obtención de un desarrollo sustentable a través de la innovación (Hernandez-Vivanco *et al.*, 2018).

Dicho desarrollo sustentable se ha posicionado como una nueva ventaja competitiva, incluyendo las iniciativas sustentables y una visión más amplia de la rentabilidad, que incluye valores ambientales y sociales. La inclusión de estos parámetros dentro del desarrollo estratégico de las organizaciones es la base de la sustentabilidad. Para ello, es que las compañías deben innovar, cambiar su estructura social e integrar sus estrategias para sobreponerse a las barreras y orientarse de mejor manera hacia la sustentabilidad (Hernandez-Vivanco *et al.*, 2018).

Algunos autores han clasificado en diferentes niveles a la sustentabilidad. Oliveira Neto *et al.* (2018) clasifican a la sustentabilidad fuerte, como aquella que tiene el objetivo del mantenimiento del capital económico, ambiental y social a través de un uso eficiente de los recursos y por medio del reemplazo del uso de recursos no renovables por aquellos que son renovables. Otros autores han propuesto algunos indicadores para diferenciar entre sustentabilidad fuerte y sustentabilidad débil, Neumayer (2013) enlista los siguientes: ahorros genuinos, índices de desarrollo económico sustentable, huellas ambientales, y flujos de material. Siendo la sustentabilidad fuerte el objetivo del ser humano y un reto para la práctica organizacional que involucra cambios en los hábitos sociales. Aunque en general, ha sido complicado establecer un claro concepto de lo que es la sustentabilidad, debido a que el contexto social y económico difiere entre países e incluso entre regiones (Verma y Raghubanshi, 2018).

Por su parte, la innovación sustentable es definida por Reficco *et al.* (2018) como “aquella innovación que mejora el desempeño de la sustentabilidad en el aspecto ecológico, económico y social.” Con base en ello, en el presente estudio, la sustentabilidad reside en el aprovechamiento de algunos residuos y subproductos agroindustriales, tal como lo es la inulina de agave que proviene de la industria tequilera, y por otro lado, el aprovechamiento del aceite de semilla de chía, cuyo contenido es alrededor del 60% y contiene compuestos con características funcionales como los ácidos grasos omega.

## 6. Revisión de literatura

### 6.1 Carne de cerdo

La carne se refiere a las partes comestibles de animales terrestres, incluyendo músculos y algunos subproductos como las vísceras (Beraiin, 2017). Por su parte, *la Norma Oficial Mexicana NOM – 194 – SSA1 – 2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos*, la define como una “estructura muscular estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos; provenientes de los animales para abasto que no ha sido sometida a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas; se incluyen las refrigeradas o congeladas.” Shah *et al.* (2014) la definen como “el músculo proveniente de los animales de abasto, compuesta por agua, proteínas, lípidos, minerales y una pequeña proporción de carbohidratos”. La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) la define como “la pulpa o músculo estriado, extraído de res, cerdo, oveja o cabra, suficientemente madurado y de buena salud al momento de la matanza”. Lourenço *et al.* (2018) indican que la carne roja es “aquella carne proveniente del músculo de los mamíferos, incluyendo res, ternera, cerdo, cordero, caballo y cabra. Por su parte, Sahoo y Chatli (2016) la definen como “los tejidos animales que son aptos para su uso como alimento, incluyendo músculos, huesos, tejido conectivo, grasa y vísceras; siendo el músculo esquelético el de principal interés para la industria cárnica.”

En específico, la carne de cerdo se diferencia de la obtenida de otros animales de abasto por la presencia o ausencia de cierto tipo de proteínas y péptidos, mismos que han sido identificados en ensayos de cuantificación de dipéptidos y otros compuestos característicos. Prandi *et al.* (2017), han encontrado que el tipo de carne e incluso su forma de preparación como producto cárnico tendrá incidencia sobre el arreglo de los aminoácidos y péptidos que conforman sus principales estructuras proteicas, por lo que algunos péptidos se han llegado a utilizar como marcadores para la identificación de especies. Incluso se han utilizado diversas técnicas para la caracterización y diferenciación del origen de la carne de cerdo, la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) (Hashim *et al.*, 2010), el análisis por electroforesis (Shabani *et al.*, 2015), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) (Nemati *et al.*, 2004), espectrometría de detección de masas (Zhang *et*

*al.*, 2009), así como el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) (Venien y Levieux, 2005).

La caracterización específica de la carne de cerdo en comparación con otros tipos de carne ha resultado muy útil a fin de evitar fraudes en la compra/venta de alimentos y productos derivados. Kim *et al.* (2016) mediante PCR en tiempo real detectaron el grado de fraude en productos como “jerkies”, jamones cocidos, salchichas, hamburguesas, cortes y “Nuggets”, entre otros.

## **6.2 Estadística de producción de carne de cerdo en México**

El consumo de carne proveniente de animales de abasto ha ganado auge en las últimas décadas, lo cual también se ha visto como un efecto del crecimiento poblacional a nivel mundial, así como de los cambios en los patrones de consumo debido al aumento de ingresos en los países en desarrollo con economías de rápido crecimiento. En específico, la carne de cerdo es la carne roja de mayor consumo, y según lo marca la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), para el año 2015, junto con el de las aves de corral, el porcino fue el subsector pecuario de mayor crecimiento, tendencia que continúa hasta la actualidad.

Datos de la misma organización indican que Asia ha liderado el crecimiento en cuanto al número de cabezas de ganado porcino, mientras que en América del Norte y en Europa este número se mantiene estable. Actualmente, a nivel mundial los principales países productores de carne de cerdo en orden decreciente son China, Europa, Estados Unidos y Brasil (Caro *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018).

En el caso de México, para el año 2018 datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), reportan para la producción porcícola de manera acumulada hasta el mes de julio de este año un volumen de 843 mil 503 toneladas, lo que equivale a 31 mil 306 adicionales a las obtenidas en el mismo periodo del año anterior. Las entidades líderes en la producción del cárnico son Jalisco y Sonora, las cuales mostraron un incremento de 5.0% y 7.7% respectivamente; aunque también las entidades de Veracruz, Yucatán y Guanajuato registraron aumentos significativos. En el Cuadro 1 se muestra el avance acumulado de la producción pecuaria de carne en canal de porcino por entidad hasta el mes de julio 2018.

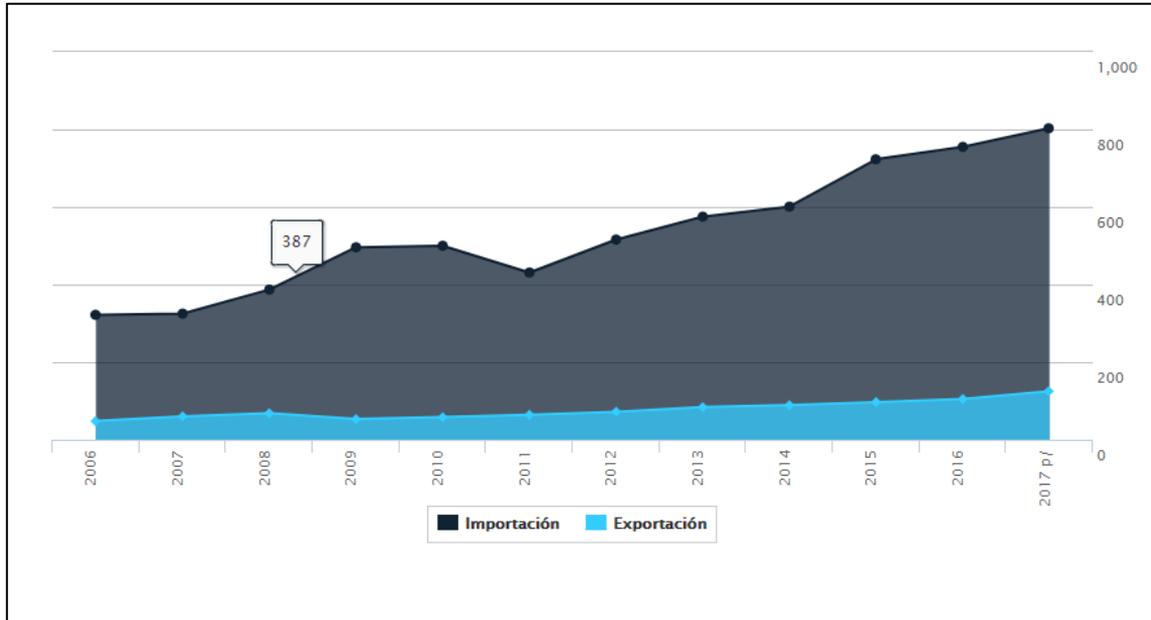
**Cuadro 1.** Avance acumulado a julio 2018 de la producción pecuaria nacional: carne en canal de porcino.

<i>Entidad</i>	<i>Producción (ton)</i>
<b>Aguascalientes</b>	35,938
<b>Baja California</b>	2,366
<b>Baja California Sur</b>	3,408
<b>Campeche</b>	12,686
<b>Coahuila</b>	12,052
<b>Colima</b>	15,299
<b>Chiapas</b>	65,278
<b>Chihuahua</b>	16,867
<b>Distrito Federal</b>	4,027
<b>Durango</b>	8,964
<b>Guanajuato</b>	272,458
<b>Guerrero</b>	46,889
<b>Hidalgo</b>	25,547
<b>Jalisco</b>	705,226
<b>México</b>	45,485
<b>Michoacán</b>	104,647
<b>Morelos</b>	11,222
<b>Nayarit</b>	9,738
<b>Nuevo León</b>	42,526
<b>Oaxaca</b>	57,279
<b>Puebla</b>	378,854
<b>Querétaro</b>	54,548
<b>Quintana Roo</b>	8,967
<b>San Luis Potosí</b>	17,387
<b>Sinaloa</b>	44,135
<b>Sonora</b>	609,961
<b>Tabasco</b>	26,100
<b>Tamaulipas</b>	22,456
<b>Tlaxcala</b>	26,061
<b>Veracruz</b>	291,184
<b>Yucatán</b>	334,082
<b>Zacatecas</b>	25,443
<b>Total Nacional</b>	<b>3,337,076</b>

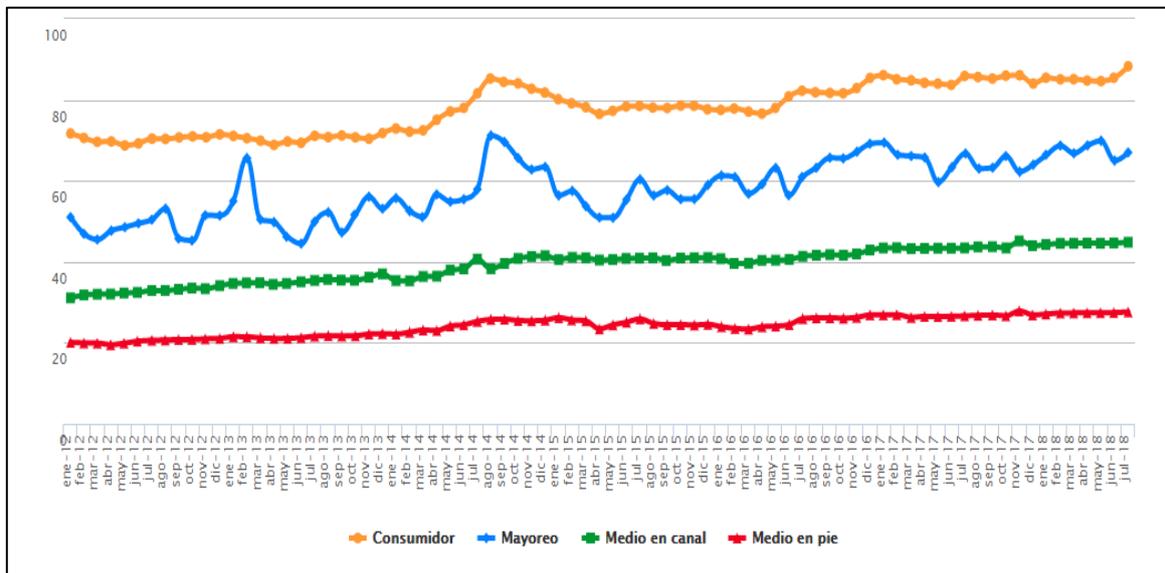
Fuente: SIAP 2018.

A pesar del crecimiento mencionado en cuanto a la producción de carne de cerdo en canal, las importaciones han crecido cada vez más en los últimos años (Figura 1), mientras que la exportación ha mantenido un comportamiento prácticamente constante. El principal país del que se importa es los Estados Unidos de América. El aumento en las importaciones de la carne porcina parece tener un impacto en cuanto al alza de los precios al consumidor, así como una

notable fluctuación en los precios al mayoreo, con el consecuente impacto que ello trae para efectos de la economía nacional (Figura 2).



**Figura 1.** Relación importación – exportación (miles de toneladas) de carne de porcino en México de 2006 a 2017. Fuente: SIAP 2018.



**Figura 2.** Precios mensuales promedio por kilogramo de carne de porcino años del 2012 al 2015. Fuente: SIAP 2018.

### 6.3 Conversión de músculo a carne

La conversión de músculo a carne es un proceso que se lleva a cabo desde el momento en el que se efectúa la matanza del animal, dando inicio a una serie de cambios bioquímicos, entre ellos la contracción muscular resultado de la interacción de la actina – miosina, producto del agotamiento de ATP (Adenosin trifosfato) a lo cual se le conoce como “*rigor mortis*”, cuya duración depende de la especie, edad del animal, sexo, condiciones de manejo *ante mortem* y otros factores. (Beriaín, 2017).

En el músculo del animal vivo, las reacciones habituales de oxidación de carbohidratos a dióxido de carbono y agua requiere de oxígeno, en una cadena de reacciones que liberan mucha energía, de la cual gran parte es capturada por medio de la adición de un grupo fosfato a otra molécula que ya contiene dos grupos fosfato, convirtiendo así el adenosin difosfato (ADP) a ATP. La principal función de esta última molécula es la contracción y relajación, que por medio de la ruta metabólica aerobia se producen 36 moléculas de ATP + dióxido de carbono y agua a partir de una molécula de glucosa (Badui, 2006).

Una vez se realiza el proceso de matanza de un animal, ocurren una serie de cambios físicos y químicos en un periodo de varias horas e incluso días resultando así en la conversión de músculo a carne. Después de la matanza hay una reducción inmediata en el abastecimiento de oxígeno al músculo debido al desangrado. Debido a que se termina el oxígeno almacenado en la mioglobina, hay una inhibición de la vía aerobia a través del ciclo de ácido tricarbóxico; así como el sistema del citocromo. El almacenamiento de creatina fosfato que es utilizada para la refosforilación del ADP a ATP se termina rápidamente y el metabolismo posteriormente cambia a una vía anaerobia resultando en la ruptura de glucógeno a ácido láctico. Este proceso continúa hasta que se agota todo el glucógeno que está almacenado en el músculo. Por lo tanto, la resíntesis de ATP vía anaerobia no es suficiente para mantener el ATP a los niveles requeridos, se forma el complejo actomiosina resultando en el establecimiento del *rigor mortis* (Sahoo y Chatli, 2016).

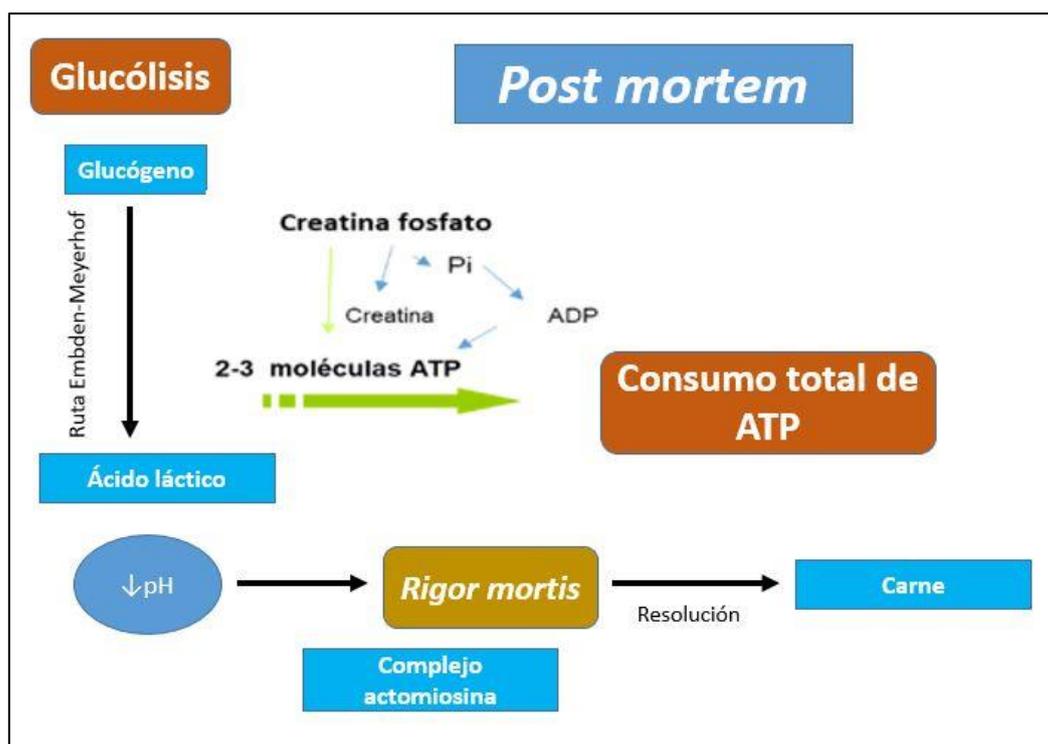
Los cambios bioquímicos *post mortem* más importantes en carne de cerdo son los siguientes se esquematiza en la Figura 3:

**a) Cambios químicos *post mortem*:**

1.- *Pérdida de la homeóstasis*: La regulación homeostática le da a un organismo la capacidad de sobrevivir bajo diferentes condiciones, incluyendo condiciones extremas tales como variaciones de temperatura, deficiencia de oxígeno y estrés fisiológico. El mecanismo homeostático se lleva a cabo gracias al sistema nervioso y a las glándulas endocrinas; dicho mecanismo cesa después de 4 a 6 min del desangrado. En la ausencia de abastecimiento de sangre, hay una pérdida del calor corporal, por lo que empieza a disminuir su temperatura. El concepto de homeostasis se vuelve muy importante durante la conversión de músculo a carne debido a que muchos de estos cambios se dan debido al intento del organismo por mantener su equilibrio.

2.- *Caída post mortem de la glucólisis y del pH*: Debido a que cesa el abastecimiento de oxígeno después del desangrado, se interrumpen el ciclo aerobio del ácido tricarbóxico y la cadena de transporte de electrones. Por lo que el metabolismo es cambiado a una vía anaerobia, de la misma manera que ocurre en el músculo *in vivo* durante un periodo de ejercicio extenuante. El ácido láctico es producido en el metabolismo aerobio en animales vivos y es transportado desde los músculos al hígado, en donde es resintetizado de glucosa a glucógeno, o en el corazón, en donde es metabolizado a dióxido de carbono y agua. Debido a que el sistema circulatorio ya no está disponible en animales desangrados, el ácido láctico permanece en los tejidos musculares incrementando su concentración mientras procede el metabolismo, el cual se continúa acumulando hasta que se termina el glucógeno almacenado, o hasta que el pH de los tejidos es tan bajo que desactiva a las enzimas responsables de la glucólisis. El descenso del pH es uno de los cambios *post mortem* más significativos. En la mayoría de las especies, una caída gradual continua a partir de un valor de pH 7.0 en el animal *in vivo* durante las primeras 5 a 6 h, posteriormente hay una ligera caída en las siguientes 15 a 20 h, llegando a valores de pH de 5.5 a 5.7. El rango de disminución de pH es incrementado por una mayor temperatura ambiental. Se desean valores finales de pH bajos a fin de disminuir la proliferación de microorganismos durante el almacén. En cerdo se ha observado que se tiene mayor caída de pH en comparación con otras especies, debido a que típicamente se tienen mayores temperaturas durante el establecimiento del *rigor mortis*, lo que puede causar detrimento en la pigmentación de la mioglobina. Esto causa que la estructura de la mioglobina se encuentre abierta y con una mayor dispersión de luz, dando como resultado un producto más pálido. Cuando la carne de cerdo no es capaz de retener agua, se pierde el color y la firmeza, a esta condición se le denomina pálida, suave y exudativa (PSE).

3.- *Rigor mortis*: Proceso de endurecimiento de los músculos después del proceso de matanza producto del agotamiento de ATP. El endurecimiento observado se debe a la formación de puentes de enlace permanentes en el músculo entre los filamentos de actina y miosina. Durante el periodo inmediato al desangrado, el músculo es sensible. En este momento, solamente muy pocos puentes de actomiosina quedan presentes a fin de prevenir la extensión por una fuerza. El periodo de tiempo durante el cual el músculo es relativamente flexible y elástico es llamado fase de retardo del *rigor mortis*. El almacenamiento de creatina fosfato que es usado para la fosforilación del ADP se vuelve insuficiente para mantener el tejido en un estado relajado. Posteriormente, los almacenes de glucógeno son usados para la posterior fosforilación del ADP. Se comienzan a formar los puentes de actomiosina, con lo que el músculo gradualmente se comienza a hacer menos elástico ante una fuerza externa aplicada. La fase de *rigor mortis* comienza cuando los músculos pierden elasticidad, lo que dura así hasta que se completa esta fase. El complejo ATP con  $Mg^{2+}$  se requiere para que el músculo se mantenga en estado de relajación, cuando el ATP se agota del músculo, comienzan a formarse el complejo actina – miosina, el musculo se contrae, aumenta el acortamiento del sarcómero y se incrementa la tensión. Los enlaces de actomiosina no se pueden romper debido a que ha cesado el mecanismo de impulso de calcio, consecuentemente, la tensión se encuentra a su máximo nivel. La “resolución” del *rigor* se da cuando disminuye la tensión y comienza el rompimiento de los enlaces de la actomiosina, por efecto de la liberación de las enzimas (calpaínas y catepsinas), presentes en los lisosomas de la célula, producto de la caída del pH. La degradación proteolítica comienza por la disolución de los discos Z, pérdida de la integridad estructural y disminución de la tensión.



**Figura 3.** Cambios bioquímicos *post mortem* de la carne de cerdo durante la conversión de músculo a carne. Fuente: modificada de Matarneh *et al.* (2017).

4.- *Pérdida de los mecanismos de protección:* En organismos vivos, el sistema linfático, circulatorio, entre otros, se encuentran disponibles para destruir organismos que ingresen en el cuerpo. Durante el periodo *post mortem*, cesa el mecanismo de defensa y se alteran las propiedades de las membranas. Al transcurrir el tiempo de *post mortem*, se van perdiendo todas las propiedades homeostáticas. El sistema nervioso central se pierde de los 4 a los 6 min posteriores al desangrado. Así, durante la conversión del músculo a carne, el músculo es muy susceptible a la invasión por microorganismos. Excepto por los valores de pH, el resto de las condiciones *post mortem* favorecen el crecimiento de bacterias, es así que las buenas prácticas de manufactura son muy necesarias para prevenir la contaminación de la carne.

5.- *Degradación debida a enzimas proteolíticas:* Muchos de los sistemas enzimáticos presentes en el músculo esquelético se han relacionado con la degradación proteolítica *post mortem* de las proteínas miofibrilares. Estos sistemas incluyen las calpaínas, el complejo proteinasa multicatalítico (ambos presentes en el sarcoplasma) y las catepsinas, que están presentes solamente en los lisosomas de las fibras musculares. Las catepsinas permanecen inactivas en el tejido muscular *in vivo* y, son activadas cuando disminuye el valor de pH en el músculo. Estas enzimas inician la degradación de la estructura proteica del músculo y son capaces de

romper el tejido conectivo del colágeno del músculo, causando así la tenderización y maduración de la carne. El mejoramiento de la terneza durante el almacenamiento *post mortem* es debido enteramente a la degradación proteolítica de las proteínas miofibrilares. Así, la degradación del colágeno puede mejorar la terneza de la carne, especialmente si los entrecruzamientos intermoleculares se han degradado. De cualquier manera, la proteólisis *post mortem* del colágeno es mínima, y los enlaces entrecruzados intermoleculares no se degradan. La pequeña cuantía de degradación proteolítica del colágeno que ocurre solamente se lleva a cabo durante el periodo *post mortem*.

6.- *Pérdida de la integridad estructural*: Las alteraciones *post mortem* de la membrana inician la degradación de las proteínas musculares. La resolución del *rigor mortis* se da por la desintegración de la estructura completa de los discos Z, principalmente la desmina y la titina. Una rápida caída del pH muscular puede también causar la desnaturalización del tejido conectivo del colágeno.

**b) Cambios físicos *post mortem*:**

1.- *Cambios de coloración*: En animales *in vivo*, los músculos que contienen suficiente oxígeno, tienen una apariencia firme en color rojo. En músculos *post mortem*, ya que el oxígeno es usado en el metabolismo, el color se convierte a un púrpura rojo oscuro. Cuando se corta la carne fresca, la superficie expuesta tiene esta apariencia oscura, pero ya que se expone a la atmósfera por pocos minutos, la mioglobina se oxigena cambiando así a un color rojo más brillante. En músculos que han sido sometidos a una severa desnaturalización, la intensidad del color se reduce a un rojo pálido.

2.- *Cambios en la capacidad de retención de agua (CRA)*: Las cuantías normales de agua van del 65 al 80% del total de la masa muscular, gran parte de esta agua se encuentra fuertemente ligada a proteínas. Si las proteínas no se desnaturalizan, continúan ligando el agua durante la conversión del músculo a carne, e incluso durante su cocción. El agua retenida contribuye a la jugosidad y a la palatabilidad de la carne como un alimento. Los cambios que ocurren en la CRA durante la conversión del músculo a carne, dependen del rango y la cuantía de caída de pH; así como, del monto de desnaturalización proteica. Cuando el pH permanece muy alto durante el *post mortem*, la CRA de la carne es similar a la del músculo vivo. Cuando el pH cae rápidamente durante el periodo *post mortem*, resulta en una muy baja CRA (Sahoo y Chatli, 2016).

#### 6.4 Factores que determinan la calidad en carne de cerdo.

La calidad de la carne es un factor que ha ido ganando importancia entre los consumidores (Węglarz, 2010). Existen diferentes factores que causan el deterioro de la carne, que se encuentran desde el manejo *ante mortem*, las prácticas de matanza que dan lugar a un *rigor mortis* inadecuado, y el manejo *post mortem* que se le da a la canal, como lo es la aplicación de refrigeración o congelación en un momento causando caídas abruptas de pH, llegando al punto isoeléctrico de las proteínas, con la consecuente incapacidad de la matriz cárnica de retener agua. En el caso de la carne de cerdo, los principales factores de calidad son el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), el color y la textura; los parámetros deseables son determinados por estándares, que pueden diferir entre mercados, ya que es una combinación de medidas objetivas y subjetivas.

El pH es uno de los factores más importantes en el proceso de conversión de músculo a carne, mientras que la CRA se refiere a la capacidad de la carne de retener el agua durante la aplicación de una fuerza externa (compresión, pérdidas por goteo, o corte), teniendo influencia sobre la apariencia de la carne. En el caso del color de la carne, el valor L\* derivado de las medidas de color internacional CIEL\*a\*b\*, se refiere a la luminosidad y ha sido uno de los parámetros de calidad mayormente relacionados con la percepción del consumidor en cuanto a la frescura y calidad de la carne. Autores como Peres *et al.* (2018) han propuesto clasificaciones para la evaluación de la carne de cerdo atendiendo a uno o más de los parámetros ya mencionados

La CRA se ha convertido en uno de los principales parámetros indicadores de la calidad de la carne, debido a que su principal constituyente es el agua, representando del 70 al 75% del peso total de la misma, en función también de su contenido de grasa intramuscular (Deng *et al.*, 2002). La baja CRA es indeseable por varios motivos, siendo uno de los más importantes la pérdida de peso durante el almacenamiento y venta al detalle, con las consecuentes pérdidas económicas (Fischer, 2007). Existen diferentes métodos de análisis de la CRA, uno es la determinación de las pérdidas por goteo o “Drip Loss”, lo que Fischer (2007) define como la “lixiviación de líquidos consistentes principalmente en agua y proteína que son expulsados de una pieza sin la aplicación de un esfuerzo mecánico a la misma”; otra de ellas es el método de compresión, que como su nombre lo indica es la pérdida de agua por efecto de compresión entre dos platos. Esto ha dado origen a otras técnicas para su determinación como la utilizada

por Estévez *et al.* (2011), en el que las muestras se centrifugan previo reposo de las mismas en una solución de cloruro de sodio, y la medida de la CRA se obtiene relacionando el volumen inicial añadido con el decantado que la muestra no pudo absorber.

La CRA está directamente relacionada con el pH final alcanzado al término del proceso de tenderización de la carne, en este sentido, en carne con velocidad normal de caída de pH el acortamiento de los sarcómeros a este último valor determina dichas pérdidas (Pearce *et al.*, 2011). En función de los valores obtenidos tanto de pH como de CRA se pueden obtener diferentes condiciones de calidad en carne, siendo las principales: Pálida, Suave y Exudativa (PSE, por sus siglas en inglés), Oscura, Firme y Seca (DFD, por sus siglas en inglés), y Pálida, Firme y No exudativa (PFN, por sus siglas en inglés). (Fischer, 2007).

En el caso de la carne de cerdo, es común el desarrollo de PSE causado principalmente por un bajo valor de pH final, alrededor de 6 o menor, junto con una temperatura cercana a la corporal, con la consecuente desnaturalización de las proteínas. Dicha condición causa una mayor reflexión de la luz lo que se manifiesta en un color de carne más pálido, además de una menor capacidad de retención de agua con un incremento en las pérdidas de peso durante el almacén, procesamiento y venta al detalle. Una acelerada interrupción de la producción de ATP y glucógeno es la causa central del desarrollo de este defecto, ya que hay una mayor acumulación de lactato y protones causando así una acelerada caída del pH, y a su vez, un incremento en la temperatura corporal (Matarneh *et al.*, 2017). Esto es causado por efecto de varios factores, siendo uno de los más importantes el genético en caso de cerdos manifestado por un defecto en el receptor de rianodina lo que se observa por una mayor liberación de calcio del retículo sarcoplasmático, a lo que se le conoce como el “Síndrome del gen halotano”. Así, la condición en cerdo PSE es causada por una alta tasa metabólica durante el *rigor mortis*, creando una situación crítica de alta temperatura y un bajo pH de manera simultánea, con la consecuente desnaturalización proteica de manera pronunciada, lo que afecta la capacidad de la proteína para ligar agua; por lo tanto, baja la CRA (Deng *et al.*, 2002; Fischer, 2007).

Por otro lado, una baja concentración de glucógeno durante el proceso de matanza causa la condición de calidad DFD (Dark, Fyrm, Dry), una baja formación de lactato y protones durante el *post mortem*, con lo que el pH final tiene un valor de 6 o mayor. Debido a un mayor hinchamiento de las fibras musculares, la carne posee una estructura más cerrada resultando en una menor reflexión de la luz, disminuyendo la formación de oximioglobina, lo que resulta en

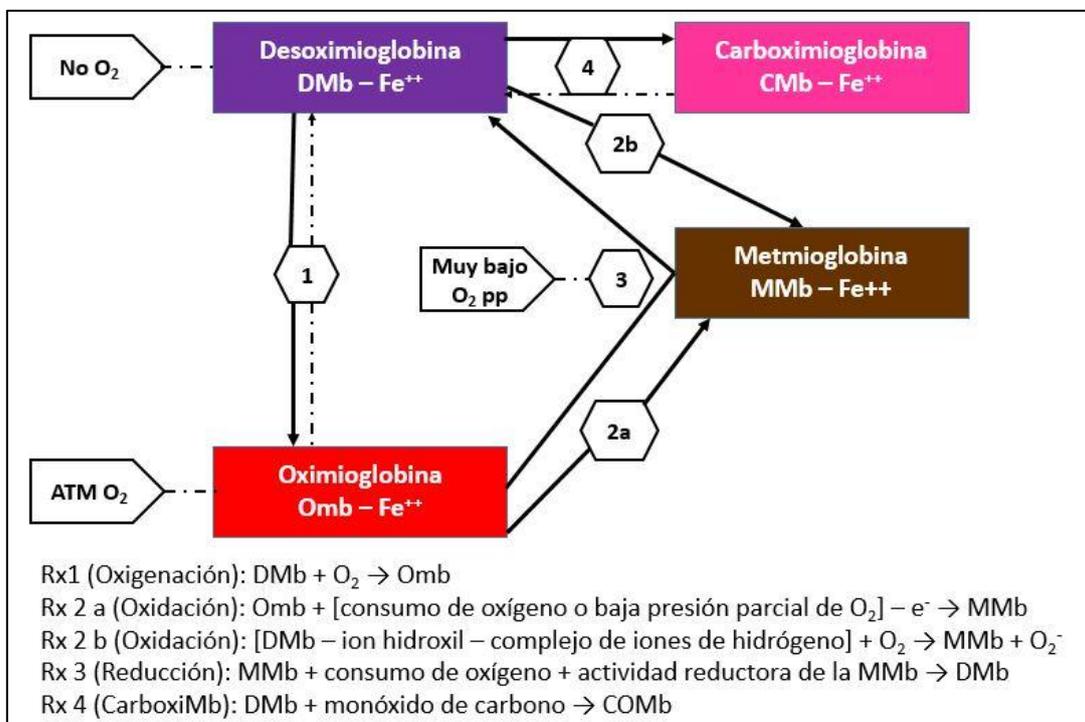
un color púrpura oscuro (Trout, 1989). Además, se observa una menor estabilidad microbiana, menor intensidad de sabor, así como el desarrollo de sabores a viejo. Sin embargo, este tipo de carnes presentan una buena CRA debido a la lejanía del valor final de pH con el punto isoelectrico de las proteínas; a valores altos de pH los grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) de las proteínas carecen de cargas positivas, resultando en una menor atracción entre las proteínas musculares, y por lo tanto, mayor espacio para retener el agua (Fischer, 2007). La carne de alta calidad presenta un pH final de 5.4 a 5.6, a pH's mayores a 5.8, se observa un decremento en la calidad de la carne, a la vez que las posibilidades de mantener su calidad durante la congelación se disminuyen. Altos valores de pH son inapropiados para su clasificación, procesamiento y empaclado al vacío; además se caracteriza por tener una textura gomosa, un incremento en su CRA y un decremento en la asimilación de gustos específicos (Węglarz, 2010).

El color de la carne es un parámetro atribuido a la concentración y al estado químico de los pigmentos hemolíticos, que son la mioglobina y la hemoglobina (Warris, 2007). Węglarz (2010) propone que el color está en función de la composición tisular y de la estructura de la carne, a la vez que se correlaciona fuertemente con el último valor de pH muscular tras el proceso de conversión de músculo a carne. Así, las condiciones ambientales en el periodo *ante mortem*, tales como el hambre y el estrés causados por la temperatura ambiental, ocasionan un aumento en la glucólisis, lo que puede resultar en un valor elevado de pH *post mortem*, con el consecuente cambio en la coloración de la carne.

Mancini y Hunt (2005) mencionan que el color de la carne es un parámetro determinante al momento de la elección del consumidor, llegando a utilizarse como un indicador de su frescura. La mioglobina es la principal proteína responsable de este atributo, junto con la hemoglobina y el citocromo C. La mioglobina es una proteína hidrosoluble que contiene 8 unidades  $\alpha$  – hélices unidas por cortas secciones no helicoidales; la histidina es uno de sus derivados que ha recibido mayor atención debido a que es clave en la estructura y funcionamiento de la mioglobina. Las reacciones de oxidación – reducción de esta proteína tienen un efecto en el color de la carne de la siguiente manera (Figura 4):

- *Oxigenación*: La desoximioglobina (DMb) se puede apreciar en un color rojo – púrpura o púrpura – rosado generalmente asociado a productos empacados al vacío y al músculo inmediatamente después del corte, se requiere muy baja tensión de oxígeno para mantener a la mioglobina en esta forma. La oxigenación ocurre cuando la mioglobina es expuesta al oxígeno y se caracteriza por el desarrollo de un color rojo – cereza brillante.

- **Oxidación:** La decoloración resultante de la oxidación de los dos grupos de hierro presentes en la mioglobina derivan a hierro férrico. Si bien, la decoloración es frecuentemente referida a la superficie cubierta por metmioglobina (MMb), las formas presentes de la mioglobina en niveles inferiores de la superficie también juegan un papel importante en la apariencia del producto. La formación de la MMb depende de la presión parcial de oxígeno, la temperatura, el pH, la actividad reductora de la carne, y en algunos casos, del crecimiento microbiano.
- **Oxidación + reducción:** La oximioglobina (OMb) no se convierte directamente a DMb, sino que primero pasa a través del estado redox férrico a bajos niveles de presión parcial de oxígeno. El oxígeno endógeno restante ayuda a aumentar la presión parcial del mismo, resultando en la oxidación de oxi- a MMb. Esta reacción llega a ser problemática en algunos casos, por ejemplo, cuando se empaqueta un producto al vacío o en atmósfera modificada a muy baja presencia de oxígeno la pieza cárnica puede no ser capaz del consumo posterior de oxígeno acoplado a la reducción férrica a hierro ferroso.
- **Formación de carboximioglobina:** Este estado químico ha ganado interés en empaque a bajos niveles de monóxido de carbono; aún no se tiene claro cuál es la mioglobina que deriva en esta forma.



**Figura 4.** Interconversiones redox de la mioglobina visible en la superficie de la carne.  
 Fuente: modificado de Mancini y Hunt (2005).

En cuanto a la textura, si bien es un atributo que está directamente relacionado con la CRA de la carne; por lo tanto, con el pH final de la misma, también hay otros factores que tienen efecto sobre este atributo, como lo es el contenido de grasa, que en el caso específico de carne se correlaciona sensorialmente con la “jugosidad” de la misma. La textura es una propiedad física que ha sido determinada a lo largo del tiempo por distintos métodos, pasando por paneles sensoriales entrenados o semientrenados, hasta medidas instrumentales mucho más objetivas como lo es la reología y la medición instrumental de la textura. Diversos autores han propuesto definiciones de textura en diversos productos alimenticios, Ball *et al.* (1957) mencionan que “la textura de la carne es la apariencia microscópica del tejido muscular desde el punto de vista de la suavidad”; Martin (1955) en el área de la confitería establece la textura de un dulce como “la suma o el resultante de varias propiedades físicas incluyendo la densidad, dureza, plasticidad o elasticidad y la consistencia”. Posteriormente Szczesniak (1963) diferencia por un lado la textura como “la rigidez de unidades sólidas de un alimento”, con la consistencia a la que define como “una combinación del tamaño y la textura de unidades sólidas, la viscosidad de un fluido, y las proporciones sólido – fluido”; así, el término “textura” se aplica a una mezcla de alimentos sólidos, fluidos y semisólidos.

En la actualidad, Gupta *et al.* (2007) proponen una clasificación de las características de textura cuando ésta es medida de manera instrumental, las cuales son:

- *Características mecánicas:* Se manifiestan por la reacción de un alimento a una fuerza externa (compresión, corte, etc.). Estas, además de poderlas percibir de manera sensorial, se miden instrumentalmente en un texturómetro, con el que es posible obtener los parámetros de dureza, cohesividad, viscosidad, elasticidad, adhesividad, entre otros; dichos parámetros integran el análisis de perfil de textura (TPA, por sus siglas en ingles).
- *Características geométricas:* Se refieren al arreglo espacial de los constituyentes del alimento.
- *Otras características:* Se refieren principalmente al contenido de humedad y de grasa de un alimento.

En la carne, la textura medida de manera instrumental engloba descriptores de sensación al paladar, tales como dureza, masticabilidad y cohesividad, entre otros (Sasaki *et al.*, 2010), lo que en términos sensoriales se ha relacionado con la “terneza”. Al paso de los años, la prueba instrumental de corte Warner – Bratzler se ha convertido en la herramienta más popular para

la medición objetiva de la terneza de la carne. Dicha prueba utiliza una cuchilla estandarizada con un espesor de 1.016 mm, una abertura triangular y un borde de corte redondeado con un radio de curvatura de 0.508 mm, a fin de realizar el corte a través de la fibra muscular registrando la fuerza requerida para el corte en términos de kilogramo – fuerza o Newton (N). Esta prueba ha demostrado una estrecha correlación con mediciones de paneles entrenados, con un coeficiente de correlación (R) de 0.63 a 0.92 (Bruce, 2017) La compresión de corte en sistema de cuchillas múltiples, o prueba de Allo – Kramer (Cavitt *et al.*, 2004) ha sido también ampliamente utilizada para la determinación de la terneza de la carne, en dicha prueba, la fuerza requerida para la compresión se distribuye a través de todas las cuchillas que integran a la celda registrándola instrumentalmente en N.

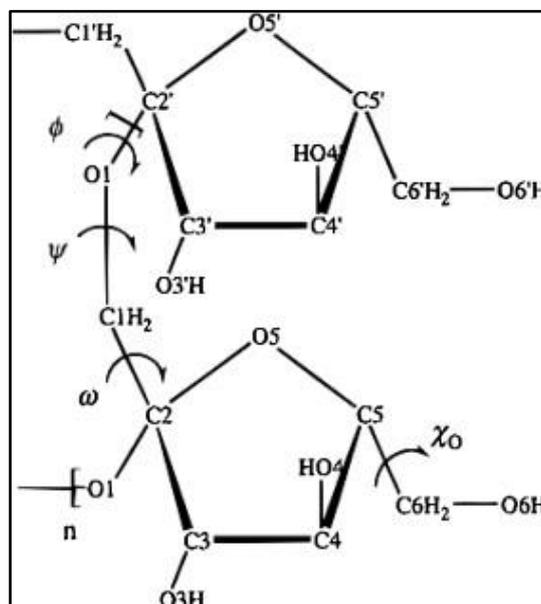
### **6.5 Fibra dietaria soluble: estructura, funcionalidad y composición química de la inulina**

La fibra dietaria se define como aquellos polímeros de hidratos de carbono con un grado de polimerización superior a 3 (Zuleta y Sambucetti, 2001), no es digerida ni absorbida por el tracto intestinal superior con fermentación parcial en el intestino grueso (Li *et al.*, 2017), llegando intacta al colon en donde es fermentada por bifidobacterias, generando metabolitos secundarios benéficos para el mantenimiento y mejora de la salud humana promoviendo la correcta función intestinal y la reestructuración de la microflora benéfica. Es así, que aquellos alimentos que *per se* funcionan como fibras, o bien, aquellos en los que ha sido agregada de manera intencional pueden clasificarse como alimentos funcionales según lo mencionan Küster y Vila (2017), ya que contienen uno o más compuestos relevantes con la finalidad de mejorar el estado de salud o la prevención de enfermedades, brindando beneficios adicionales a la nutrición básica.

En específico, la inulina es un fructooligosacárido (FOS) que en la naturaleza funge como principal carbohidrato de reserva en algunas especies vegetales (Figura 5), su estructura química consiste en una mezcla de fructanos, que pueden llegar a conformarla como un oligo o un polisacárido en función de la longitud de cadena. Sus cadenas están integradas por grupos  $\beta$  – D – fructosil unidos mediante enlaces glucosídicos  $\beta$  2 – 1, con un grupo terminal  $\alpha$  – D – glucosa unido mediante un enlace  $\alpha$  1 – 2 en una estructura heterodispersa (Figura 5), su grado de polimerización es variable en función de la fuente, de algunos factores post cosecha y de su proceso de extracción (Mensink *et al.*, 2015; Shoib *et al.*, 2016; Ulloa *et al.*, 2010; Zuleta y Sambucetti, 2001).

Algunas de las fuentes más comunes de obtención de la inulina son la cebolla, puerro, ajo, banana, trigo, centeno, dalia, alcachofa, espárragos, agave, entre otras (Mensink *et al.*, 2015; Shoaib *et al.*, 2016). La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) en el año de 1992 (Mensink *et al.*, 2015) reconoció la inulina como aditivo e ingrediente Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS, por sus siglas en inglés). Debido a sus características es que se encuentra dentro del grupo de las fibras dietarias solubles.

De igual manera las fibras otorgan otros beneficios entre los que se encuentran una menor asimilación de los lípidos, ajuste y mantenimiento del nivel de glucosa en sangre, aumento en la sensación de saciedad, mejora de la salud gastrointestinal por medio del estímulo del peristaltismo, llegando así a presentar efecto sobre la disminución en la incidencia de cáncer colorrectal sobre pacientes en los que se han realizado ensayos de su consumo (Flores *et al.*, 2016; Niu *et al.*, 2018; Rumpagaporn *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017). Son estas propiedades lo que hace que de manera general se considere a las fibras como ingredientes funcionales y otorgan dicha funcionalidad a los alimentos en los cuales son añadidas.



**Figura 5.** Representación química del átomo de la cadena de inulina.  
Fuente: Mensink, *et al.* (2015).

Las características específicas de la inulina, así como sus propiedades funcionales al interactuar con matrices alimentarias se abordarán con mayor detalle en el Capítulo I: Innovación tecnológica de alimentos adicionados con inulina.

### 6.6 Capacidad antioxidante de los ácidos grasos omega – 3

Los ácidos grasos se definen como los “ácidos monocarboxílicos de cadena alifática con número par de átomos de carbono que pueden ser saturados o insaturados” (Badui, 2006). Mientras que ácidos grasos omega – 3 se definen como ácidos grasos poliinsaturados que presentan su primer doble enlace en el carbono localizado en la tercera posición a partir del grupo metilo terminal de la cadena alifática (Eratte *et al.*, 2018; Zuidam y Nedovic, 2010), Ciriano *et al.* (2009) señalan que estos son capaces de disminuir el riesgo de contraer algunas enfermedades cardiovasculares, así como ciertos tipos de cáncer y son un factor para el desarrollo cognitivo, beneficios que han sido comprobados clínicamente.

Al igual que las fibras dietarias solubles, los ácidos grasos omega se clasifican como ingredientes y alimentos funcionales, las cuales fueron abordadas en el apartado anterior. Los principales ácidos grasos omega – 3 bioactivos son: cis 5, 8, 11, 15, 17 – ácido eicosapentanoico (EPA) y cis – 4, 7, 10, 13, 16, 19 – ácido docosahexanoico (DHA); los cuales son considerados ácidos grasos esenciales fisiológicamente debido a que cumplen con varias funciones (de Oliveira *et al.*, 2017; Eratte *et al.*, 2018; Zuidam y Nedovic, 2010). Una de las principales características en cuanto a la funcionalidad de los ácidos grasos omega es que pueden ser empleados como antioxidantes, tanto de manera directa como por medio de su adición a una matriz alimentaria para prevenir y/o retardar la oxidación lipídica y proteica (Lorenzo *et al.*, 2018).

Los antioxidantes son compuestos que han sido ampliamente utilizados en la industria de los alimentos, principalmente en aquellos de contenido lipídico significativo ya que tienen la capacidad de retardar la rancidez oxidativa, siendo algunos de los más comunes los derivados fenólicos tales como el tert – butilhidroxianisol (BHA) y el tert – butilhidroxitolueno (BHT) (Bodoira *et al.*, 2017). La cantidad que puede ser agregada es definida por la Legislación vigente de cada país, en Canadá y en los Estados Unidos el límite máximo permitido es de 200 mg/kg en grasas, aceites y goma de mascar; y se manejan niveles de 50 mg/kg en cereales de desayuno y en productos deshidratados derivados de la patata (Yáñez-Sedeño *et al.*, 1991).

La presencia de antioxidantes estabiliza los radicales libres, transformándolos a no – radicales por medio de la donación de electrones y el hidrógeno, metales de transición quelantes, y disolviendo los compuestos generados por la peroxidación (Rajauria *et al.*, 2016); sin embargo,

en la actualidad existe una tendencia hacia la no adición de aditivos sintéticos sobre alimentos, por lo que autores como Jiang y Xiong (2016) han determinado la capacidad antioxidante de numerosos compuestos de origen natural tales como la vitamina A ( $\beta$  – caroteno como precursor), vitamina C (ácido ascórbico), y vitamina E ( $\alpha$  – tocoferol), así como algunos minerales en los que se han destacado el selenio y el zinc que promueven la salud cardiovascular y la prevención de cáncer.

En el caso específico de la industria cárnica, el uso de antioxidantes ha demostrado ser un medio efectivo para minimizar el desarrollo de la rancidez oxidativa, prolongar la vida de anaquel y mejorar la calidad nutricional de la carne. Dichos antioxidantes pueden ser suplementados a las dietas de los animales o de manera directa sobre los productos cárnicos procesados (Rajauria *et al.*, 2016). Por otro lado, la incorporación de ingredientes de origen vegetal tales como el salvado de arroz y el extracto de nuez que son ricos en vitamina E, vitamina B y polifenoles en salchichas, carne reestructurada y otros productos cárnicos, mejoran la estabilidad oxidativa, textura y el valor nutricional (Ciriano *et al.*, 2009). El consumo de productos cárnicos adicionados con antioxidantes naturales ha demostrado fortalecer la eficacia antioxidante endógena en contra del estrés oxidativo y el daño tisular, así como enfermedades degenerativas causadas por los radicales libres (Jiang y Xiong, 2016). Por ello es que se han realizado estudios con el fin de cuantificar la capacidad antioxidante de compuestos naturales con potencialidad de aplicación en carne y productos derivados, tal y como se puede observar en el Cuadro 2.

#### **6.6.1 Ácidos grasos poliinsaturados: el aceite de semilla de chía como fuente alternativa de antioxidantes**

Las tendencias actuales a utilizar omega – 3 de origen vegetal ha ido en aumento, a fin de sustituir las de origen animal (Tenore *et al.*, 2018). Entre ellas resalta la chía, la cual representa una excelente alternativa al generar menor olor a rancidez tras el paso del tiempo, cuando comienzan a ocurrir los procesos oxidativos, además de que se encontró un mayor contenido de ácido  $\alpha$  – linolénico y de ácido linoleico (Timilsena *et al.*, 2017) como se observa en el Cuadro 3, en comparación con algunas fuentes tradicionales de origen animal.

La chía (*Salvia hispánica* L.) es una planta arbustiva anual perteneciente a la familia de las Lamiáceas, nativa del sur de México y del norte de Guatemala. Su semilla contiene alrededor

de 0.32 g aceite/g semilla; 0.28 g fibra/g semilla y 0.05 g semilla/g semilla, y su aceite contiene la mayor proporción de ácido  $\alpha$  – linolénico (0.6 g/g aceite) con respecto a otras fuentes vegetales conocidas; en cuanto a aminoácidos esenciales, el de mayor presencia es la leucina (Bodoira *et al.*, 2017; Copado *et al.*, 2017; Ding *et al.*, 2018). Se han reportado concentraciones de dicho ácido graso de hasta por encima de 67.8%, siendo así superior en comparación a otras fuentes vegetales ampliamente utilizadas como la linaza, la canola y la soja (Julio *et al.*, 2015). Debido a lo mencionado en párrafos anteriores, en el presente estudio se utilizará aceite extraído de la semilla de chía como fuente de ácidos grasos omega – 3, cuyos beneficios y efectos sobre el cuerpo humano y sobre las matrices alimentarias ya se han descrito; sin embargo, dichos compuestos, principalmente el aceite de semilla de chía al tener un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados suele ser susceptible a la oxidación (Copado *et al.*, 2017; Díaz-Rojas *et al.*, 2004; Ferguson *et al.*, 2014; Zuidam y Nedovic, 2010) por el mecanismo de radicales libres dados factores ambientales como la presencia de oxígeno, luz, temperatura, entre otros; por lo que la microencapsulación de dichos compuestos bioactivos representa una excelente alternativa con el fin de preservar su integridad durante el mayor tiempo posible.

**Cuadro 2.** Comparativo de la capacidad antioxidante de compuestos de origen vegetal cuantificada mediante diversas técnicas.

<i>Antioxidante</i>	<i>Capacidad antioxidante (%)</i>	<i>Técnica</i>	<i>Autores</i>
Aceite de semilla de chía	40.3 ± 0.29	DPPH	Bodoira <i>et al.</i> (2017)
Tintura de <i>Menta piperita</i> L.	4.3 ± 0.6	DPPH con electrodo DPV	Ziyatdinova <i>et al.</i> (2017)
Tintura de <i>Calendula officinalis</i> L.	20 ± 1		
Tintura de <i>Echinacea purpurea</i> L.	30 ± 2		
Tintura de <i>Cratageus Tourn</i> L.	36 ± 2		
Tintura de <i>Leonorus cardiaca</i> L.	16.6 ± 0.4		
Tintura de <i>Schisandra chinensis</i>	44.0 ± 0.9		
Tintura de <i>Valeriana officinalis</i> L.	10 ± 2		
Tintura de <i>Aralia elata</i>	60 ± 1		
Tintura de <i>Panax ginseng</i>	28 ± 2		
Tintura de <i>Paeonia anomala</i> L.	47 ± 6		
Infusión de <i>Calendula officinalis</i> L.	29 ± 4		
Infusión de <i>Leonorus cardiaca</i> L.	32 ± 1		
Infusión de <i>Tilia</i> L.	32 ± 3		
Cocido de <i>Hypericum perforatum</i> L.	44 ± 2		
Cocido de <i>Arctostaphylos uva – ursi</i> L.	48 ± 1		
Cocido de <i>Matricaria chamomilla</i> L.	28 ± 4		
Acido ascórbico	120.10 ± 1.04 (EC50)	DPPH	Zhu <i>et al.</i> (2017)
α – tocoferol	93.96 ± 1.05 (EC50)		
BHT	149.2 ± 1.04 (EC50)		
Sésamo	86.11 ± 1.02 (EC50)		
Lías de vino tinto	56.46 ± 1.18 (EC20)	DPPH	Carmona-Jiménez <i>et al.</i> (2014)
Vástago de vino tinto	42.04 ± 0.85 (EC20)		
Vino tinto joven	14.25 ± 0.17 (EC20)		
Vino tinto añejado	13.30 ± 0.20 (EC20)		
Semilla de uva roja	11.64 ± 0.05 (EC20)		
Semilla de uva blanca	6.14 ± 0.04 (EC20)		
Cocoa	3.25 ± 0.32	DPPH combinado con NP – HPLC	Pedan <i>et al.</i> , (2016)

Fuente: Elaboración propia.

**Cuadro 3.** Comparación de ácidos grasos omega – 3 de aceites de chía analizados por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG – EM).

Ácido graso	Clave	Sardina (%)	Salmón (%)	Chía (%)
<b>Láurico</b>	C 12	ND	ND	2.17
<b>Mirístico</b>	C 14	7.7	7.64	ND
<b>Palmítico</b>	C 16	26.34	20.08	13.67
<b>Palmitoleico</b>	C 16: 1n – 7	8.33	9.05	ND
<b>Estearico</b>	C 18	6.7	3.81	ND
<b>Oleico</b>	cisC18: 1n – 9	12.57	20.79	5.44
<b>Elaidico</b>	transC18: 1n – 9	ND	3.74	6.04
<b>LA</b>	cisC18: 2n – 6	1.1	3.53	ND
<b>cLA</b>	C18: 2n – 6	ND	ND	20.61
<b>γ - linolénico</b>	C18: 3n – 6	2.01	ND	ND
<b>ALA</b>	C18: 3n – 3	ND	1.44	52.52
<b>AA</b>	C20: 4n – 6	ND	1.14	ND
<b>EPA</b>	C20: 5n – 3	15.73	12.58	ND
<b>DHA</b>	C22: 6n - 3	19.25	16.12	ND

Fuente: Corrella Madureño, *et al.* (2015).

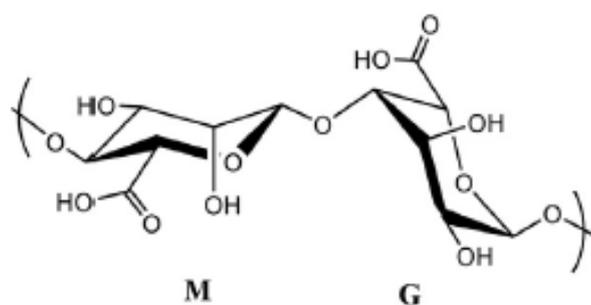
### 6.7 Microencapsulación de compuestos bioactivos por coacervación simple.

La microencapsulación se define como una técnica de inclusión que se basa en el confinamiento de una sustancia dentro de una matriz polimérica cubierta por una o más membranas semipermeables, otros autores la definen como la “tecnología de empaquetamiento de materiales sólidos, líquidos o gaseosos dentro de pequeñas cápsulas con la finalidad de que dichos materiales se encuentren dentro de las mismas por periodos de tiempo prolongados, con la consecuente liberación controlada de los mismos” (Champagne y Fustier, 2007; Díaz-Rojas *et al.*, 2004; Eratte *et al.*, 2018), lo cual ha sido ampliamente utilizado en la industria farmacéutica y en la de los alimentos.

Algunas de las técnicas para llevar a cabo la microencapsulación son las siguientes: secado por aspersión, lecho fluidizado, extrusión, formación de emulsiones y gelificación de compuestos seguida por aspersión (Champagne y Fustier, 2007). Para el caso específico del empaquetamiento o inmovilización de compuestos oleosos, las técnicas más comunes se incluyen dentro de la gelificación, lo que debido al tipo de reacciones que involucran ha recibido el nombre de coacervación, la cual ha demostrado gran efectividad para resguardar la integridad de estos aceites y otros compuestos bioactivos.

Dentro de las técnicas de coacervación para la microencapsulación de compuestos bioactivos, es común el uso de polímeros que son capaces de formar geles en la presencia de iones divalentes, tal es el caso del alginato, que es un biopolímero de alto peso molecular que se extrae generalmente de algas y de bacterias, y es bien conocido por su biocompatibilidad y biodegradabilidad; su estructura básica es lineal compuesta por dos bloques, uno de ácido  $\alpha$  – L – glucorónico (estructura G) y otro de ácido  $\beta$  – D – manurónico (estructura M), unidos mediante enlaces 1 – 4, dividido en sus respectivos grupos homopoliméricos (Figura 6); su solubilidad en agua está en función de su grado de disociación y del tipo de contraión. Así, a pH's menores de 3, las estructuras M y G se precipitan en forma de ácido algínico; la neutralización del ácido algínico ocurre a pH's mayores de 4, cuando se convierte en su sal correspondiente. Un ejemplo de compuesto a partir de alginato soluble en agua es el alginato de sodio (Artiga-Artigas *et al.*, 2017; Conzatti *et al.*, 2017; Dumont *et al.*, 2017; Salama *et al.*, 2018; Smyth *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017; Zuidam y Nedovic, 2010).

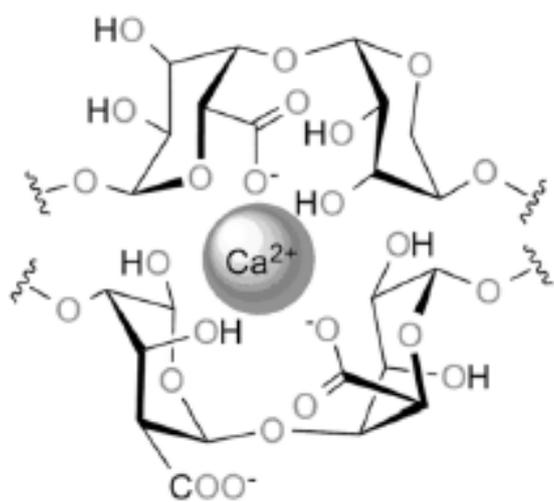
En la industria de los alimentos, el alginato (Figura 6) se ha utilizado como espesante, modificador de textura, e incluso, como formador de películas, ya que es una molécula bastante hidrofílica (Wu *et al.*, 2018). Su interacción con otros polímeros o copolímeros por medio de puentes de hidrógeno, fuerzas dipolo – dipolo, o la formación de complejos para la formación de nuevos materiales homopoliméricos (Yang *et al.*, 2018) se ha aprovechado con fines de formación y mejora de materiales poliméricos, que ofertan un amplio abanico de posibilidades en desarrollos tecnológicos en el área de alimentos, farmacia, industria automotriz, entre otros. Por su compatibilidad y biodegradabilidad, fue reconocido como GRAS por la FDA (Tsai *et al.*, 2017).



**Figura 6.** Estructura química del alginato.

Fuente: Vueva *et al.* (2018)

Para fines de microencapsulación, los alginatos han sido ampliamente utilizados debido a que tienen dentro de su estructura molecular grupos funcionales carboxilo, que son de carga negativa y que interactúan por medio de fuerzas iónicas con el ambiente que las rodea; por ejemplo, en la presencia de iones multivalentes, el alginato forma redes poliméricas por medio de un proceso conocido como gelación iónica o coacervación, dada su capacidad para formar geles. En estas redes, las cadenas lineales de alginato se reacomodan por medio de interacciones iónicas, resultando así en un entrecruzamiento que es conocido como “caja de huevo” (Figura 7) (Artiga-Artigas *et al.*, 2017; Bannikova *et al.*, 2018; Cerciello *et al.*, 2017).



**Figura 7.** Modelo “caja de huevo”.  
Fuente: Costa *et al.* (2018)

A dicha estructura entrecruzada también se le denomina también como complejo polielectrolito, debido a la interacción del alginato como polianión con policationes o con iones divalentes (Conzatti *et al.*, 2017) que resultan de la disociación del cloruro de calcio en agua. Tsai *et al.* (2017) mencionan que el bloque homopolimérico G es el responsable de formar dichas estructuras al interactuar con algunos cationes como el  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  y  $\text{Al}^{3+}$ . Este polímero, una vez gelificado, es muy sensible a los cambios de pH, encogiendo en condiciones ácidas, y presentando un efecto de hinchamiento en ambientes de pH's elevados; característica que hace del alginato un polímero ampliamente utilizado para la encapsulación y posterior liberación controlada de proteínas, fármacos y probióticos.

Es así que durante el desarrollo de la presente Tesis de Investigación se abordará la microencapsulación de aceite omega – 3 extraído de la semilla de chía y de inulina de agave en una matriz biopolimérica a base de alginato, empleando la técnica de coacervación simple

por medio del entrecruzamiento de alginato de sodio en una solución de cloruro de calcio, previa conformación de una emulsión conteniendo a los compuestos bioactivos. Posteriormente, dichas microesferas serán aplicadas sobre “patties” de carne de pierna de cerdo con tres diferentes niveles de inclusión y el control en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con medidas repetidas, a fin de evaluar el efecto de las microesferas sobre las propiedades fisicoquímicas y de textura de la carne de cerdo molida y cocinada, así como el efecto antioxidante que el aceite de semilla de chía tiene sobre los lípidos y proteínas de la matriz cárnica.

## 7. Literatura citada

- Aristoy, M.C., Toldrá, F., 1998. Concentration of Free Amino Acids and Dipeptides in Porcine Skeletal Muscles with Different Oxidative Patterns. *Meat Sci.* 50: 327-332.
- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., Martín-Belloso, O., 2017. Effect of sodium alginate incorporation procedure on the physicochemical properties of nanoemulsions. *Food Hydrocoll.* 70, 191–200.
- Badui, S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Pearson. México, D.F. pp: 738.
- Bannikova, A., Evteev, A., Pankin, K., Evdokimov, I., Kasapis, S., 2018. Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. *LWT* 90: 310–315.
- Beriain, M.J., 2017. Chapter 1 - Improvement of the Functional and Healthy Properties of Meat Products. *Food Qual. Research Institute on Innovation and Sustainable Development in Food Chain*. Universidad Pública de Navarra.
- Bodoira, R.M., Penci, M.C., Ribotta, P.D., Martínez, M.L., 2017. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT* 75: 107–113.
- Boletín mensual de la producción: Carne en canal de porcino. Visto en [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/379006/Bolet\\_n\\_mensual\\_de\\_la\\_pr oducci\\_n\\_carne\\_en\\_canal\\_porcino\\_julio\\_2018.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/379006/Bolet_n_mensual_de_la_pr oducci_n_carne_en_canal_porcino_julio_2018.pdf). Visitado el 09/09/2018.
- Bruce, H.L., 2017. Chapter 7 - Advances in the Understanding and Measurement of Meat Texture. *New Aspects of Meat Qual.* University of Alberta, Edmonton, AB, Canada
- Carmona-Jiménez, Y., García-Moreno, M.V., Igartuburu, J.M., Garcia Barroso, C., 2014. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. *Food Chem.* 165: 198–204.

- Caro, D., Davis, S.J., Kebreab, E., Mitloehner, F., 2018. Land-use change emissions from soybean feed embodied in Brazilian pork and poultry meat. *J. Clean. Prod.* 172: 2646–2654.
- Cavitt, L.C., Youm, G.W., Meullenet, J.F., Owens, C.M., Xiong, R., 2004. Prediction of Poultry Meat Tenderness Using Razor Blade Shear, Allo-Kramer Shear, and Sarcomere Length. *J. Food Sci.* 69:
- Cerciello, A., Del Gaudio, P., Granata, V., Sala, M., Aquino, R.P., Russo, P., 2017. Synergistic effect of divalent cations in improving technological properties of cross-linked alginate beads. *Int. J. Biol. Macromol.* 101: 100–106.
- Champagne, C.P., Fustier, P., 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 184–190.
- Chen, J., Yin, X., Mei, L., 2018. Holistic Innovation: An Emerging Innovation Paradigm. *Int. J. Innov. Stud.* 2: 1–13.
- Ciriano, M.G.-I. de, García-Herreros, C., Larequi, E., Valencia, I., Ansorena, D., Astiasarán, I., 2009. Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in  $\omega$ -3 PUFA. *Meat Sci.* 83: 271–277.
- Conzatti, G., Faucon, D., Castel, M., Ayadi, F., Cavalie, S., Tourrette, A., 2017. Alginate/chitosan polyelectrolyte complexes: A comparative study of the influence of the drying step on physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* 172: 142–151.
- Copado, C.N., Diehl, B.W.K., Ixtaina, V.Y., Tomás, M.C., 2017. Application of Maillard reaction products on chia seed oil microcapsules with different core/wall ratios. *LWT* 86: 408–417.
- Costa, M.J., Marques, A.M., Pastrana, L.M., Teixeira, J.A., Sillankorva, S.M., Cerqueira, M.A., 2018. Physicochemical properties of alginate-based films: Effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocoll.* 81: 442–448.
- de Oliveira, M.R., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M., Jardim, F.R., 2017. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and mitochondria, back to the future. *Trends Food Sci. Technol.* 67: 76–92.
- Deng, Y., Rosenvold, K., Karlsson, A.H., Horn, P., Hedegaard, J., Steffensen, C.L., Andersen, H.J., 2002. Relationship Between Thermal Denaturation of Porcine Muscle Proteins and Water-holding Capacity. *J. Food Sci.* 67: 1642–1647.
- Díaz-Rojas, E., Pacheco-Aguilar, R., Lizardi, J., Argüelles-Monal, W., Valdez, M., Rinaudo, M., Goycoolea, F., 2004. Linseed pectin: gelling properties and performance as an encapsulation matrix for shark liver oil. *Food Hydrocoll.* 18: 293–304.

- Ding, Y., Lin, H.-W., Lin, Y.-L., Yang, D.-J., Yu, Y.-S., Chen, J.-W., Wang, S.-Y., Chen, Y.-C., 2018. Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *J. Food Drug Anal.* 26: 124–134.
- Dumont, M., Villet, R., Guirand, M., Montebault, A., Delair, T., Lack, S., Barikosky, M., Crepet, A., Alcouffe, P., Laurent, F., David, L., 2017. Processing and antibacterial properties of chitosan-coated alginate fibers. *Carbohydr. Polym.* Accepted Manuscript
- Eratte, D., Dowling, K., Barrow, C.J., Adhikari, B., 2018. Recent advances in the microencapsulation of omega-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: A review. *Trends in Food Sci. & Tech.* 71: 121-131.
- Estévez, M., Ventanas, S., Heinonen, M., Puolanne, E., 2011. Protein Carbonylation and Water-Holding Capacity of Pork Subjected to Frozen Storage: Effect of Muscle Type, Premincing, and Packaging. *J. Agric. Food Chem.* 59: 5435–5443.
- Fanzo, J., 2015. Ethical issues for human nutrition in the context of global food security and sustainable development. *Glob. Food Secur.* 7: 15–23.
- FAO: Cerdos, producción y sanidad animal. Visto en <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/pigs/home.html>. Visitado el 16/10/2018.
- FDA en español. Visto en <https://www.fda.gov/aboutfda/enespanol/default.htm>. Visitado el 11/07/2018.
- Ferguson, T.I., Emery, S., Price-Davies, R., Cosslett, A.G., 2014. A review of stability issues associated with vitamins in parenteral nutrition. *e-spen Jour.* 9: 49-53.
- Fischer, K., 2007. Drip loss in pork: influencing factors and relation to further meat quality traits. *J. Anim. Breed. Genet.* 124: 12–18.
- Flores, A.C., Morlett, J.A., Rodríguez, R., 2016. Inulin Potential for Enzymatic Obtaining of Prebiotic Oligosaccharides. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 56: 1893–1902.
- Ganhão, R., Morcuende, D., Estévez, M., 2010. Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Sci.* 85: 402–409.
- Gault, F., 2018. Defining and measuring innovation in all sectors of the economy. *Res. Policy* 47: 617–622.
- Gupta, R.K., Sharma, A., Sharma, R., 2007. Instrumental Texture Profile Analysis (TPA) of Shelled Sunflower Seed Caramel Snack Using Response Surface Methodology. *Food Sci. Technol. Int.* 13: 455–460.

- Han, M., Bertram, H.C., 2017. Designing healthier comminuted meat products: Effect of dietary fibers on water distribution and texture of a fat-reduced meat model system. *Meat Sci.* 133: 159–165.
- Hashim, D.M., Man, Y.B.C., Norakasha, R., Shuhaimi, M., Salmah, Y., Syahariza, Z.A., 2010. Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins. *Food Chem.* 118: 856–860.
- Hernandez-Vivanco, A., Bernardo, M., Cruz-Cázares, C., 2018. Sustainable innovation through management systems integration. *J. Clean. Prod.* 196: 1176–1187.
- Infosiap. Avance acumulado de la producción pecuaria año 2018. Visto en [http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance\\_siap\\_gb/pecAvanceProd.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp). Visitado el 09/09/2018.
- Jiang, J., Xiong, Y.L., 2016. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Sci.* 120: 107–117.
- Julio, L.M., Ixtaina, V.Y., Fernández, M.A., Sánchez, R.M.T., Wagner, J.R., Nolasco, S.M., Tomás, M.C., 2015. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of  $\omega$ -3 fatty acids. *J. Food Eng.* 162: 48–55.
- Kahn, K.B., 2018. Understanding innovation. *Bus. Horiz.* 61: 453–460.
- Kim, M., Yoo, I., Lee, S.-Y., Hong, Y., Kim, H.-Y., 2016. Quantitative detection of pork in commercial meat products by TaqMan® real-time PCR assay targeting the mitochondrial D-loop region. *Food Chem.* 210: 102–106.
- Küster, I., Vila, N., 2017. Health/Nutrition food claims and low-fat food purchase: Projected personality influence in young consumers. *J. Funct. Foods* 38: 66–76.
- Lacroix, S., Cantin, J., Nigam, A., 2017. Contemporary issues regarding nutrition in cardiovascular rehabilitation. *Ann. Phys. Rehabil. Med.* 60: 36–42.
- Li, Q., Liu, R., Wu, T., Zhang, M., 2017. Aggregation and rheological behavior of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Res. Int.* 102: 291–302.
- Lorenzo, J.M., Pateiro, M., Domínguez, R., Barba, F.J., Putnik, P., Kovačević, D.B., Shpigelman, A., Granato, D., Franco, D., 2018. Berries extracts as natural antioxidants in meat products: A review. *Food Res. Int.* 106: 1095–1104.
- Lourenço, S., Gunge, V.B., Andersson, T.M.-L., Andersen, C.L.E., Lund, A.-S.Q., Køster, B., Hansen, G.L., 2018. Avoidable colorectal cancer cases in Denmark – The impact of red and processed meat. *Cancer Epidemiol.* 55: 1–7.
- Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71: 100–121.

- Martin, L.F., 1955. Applications of Research to Problems of Candy Manufacture, in: *Advances in Food Research*. Elsevier, pp. 1–65.
- Matarneh, S.K., England, E.M., Scheffler, T.L., Gerrard, D.E., 2017. The Conversion of Muscle to Meat, in: *Lawrie's Meat Science*. Elsevier, pp. 159–185.
- Mensink, M.A., Frijlink, H.W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W.L.J., 2015. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydr. Polym.* 130: 405–419.
- Nemati, M., Oveisi, M., Abdollahi, H., Sabzevari, O., 2004. Differentiation of bovine and porcine gelatins using principal component analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 34: 485–492.
- Neumayer, E., Edward Elgar Publishing, 2013. *Weak versus strong sustainability: exploring the limits of two opposing paradigms*. Edward Elgar Pub., Cheltenham. pp. 8-30.
- Niu, Y., Li, N., Xia, Q., Hou, Y., Xu, G., 2018. Comparisons of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels. *LWT - Food Sci. Technol.* 88: 56–63.
- Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos. Visto en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/194ssa104.html> visitado el 11/07/2018.
- Oliveira Neto, G.C. de, Pinto, L.F.R., Amorim, M.P.C., Giannetti, B.F., Almeida, C.M.V.B. de, 2018. A framework of actions for strong sustainability. *J. Clean. Prod.* 196: 1629–1643.
- Pearce, K.L., Rosenvold, K., Andersen, H.J., Hopkins, D.L., 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — A review. *Meat Sci.* 89: 111–124.
- Pedan, V., Fischer, N., Rohn, S., 2016. An online NP-HPLC-DPPH method for the determination of the antioxidant activity of condensed polyphenols in cocoa. *Food Res. Int.* 89: 890–900.
- Peres, L.M., Barbon Jr, S., Fuzyi, E.M., Barbon, A.P.A.C., Barbin, D.F., Maeda Saito, P.T., Andreo, N., Bridi, A.M., 2018. Fuzzy approach for classification of pork into quality grades: coping with unclassifiable samples. *Comput. Electron. Agric.* 150: 455–464.

- Prandi, B., Lambertini, F., Faccini, A., Suman, M., Leporati, A., Tedeschi, T., Sforza, S., 2017. Mass spectrometry quantification of beef and pork meat in highly processed food: Application on Bolognese sauce. *Food Control* 74: 61–69.
- Rajauria, G., Draper, J., MEDonnell, M., O’Doherty, J.V., 2016. Effect of dietary seaweed extracts, galactooligosaccharide and vitamin E supplementation on meat quality parameters in finisher pigs. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 37: 269–275.
- Reficco, E., Gutiérrez, R., Jaén, M.H., Auletta, N., 2018. Collaboration mechanisms for sustainable innovation. *J. Clean. Prod.* 203: 1170–1186.
- Rumpagaporn, P., Reuhs, B.L., Kaur, A., Patterson, J.A., Keshavarzian, A., Hamaker, B.R., 2015. Structural features of soluble cereal arabinoxylan fibers associated with a slow rate of in vitro fermentation by human fecal microbiota. *Carbohydr. Polym.* 130: 191–197.
- Sahoo, J., Chatli, M.K., 2016. *Textbook on Meat, Poultry and Fish Technology*. Astral International. India. pp. 542.
- Salama, A., Diab, M.A., Abou-Zeid, R.E., Aljohani, H.A., Shoueir, K.R., 2018. Crosslinked alginate/silica/zinc oxide nanocomposite: A sustainable material with antibacterial properties. *Compos. Commun.* 7: 7–11.
- Sans, P., Combris, P., 2015. World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961–2011). *Meat Sci.* 109: 106–111.
- Sasaki, K., Motoyama, M., Yasuda, J., Yamamoto, T., Oe, M., Narita, T., Imanari, M., Fujimura, S., Mitsumoto, M., 2010. Beef texture characterization using internationally established texture vocabularies in ISO5492:1992: Differences among four different end-point temperatures in three muscles of Holstein steers. *Meat Sci.* 86: 422–429.
- Schönborn, G., Berlin, C., Pinzone, M., Hanisch, C., Georgoulas, K., Lanz, M., 2018. Why social sustainability counts: The impact of corporate social sustainability culture on financial success. *Sustain. Prod. Consum.* Article in press.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP): Avance mensual de la producción pecuaria. Visto en [http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance\\_siap\\_gb/pecAvanceEdo.jsp](http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp). Visitado el 16/10/2018.
- Shabani, H., Mehdizadeh, M., Mousavi, S.M., Dezfouli, E.A., Solgi, T., Khodaverdi, M., Rabiei, M., Rastegar, H., Alebouyeh, M., 2015. Halal authenticity of gelatin using species-specific PCR. *Food Chem.* 184: 203–206.
- Shah, M.A., Bosco, S.J.D., Mir, S.A., 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.* 98: 21–33.

- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H.R., Shakeel, A., Ansari, A., Niazi, S., 2016. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydr. Polym.* 147: 444–454.
- SIAP: Cosechando números del campo. Productos pecuarios (carne de porcino). Visto en <http://www.numerosdelcampo.sagarpa.gob.mx/publicnew/productosPecuarios/cargarPagina/3#>. Visitado el 09/09/2018.
- Smyth, M., M'Bengue, M.-S., Terrien, M., Picart, C., Bras, J., Foster, E.J., 2018. The effect of hydration on the material and mechanical properties of cellulose nanocrystal-alginate composites. *Carbohydr. Polym.* 179: 186–195.
- Szczesniak, A.S., 1963. Classification of Textural Characteristics. *J. Food Sci.* 28: 385–389.
- Tenore, G.C., Caruso, D., Buonomo, G., D'Avino, M., Ciampaglia, R., Novellino, E., 2018. Plasma lipid lowering effect by a novel chia seed based nutraceutical formulation. *J. Funct. Foods* 42: 38–46.
- Timilsena, Y.P., Vongsivut, J., Adhikari, R., Adhikari, B., 2017. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chem.* 228: 394–402.
- Trout, G.R., 1989. Variation in Myoglobin Denaturation and Color of Cooked Beef, Pork, and Turkey Meat as Influenced by pH, Sodium Chloride, Sodium Tripolyphosphate, and Cooking Temperature. *J. Food Sci.* 54: 536–540.
- Tsai, F.-H., Kitamura, Y., Kokawa, M., 2017. Effect of gum arabic-modified alginate on physicochemical properties, release kinetics, and storage stability of liquid-core hydrogel beads. *Carbohydr. Polym.* 174: 1069–1077.
- Ulloa, J.A., Espinosa Andrews, H., Cruz Rodríguez, G.K., 2010. Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Rev. Fuente* 2: 5.
- Venien, A., Levieux, D., 2005. Differentiation of bovine from porcine gelatines using polyclonal anti-peptide antibodies in indirect and competitive indirect ELISA. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 39: 418–424.
- Verma, P., Raghubanshi, A.S., 2018. Urban sustainability indicators: Challenges and opportunities. *Ecol. Indic.* 93: 282–291.
- Vueva, Y., Connell, L.S., Chayanun, S., Wang, D., MEPhail, D.S., Romer, F., Hanna, J.V., Jones, J.R., 2018. Silica/alginate hybrid biomaterials and assessment of their covalent coupling. *Appl. Mater. Today* 11: 1–12.
- Wang, H.H., Chen, J., Bai, J., Lai, J., 2018. Meat packaging, preservation, and marketing implications: Consumer preferences in an emerging economy. *Meat Sci.* 145: 300–307.

- Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Fan, R., Gao, Y., 2015. Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber from orange peel assisted by steam explosion and dilute acid soaking. *Food Chem.* 185: 90–98.
- Wang, L.-F., Shankar, S., Rhim, J.-W., 2017. Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. *Food Hydrocoll.* 63: 201–208.
- Warris, P.D., 2007. The extraction of haem pigments from fresh meat. *Int. J. Food Sci. Technol.* 14: 75–80.
- Węglarz, A., 2010. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. *Czech J Anim Sci.* 12: 548-556.
- Wu, Z., Wu, J., Zhang, R., Yuan, S., Lu, Q., Yu, Y., 2018. Colloid properties of hydrophobic modified alginate: Surface tension,  $\zeta$ -potential, viscosity and emulsification. *Carbohydr. Polym.* 181: 56–62.
- Yang, M., Shi, J., Xia, Y., 2018. Effect of SiO<sub>2</sub>, PVA and glycerol concentrations on chemical and mechanical properties of alginate-based films. *Int. J. Biol. Macromol.* 107: 2686–2694.
- Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J.M., Polo Díez, L.M., 1991. Determination of tert-butylhydroxyanisole and tert-butylhydroxytoluene by flow injection with amperometric detection. *Anal. Chim. Acta* 252: 153–159.
- Zhang, G., Liu, T., Wang, Q., Chen, L., Lei, J., Luo, J., Ma, G., Su, Z., 2009. Mass spectrometric detection of marker peptides in tryptic digests of gelatin: A new method to differentiate between bovine and porcine gelatin. *Food Hydrocoll.* 23: 2001–2007.
- Zhang, H., Wang, J., Martin, W., 2018. Factors affecting households' meat purchase and future meat consumption changes in China: a demand system approach. *J. Ethn. Foods* 5: 24–32.
- Zhang, W., Zeng, G., Pan, Y., Chen, W., Huang, W., Chen, H., Li, Y., 2017. Properties of soluble dietary fiber-polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound-assisted alkaline extraction. *Carbohydr. Polym.* 172: 102–112.
- Zhu, J., Yi, X., Zhang, J., Chen, S., Wu, Y., 2017. Chemical profiling and antioxidant evaluation of Yangxinshi Tablet by HPLC–ESI-Q-TOF-MS/MS combined with DPPH assay. *J. Chromatogr. B* 1060: 262–271.
- Ziyatdinova, G., Snegureva, Y., Budnikov, H., 2017. Novel approach for the voltammetric evaluation of antioxidant activity using DPPH -modified electrode. *Electrochimica Acta* 247: 97–106.

Zuidam, N.J., Nedovic, V. (Eds.), 2010. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer New York, New York, NY.

Zuleta, A., Sambucetti, M.E., 2001. Inulin Determination for Food Labeling. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4570–4572.

# **CAPÍTULO I**

## **INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DE ALIMENTOS ADICIONADOS CON INULINA**

## **TECHNOLOGICAL INNOVATION OF FOOD ADDED WITH INULIN**

**CAPÍTULO I**  
**INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DE ALIMENTOS**  
**ADICIONADOS CON INULINA**

**TECHNOLOGICAL INNOVATION OF FOOD ADDED WITH INULIN**

Rocha – Díaz Héctor Manuel<sup>1</sup>, Hernández – Cázares Aleida Selene<sup>1\*</sup>, Recillas – Mota Maricarmen Thalía<sup>2</sup>, Salinas – Ruiz Josafhat<sup>1</sup>, Herrera – Corredor José Andrés<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados - Campus Córdoba. Programa de Postgrado en Innovación Agroalimentaria Sustentable. Km. 348 Carretera Federal Córdoba-Veracruz, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México, C.P. 94946.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Hermosillo. Grupo de Investigación de Biopolímeros. Carretera a la Victoria km. 0.6, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83304.

\*Autor de correspondencia: aleyse@colpos.mx

**RESUMEN**

La incidencia de padecimientos como obesidad, cáncer, diabetes, enfermedades coronarias, entre otras, muestran desde el 2016 un aumento significativo, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF). Esto como consecuencia de lo que algunos autores definen como “nutrición inadecuada”, fenómeno que puede ser revertido mediante una buena alimentación que incluya compuestos funcionales como las fibras dietarias solubles. Los alimentos funcionales se definen como aquellos que contienen compuestos relevantes para mejorar la salud y prevenir enfermedades. Así han surgido los “claims nutricionales”, concepto que ha aprovechado la industria láctea, panadera, confitera y cárnica principalmente para la introducción de programas innovadores en materia de alimentos funcionales que ayuden en algún padecimiento en específico. En este contexto, la inulina, fructooligosacárido (FOS) que funge como carbohidrato de reserva de energía en variedad de vegetales, posee propiedades funcionales como fibra dietaria soluble a la vez que mejora algunos de los atributos sensoriales de los alimentos a los que se ha añade, pudiendo funcionar incluso como sustituyente de compuestos grasos por su alta capacidad de absorción de agua, lo que ha sido comprobado en algunos ensayos de interacción con distintas matrices alimentarias. Por lo que se puede afirmar que la inulina tiene muy buenas propiedades tanto funcionales como tecnológicas en su adición a alimentos, pero se requieren futuras investigaciones con el fin de optimizar dichas propiedades.

**Palabras clave:** Funcionalidad, inulina, fibras solubles.

## **ABSTRACT**

The incidence of conditions such as obesity, cancer, diabetes, coronary heart disease, among others, have shown a significant increase since 2016 according to data from the World Health Organization (WHO) and the United Nations Children's Fund (UNICEF). This as a consequence of what is defined by some authors as "inadequate nutrition", phenomenon that can be reversed by a good diet including functional compounds such as soluble dietary fibers. Functional foods are defined as those that contain relevant compounds in order to improve health and prevent disease. This is how "nutritional claims" have emerged; concept that has been approached by the dairy, bakery, confectionery and meat industry for the introduction of innovative programs in the topic of functional foods that help in any specific disease. In this context, inulin, that is a fructooligosaccharide (FOS) which serves as energy reserve carbohydrate in a variety of vegetables, has functional properties such as soluble dietary fiber while improving some of the sensory attributes of the food in which it has been added, being able to function as a substitute for fatty compounds due to its high water absorption capacity, that has been proven in some interaction tests with different food matrixes. Therefore, it can be affirmed that inulin has good functional and technological properties in its addition to food, however future research is needed with the aim to improve those properties.

**Key words:** Functionality, inulin, soluble fibers.

## **1.1. INTRODUCCIÓN**

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y del Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), para el 2016, a nivel mundial alrededor de 1.9 billones de personas padecen sobrepeso y obesidad, y hay un estimado de 41 millones de niños menores de 5 años de edad con sobrepeso, correspondiendo dos tercios de esta última población a países de bajo y medio desarrollo. La OMS para ese mismo año 2016 señala que los padecimientos de hipertensión, diabetes, sobrepeso e hipercolesterolemia, representa 4 de los 10 mayores factores de riesgo asociados con la mortandad a nivel internacional, consecuencia de lo que algunos autores han definido como "nutrición inadecuada". Ante ello, la buena alimentación y la inclusión de compuestos funcionales como las fibras dietarias solubles ayudan en gran medida a revertir dichos efectos (Cavaliere *et al.*, 2016; Fanzo, 2015; Han and Bertram, 2017; Lacroix *et al.*, 2017; Murakami y Sasaki, 2018).

Por ello comenzó a surgir una preocupación general por la adquisición y la producción de alimentos de buena calidad no solo en términos de inocuidad, sino también en cantidad y tipo

de calorías, surgiendo así nuevas demandas por alimentos fortificados y aquellos que contienen aditivos que promueven el bienestar humano, lo que la industria de alimentos ha satisfecho mediante la implementación de diversos programas de innovación en el desarrollo de alimentos funcionales (Bannikova *et al.*, 2018; Julio *et al.*, 2015).

Según el Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (2017), un alimento funcional es aquel que incluye una variedad de compuestos relevantes con el fin de mejorar el estado de salud, o bien, la prevención de enfermedades. Estos alimentos brindan beneficios adicionales a la nutrición básica. Por ejemplo, los alimentos que son bajos en grasas o azúcares, o aquellos en los que ha sido incorporada fibra (Küster y Vila, 2017).

En el mercado actual de los alimentos, ha surgido lo que en mercadotecnia se conoce como “claim nutricionales”, productos alimentarios que demuestran poseer propiedades funcionales para el bienestar humano, lo que ha llevado a las industrias alimentarias a la reingeniería y reformulación de sus procesos y productos existentes o a desarrollar nuevos productos, a fin de que estos sean comercializables como alternativas más saludables. (Loebnitz y Grunert, 2018).

Lo mencionado anteriormente es la antesala de las tendencias actuales en la producción y el consumo de productos agroalimentarios, tales como la orientación a la salud, el etiquetado limpio, el consumo de productos bajos en grasas saturadas y azúcares, entre otras. Cavaliere *et al.* (2016) han demostrado que en los últimos 10 años la presentación y contenido de las etiquetas en los alimentos ha sido uno de los principales factores al momento de la elección del consumidor. Por lo tanto, la responsabilidad de quienes desarrollan nuevos productos agroalimentarios es el de asegurar que dichos desarrollos realmente contengan ingredientes y aditivos que sean benéficos para la salud, surgiendo la necesidad de aprovechar cierto tipo de compuestos macromoleculares e incluso mejorarlos.

## **1.2 ALTERNATIVAS DE CONSUMO DE LA INULINA**

La inulina es un fructooligosacárido (FOS) que en la naturaleza funge como principal carbohidrato de reserva en algunas especies vegetales, su estructura química consiste en una mezcla de fructanos, que pueden llegar a conformarla como un oligo o un polisacárido en función de la longitud de cadena. Sus cadenas están integradas por grupos  $\beta - D -$  fructosil unidos mediante enlaces glucosídicos  $\beta 2 - 1$ , con un grupo terminal  $\alpha - D -$  glucosa unido

mediante un enlace  $\alpha$  1 – 2 en una estructura heterodispersa, su grado de polimerización es variable en función de la fuente, de algunos factores post cosecha y de su proceso de extracción (Mensink *et al.*, 2015; Shoaib *et al.*, 2016; Ulloa *et al.*, 2010; Zuleta y Sambucetti, 2001).

Algunas de las fuentes más comunes de obtención de la inulina son la cebolla, puerro, ajo, banana, trigo, centeno, dalia, alcachofa, espárragos, agave, entre otras (Mensink *et al.*, 2015; Shoaib *et al.*, 2016). La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) en el año de 1992 (Mensink *et al.*, 2015) reconoció la inulina como aditivo e ingrediente Generalmente Reconocido como Seguro (GRAS, por sus siglas en inglés).

Por sus características, este compuesto se encuentra dentro del grupo de las fibras solubles ya que es resistente a la digestión y absorción en el intestino delgado del ser humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso (Li *et al.*, 2017), estas fibras al llegar intactas al colon son fermentadas por bifidobacterias (Shoaib *et al.*, 2016), generando metabolitos secundarios benéficos para el mantenimiento y mejora de la salud humana promoviendo la correcta función intestinal y la reestructuración de la microflora benéfica.

De igual manera las fibras otorgan otros beneficios entre los que se encuentran una menor asimilación de los lípidos, ajuste y mantenimiento del nivel de glucosa en sangre, aumento en la sensación de saciedad, mejora de la salud gastrointestinal por medio del estímulo del peristaltismo, llegando así a presentar efecto sobre la disminución en la incidencia de cáncer colorrectal sobre pacientes en los que se han realizado ensayos de su consumo (Flores *et al.*, 2016; Niu *et al.*, 2018; Rumpagaporn *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017). Son estas propiedades lo que hace que de manera general se considere a las fibras como ingredientes funcionales y otorgan dicha funcionalidad a los alimentos en los cuales son añadidas.

### **1.3 LA INULINA Y SU INTERACCIÓN CON MATRICES ALIMENTARIAS**

Dentro de las matrices alimentarias, las fibras solubles, en específico la inulina tiene una amplia gama de funciones dependiendo de su estructura y proceso de obtención. La inulina de cadena corta suele ser utilizada como edulcorante en sustitución de la sacarosa; mientras que las de cadenas más largas llegan a ser utilizadas como agente espesante, gelificante, formadora y estabilizadora de emulsiones, formadora de películas y membranas y como sustitutos de grasa dadas sus características sensoriales de palatabilidad, sabor neutral y ausencia de retrogusto

(Gao *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2017; Mensink *et al.*, 2015; Shoaib *et al.*, 2016; Zuleta y Sambucetti, 2001). Wang *et al.* (2015) mencionan también que las fibras dietarias poseen propiedades hidrocoloidales lo que bien puede ser aprovechado en la mejora de procesos tecnológicos agroindustriales.

Por ello, las fibras solubles han sido utilizadas en el procesamiento de alimentos como modificadores de textura y propiedades reológicas; así como, para modificar las propiedades coligativas del sistema – alimento, aumentando su valor en el mercado, generando productos alimentarios funcionales y promotores de la salud humana (Li *et al.*, 2017).

En la industria de los alimentos, la inulina tiene gran variedad de aplicaciones, entre las que se encuentran la sustitución de grasas saturadas en productos cárnicos procesados, jugando papeles similares en otras áreas de la industria de los alimentos como lo son lácteos, panificación y cárnicos, entre otros (Flores *et al.*, 2016; Han y Bertram, 2017; Rodríguez Furlán *et al.*, 2014).

La inulina se ha utilizado también como FOS prebiótico en formulaciones lácteas infantiles; así como en productos de panificación en ensayos a niveles del 2.5 al 7.5%. Para este caso, se ha observado que además del efecto prebiótico que la inulina confiere a estos productos, existe una mejora significativa en las propiedades reológicas y viscoelásticas de las masas elaboradas a partir de harina de trigo, así como la textura del pan una vez horneado, mismos estudios señalan que se obtiene un efecto prebiótico significativo aun a bajos niveles de consumo de este compuesto (Closa-Monasterolo *et al.*, 2013; Peressini y Sensidoni, 2009; Rao, 2001)

En la industria cárnica, la inulina se ha utilizado adicionada a salchichas a niveles del 2.5 al 18.5% para sustitución del contenido de grasa saturada, de igual manera realizaron ensayos de la adición de este FOS sobre patties de cerdo, res y pollo, obteniendo resultados positivos en las propiedades fisicoquímicas observando su estabilidad posterior a la aplicación de tratamientos térmicos, así como sensoriales, sumado al efecto prebiótico que anteriormente se ha mencionado (Jiménez-Colmenero *et al.*, 2001; Keenan *et al.*, 2014; Olmedilla-Alonso *et al.*, 2013; Petracci *et al.*, 2013; Weiss *et al.*, 2010). De igual modo ha sido utilizada en la elaboración de productos procesados como jamones, salchichas, salamis, entre otros con el objetivo de encontrar las mejores alternativas de adición de ingredientes no cárnicos y reducir otros componentes que han demostrado tener un efecto negativo sobre la salud humana, tales

como las grasas saturadas. Gadekar *et al.* (2016) y Jiménez-Colmenero *et al.* (2015) mencionan que la inulina es capaz de formar geles viscosos debido a que retiene una gran cantidad de agua en su red otorgando una sensación al paladar similar a la grasa.

#### **1.4 CONCLUSIONES**

Debido al aumento en las cifras de personas que padecen sobrepeso y obesidad, que a su vez genera otras enfermedades de orden crónico – degenerativas, es de gran importancia la innovación en materia de desarrollo de nuevos productos alimentarios que reduzcan el contenido calórico y que posean propiedades funcionales. Aun cuando la inulina ha mostrado tener gran variedad de aplicaciones en cuanto a la mejora y el desarrollo de nuevas formulaciones alimentarias, se requieren futuras investigaciones orientadas hacia el conocimiento de aplicación óptima en las diversas matrices alimentarias, a fin de obtener los máximos beneficios.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece a la LGAC 2 de la Maestría en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Postgraduados Campus Córdoba, al Grupo de Investigación de Biopolímeros del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

#### **1.5 LITERATURA CITADA**

- Bannikova, A., A. Evteev, K. Pankin, I. Evdokimov, S. Kasapis. 2018. Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. *LWT* 90, 310–315.
- Cavaliere, A., E. De Marchi, A. Banterle. 2016. Does consumer health-orientation affect the use of nutrition facts panel and claims? An empirical analysis in Italy. *Food Qual. and Pref.* 54, 110–116.
- Closa-Monasterolo, R., M. Gispert-Llaurado, V. Luque, N. Ferre, C. Rubio-Torrents, M. Zaragoza-Jordana, J. Escribano. 2013. Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial. *Clin. Nutr.* 32, 918–927.

- Fanzo, J., 2015. Ethical issues for human nutrition in the context of global food security and sustainable development. *Glob. Food Sec.* 7, 15–23.
- Flores, A.C., J.A. Morlett, R. Rodríguez. 2016. Inulin Potential for Enzymatic Obtaining of Prebiotic Oligosaccharides. *Crit. Rev. in Food Sci. and Nut.* 56, 1893–1902.
- Gadekar, Y.P., A.K. Shinde, S.A. Karim. 2016. Effect of inulin on physico-chemical, textural and sensory characteristics of reduced fat lamb nuggets. *Vet. and Animal Sci.*
- Gao, A., S. Dong, X. Wang, S. Li, Y. Chen. 2018. Preparation, characterization and calcium release evaluation in vitro of casein phosphopeptides-soluble dietary fibers copolymers as calcium delivery system. *Food Chem.* 245, 262–269.
- Han, M., H.C. Bertram. 2017. Designing healthier comminuted meat products: Effect of dietary fibers on water distribution and texture of a fat-reduced meat model system. *Meat Sci.* 133, 159–165.
- Jiménez-Colmenero, F., J. Carballo, S. Cofrades. 2001. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Sci.* 59, 5–13.
- Jiménez-Colmenero, F., L. Salcedo-Sandoval, R. Bou, S. Cofrades, A.M. Herrero, C. Ruiz-Capillas. 2015. Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Tren. in Food Sci. & Tech.* 44, 177–188.
- Julio, L.M., V.Y. Ixtaina, M.A. Fernández, R.M.T. Sánchez, J.R. Wagner, S.M. Nolasco, M.C. Tomás. 2015. Chia seed oil-in-water emulsions as potential delivery systems of  $\omega$ -3 fatty acids. *Jour. of Food Eng.* 162, 48–55.
- Keenan, D.F., V.C. Resconi, J.P. Kerry, R.M. Hamill. 2014. Modelling the influence of inulin as a fat substitute in comminuted meat products on their physico-chemical characteristics and eating quality using a mixture design approach. *Meat Sci.* 96, 1384–1394.
- Küster, I., N. Vila. 2017. Health/Nutrition food claims and low-fat food purchase: Projected personality influence in young consumers. *Jour. of Funct. Foods* 38, 66–76.
- Lacroix, S., J. Cantin, A. Nigam. 2017. Contemporary issues regarding nutrition in cardiovascular rehabilitation. *Annals of Phys. and Rehab. Med.* 60, 36–42.
- Li, Q., R. Liu, T. Wu, M. Zhang. 2017. Aggregation and rheological behavior of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Res. Int.* 102, 291–302.
- Loebnitz, N., K.G. Grunert. 2018. Impact of self-health awareness and perceived product benefits on purchase intentions for hedonic and utilitarian foods with nutrition claims. *Food Qual. and Pref.* 64, 221–231.

- Mensink, M.A., H.W. Frijlink, K. van der Voort Maarschalk, W.L.J. Hinrichs. 2015. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carb. Poly.* 130, 405–419.
- Murakami, K., S. Sasaki. 2018. A low-glycemic index and -glycemic load diet is associated with not only higher intakes of micronutrients but also higher intakes of saturated fat and sodium in Japanese children and adolescents: the National Health and Nutrition Survey. *Nut. Res.* 49, 37–47.
- Niu, Y., N. Li, Q. Xia, Y. Hou, G. Xu. 2018. Comparisons of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels. *LWT - Food Sci. and Tech.* 88, 56–63.
- Olmedilla-Alonso, B., F. Jiménez-Colmenero, F.J. Sánchez-Muniz. 2013. Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Sci.* 95, 919–930.
- Peressini, D., A. Sensidoni. 2009. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. *Jour. of Cer. Sci.* 49, 190–201.
- Petracci, M., M. Bianchi, S. Mudalal, C. Cavani. 2013. Functional ingredients for poultry meat products. *Trends in Food Sci. & Tech.* 33, 27–39.
- Rao, V.A., 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nut. Res.* 21, 843–848.
- Rodríguez Furlán, L.T., A.P. Padilla, M.E. Campderrós. 2014. Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Sci.* 96, 762–768.
- Rumpagaporn, P., B.L. Reuhs, A. Kaur, J.A. Patterson, A. Keshavarzian, B.R. Hamaker. 2015. Structural features of soluble cereal arabinoxylan fibers associated with a slow rate of in vitro fermentation by human fecal microbiota. *Carb. Poly.* 130, 191–197.
- Shoaib, M., A. Shehzad, M. Omar, A. Rakha, H. Raza, H.R. Sharif, A.Shakeel, A. Ansari, S. Niazi. 2016. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carb. Poly.* 147, 444–454.
- Ulloa, J.A., H. Espinosa Andrews, G.K. Cruz Rodríguez. 2010. Los fructanos y su papel en la promoción de la salud. *Revista Fuente* 2, 5.
- Wang, L., H. Xu, F. Yuan, R. Fan, Y. Gao. 2015. Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber from orange peel assisted by steam explosion and dilute acid soaking. *Food Chem.* 185, 90–98.

- Weiss, J., M. Gibis, V. Schuh, H. Salminen. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Sci.* 86, 196–213.
- Zhang, W., G. Zeng, Y. Pan, W. Chen, W. Huang, H. Chen, Y. Li. 2017. Properties of soluble dietary fiber-polysaccharide from papaya peel obtained through alkaline or ultrasound-assisted alkaline extraction. *Carb. Poly.*
- Zuleta, A., M.E. Sambucetti. 2001. Inulin Determination for Food Labeling. *Jour. of Agric. and Food Chem.*49, 4570–4572.

## **CHAPTER II**

# **ELABORATION AND CHARACTERIZATION OF AGAVE INULIN AND CHIA SEED OIL MICROSPHERES WITH POTENTIAL FOR APPLICATION IN FOOD MATRIXES**

**CHAPTER II**  
**ELABORATION AND CHARACTERIZATION OF AGAVE INULIN AND CHIA**  
**SEED OIL MICROSPHERES WITH POTENTIAL FOR APPLICATION IN FOOD**  
**MATRIXES**

Héctor M. Rocha-Díaz<sup>a</sup>, Maricarmen Thalía Recillas-Mota<sup>b</sup> José Andrés Herrera-Corredor<sup>a</sup>,  
Josafhat Salinas-Ruiz<sup>a</sup>, M.A. Ríos-Corripio<sup>c</sup>, Aleida S. Hernández-Cázares<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Km. 348 Carretera Federal Córdoba – Veracruz, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946.

<sup>b</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Grupo de Investigación de Biopolímeros. Carretera a la Victoria km. 0.6, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83304.

<sup>c</sup> CONACYT – Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Km. 348 Carretera Federal Córdoba – Veracruz, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946.

\*Correspondence author: +52 (271) 716 60 00 ext. 68844

E – mail address: aleyse@colpos.mx

**ABSTRACT**

Microencapsulation is a technique which preserves bioactive compounds for longer time. Microspheres (MS) of agave inulin and chia seed oil (CSO) were formed with sodium alginate by the simple coacervation technique. Suitable characteristics for compounds preservation and encapsulation efficiency were obtained. The formulation used was 5% of agave inulin, 1.5% sodium alginate and 2% of CSO, all w/v. The morphology of MS was multinucleated and the average particle size was 105  $\mu\text{m}$ . Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was used to characterize polymers and CSO, as well as loading and stability of CSO during 15 days of storage. The swelling tests at pH 6.2 demonstrated a controlled release of CSO and agave inulin after 15 min. Although they were stable for 120 min at neutral pH. These microencapsulation conditions will allow the addition of bioactive compounds to various food matrixes.

**Key words:** Microencapsulation, microspheres, simple coacervation, bioactive compounds, FTIR.

## 2.1 INTRODUCTION

Inulin is a fructooligosaccharide (FOS) that serves as the main reserve carbohydrate in some plant species, such as chicory, dahlias, agave, among others (Mensink, Frijlink, van der Voort Maarschalk, & Hinrichs, 2015; Zuleta & Sambucetti, 2001). This FOS plays the role of soluble dietary fiber since it is not digested or absorbed in the small intestine, but full or partial fermentation is carried out in the large intestine (Shoaib *et al.*, 2016). Li, Liu, Wu, & Zhang (2017) mention that its importance from a functional point of view both for the human body and for food formulations lies in its hydrocolloidal behavior, which is why it has been used as a fat replacer (Shoaib *et al.*, 2016).

On the other hand, omega polyunsaturated fatty acids, particularly omega - 3 and omega - 9 de Oliveira, Nabavi, Nabavi, & Jardim (2017) have also demonstrated a wide functionality, both for their benefits towards cardiovascular health (Lacroix, Cantin, & Nigam, 2017) as for its antioxidant function in various food matrixes. Chia (*Salvia hispanica* L.), whose seed contains about 0.32 g oil/g seed with a content of 60% in its  $\alpha$ -linolenic form (Ding *et al.*, 2018) has represented an excellent alternative to traditional sources for its greater oxidative stability (Tenore *et al.*, 2018).

The encapsulation of bioactive compounds by using a biopolymer matrix (BM), has the purpose of preserving the integrity of these for longer time (Chan, 2011) and also facilitates its subsequent controlled release (Díaz-Rojas *et al.*, 2004). Coacervation is the most common technique for the microencapsulation of oily compounds. This technique involves the gelation of the compound by the ionic crosslinking of the biopolymer in which the compound is immobilized in the presence of divalent calcium ions ( $\text{Ca}^{2+}$ ) (Ramos *et al.*, 2018).

Some authors have proposed the use of complex coacervation technique to obtain chia nanocapsules, by using chia seed protein isolate and chia seed gum (Timilsena, Adhikari, Barrow, & Adhikari, 2017), chia seed mucilage (de Campo *et al.*, 2017), carnauba wax (Guimarães-Inácio *et al.*, 2018) and chia by – products as wall material (Us-Medina, Julio, Segura-Campos, Ixtaina, & Tomás, 2018).

The objective of this study was the elaboration and characterization of a microsphere based on agave inulin and CSO by using sodium alginate as a compound for the conformation of a BM by simple coacervation in order to preserve its properties so they can be used in a food matrix.

## **2.2 MATERIALS AND METHODS**

### **2.2.1 MATERIALS**

Materials for the characterization and preparation of MS included: a commercial food grade sodium alginate supplied by Drogueria Cosmopolita ® (Mexico City, Mexico), its viscosity average molecular weight was  $1.3 \times 10^6$  g/mol estimated at 25 °C in 0.1 M sodium chloride (Gómez-Díaz & Navaza, 2003) and the G/M ratio was determined by FTIR-ATR (X. Li, Xie, Lin, Xie, & Ma, 2009). Food grade inulin E - nature ® (Zapopan, Jalisco, Mexico), molecular weight was 9,491 g/mol estimated at 25 °C in water (Wolff *et al.*, 2000). Chia seed oil Xiomega ® (Guadalajara, Jalisco, Mexico), and calcium chloride (Drogueria Cosmopolita®, Mexico City, Mexico). Analytical grade inulin and alginate were purchased from Sigma-Aldrich® (San Luis, Missouri, USA) and were used for the preparation and characterization of microspheres. Milli Q ® water or bidistilled water J.T. Baker ® (Mexico City, Mexico) was used for solution preparation. Merck Milipore® nitrocellulose membranes were used for filtration (Burlington, Massachusetts, USA). Sigma-Aldrich® (San Luis, Missouri, USA) dihydrate sodium citrate and citric acid were used for citrate buffer elaboration.

### **2.2.2 METHODS**

#### **2.2.2.1 MICROSPHERES PREPARATION**

MS formulation was determined by preliminary tests, using the technique proposed by Chan (2011). A colloidal dispersion containing 1.5% alginate (w/v) and 5% agave inulin (w/v) was prepared, the 2% CSO (w/v) was added dropwise in an Ultra-Turrax © (Wilmington, North Carolina, USA) homogenized at 3380 g for 5 min at 25° C of temperature. The dispersion was extruded and sprinkled in a 1.5% (w/v) calcium chloride solution, where the MS were stored for 30 min. Calcium chloride residues were removed by pouring double-distilled water and dried in an VWR Scientific Inc © vacuum oven at room temperature.

#### **2.2.2.2 MORPHOLOGY AND AVERAGE SIZE**

The morphology and average size of MS was analyzed by inverted optical microscopy (Freitas & Marchetti, 2005). An amount of 100 microspheres was measured for each repetition. All determinations were made in triplicate.

#### **2.2.2.3 MATERIALS CHARACTERIZATION**

In order to correctly characterize the materials, commercial food grade alginate and inulin were previously purified. Solutions of alginate analytical grade and food grade agave inulin were

prepared at 5 g/L in bidistilled water, homogenized in continuous agitation for 12 h, filtered on nitrocellulose membranes of 3, 0.8 and 0.45  $\mu\text{m}$ , and lyophilized until the complete water removal. CSO and MS were placed directly in the equipment. The materials characterization was done by FTIR with a ThermoScientific © iS50 FT-IR spectrophotometer, in Attenuated Total Reflectance mode (ATR) between 4000 to 800  $\text{cm}^{-1}$ . A total of 42 scans were performed. Each spectra was collected and radioed against the background spectrum of the clean crystal surface in order to present the spectra in absorbance. Two replicas of each sample were recorded at room temperature. After each measurement, the crystalline surface was washed with bidistilled water and dried with a soft paper. For spectra analysis OriginPro 2016 © was used.

#### **2.2.2.4 OIL LOAD**

The oil load was verified by comparing the FTIR spectra obtained from the CSO with the empty MS and those loaded with the oil. To quantify the amount of oil in the MS loaded with oil, the Official Method AOAC 991.36 was followed, in triplicate.

#### **2.2.2.5 OIL STABILITY**

The technique proposed by Durante, Lenucci, Laddomada, Mita, & Caretto (2012) was used to extract the oil from the inside of the MS at 0, 5, 10 and 15 d. A sample of 1 g of MS was homogenized with 20 mL of citrate buffer solution pH 7.2 in agitation for 30 min. Later, 5 mL of hexane were added, stirred for 10 min and centrifuged at 14000 g for 10 min. The supernatant was evaporated under a nitrogen flow for 1 h, the spectra of the extracted oil sample was analyzed by FTIR, in triplicate.

#### **2.2.2.6 SWELLING**

The swelling behavior was performed using the gravimetric technique according to Lorenzo-Lamosa, Remuñán-López, Vila-Jato, & Alonso (1998) using a Sartorius © BP analytical balance. The MS loaded with oil were weighed and placed inside a gauze for their immersion into Milli Q water at pH 7.0 or in citrate buffer pH 6.2. Weight gain was recorded at 3, 5, 10, 15, 20, 30, 60 and 120 min. To analyze their swelling behavior, the equation (1) was used (Gupta & Jabrail 2006):

$$W = \frac{W_t - W_d}{W_d} \quad [1]$$

Where:  $W_t$  = swollen microspheres at time t,  $W_d$  = dry sample weight,  $W$  = swelling degree at a given time.

## 2.3 RESULTS AND DISCUSSION

### 2.3.1 MORPHOLOGY AND AVERAGE SIZE

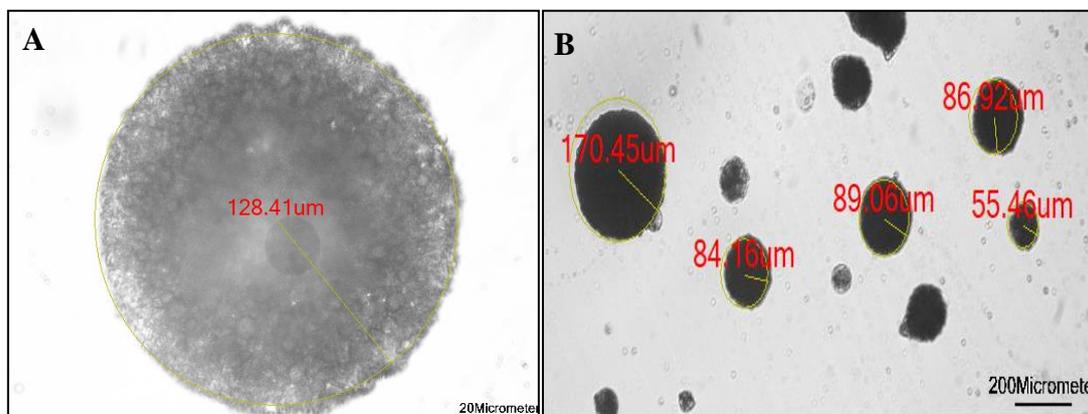
The MS morphology is shown in Figure 1A, a multinucleated microspheres was observed. Rocha-Selmi, Bozza, Thomazini, Bolini, & Fávaro-Trindade (2013) showed that this type of MS are not very hygroscopic and have reduced rates of equilibrium moisture content, conferring better characteristics to preserve bioactive compounds. Comunian *et al.* (2016) also obtained multinucleated MS by complex coacervation technique by using gelatin and arabic gum as wall materials.

Besides CSO, agave inulin also influenced to the multinucleated conformation of MS, as it was demonstrated by Paglarini *et al.* (2018) by adding inulin to functional emulsion gels, obtaining the generation of stronger hydrogen bonds with water and/or more pronounced physical interactions. Due to its rheological behavior (Keenan, Auty, Doran, Kerry, & Hamill, 2014) and self-aggregation (Dan, Ghosh, & Moulik, 2009) characteristics, in this case agave inulin may function as CSO holder, which is directly correlated with oil load.

Bannikova, Evteev, Pankin, Evdokimov, & Kasapis (2018) mention that, if coalescence occurs between fatty acids particles, the ability of the BM to trap the compounds decreases, which is highly correlated with particle size, thus smaller size is greater encapsulation efficiency. An encapsulation efficiency of about 80% is achieved if oil is added in the order of 20 g/100 g, these because alginate based systems have demonstrated to have a retention capacity of fatty compounds of around 15 g/100 g. In this experiment, a concentration of CSO of 2% (w/v) in the colloidal dispersion was used. Ciriminna, Meneguzzo, Delisi, & Pagliaro (2017) mentioned that the coacervation technique has been successfully used in the industry for the microencapsulation of omega 3 fatty acids through the use of gels, gums and other polymers, successfully achieving the protection and controlled release of them in a variety of food matrixes.

On the other hand, an average size of 105  $\mu\text{m}$  was obtained in the MS (Figure 1B). Eratte, Dowling, Barrow, & Adhikari (2018) indicate that this size can be classified as a MS (1 - 1000  $\mu\text{m}$ ). However, it is observed that there is a variation in the shape of the MS due to the effect of the surface tension on the colloidal dispersion and that the union of the calcium ions with the carboxyl groups of the alginate (Vasile, Judis, & Mazzobre, 2018) occurs immediately.

Zuidam & Nedovic (2010) found a correlation between particle size and MS stability during storage.

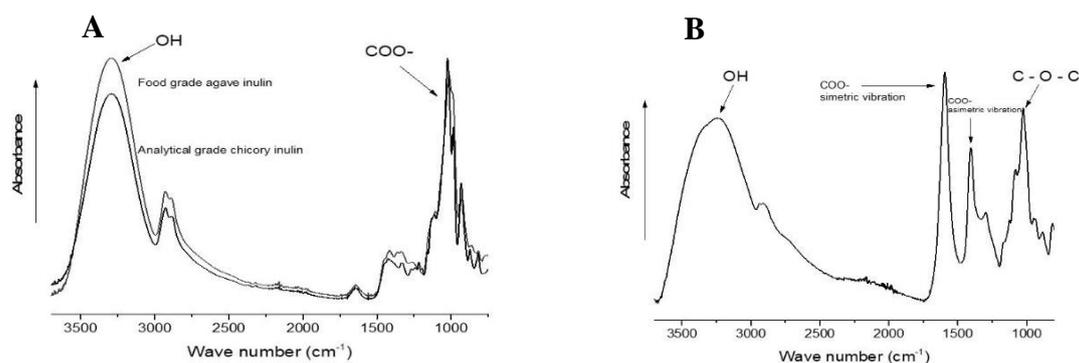


**Figure 1.** A. Morphology of a multinucleated microsphere of sodium alginate with inulin and chia seed oil (magnification 40X) B. Measurement of the average size of the MS (magnification 10X).

### 2.3.2 MATERIALS CHARACTERIZATION

The analytical grade inulin (Figure 2A) was compared with the agave inulin. The characteristic functional groups of carbohydrates, hydroxyl and carboxyl, were located in their respective wavenumbers. The OH functional group, which represents the associated glucose and fructose units in the main chain of the FOS, is at  $3380\text{ cm}^{-1}$ , while the carboxyl functional group ( $\text{COO}^-$ ) is at  $1030\text{ cm}^{-1}$ . This agrees with the FTIR spectra reported by Fares, Salem, & Khanfar (2011). Similar results were reported in the characterization of inulin by an FTIR test coupled to a differential scanning calorimetry system (Leone, Colman, Schnitzler, Ellendersen, & Masson, 2014).

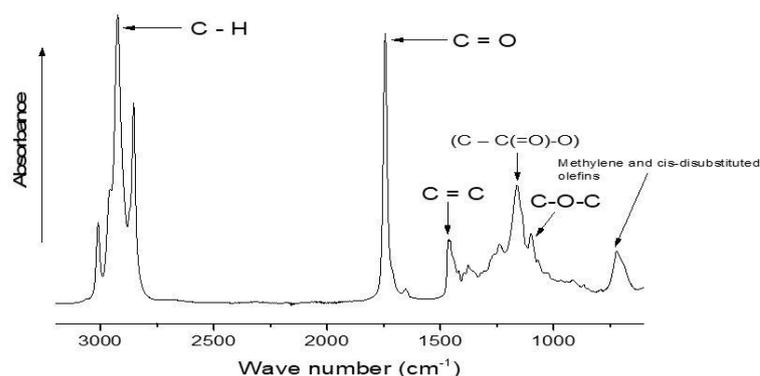
In the case of sodium alginate (Figure 2B), the characteristic peaks of the carboxyl group ( $\text{COO}^-$ ) with symmetric molecular vibration are found in a wavenumber of around  $1613\text{ cm}^{-1}$ , while this same functional group with asymmetric vibration is located around  $1415\text{ cm}^{-1}$ . The vibration of the OH functional group is located between  $3100$  and  $3700\text{ cm}^{-1}$  (Lim, Zheng, Zou, & Chen, 2008). In similar characterizations, Daemi & Barikani (2012) reported that the peak of the Carbon-Oxygen bond of the alcoholic hydroxyl group (C-O-C) is at  $1030\text{ cm}^{-1}$ , data similar to the reported in this study.



**Figure 2A.** FTIR spectra of food grade agave inulin and analytical grade Sigma-Aldrich chicory inulin. **B.** FTIR spectra of sodium alginate Cosmopolita ©.

The food grade CSO spectra (Figure 3) agreed with that reported by Guimarães-Inácio *et al.* (2018), where the wavenumber region of 2980 to 2800  $\text{cm}^{-1}$  was assigned to the molecular vibration of the union C - H belonging to the skeleton that forms the methyl and methylene structures of the lipids. In particular, the distinctive peak at 3010  $\text{cm}^{-1}$  was caused by the molecular vibrations of the cis-olefinic bonds  $\text{HC} = \text{CH}$ , characteristic used to represent the unsaturated fatty acids, although their position depends on the number of double bonds  $\text{C} = \text{C}$  conjugated. For oils containing a greater number of cis-olefinic bonds  $\text{HC} = \text{CH}$  this peak is found at higher wavelengths, so it has been used to determine the unsaturation degree of fats and oils (Timilsena, Vongsvivut, Adhikari, & Adhikari, 2017).

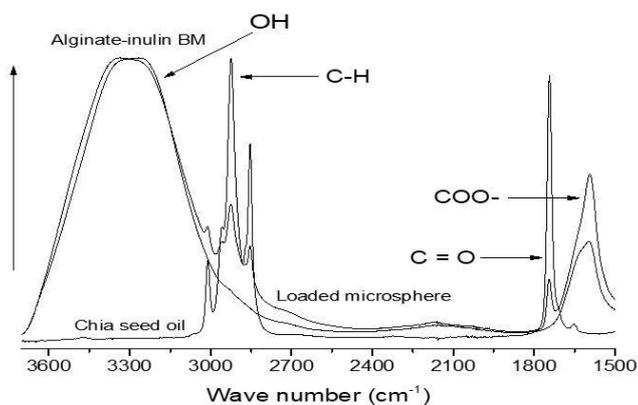
García-Salcedo, Torres-Vargas, del Real, Contreras-Jiménez, & Rodríguez-García (2018) mention that the peaks located at values around 1743  $\text{cm}^{-1}$  correspond to the characteristic vibrations of the carboxyl groups, while the localized peak at 1101  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to the OH functional group. Timilsena, Vongsvivut, *et al.* (2017) showed that the peak located around 1742  $\text{cm}^{-1}$  corresponds to the  $\text{C} = \text{O}$  carbonyl bond of the ester functional group that is found in the lipids and in the fatty acids, whereas the one observed at 1654  $\text{cm}^{-1}$  corresponds at the  $\text{C} = \text{C}$  bond of the disubstituted cis-olefins, the intensity of this peak can also be used to determine the total unsaturation. Other peaks present at 1160 and 1099  $\text{cm}^{-1}$  were caused by the presence of diacylglycerol esters. Specifically, the peak at 1160  $\text{cm}^{-1}$  represents the combined asymmetric vibration of  $(\text{C} - \text{C} (= \text{O}) - \text{O})$  and  $(\text{O} - \text{C} - \text{C})$ , while the band at 1099  $\text{cm}^{-1}$  is associated with symmetric vibrations of the COC bonds of triglycerides and cholesterol esters. The most intense band at the end of the spectra at 720  $\text{cm}^{-1}$  is attributed to the combination of vibration and molecular deformation of methylene and cis-disubstituted olefins (Guimarães-Inácio *et al.*, 2018).



**Figure 3.** FTIR spectra of chia seed oil.

### 2.3.3 OIL LOAD

Figure 4 shows the FTIR spectra of the CSO, the alginate-inulin BM and the MS loaded with the CSO, where the presence of the characteristic functional groups of the oil inside the alginate-inulin BM is observed. The comparison technique agrees with that reported by Sarabandi, Sadeghi Mahoonak, Hamishekar, Ghorbani, & Jafari (2018) who through the comparative analysis of the FTIR spectra of maltodextrin as an encapsulating medium, the unencapsulated hydrolyzate and the sample once encapsulated, demonstrated the presence of the functional groups associated to each characteristic band in the compound once encapsulated. In this study, the functional groups characteristic of CSO, such as C = O, as well as the OH characteristic of biopolymers such as alginate, can be observed together in the elaborated MS. It is clear the presence of CSO inside the MS. The proposed formulation showed a CSO content of  $6.43 \pm 1.89\%$ .

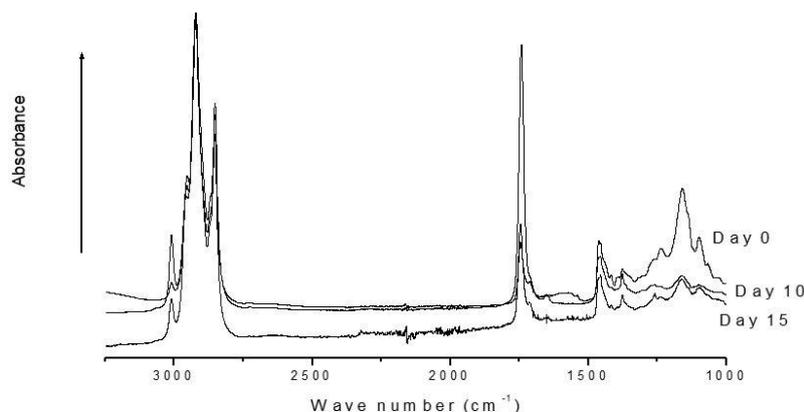


**Figure 4.** FTIR spectra of alginate-inulin biopolymer matrix, chia seed oil and loaded microsphere.

### 2.3.4 OIL STABILITY

The encapsulation of the CSO of the proposed formulation showed an excellent stability as shown in Figure 5. It can be seen that even after 15 d of being encapsulated the oil remains stable, maintaining the common line shape. The results agree with those reported by de Campo *et al.* (2017), who observed with the FTIR technique a greater stability of the CSO in nanocapsules within a chia seed mucilage matrix after 21 d of storage, but at 28 d it significantly decreased due to the coalescence of the oil phase of the nanoemulsion, a change that was reflected in its respective spectra.

González, Martínez, Paredes, León, & Ribotta (2016) showed greater stability in CSO microspheres obtained by spray drying and lyophilization, obtaining lower hydroperoxides value in those MS stored at 25° C compared to the same non encapsulated oil. Although the reduction of the bands is associated with the ionization or dissociation of the carboxylic groups that are positioned in the particle-polymer solution interface (Schaffazick, Guterres, Freitas, & Pohlmann, 2003).



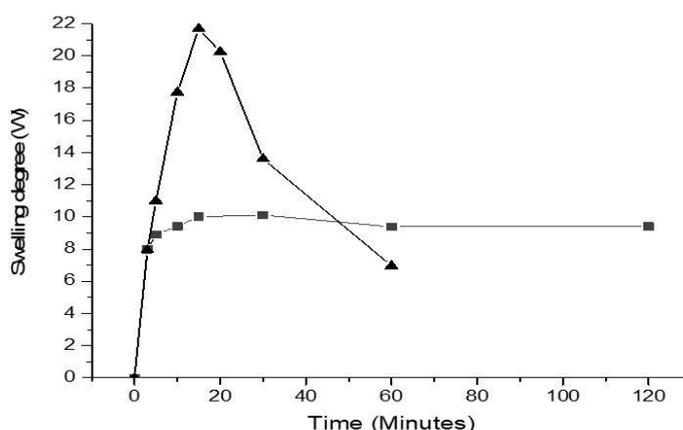
**Figure 5.** FTIR spectra of chia seed oil extracted from the microspheres at different times.

### 2.3.5 SWELLING

Figure 6 shows the swelling behavior of MS of agave inulin with CSO in different pH and media, in water at neutral pH, and in buffer at pH 6.2 which is the typical value of protein foods. The results indicate that the release of inulin and CSO at pH 6.2 will occur after 15 min that the MS comes into contact with a food matrix, while in an aqueous medium at neutral pH the MS shows stability even after 120 min.

Gupta & Jabrail (2006) said that the release of the bioactive compounds in a MS is directly related to the swelling behavior, and when they have reached their maximum swelling peak, release occurs from the inside of the MS to the food matrix following a Fickian diffusion model (Bezemer *et al.*, 2000), and thus the bioactive compounds that have been microencapsulated begin to exert their effects. In this case, it is expected that the CSO has an antioxidant effect at the time that agave inulin improves texture and yield.

Lin, Yu, & Yang (2005) tested MS in polyelectrolyte complex by ionotropic crosslinking with sodium tripolyphosphate, showing a different release kinetics by modifying the pH of the medium using a similar technique of this study, demonstrating that biopolymer matrixes are usually sensitive to changes in pH (Denkbaş & Odabaşı, 1999).



**Figure 6.** Swelling behavior of agave inulin and chia seed oil microspheres in different dissolution pH. ■ bidistilled water pH 7.0, ▲ buffer citrate pH 6.2.

## 2.4 CONCLUSION

An effective encapsulation of 5% of agave inulin and 2% of CSO in a 1.5% alginate matrix was achieved by using the simple coacervation technique. The multinucleated morphology and the average particle size of 105  $\mu\text{m}$  is the optimum to keep the microencapsulated compounds stable until 15 d, protecting them from media factors that degrades them. MS showed stability at pH 7.0. Meanwhile at pH 6.2, typical of food matrixes, MS showed a controlled release behavior of compounds after 15 min of being added, so it is feasible for their use in food matrixes.

## ACKNOWLEDGMENT

Thanks to Postgraduate Program Innovacion Agroalimentaria Sustentable of the Colegio de Postgraduados Campus Cordoba, to the Biopolymers Research Group of the Centro de Investigacion en Alimentacion y Desarrollo (CIAD), AC Unidad Hermosillo, and the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia (CONACyT) for granting the scholarship to carry out postgraduate studies, of which this research article is the result.

## 2.5 REFERENCES

- Bannikova, A., Evteev, A., Pankin, K., Evdokimov, I., & Kasapis, S. (2018). Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. *LWT*, *90*, 310–315.
- Bezemer, J. M., Radersma, R., Grijpma, D. W., Dijkstra, P. J., Feijen, J., & van Blitterswijk, C. A. (2000). Zero-order release of lysozyme from poly(ethylene glycol)/poly(butylene terephthalate) matrices. *Journal of Controlled Release*, *64*(1–3), 179–192.
- Chan, E.-S. (2011). Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydrate Polymers*, *84*(4), 1267–1275.
- Ciriminna, R., Meneguzzo, F., Delisi, R., & Pagliaro, M. (2017). Enhancing and improving the extraction of omega-3 from fish oil. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *5*, 54–59.
- Comunian, T. A., Gomez-Estaca, J., Ferro-Furtado, R., Conceição, G. J. A., Moraes, I. C. F., de Castro, I. A., & Favaro-Trindade, C. S. (2016). Effect of different polysaccharides and crosslinkers on echium oil microcapsules. *Carbohydrate Polymers*, *150*, 319–329.
- Daemi, H., & Barikani, M. (2012). Synthesis and characterization of calcium alginate nanoparticles, sodium homopolymannuronate salt and its calcium nanoparticles. *Scientia Iranica*, *19*(6), 2023–2028.
- Dan, A., Ghosh, S., & Moulik, S. P. (2009). Physicochemical studies on the biopolymer inulin: A critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water, and thermal stability. *Biopolymers*, *91*(9), 687–699.
- de Campo, C., dos Santos, P. P., Costa, T. M. H., Paese, K., Guterres, S. S., Rios, A. de O., & Flôres, S. H. (2017). Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chemistry*, *234*, 1–9.

- de Oliveira, M. R., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., & Jardim, F. R. (2017). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and mitochondria, back to the future. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 76–92.
- Denkbaş, E. B., & Odabaşı, M. (n.d.). Chitosan microspheres and sponges: Preparation and characterization. *Journal of Applied Polymer Science*, 76(11), 1637–1643.
- Ding, Y., Lin, H.-W., Lin, Y.-L., Yang, D.-J., Yu, Y.-S., Chen, J.-W., Chen, Y.C. (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(1), 124–134.
- Díaz-Rojas, E., Pacheco-Aguilar, R., Lizardi, J., Argüelles-Monal, W., Valdez, M., Rinaudo, M., & Goycoolea, F. (2004). Linseed pectin: gelling properties and performance as an encapsulation matrix for shark liver oil. *Food Hydrocolloids*, 18(2), 293–304.
- Durante, M., Lenucci, M. S., Laddomada, B., Mita, G., & Caretto, S. (2012). Effects of Sodium Alginate Bead Encapsulation on the Storage Stability of Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Bran Oil Extracted by Supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10689–10695.
- Eratte, D., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2018). Recent advances in the microencapsulation of omega-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 121–131.
- Fares, M. M., Salem, M. S., & Khanfar, M. (2011). Inulin and poly(acrylic acid) grafted inulin for dissolution enhancement and preliminary controlled release of poorly water-soluble Irbesartan drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 410(1–2), 206–211.
- Freitas, M. N., & Marchetti, J. M. (2005). Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, 295(1–2), 201–211.
- García-Salcedo, Á. J., Torres-Vargas, O. L., del Real, A., Contreras-Jiménez, B., & Rodríguez-García, M. E. (2018). Pasting, viscoelastic, and physicochemical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) flour and mucilage. *Food Structure*, 16, 59–66.
- Gómez-Díaz, D. & Navaza, J.M. (2003). Rheology of aqueous solutions of food additives Effect of concentration, temperature and blending. *Journal of Food Engineering*, 56, 387-392.
- González, A., Martínez, M. L., Paredes, A. J., León, A. E., & Ribotta, P. D. (2016). Study of the preparation process and variation of wall components in chia (*Salvia hispanica* L.) oil microencapsulation. *Powder Technology*, 301, 868–875.

- Guimarães-Inácio, A., Francisco, C. R. L., Rojas, V. M., Leone, R. de S., Valderrama, P., Bona, E., Gonçalves, O. H. (2018). Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 498–506.
- Gupta, K., & Jabrail, F. (2006). Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. *Carbohydrate Polymers*, 66(1), 43–54.
- Keenan, D. F., Auty, M. A. E., Doran, L., Kerry, J. P., & Hamill, R. M. (2014). Investigating the influence of inulin as a fat substitute in comminuted products using rheology, calorimetric and microscopy techniques. *Food Structure*, 2(1–2), 1–13.
- Lacroix, S., Cantin, J., & Nigam, A. (2017). Contemporary issues regarding nutrition in cardiovascular rehabilitation. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine*, 60(1), 36–42.
- Leone, R. de S., Colman, T. A. D., Schnitzler, E., Ellendersen, L. N., & Masson, M. L. (2014). Evolved gas analysis (coupled TG–DSC–FTIR) applied to the thermal behaviour of inulin. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 108, 323–326.
- Li, Q., Liu, R., Wu, T., & Zhang, M. (2017). Aggregation and rheological behavior of soluble dietary fibers from wheat bran. *Food Research International*, 102, 291–302.
- Li, X., Xie, H., Lin, J., Xie, W., & Ma, X. (2009). Characterization and biodegradation of chitosan–alginate polyelectrolyte complexes. *Polymer Degradation and Stability*, 94(1), 1–6.
- Lim, S.-F., Zheng, Y.-M., Zou, S.-W., & Chen, J. P. (2008). Characterization of Copper Adsorption onto an Alginate Encapsulated Magnetic Sorbent by a Combined FT-IR, XPS, and Mathematical Modeling Study. *Environmental Science & Technology*, 42(7), 2551–2556.
- Lin, W.-C., Yu, D.-G., & Yang, M.-C. (2005). pH-sensitive polyelectrolyte complex gel microspheres composed of chitosan/sodium tripolyphosphate/dextran sulfate: swelling kinetics and drug delivery properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44(2–3), 143–151.
- Lorenzo-Lamosa, M., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J. ., & Alonso, M. (1998). Design of microencapsulated chitosan microspheres for colonic drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 52(1–2), 109–118.

- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. J. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*, *130*, 405–419.
- Paglarini, C. de S., Furtado, G. de F., Biachi, J. P., Vidal, V. A. S., Martini, S., Forte, M. B. S., Pollonio, M. A. R. (2018). Functional emulsion gels with potential application in meat products. *Journal of Food Engineering*, *222*, 29–37.
- Ramos, P. E., Silva, P., Alario, M. M., Pastrana, L. M., Teixeira, J. A., Cerqueira, M. A., & Vicente, A. A. (2018). Effect of alginate molecular weight and M/G ratio in beads properties foreseeing the protection of probiotics. *Food Hydrocolloids*, *77*, 8–16.
- Rocha-Selmi, G. A., Bozza, F. T., Thomazini, M., Bolini, H. M. A., & Fávaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of aspartame by double emulsion followed by complex coacervation to provide protection and prolong sweetness. *Food Chemistry*, *139*(1–4), 72–78.
- Sarabandi, K., Sadeghi Mahoonak, A., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. *Journal of Food Engineering*, *237*, 86–95.
- Schaffazick, S. R., Guterres, S. S., Freitas, L. de L., & Pohlmann, A. R. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, *26*(5), 726–737.
- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., & Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, *147*, 444–454.
- Tenore, G. C., Caruso, D., Buonomo, G., D'Avino, M., Ciampaglia, R., & Novellino, E. (2018). Plasma lipid lowering effect by a novel chia seed based nutraceutical formulation. *Journal of Functional Foods*, *42*, 38–46.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2017). Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, *66*, 71–81.
- Timilsena, Y. P., Vongsvivut, J., Adhikari, R., & Adhikari, B. (2017). Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food Chemistry*, *228*, 394–402.
- Us-Medina, U., Julio, L. M., Segura-Campos, M. R., Ixtaina, V. Y., & Tomás, M. C. (2018). Development and characterization of spray-dried chia oil microcapsules using by-products from chia as wall material. *Powder Technology*, *334*, 1–8.

- Vasile, F. E., Judis, M. A., & Mazzobre, M. F. (2018). Impact of *Prosopis alba* exudate gum on sorption properties and physical stability of fish oil alginate beads prepared by ionic gelation. *Food Chemistry*, *250*, 75–82.
- Wolff, D., Czapla, S., Heyer, A. G., Radosta, S., Mischnick, P., & Springer, J. (2000). Globular shape of high molar mass inulin revealed by static light scattering and viscometry. *Polymer*, *41*(22), 8009–8016.
- Zuidam, N. J., & Nedovic, V. (2010). *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. New York, NY: Springer New York.
- Zuleta, A., & Sambucetti, M. E. (2001). Inulin Determination for Food Labeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(10), 4570–4572.

## **CAPÍTULO III**

### **ADICIÓN DE MICROESFERAS DE INULINA DE AGAVE Y ACEITE DE SEMILLA DE CHÍA EN UNA MATRIZ CÁRNICA**

### **ADDITION OF AGAVE INULIN AND CHIA SEED OIL MICROSPHERES IN A MEAT MATRIX**

**CAPÍTULO III**  
**ADICIÓN DE MICROESFERAS DE INULINA DE AGAVE Y ACEITE DE**  
**SEMILLA DE CHÍA EN UNA MATRIZ CÁRNICA**

**ADDITION OF AGAVE INULIN AND CHIA SEED OIL MICROSPHERES IN A**  
**MEAT MATRIX**

Héctor M. Rocha-Díaz<sup>a</sup>, Aleida S. Hernández-Cázares<sup>a\*</sup>, Maricarmen Thalía Recillas-Mota<sup>b</sup>,  
Marlon Rojas-López<sup>c</sup>, José Andrés Herrera-Corredor<sup>a</sup>, Josafhat Salinas-Ruiz<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Programa de Innovación Agroalimentaria Sustentable. Km. 348 Carretera Federal Córdoba – Veracruz, Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. C.P. 94946.

<sup>b</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Hermosillo. Grupo de Investigación de Biopolímeros. Carretera a la Victoria km. 0.6, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83304.

<sup>c</sup> Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Tlaxcala – Instituto Politécnico Nacional. Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac – Tepetitla km 1.5, Tlaxcala, Tlaxcala, México. C.P. 90700.

\*Autor de correspondencia: +52 (271) 716 60 00 ext. 64844. Dirección de e – mail: aleyse@colpos.mx

**RESUMEN**

Los ingredientes no cárnicos han sido tema de interés ante la creciente demanda de carne y productos cárnicos de cerdo con alto valor nutricional y funcional. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de microesferas (ME) de alginato (1.5%) + inulina de agave (5%) y aceite de semilla de chía (2% ASC) en carne de pierna de cerdo molida, cocinada y almacenada en refrigeración a 4 °C. La inclusión de ME en la carne se realizó a diferentes niveles: control (C), 3 (T1), 6 (T2) y 12 (T3) g de ME/Kg de carne, tomando como base el contenido de ASC. El rendimiento por cocción (RC), pH, acidez titulable (% ácido láctico), humedad, actividad de agua ( $a_w$ ), análisis de perfil de textura (TPA), color, oxidación lipídica (TBAR) y oxidación proteica (espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier, FTIR) se evaluaron a los 0, 3, 6, 9 y 12 d de almacenamiento en refrigeración a 4° C. No se mostraron

diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos en las variables de pH, acidez titulable, color y  $a_w$ . Como efecto de la adición de ME la carne de cerdo mostró diferencias significativas con respecto al control en la dureza (N); pero no hubo efecto entre tratamientos, aunque se observa mayor RC y humedad en el T2. La oxidación lipídica fue inhibida debido a la adición de las ME, se observó una disminución significativa en el valor de TBAR del control ( $2.67 \pm 0.21$  mg MDA/kg) con respecto al T1 ( $2.14 \pm 0.21$ ), T2 ( $1.85 \pm 0.20$ ) y T3 ( $1.82 \pm 0.21$ ). La oxidación proteica, comparando los espectros FTIR, evidenció la capacidad antioxidante de la adición de ME a carne de cerdo. El tratamiento T2 fue el que demostró significativamente una mayor efectividad en cuanto a la mejora de las características fisicoquímicas en carne de cerdo debido a la adición de la inulina de agave. Aunque se evidencia un incremento en la estabilidad lipídica y proteica a medida que se incrementa la inclusión de ASC, y por lo tanto, mayor efecto antioxidante.

**Palabras clave:** Microesferas, fibra soluble, antioxidantes, TBAR.

## HIGHLIGHTS

- Las microesferas (ME) a base de inulina de agave y aceite de semilla de chía (ASC) tienen potencial de uso como ingredientes alimentarios no cárnicos.
- La inulina de agave mejora significativamente la textura de carne de cerdo.
- El ASC en carne de cerdo disminuye la oxidación de lípidos y proteínas.
- Las ME pueden ser utilizadas como ingrediente alimentario para generar gran variedad de productos cárnicos estables y funcionales.

## ABSTRACT

Non-meat ingredients have been a subject of interest given the growing demand for pork meat and meat products with high nutritional and functional value. The objective of this study was to evaluate the effect of adding microspheres (MS) of alginate (1.5%) + agave inulin (5%) and chia seed oil (2% CSO) in ground, cooked and stored in refrigeration at 4 ° C pork leg meat. The inclusion of MS in the meat was carried out at different levels: control (C), 3 (T1), 6 (T2) and 12 (T3) g of MS/Kg of meat, as a basis for the content of CSO. The cooking yield (CY), pH, titratable acidity (% lactic acid), humidity, water activity ( $a_w$ ), texture profile analysis (TPA), color, lipid oxidation (TBAR) and protein oxidation (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) were evaluated at 0, 3, 6, 9 and 12 d of refrigerated storage. No significant differences were found ( $p < 0.05$ ) between treatments in the variables of pH, titratable acidity,

color and  $a_w$ . As an effect of the addition of MS pork meat showed significant differences with respect to the control in hardness (N); but there was no effect between treatments, although it is observed greater cooking yield and humidity in the T2. Lipid oxidation was inhibited due to the addition of MS, a significant decrease in the TBAR value of the Control was observed ( $2.67 \pm 0.21$  mg MDA/kg sample) with respect to T1 ( $2.14 \pm 0.21$ ), T2 ( $1.85 \pm 0.20$ ) and T3 ( $1.82 \pm 0.21$ ). Protein oxidation, comparing the FTIR spectra, showed the antioxidant capacity of the addition of MS to pork meat. The T2 treatment was the one that showed significantly greater effectiveness in terms of improving the physicochemical characteristics in pork meat due to the addition of agave inulin. Although there is evidence of a greater lipid and protein stability as the addition of CSO increases, and thus, greater antioxidant effect.

**Keywords:** Microspheres, soluble fiber, antioxidants, TBAR.

### 3.1 INTRODUCCIÓN

El consumo de carne de cerdo y sus derivados ha tenido un incremento significativo a nivel mundial, pasando de 26 kg *per cápita* en 1970 a 41 kg en los últimos años (Beraiain, 2017). La composición de la carne de cerdo en términos de aminoácidos y proteínas de alto valor biológico la caracterizan como un alimento altamente nutritivo; no obstante, presenta un deterioro relativamente rápido, lo que ha sido uno de los principales obstáculos para su conservación y comercialización (Wang, Chen, Bai, y Lai, 2018). En años recientes el incremento de alimentos funcionales en el mercado se ha dado como una respuesta al interés del consumidor en cuanto a la relación entre la dieta y la salud (Xu, Cheng, Liu, y Zhu, 2019). En este sentido, la industria cárnica debe hacer frente a este reto, por lo que la aplicación de antioxidantes y compuestos funcionales se ha convertido en una práctica común para el desarrollo de nuevos productos (Estévez y Lorenzo, 2018), a la vez que se aprovechan dichos componentes para la generación de productos cárnicos estables y más saludables (Jiang y Xiong, 2016).

Los principales factores de deterioro en carne de cerdo incluyen la oxidación lipídica y proteica. Los cuales dependen de la composición química de la carne; así como de los agentes prooxidantes que estén presentes; exposición a la luz y al oxígeno durante el almacenamiento (Colindres y Susan Brewer, 2011), algunas condiciones de procesamiento, como la molienda y la aplicación de procesos térmicos (Muthukumar, Naveena, Vaithiyanathan, Sen, y Sureshkumar, 2014), entre otros, afectan negativamente la calidad sensorial y nutricional

(Shah, Bosco, y Mir, 2014) e incluso algunos problemas para la salud derivados de su consumo (Ganhão, Morcuende, y Estévez, 2010).

Shah, Bosco, y Mir, (2014) indican que la oxidación de lípidos y proteínas en carne puede ser reducida o inhibida por medio del uso de antioxidantes de origen natural o artificial, incrementando la vida de anaquel del producto. El ASC, debido a su alto contenido de ácidos grasos (AG) omega 3, y en específico de  $\alpha$  – linolénico ha demostrado tener capacidad antioxidante (Tenore *et al.*, 2018; Timilsena, Adhikari, Barrow, y Adhikari, 2016), representando una excelente alternativa frente al uso de antioxidantes derivados de fenoles como el tert – butilhidroxianisol (BHA) y el tert – butilhidroxitolueno (BHT) (Bodoira, Penci, Ribotta, y Martínez, 2017). Tal capacidad antioxidante se transfiere al consumidor al momento de su consumo, mejorando la calidad nutricional de estos productos por medio de la contribución de la ingesta de AG omega (Ciriano *et al.*, 2009).

Por otro lado, Han y Bertram (2017) mencionan que las propiedades de textura y rendimientos son factores relevantes en la generación de nuevos productos cárnicos. La inulina de agave tiene propiedades que mejoran dichos parámetros, actúa como sustituto de grasa a la vez que aporta una sensación grasa al paladar; debido a su capacidad de formación de geles, tiene capacidad estabilizante y emulsificante (Keenan, Auty, Doran, Kerry, y Hamill, 2014). Por su naturaleza como carbohidrato no-digerible (Flores, Morlett, y Rodríguez, 2016) funciona como un prebiótico dentro del organismo (Guimarães *et al.*, 2018; Ye *et al.*, 2018).

La microencapsulación de compuestos bioactivos ha sido una alternativa para preservar y aprovechar las características funcionales de estos compuestos. En carne y productos cárnicos se han microencapsulando polifenoles de moras para la inhibición de la oxidación en carne de cerdo (Xu *et al.*, 2019); extractos de propóleo para mejorar la estabilidad oxidativa y las propiedades fisicoquímicas en carne de hamburguesa en congelación (Reis *et al.*, 2017); así como, extracto de clavo como antifúngico en diversos productos cárnicos (Wang *et al.*, 2018).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto funcional y antioxidante de microesferas (ME) elaboradas a base de alginato, inulina de agave y ASC por coacervación simple adicionadas en carne de pierna de cerdo molida, cocinada y almacenada en refrigeración 4° C, a diferentes niveles de inclusión.

## 3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.2.1 MATERIALES

La pierna de cerdo se adquirió de un rastro municipal de la zona a 24 h *post mortem*. Las ME se elaboraron por la técnica de microencapsulación de coacervación simple con 1.5% de alginato + 5% de inulina de agave + 2% ASC (caracterización en trabajo previo). Las ME fueron de tipo multinucleadas y de tamaño promedio de partícula de 105  $\mu\text{m}$  y se elaboraron con el fin de conservar las propiedades antioxidantes del ASC y funcionales de la inulina de agave.

Para la elaboración de las ME se empleó alginato de sodio (Droguería Cosmopolita ®, Ciudad de México, México), inulina grado alimenticio E – nature ® (Zapopan, Jalisco, México), aceite de semilla de chía Xiomega ® (Guadalajara, Jalisco, México), y cloruro de calcio (Droguería Cosmopolita ®, Ciudad de México, México). Para la preparación de las diluciones se empleó agua bidestilada J.T. Baker ® (Ciudad de México, México), 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP), ácido tricloroacético (TCA) y el butilhidroxitolueno (BHT) se adquirieron de Sigma Aldrich ® (San Luis, Missouri, EUA), y el 2-ácido tiobarbitúrico (TBA) de J.T. Baker ® (Londres, Inglaterra), todo grado reactivo.

### 3.2.2 MÉTODOS

#### 3.2.2.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

La pierna de cerdo se limpió del exceso de grasa y se deshuesó para la obtención de músculos magros (*Semimembranosus*, *Biceps femoris* y *Gluteus*), los cuales se trocearon y molieron con un cedazo de 3/8" en un molino Tor – Rey ® Modelo M – 22RW. La carne se evaluó con los parámetros de calidad y se clasificó como normal (pH =  $6.04 \pm 0.006$ , valor  $L^* = 51.41 \pm 0.62$ , valor  $a^* = 7.83 \pm 0.97$ , valor  $b^* = 3.47 \pm 0.57$ ) según lo reportaron Li *et al.* (2012). La carne molida se dividió en 4 lotes y se adicionó a cada uno un nivel de inclusión diferente: control (C, sin ME), 3 (T1), 6 (T2) y 12 (T3) g de ME/Kg de carne, tomando como base el contenido de ASC. Las ME junto con la carne se homogenizaron manualmente para cada tratamiento y se moldearon en forma de patties de 100 g cada una, por triplicado. Las patties se sometieron a cocción, según el método establecido por Ganhão *et al.* (2010), en un horno de convección (Hobart, HEC – 5, México), precalentado a 100° C, hasta alcanzar una temperatura interna de cocción de 72° C (Thermocouple Type K, Modelo EF2664B) por 10 min. Las patties se enfriaron a temperatura ambiente y se colocaron en bolsas de polietileno permeables al oxígeno y se almacenaron en refrigeración a 4° C. Las patties se analizaron fisicoquímicamente a los 0, 3, 6, 9 y 12 d de almacenamiento, por triplicado.

### 3.2.2.2 RENDIMIENTO POR COCCIÓN (RC)

El rendimiento por cocción se determinó según la metodología establecida por Johnston, Sepe, Miano, Brannan, y Alderton (2005). Cada una de las patties se pesó en crudo y después de la cocción en todos los tratamientos. El RC se expresó en porcentaje (%) y se calculó por diferencia de peso con respecto a su peso inicial de las patties crudas.

### 3.2.2.3 pH

El pH de la carne de cerdo en crudo se midió con un potenciómetro portátil de punzón (HANNA HI99163). El electrodo del potenciómetro se introdujo de forma perpendicular al músculo evitando zonas con grasa y tomando el valor hasta la estabilización de la lectura (Bianchi *et al.*, 2007). En las patties de carne molida y cocida, 10 g de muestra se homogenizó con 100 mL de agua bidestilada. La disolución se filtró con gasa para eliminar partículas grandes y se tomaron las lecturas de pH según el método establecido por Trout (1989).

### 3.2.2.4 ACIDEZ TITULABLE

La determinación de la acidez titulable se realizó en 10 g de muestra de patties, la cual se homogenizó con 200 mL de agua bidestilada, se filtró a través de una gasa y se aforó a 250 mL. Posteriormente se tomó una alícuota de 25 mL, se añadió 75 mL de agua bidestilada y se tituló con hidróxido de sodio (NaOH 0.1 N) usando fenolftaleína como indicador. El agua bidestilada se tomó como blanco y se calculó el porcentaje de ácido láctico mediante la ecuación 1 (AOAC, 1990):

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(V \text{ NaOH} * N \text{ NaOH} * \text{Meq ácido láctico} * f)}{g \text{ muestra}} \times 100 \quad [1]$$

Donde: V NaOH = volumen de hidróxido de sodio gastado, N NaOH = normalidad del hidróxido de sodio, Meq ácido láctico = miliequivalente de ácido láctico, f = factor de dilución.

### 3.2.2.5 HUMEDAD

La humedad en las patties cocinadas se determinó siguiendo la metodología establecida por la AOAC (2000). 3 g de muestra se colocó en charolas de aluminio a peso constante, se introdujo a una estufa de secado a 60° C durante 24 h y posteriormente, una vez enfriadas se pesaron. El valor de humedad se obtuvo por diferencia de peso con respecto al peso inicial y se expresó en porcentaje (%).

### **3.2.2.6 ACTIVIDAD DE AGUA ( $a_w$ )**

La  $a_w$  se determinó en las patties cocidas en un medidor de  $a_w$  portátil Rotronic ® Modelo Aw – DIO a 25° C. Las muestras se colocaron en el contenedor del equipo y se registró la medición una vez la lectura fue estable.

### **3.2.2.7 ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)**

El análisis de perfil de textura (TPA) se realizó en las patties cocida en todos los tratamientos y en cada día de almacenamiento en refrigeración (0, 3, 6, 9 y 12 d). De cada patties se tomó un sacabocado de 2.3 cm de diámetro, según el método establecido por Ganhão *et al.* (2010), y se midió en un texturómetro Shimadzu ® EZ-SX a una velocidad de 60 mm/min.

### **3.2.2.8 COLOR**

La evaluación de color se determinó con un colorímetro HunterLab ® Modelo MiniScan EZ en las patties de carne molida cruda y cocida de todos los tratamientos, los resultados se expresaron en las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  según el método establecido por Bianchi *et al.* (2007).

### **3.2.2.9 OXIDACIÓN LIPÍDICA (TBAR)**

La evaluación de la oxidación lipídica se realizó mediante la cuantificación de la formación del compuesto malondialdehído (MDA), siguiendo el método establecido por Salih, Smith, Price, y Dawson (1987). Se elaboró una curva patrón de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) 50  $\mu$ M en reacción con 2-ácido tiobarbitúrico (TBA) 20 mM. Para la cuantificación del MDA se tomó 10 g de muestra, se agregó 40 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% (p/v) y 50  $\mu$ L de butilhidroxitolueno (BHT) 10 mg/mL y se homogenizó durante 1 min. La mezcla se centrifugó a 1130 g por 20 min. El sobrenadante se filtró y se aforó a 50 mL con TCA 5% y se homogenizó en vórtex, se tomó una alícuota de 2 mL a los que le fueron añadidos 2 mL de TBA 20 mM. Las mezclas se colocaron en baño María a temperatura de ebullición durante 1 h y se enfriaron a temperatura ambiente para su lectura a 530 nm de longitud de onda ( $\lambda$ ) en un espectrofotómetro UV – visible ThermoScientific © Modelo Genesys 10 UV. El blanco consistió de una mezcla de 2 mL de agua bidestilada con 2 mL de TBA 20 mM. Los valores obtenidos fueron sustituidos en la fórmula en la que se empleó la pendiente de la curva de patrón TMP 50  $\mu$ M. Los resultados se reportaron en mg MDA/kg de carne (valor TBAR).

### 3.2.2.10 OXIDACIÓN PROTEICA (FTIR)

La evaluación de la oxidación proteica se realizó de manera cualitativa mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) con un espectrofotómetro marca Bruker © modelo Vertex 70. El método de muestreo fue reflectancia total atenuada (ATR). Las muestras se colocaron directamente en el equipo durante 120 scans (seg) para su caracterización. Los espectros obtenidos se analizaron en el rango de 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Para diferenciar la estructura secundaria se aplicó la segunda derivada según lo establecido por Mamani-Linares, Gallo, y Alomar (2012) en el rango de 1700-1600  $\text{cm}^{-1}$ . El análisis se realizó por duplicado y se obtuvo el promedio del espectro de cada muestra.

### 3.2.2.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los parámetros fisicoquímicos se realizó análisis de varianza y comparación de medias mediante mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher. Para evaluar el efecto de los diferentes niveles de inclusión de ME sobre la matriz cárnica se realizó un contraste ortogonal polinomial ( $p < 0.05$ ). Se utilizó el software SAS © 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, Carolina del Norte, EUA) en un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con medidas repetidas, el modelo es el siguiente (ecuación 2):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + r_k + (r * \alpha)_{ik} + \tau_j + (\alpha * \tau)_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad [2]$$

Donde:  $Y_{ijk}$  = medición que corresponde al tratamiento  $i$  y al bloque  $j$ ,  $\mu$  = media general de las observaciones,  $\alpha_i$  = efecto del  $i$ -ésimo tratamiento (niveles de inclusión de MC),  $r_k$  = efecto del  $k$ -ésimo bloque,  $(r * \alpha)_{ik}$  = efecto de la interacción del  $k$ -ésimo bloque con el  $i$ -ésimo tratamiento con  $(r * \alpha)_{ik} \sim N(0, \sigma^2)$ ,  $\tau_j$  = efecto del  $j$ -ésimo bloque (tiempo),  $(\alpha * \tau)_{ij}$  = efecto de la interacción del  $i$ -ésimo tratamiento con el  $j$ -ésimo bloque (tiempo),  $\varepsilon_{ijk}$  = error experimental con  $\varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$

## 3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.3.1 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

En el Cuadro 1 se muestran los valores de los parámetros evaluados en las patties con diferentes niveles de inclusión de ME. El RC de las patties sin adición de ME (control) fue significativamente ( $P < 0.05$ ) menor para todos los tratamientos (Cuadro 1). El T2 mostró el mayor RC con diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con el T1 y T3. Esto concuerda con el estudio realizado por Henning, Tshalibe, y Hoffman (2016) en el que obtuvieron menores pérdidas por cocción en salchichas de res adicionadas con fibra dietaria de piña, demostrando

así que las fibras tienen un efecto en cuanto al aumento del rendimiento durante el procesamiento de productos cárnicos, por efecto de la retención de agua dentro del producto (Álvarez y Barbut, 2013).

Paglarini *et al.*, (2018) mostraron un incremento del 94% en la capacidad de retención de agua (CRA) al adicionar inulina en la formulación de geles funcionales con aplicación potencial en productos cárnicos. La CRA se relaciona con el RC y su efecto se correlaciona con la humedad (Cuadro 1), la cual tuvo un incremento significativo al adicionar diferentes niveles de ME, siendo el T2 el que muestra mayor porcentaje humedad. Han y Bertram (2017) evidenciaron una disminución significativa en las pérdidas por cocción y en el agua expresible en salchichas de carne de cerdo, lo que se atribuye a una mayor CRA inducida por el uso de fibras tales como la inulina, carboximetilcelulosa (CMC), celulosa, quitosana y pectina. Este efecto también se observó en los parámetros de dureza, cohesividad y gomosidad del TPA de productos cárnicos reducidos en grasa y adicionados con fibra (Jiménez Colmenero, 2000). Resultados que concuerdan con este estudio, el control mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con respecto a los otros tratamientos, evidenciando mayor dureza de las patties (Cuadro 1). No obstante, aun cuando se redujo significativamente la dureza de las patties de pierna de cerdo al adicionar los diferentes niveles de ME, no mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre ellos. Siendo un indicativo del efecto positivo que tiene la adición de inulina de agave a productos cárnicos sobre la textura al emular la reología de la grasa, fenómeno que también reportó Angiolillo, Conte, y Del Nobile (2015) en el desarrollo de hamburguesas funcionales de res adicionadas con este fructooligosacárido sin encapsular.

Por otro lado, la adición de ME no ejerció un efecto significativo en los diferentes niveles inclusión con respecto al pH y acidez, todos los tratamientos se encuentran dentro del rango de los valores de carne normal y sin defectos según lo reportado por Peres *et al.* (2018). La  $a_w$  se encuentra dentro del rango de valores esperados según lo establecen Musavu Ndob y Lebert (2018) en su modelo termodinámico. Dichos valores fueron también reportados por Ranucci *et al.* (2018) en la elaboración de una salchicha de cerdo tipo Frankfurt adicionada con trigo, por lo que es evidente que la cocción de productos cárnicos no tiene un efecto sobre dichas variables.

**Cuadro 1.** Características fisicoquímicas de la carne de pierna de cerdo, molida, cocida y almacenada en refrigeración a 4°C en forma de patties adicionada con microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina y 2% aceite de semilla de chía a diferentes niveles de inclusión.

Parámetro	Control	3 g de ME/Kg de carne (T1)	6 g de ME/Kg de carne (T2)	12 g de ME/Kg de carne (T3)
Rendimiento por cocción (RC) (%)	76.80±1.11 <sup>c</sup>	80.95±1.11 <sup>b</sup>	83.51±1.11 <sup>a</sup>	81.4±1.11 <sup>b</sup>
Humedad (%)	66.31±1.05 <sup>b</sup>	69.19±1.05 <sup>ab</sup>	70.03±1.05 <sup>a</sup>	67.82±1.05 <sup>ab</sup>
Dureza (N)	92.88±1.51 <sup>b</sup>	63.43±1.51 <sup>a</sup>	64.43±1.51 <sup>a</sup>	59.08±1.51 <sup>a</sup>
pH	6.07±0.05 <sup>ab</sup>	6.08±0.05 <sup>ab</sup>	6.10±0.05 <sup>a</sup>	6.05±0.05 <sup>b</sup>
Acidez titulable (% ácido láctico)	0.316±0.00 <sup>a</sup>	0.31±0.00 <sup>ab</sup>	0.29±0.00 <sup>b</sup>	0.30±0.02 <sup>ab</sup>
$a_w$	0.98±0.0019 <sup>a</sup>	0.98±0.00 <sup>a</sup>	0.98±0.00 <sup>a</sup>	0.98±0.00 <sup>a</sup>
$L^*$	62.84±1.13 <sup>b</sup>	67.41±1.10 <sup>a</sup>	68.69±1.10 <sup>a</sup>	62.18±1.10 <sup>b</sup>
$a^*$	5.42±0.46 <sup>a</sup>	4.16±0.46 <sup>b</sup>	3.85±0.46 <sup>b</sup>	5.72±0.46 <sup>a</sup>
$b^*$	17.80±0.66 <sup>ab</sup>	17.06±0.62 <sup>b</sup>	16.43±0.62 <sup>b</sup>	19.53±0.62 <sup>a</sup>
TBAR (mg MDA/kg muestra)	2.67±0.21 <sup>a</sup>	2.14±0.21 <sup>b</sup>	1.85±0.20 <sup>b</sup>	1.82±0.21 <sup>b</sup>

Letras diferentes dentro de una fila son estadísticamente diferentes (p-valor<0.05); letras diferentes dentro de una columna son estadísticamente diferentes (p-valor<0.05), método de comparación de medias a través de LSD (p-valor<0.05).

En cuanto al color, los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  que se atribuyen a la concentración y al estado químico de los pigmentos hemolíticos (Warris, 2007) son los típicos de la carne cocinada, según lo mencionan Suman, Nair, Joseph, y Hunt (2016) debido a los procesos de desnaturalización de la mioglobina; en el valor  $L^*$  se observan ligeros cambios en los tratamientos T1 y T2 con respecto al control, sin embargo, T3 no es estadísticamente diferente al Control, lo que también se observa para el valor  $a^*$ , por lo que se puede considerar que la adición de ME no afecta significativamente la medición instrumental del color.

En general, la determinación de las características fisicoquímicas durante el almacenamiento en refrigeración a 4°C, no evidenció diferencias significativas importantes, por lo que se optó por la comparación de las medias generales (Cuadro 1) en las que se incluye el efecto del tratamiento y del tiempo de medición. Excepto para el valor TBAR, del cual se detalla en el apartado correspondiente.

### 3.3.2 OXIDACIÓN LIPÍDICA

Los valores de TBAR evidenciaron el potencial antioxidante de la adición de las ME a carne de pierna de cerdo molida, cocinada y refrigerada a 4 °C. En la Cuadro 1, se observan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) del control respecto a los tratamientos T1, T2, T3; no obstante, entre tratamientos no se observan diferencias significativas. Aunque a mayor cantidad de ME adicionadas mayor es el efecto antioxidante en la carne de pierna de cerdo. A fin de observar el efecto antioxidante del aceite de chía encapsulado en las patties de carne de cerdo durante el periodo de almacenamiento en refrigeración se realizó un contraste ortogonal (Cuadro 2) para detectar la tendencia de la adición de ME sobre el valor de TBAR expresado en mg de malondialdehído/Kg de muestra. El resultado mostró que existe una tendencia lineal ( $P = 0.0028$ ) de la inclusión de ME sobre el valor TBAR durante su almacenamiento en refrigeración a 4°C por 12 d.

Sin embargo, en la Figura 2, se observa que el T2 muestra una tendencia ligera a inhibir la oxidación lipídica, con menor valor de TBAR; por lo que este nivel puede ser definido como el óptimo para la mayor inhibición de la oxidación lipídica en carne de cerdo a 12 d de almacenamiento en refrigeración a 4°C. Los resultados de este estudio concuerdan con los reportados por Scapin *et al.* (2015), quienes evaluaron la adición de extracto de semilla de chía sin encapsular como antioxidante en salchicha fresca de cerdo, obteniendo valores de TBAR significativamente ( $P < 0.05$ ) más bajos, con 2% de inclusión del extracto con respecto al control tras 28 d de almacenamiento en refrigeración, con buenas características sensoriales; demostrando el potencialidad del uso de dicho extracto como antioxidante natural.

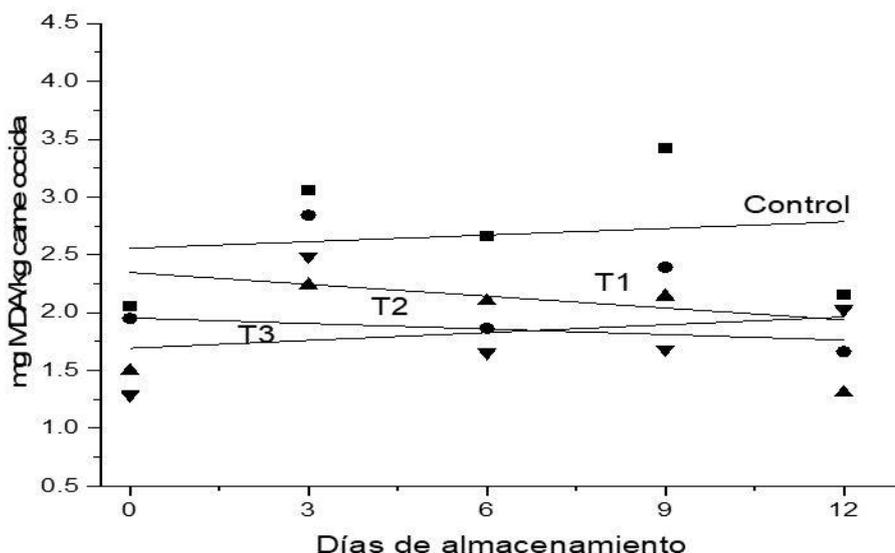
En contraste a los resultados obtenidos en este estudio, Heck *et al.* (2018) obtuvieron mayores valores de TBAR en hamburguesas de res cocinadas y adicionadas con micropartículas de ASC enriquecidas con extracto de romero. Lo que es atribuible a la técnica de microencapsulación empleada, en la cual pudo ser incorporado oxígeno en la fase de atomización, lo que pudo acelerar el proceso de oxidación de los lípidos (Xie, Wang, y Zhao, 2018). Por lo que la técnica por coacervación simple empleada para la obtención de ME en este estudio, le otorgó mayor estabilidad al no haber incorporado oxígeno durante el proceso (Meng, Wang, Liu, Xu, y Ma, 2017) y se potencio su uso antioxidante en la carne.

Es evidente la potencialidad del uso del ASC como antioxidante natural para su inclusión en productos cárnicos, lo que Taga, Miller, y Pratt (1984) atribuyen a su contenido de flavonoides,

ácido clorogénico ( $7.1 \times 10^{-3}$  m/kg) y ácido cafeico ( $6.6 \times 10^{-3}$  m/kg). Sin embargo, el alto grado de instauración del ASC activa rápidamente el sistema de autooxidación si éste no es protegido adecuadamente (Caruso *et al.*, 2018).

**Cuadro 2.** Contraste ortogonal polinomial del efecto de la adición de diferentes niveles de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chía: 0 (Control), 3 (T1), 6 (T2) y 12 (T3) g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.

Tipo	Grados de libertad del numerador	Grados de libertad del denominador	Valor F	Pr > F
Lineal	1	8.214	17.61	0.0028
Cuadrático	1	8.044	2.95	0.1242
Cúbico	1	7.876	0.02	0.8974



**Figura 1.** Modelo polinomial lineal de la evolución de la oxidación lipídica (mg MDA/kg carne) en carne de cerdo molida, cocida y almacenada en refrigeración a 4°C durante 0, 3, 6, 9 y 12 d adicionada con diferentes niveles de inclusión de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chía 0 (Control) ■, 3 (T1) ●, 6 (T2) ▲ y 12 (T3) ▼ g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.

### 3.3.3 OXIDACION PROTEICA

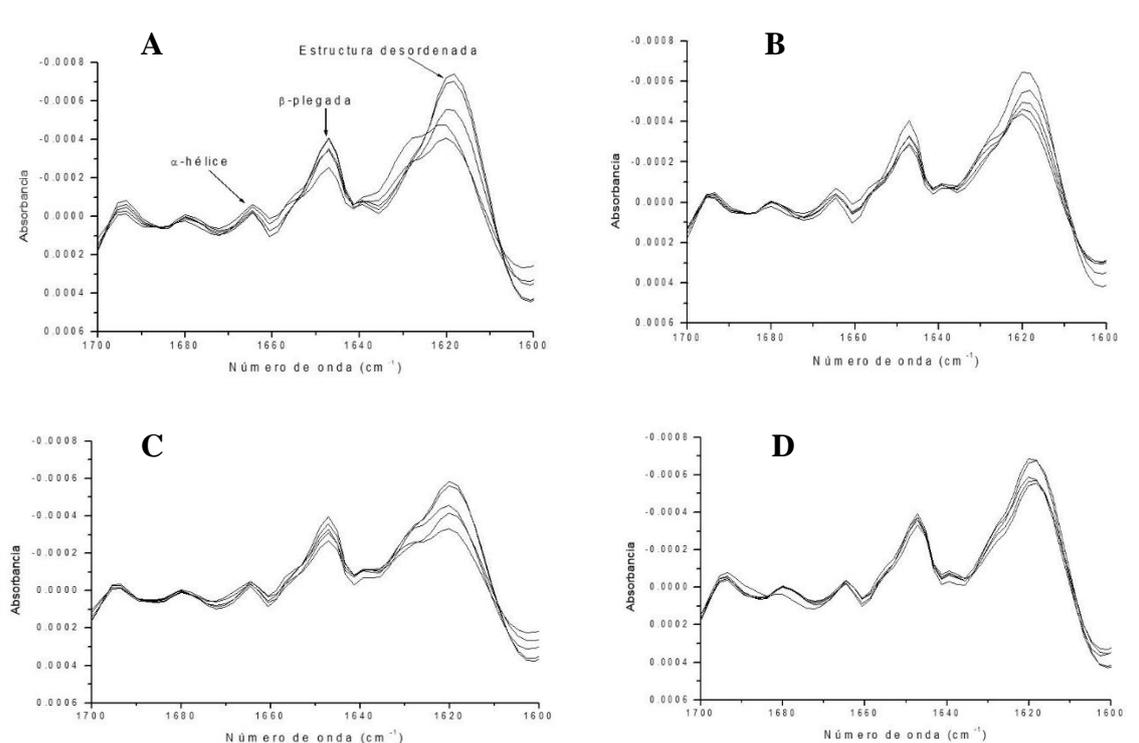
La estabilidad oxidativa implica también la modificación de la composición proteica de la carne ante factores pro-oxidantes (Muthukumar *et al.*, 2014). La técnica de FTIR se ha utilizado como una alternativa para la detección de la oxidación proteica mediante el análisis de la estructura secundaria de las proteínas aplicando la segunda derivada sobre los espectros obtenidos (Souillac, Middaugh, y Rytting, 2002) en el rango de número de onda (K) de entre 1700 y 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Barth (2007) indica que es la banda donde el grupo amida I da respuesta debido a la vibración lineal del enlace  $\text{C} = \text{O}$ , lo que hace posible su caracterización (Doglia, Ami, Natalello, Gatti-Lafranconi, y Lotti, 2008). Dicha estructura proporciona en gran medida información acerca de su comportamiento, función y propiedades (Tranter, 2017). El grupo amida I es el que más se ha utilizado debido a su sensibilidad ante cambios estructurales (Glassford, Byrne, y Kazarian, 2013).

En este estudio, fue posible observar cualitativamente, mediante dicha técnica, la oxidación proteica en carne de pierna de cerdo molida, cocinada, almacenada en refrigeración hasta por 12 d adicionada con ME de inulina de agave y ASC. Los resultados muestran una reducción en la oxidación del grupo amida I (Figura 2). En los espectros se observan dos picos a 1658 y a 1638  $\text{cm}^{-1}$ , que están asignados a las estructuras  $\alpha$  – hélice y  $\beta$  – plegada, respectivamente. Otro pico a 1628  $\text{cm}^{-1}$ , se asigna a la interacción intermolecular proteína – proteína o “estructura desordenada” (Yu, 2005).

Existen pocos estudios en los que se observa la degradación del grupo amida I en carne de cerdo; sin embargo, los resultados obtenidos son comparables con los reportados por Martín-del-Campo, Picque, Cosío-Ramírez, y Corrieu (2007) en un estudio similar en el que evaluaron mediante FTIR la degradación de la estructura proteica en quesos tipo Camembert durante las fases de maduración del producto. En dicho estudio se pudieron observar de igual manera la reducción de las bandas características asociadas a los grupos funcionales proteicos. Por otro lado, Schmidt, Giacomelli, y Soldi (2005), analizaron por FTIR la estabilidad térmica de películas comestibles a base de aislado de proteína de soya, observando la degradación de los mismos grupos funcionales asignados a sus bandas características al aplicar diferentes tratamientos térmicos.

Vannini, Baldi y Lanciotti (2001) observaron la degradación de los espectros dentro del rango de K asignado al grupo amida I como resultado de la actividad proteolítica de *Yarrowia lipolytica* en soluciones de caseína, pudiendo así evaluar el proceso de oxidación proteica en la elaboración de quesos madurados. Lo cual también es concordante con los espectros obtenidos en este estudio (Figura 2), por lo que éstos pueden ser utilizados como indicador del nivel óptimo de inclusión de ME para un menor desarrollo de oxidación proteica.

Puede considerarse que el T3 es el que mantiene en mayor medida el espectro sin disminución de bandas (Figura 2D), lo cual se correlaciona con el resultado cuantitativo para oxidación lipídica mediante el análisis de varianza (Tabla 1), en el que el tratamiento T3 evidencia menor valor de TBAR sin mostrar diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) con T2, el cual demostró mayor tendencia a inhibir la formación de MDA mediante el contraste ortogonal.



**Figura 2.** Segunda derivada de los espectros FTIR de la evolución de la oxidación proteica en carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C de 0 a 12 d, con diferentes niveles de inclusión de microesferas de 1.5% alginato + 5% inulina de agave + 2% aceite de semilla de chíá: (A) Control-0 ; (B) T1-3; (C) T2-6; y (D) T3-12 g de ME/Kg de carne de cerdo molida, cocida y refrigerada a 4°C en forma de patties.

### **3.4 CONCLUSIÓN**

Este estudio demostró que la inclusión de ME de 5% de inulina de agave con 2% de ASC, elaboradas por coacervación simple, en una matriz de carne de cerdo mejora significativamente algunas de sus propiedades fisicoquímicas como lo son la textura al disminuir la dureza, aumento del RC y sin un efecto significativo sobre el pH, acidez titulable,  $a_w$  y color de las patties. Lo anterior potenciado por el efecto significativo en la reducción del valor TBAR con respecto al control, y se demostró mayor estabilidad proteica mediante el análisis de los espectros FTIR. Esto hace evidente el efecto funcional que tiene la inulina de agave microencapsulada sobre la reología de los productos cárnicos y el efecto antioxidante del ASC microencapsulado. El T2 (6 g de ME/Kg de carne de cerdo) fue el que demostró significativamente una mayor efectividad en cuanto a la mejora de las características fisicoquímicas en carne de cerdo debido a la adición de la inulina de agave. Aunque se evidencia un incremento en la estabilidad lipídica y proteica a medida que se incrementa la inclusión de ASC; por lo tanto, mayor efecto antioxidante. Se requieren futuras investigaciones para evaluar el efecto de las propiedades funcionales de dichos componentes sobre el organismo durante la ingesta y procesos de digestión de los mismos.

### **AGRADECIMIENTOS**

Se agradece al Programa de Postgrado en Ciencias en Innovación Agroalimentaria Sustentable del Colegio de Posgraduados Campus Córdoba y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el otorgamiento de la beca necesaria para la realización de los estudios de postgrado, de los cuales son resultado este artículo de investigación.

### 3.5 LITERATURA CITADA

- Álvarez, D., y Barbut, S. (2013). Effect of inulin,  $\beta$ -Glucan and their mixtures on emulsion stability, color and textural parameters of cooked meat batters. *Meat Science*, 94(3), 320–327.
- Angiolillo, L., Conte, A., y Del Nobile, M. A. (2015). Technological strategies to produce functional meat burgers. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 697–703.
- AOAC 1990. Acidez titulable. 947.05. In Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 15th ed. Washington DC.
- AOAC 2000. Moisture content. 950.46. In Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 17th ed. Gaithersburgh, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. International: Official methods of analysis. 2005. 16th ed. Gaithersburg, MD. 44.
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1767(9), 1073–1101.
- Beriain, M.J., 2017. Chapter 1 - Improvement of the Functional and Healthy Properties of Meat Products. *Food Quality*. Research Institute on Innovation and Sustainable Development in Food Chain. Universidad Pública de Navarra.
- Bianchi, M., Petracci, M., Sirri, F., Folegatti, E., Franchini, A., y Meluzzi, A. (2007). The Influence of the Season and Market Class of Broiler Chickens on Breast Meat Quality Traits. *Poultry Science*, 86(5), 959–963.
- Bodoira, R. M., Penci, M. C., Ribotta, P. D., y Martínez, M. L. (2017). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 107–113.
- Caruso, M. C., Favati, F., Di Cairano, M., Galgano, F., Labella, R., Scarpa, T., & Condelli, N. (2018). Shelf-life evaluation and nutraceutical properties of chia seeds from a recent long-day flowering genotype cultivated in Mediterranean area. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 400–405.
- Ciriano, M. G.-I. de García-Herreros, C., Larequi, E., Valencia, I., Ansorena, D., y Astiasarán, I. (2009). Use of natural antioxidants from lyophilized water extracts of *Borago officinalis* in dry fermented sausages enriched in  $\omega$ -3 PUFA. *Meat Science*, 83(2), 271–277.
- Colindres, P., y Susan Brewer, M. (2011). Oxidative stability of cooked, frozen, reheated beef patties: effect of antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), 963–968.

- Doglia, S. M., Ami, D., Natalello, A., Gatti-Lafranconi, P., y Lotti, M. (2008). Fourier transform infrared spectroscopy analysis of the conformational quality of recombinant proteins within inclusion bodies. *Biotechnology Journal*, 3(2), 193–201.
- Estévez, M., Ventanas, S., y Cava, R. (2007). Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100(1), 55–63.
- Estévez, M., y Lorenzo, J. M. (2018). Impact of Antioxidants on Oxidized Proteins and Lipids in Processed Meat. In *Reference Module in Food Science*. Elsevier.
- Flores, A. C., Morlett, J. A., y Rodríguez, R. (2016). Inulin Potential for Enzymatic Obtaining of Prebiotic Oligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(11), 1893–1902.
- Ganhão, R., Morcuende, D., y Estévez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science*, 85(3), 402–409.
- Glassford, S. E., Byrne, B., y Kazarian, S. G. (2013). Recent applications of ATR FTIR spectroscopy and imaging to proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1834(12), 2849–2858.
- Guimarães, J. T., Silva, E. K., Costa, A. L. R., Cunha, R. L., Freitas, M. Q., Meireles, M. A. A., y Cruz, A. G. (2018). Manufacturing a prebiotic whey beverage exploring the influence of degree of inulin polymerization. *Food Hydrocolloids*, 77, 787–795.
- Han, M., y Bertram, H. C. (2017). Designing healthier comminuted meat products: Effect of dietary fibers on water distribution and texture of a fat-reduced meat model system. *Meat Science*, 133, 159–165.
- Heck, R. T., Lucas, B. N., Santos, D. J. P. D., Pinton, M. B., Fagundes, M. B., de Araújo Etchepare, M., Campagnol, P. C. B. (2018). Oxidative stability of burgers containing chia oil microparticles enriched with rosemary by green-extraction techniques. *Meat Science*, 146, 147–153.
- Henning, S. S. C., Tshalibe, P., y Hoffman, L. C. (2016). Physico-chemical properties of reduced-fat beef species sausage with pork back fat replaced by pineapple dietary fibres and water. *LWT - Food Science and Technology*, 74, 92–98.
- Jiang, J., y Xiong, Y. L. (2016). Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*, 120, 107–117.
- Jiménez Colmenero, F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science y Technology*, 11(2), 56–66.

- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., y Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5–13.
- Johnston, J. E., Sepe, H. A., Miano, C. L., Brannan, R. G., y Alderton, A. L. (2005). Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Science*, 70(4), 627–631.
- Keenan, D. F., Auty, M. A. E., Doran, L., Kerry, J. P., y Hamill, R. M. (2014). Investigating the influence of inulin as a fat substitute in comminuted products using rheology, calorimetric and microscopy techniques. *Food Structure*, 2(1–2), 1–13.
- Mamani-Linares, L. W., Gallo, C., y Alomar, D. (2012). Identification of cattle, llama and horse meat by near infrared reflectance or transreflectance spectroscopy. *Meat Science*, 90(2), 378–385.
- Martín-del-Campo, S. T., Picque, D., Cosío-Ramírez, R., y Corrieu, G. (2007). Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. *International Dairy Journal*, 17(7), 835–845.
- Meng, F., Wang, S., Liu, H., Xu, X., y Ma, H. (2017). Microencapsulation of oxalic acid (OA) via coacervation induced by polydimethylsiloxane (PDMS) for the sustained release performance. *Materials y Design*, 116, 31–41.
- Musavu Ndob, A., y Lebert, A. (2018). Prediction of pH and aw of pork meat by a thermodynamic model: New developments. *Meat Science*, 138, 59–67.
- Muthukumar, M., Naveena, B. M., Vaithyanathan, S., Sen, A. R., y Sureshkumar, K. (2014). Effect of incorporation of *Moringa oleifera* leaves extract on quality of ground pork patties. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 3172–3180.
- Paglarini, C. de S., Furtado, G. de F., Biachi, J. P., Vidal, V. A. S., Martini, S., Forte, M. B. S., Pollonio, M. A. R. (2018). Functional emulsion gels with potential application in meat products. *Journal of Food Engineering*, 222, 29–37.
- Peres, L. M., Barbon Jr, S., Fuzyi, E. M., Barbon, A. P. A. C., Barbin, D. F., Maeda Saito, P. T., Bridi, A. M. (2018). Fuzzy approach for classification of pork into quality grades: coping with unclassifiable samples. *Computers and Electronics in Agriculture*, 150, 455–464.
- Ranucci, D., Miraglia, D., Branciarri, R., Morganti, G., Roila, R., Zhou, K., Braconi, P. (2018). Frankfurters made with pork meat, emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schübler) and almonds nut (*Prunus dulcis* Mill.): evaluation during storage of a novel food from an ancient recipe. *Meat Science*, 145, 440–446.

- Reis, A. S. dos, Diedrich, C., Moura, C. de, Pereira, D., Almeida, J. de F., Silva, L. D., da Carpes, S. T. (2017). Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at  $-15^{\circ}\text{C}$ . *LWT - Food Science and Technology*, 76, 306–313.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F., y Dawson, L. E. (1987). Modified Extraction 2-Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Oxidation in Poultry. *Poultry Science*, 66(9), 1483–1488.
- Scapin, G., Schimdt, M. M., Prestes, R. C., Ferreira, S., Silva, A. F. C. y da Rosa, C. S. (2015). Effect of extract of chia seed (*Salvia hispanica*) as an antioxidant in fresh pork sausage. *International Food Research Journal*, 22(3), 1195-1202
- Schmidt, V., Giacomelli, C., y Soldi, V. (2005). Thermal stability of films formed by soy protein isolate–sodium dodecyl sulfate. *Polymer Degradation and Stability*, 87(1), 25–31.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., y Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*, 98(1), 21–33.
- Souillac, P. O., Middaugh, C. R., y Rytting, J. H. (2002). Investigation of protein/carbohydrate interactions in the dried state. 2. Diffuse reflectance FTIR studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 235(1–2), 207–218.
- Suman, S. P., Nair, M. N., Joseph, P., y Hunt, M. C. (2016). Factors influencing internal color of cooked meats. *Meat Science*, 120, 133–144.
- Taga, M. S., Miller, E. E., y Pratt, D. E. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 928–931.
- Tenore, G. C., Caruso, D., Buonomo, G., D'Avino, M., Ciampaglia, R., y Novellino, E. (2018). Plasma lipid lowering effect by a novel chia seed based nutraceutical formulation. *Journal of Functional Foods*, 42, 38–46.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., y Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of chia seed oil using chia seed protein isolate chia seed gum complex coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 347–357.
- Tranter, G. E. (2017). Protein Structure Analysis by CD, FTIR, and Raman Spectroscopies. In *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* (pp. 740–758). Elsevier.
- Trout, G. R. (1989). Variation in myoglobin denaturation and color of cooked beef, pork, and turkey meat as influenced by pH, sodium chloride, sodium tripolyphosphate, and cooking temperature. *Journal of Food Science*, 54(3), 536–540.

- Vannini, L., Baldi, D., y Lanciotti, R. (2001). Use of Fourier transform infrared spectroscopy to evaluate the proteolytic activity of *Yarrowia lipolytica* and its contribution to cheese ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 69(1–2), 113–123.
- Wang, H. H., Chen, J., Bai, J., y Lai, J. (2018). Meat packaging, preservation, and marketing implications: Consumer preferences in an emerging economy. *Meat Science*, 145, 300–307.
- Wang, Y.-F., Jia, J.-X., Tian, Y.-Q., Shu, X., Ren, X.-J., Guan, Y., y Yan, Z.-Y. (2018). Antifungal effects of clove oil microcapsule on meat products. *LWT*, 89, 604–609.
- Warris, P. D. (2007). The extraction of haem pigments from fresh meat. *International Journal of Food Science y Technology*, 14(1), 75–80.
- Xie, M., Wang, J., y Zhao, H. (2018). A PVA film for detecting lipid oxidation intended for food application. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 273, 260–263.
- Xu, L., Cheng, J.-R., Liu, X.-M., y Zhu, M.-J. (2019). Effect of microencapsulated process on stability of mulberry polyphenol and oxidation property of dried minced pork slices during heat processing and storage. *LWT*, 100, 62–68.
- Ye, J., Yang, R., Liu, C., Luo, S., Chen, J., Hu, X., y Wu, J. (2018). Improvement in freeze-thaw stability of rice starch gel by inulin and its mechanism. *Food Chemistry*, 268, 324–333.
- Yu, P. (2005). Protein secondary structures ( $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet) at a cellular level and protein fractions in relation to rumen degradation behaviours of protein: a new approach. *British Journal of Nutrition*, 94(05), 655.

## CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES GENERALES

La coacervación simple es un método que demostró efectividad para la obtención de microesferas (ME) de 5% de inulina de agave con 2% de aceite de semilla de chía (ASC) en una matriz biopolimérica de 1.5% de alginato. Por sus características de tamaño promedio (105  $\mu\text{m}$ ) y morfología multinucleada, dichas ME fueron óptimas para la conservación de los compuestos bioactivos. Mediante FTIR se pudo observar que los compuestos se mantuvieron estables hasta por 15 d, por lo que las ME pueden ser almacenadas y/o transportadas en un rango de tiempo considerable hasta su uso. Las ME fueron estables a pH neutro hasta por 120 min, pero a pH 6.2, típico de las matrices alimentarias proteicas, éstas liberan sus compuestos de manera controlada tras 15 min de haberlas adicionado. Por lo que dichas ME pueden ser utilizadas como ingrediente alimentario con potencial para el desarrollo de nuevos productos funcionales, garantizando la estabilidad, y con ello, el mantenimiento de dichas propiedades tales como antioxidantes y como fibra dietaria.

La adición de dichas ME en una matriz de carne de cerdo tuvo un efecto significativo en cuanto a la mejora de algunas de sus propiedades fisicoquímicas, como lo son la textura, al disminuir la dureza, un aumento en el % de rendimiento por cocción (RC), sin tener efecto significativo en otros parámetros como el pH, % de acidez titulable,  $a_w$  y color, ello como efecto de la inulina de agave microencapsulada. La oxidación lipídica se redujo al obtener menores valores de TBAR, también se redujo la oxidación proteica lo cual fue evidenciado mediante la comparativa de los espectros FTIR como efecto antioxidante del ASC microencapsulado. Así quedó claro el efecto que la inulina de agave microencapsulada tiene sobre la reología de los productos cárnicos y el efecto antioxidante del ASC microencapsulado. Los resultados obtenidos en esta investigación da respuesta a la hipótesis planteada al mejorar las características funcionales y de estabilidad oxidativa de la carne de cerdo molida, cocinada y almacenada en refrigeración por 12 d. El tratamiento T2 (6 g de ME/Kg de carne de cerdo) fue el que demostró significativamente una mayor efectividad en cuanto a la mejora de las características fisicoquímicas en carne de cerdo debido a la adición de la inulina de agave. Aunque se evidencia un incremento en la estabilidad lipídica y proteica a medida que se incrementa la inclusión de ASC, y por lo tanto, mayor efecto antioxidante.

En general, la adición de compuestos funcionales microencapsulados en carne de cerdo mejora significativamente las propiedades fisicoquímicas y de estabilidad oxidativa, representando la antepuerta en el desarrollo de nuevos productos cárnicos funcionales y con valor agregado.

## **RECOMENDACIONES**

Como parte de la continuación de esta investigación:

- Se recomienda ensayar la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos microencapsulados mediante digestión *in vitro*, a fin de verificar que éstos conserven dicha funcionalidad tras su consumo.
- Realizar adecuaciones al equipo de microencapsulación montado a fin de procurar una mayor uniformidad en el tamaño y forma de las ME.
- Ensayar con otros compuestos bioactivos de interés para la carne y productos cárnicos; así como otros componentes de pared en los procesos de microencapsulación coacervación simple y compleja para comprobar la factibilidad de la técnica en otras aplicaciones.

# **ANEXOS**

A 1. Anexos del Capítulo II

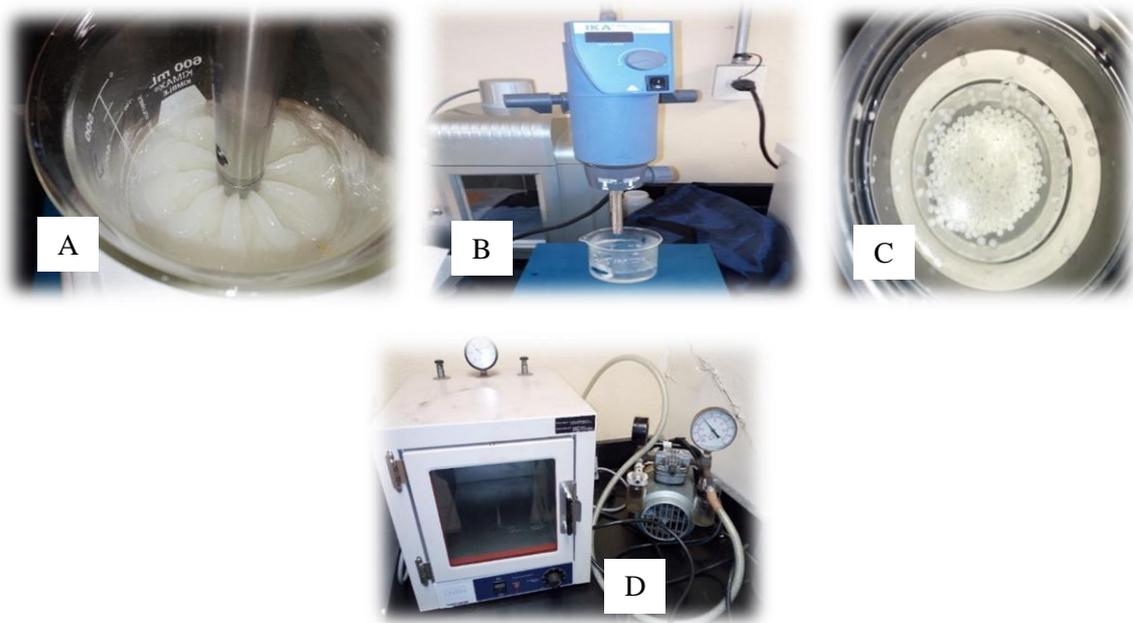
A 1.1 Proceso de purificación de biopolímeros (inulina y aginato).



**Figura 1.** Filtración de (A), liofilización de (B) y biopolímero purificado (C).

Fuente: Propiedad del autor.

A 1.2 Proceso de elaboración de microesferas de inulina de agave con aceite de semilla de chía.



**Figura 2.** Elaboración de la dispersión coloidal A, homogeneización en Ultra – Turrax © B, goteo en solución de cloruro de calcio C, secado en horno al vacío D.

Fuente: Propiedad del autor.

## A 2. Anexos del Capítulo III

### A 2.1 Proceso de elaboración de “patties” de carne de pierna de cerdo.



**Figura 3.** Deshuesado de las piernas de cerdo y selección del músculo (A), troceado de la carne (B), molienda de la carne (C), formulación de la carne molida en función del tratamiento (D), moldeado de la carne molida en forma de “patties” (E), procesos de cocción de las “patties” en horno de convección (F), enfriado de las “patties” a temperatura ambiente (G), empackado individual de las “patties” para su almacenamiento en refrigeración (H). Fuente: Propiedad del autor.

## A 2.2 Análisis fisicoquímicos de “patties”.



**Figura 4.** Cortes con sacabocados para análisis de perfil de textura (TPA) de las patties de carne de cerdo cocinada (A), TPA en texturómetro (B), análisis de TBAR por destilación, reacción colorimétrica: complejo ácido 2, tiobarbiturico – malondialdehído (D), análisis FTIR en modalidad ATR de las patties (E).

Fuente: Propiedad del autor.