



**Centro de Investigación en
Alimentación y Desarrollo, A. C.**

**DIGESTIBILIDAD *IN-VITRO* DE UN EMBUTIDO CÁRNICO
FORMULADO CON GRASA ENCAPSULADA CON
PECTINA**

Por:

I.B.Q. AARÓN JONARY SANTIAGUIN PADILLA

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA.


ENERO DE 2016

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL
APROBACIÓN

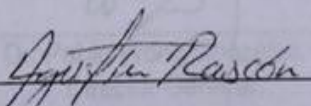
Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de I.B.Q. Aarón Jonary Santiaguin Padilla, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



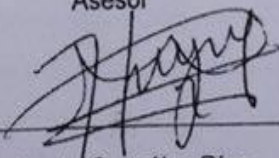
Dra. Etna Aída Peña Ramos
Director de Tesis



Dr. Alfonso Pérez Gallardo
Asesor



Dr. Agustín Rascón Chú
Asesor



Humberto González Ríos
Asesor

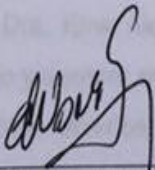


Dr. Juan Pedro Camou Arriola
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin el permiso especial del autor, siempre y cuando se de el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa aprobación por escrito del Director de la tesis.



Dr. Pablo Wong González.
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante estos dos años, el cual fue indispensable para poder realizar mis estudios de posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.), por permitirme formar parte de su programa de posgrado y darme la oportunidad de llevar a cabo mis estudios de maestría para poder cumplir un objetivo más en mi formación académica, así como permitirme el uso de sus instalaciones.

A la Coordinación de Tecnología de Alimentos de Origen Animal (CTAOA), por darme la oportunidad de trabajar en esta área de investigación, por su respaldo académico y administrativo otorgado.

A mi Directora de Tesis Dra. Etna Aida Peña Ramos por aceptarme como parte de su grupo de trabajo y siempre estar ahí tan servicial para mí. Por qué siempre estuvo con los brazos abiertos, no solamente para cuestiones académicas, si no para ser una amiga que me extendía la mano cada vez que lo necesite, darme una palabra de aliento cuando la necesitaba escuchar y brindarme su cariño y apoyo incondicional en todo momento. Sé que puedo ser una persona un tanto temperamental, poco tolerante y difícil de comprender. Demasiado inmadura y sobre todo muy distraída. Sin embargo usted fue muy paciente conmigo y tuvo el tacto para acercarse y hacerme ver la importancia el respaldo en mis compañeros. Gracias por permitirme aprender tanto a su lado, gracias por cada “Chimako” “vida mía” “Ario” “Hijo mío” y demás formas en cada uno de los diferentes tonos que la caracterizan. Me ayudaron a hacer más llevadera esta difícil etapa en la que me separe por primera vez de mi familia y conocí el maravilloso mundo de la investigación científica. Las palabras no

alcanzan para agradecer. Por todo eso y mucho más, Dra. Aida, “madre académica” GRACIAS!!!.

A mi comité de Tesis, Dr. Alfonso Pérez Gallardo, Dr. Humberto González Ríos, Dr. Agustín Rascón Chu y Dr. Juan Pedro Camou Arriola, por el apoyo y valiosas contribuciones para el enriquecimiento de este trabajo de investigación. Muchas Gracias!!!.

Al I.Q. German cumplido Barbeitia por ser tan paciente y atento conmigo; así como compartir su experiencia y dejarme aprender de usted. . Tenga por seguro que jamás en la vida se me va a olvidar como “preparar una salchichas”. Gracias German.

A la Q.B. Thalía Islava que fue una de las personas que más me navego y me anduvo correteando, estuvo al pendiente de mí durante lo que para mí fue la etapa más difícil de mi experimental. Perdón por las veces que te hacia enojar en tu posición tan delicada. Estoy seguro de que por alguna razón Emma crecerá odiando a los niños que se llamen Aarón. Gracias Thalía.

Al laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Carne, MC. Libertad Zamorano, por sus regaños y concejos que estoy seguro que eran de cariño, Dr. Martín Valenzuela por ser siempre tan atento y dispuesto a ayudar, llegue a admirarlo mucho por su gran inteligencia y variedad de conocimientos. Aprendí mucho de usted. A mis compañeros M.C Julio López, no había un día en que no me hicieras reír, M.C. Anna Pérez, no había un día en que no pelearas conmigo, era muy divertido, M.C. Samaria Gutiérrez, me gustaba hacerte enojar también era muy divertido, Q.A. Roció Murillo, tú también peleabas mucho conmigo chíó, Q.A. Julio González, siempre tan cordial y servicial, gracias por extenderme la mano cuando lo necesitaba , I.B.Q. Edgar Valle, aunque tú fuiste mi compañero en la universidad, no fue sino hasta esta etapa que realmente tuve la grata experiencia de conocerte y convivir de una mejor manera. M.C. Edgar Peña, nunca te lo he dicho pero siempre he admirado mucho tu personalidad, tan tranquila y relajada, en estos poco más de dos años jamás te

llegue a ver enojado o estresado y no hubo un solo día en el que no tuvieras una sonrisa en tu cara. Sinceramente me gustaría ser más como tú. De manera general, les agradezco a todos por la convivencia y amistad que me brindaron.

A la Dra. Scheuren por que siempre fue muy servicial y estuvo pendiente de mí en el trayecto de mi maestría. Siempre era un gusto hablar con usted. Muchas gracias.

Al Dr. Miguel Ángel Mazorra, usted me enseñó lo que significaba realmente un posgrado, hasta la fecha sigo implementando uno de sus consejos más valioso que me dio cuando fue mi profesor de bioquímica y funcionalidad de proteínas. Usted me ayudo en gran medida a sobrellevar la transición entre la universidad y el posgrado así como la separación de mi familia. Siempre tendré muy presente su lado humanitario más allá de sus aportaciones académicas. Muchas Gracias.

Al ingeniero Víctor García por permitirme llevar a cabo mi estancia en las instalaciones del Centro de Desarrollo Tecnológico de Sigma Alimentos. Fue una de las mayores aportaciones para la fase experimental de mi proyecto de tesis. Muchas gracias.

Al Dr. Juan Antonio Cortes, porque fue una de la persona que me inspiro para tomar esta gran decisión. Siempre lo admire y lo fije como una meta la cual alcanzar, un lugar en el cual yo también quiero estar. Mi ejemplo a seguir y a la persona que académicamente, como amigo y familiarmente admire en mi etapa de estudiante de universidad. Muchas Gracias Tío Juan.

DEDICATORIA

Primeramente a ti Dios, por darme las fuerzas, los ánimos y a resistencia para seguir adelante, por que existieron días en los que pensé en desertar y me hiciste darme cuenta de las personas que me respaldaban y estaban ahí para apoyarme, gracias por las personas que pusiste en mi camino y que hicieron muy grato mi recorrido en este proyecto de vida, gracias porque nunca me dejaste solo y estuviste ahí en cada momento de desespero y frustración, alegría y diversión. Aunque para ti pueda ser poca cosa para mí es un gran trofeo fruto de largos días de desvelo y cansancio, te lo dedico a ti. Esto lo he podido lograr por la capacidad, vida, oportunidades y bendiciones que me has otorgado. Acéptalo como humilde ofrenda padre celestial.

A mis queridos padres: Aarón Santiaguin Muñoz y María del Rosario Padilla Ramírez, por amarme y apoyarme de manera incondicional en cada una de mis decisiones y proyectos de vida emprendidos. Gracias por ser mis amigos y pilares de apoyo, por darme palabras de aliento en cada momento que las necesitaba, y por qué sé que cualquiera que sea mi próximo paso, ustedes me respaldaran.

A mi amada hermana Kenia Belén Santiaguin Padilla, porque además del linaje de sangre que nos une, te has convertido en mi mejor amiga. Porque a pesar de la distancia, nos hemos vuelto más unido y sus palabras siempre me infringen ánimo para seguir adelante. Estoy muy orgulloso de ti por ser esa muchachita tan bien portada y centrada que te caracteriza. Somos tan parecidos, sin embargo tú eres más inteligente y tienes un corazón lleno de bondad. No puedo evitar recordar gratamente todas esas campañas de conspiración contra nuestros papas y el mundo en general, la gran imaginación

que teníamos y que cualquier cosa alrededor por más tonta que fuera podía ser motivo de estallar en carcajadas, el cuidarnos mutuamente y establecer claves y códigos de lenguaje que solamente tú y yo entendíamos a la perfección cuando éramos niños y no tan niños. Así tenga 40 años y tú 35, para mí siempre vas a ser mi pequeña hermana menor. Hoy tienes metas por cumplir y aunque ya te has dado cuenta de muchas cosas por las cuales yo ya he pasado, te falta mucho camino por recorrer, mucho más que vivir, mucho más que conocer, muchas victorias más, muchas derrotas más, pero sé que te levantarás y seguirás porque te conozco. Siempre se paciente y perseverante. Sabes muy bien que yo siempre estaré ahí para ti y jamás digas no puedo que yo creo en ti, en tu enorme capacidad y potencial. Has nacido para ser alguien de éxito y has sido grandemente bendecida por Dios.

A la familia Roos Muñoz, Padilla Ramírez y los Sartiaguin, gracias por todo su apoyo y consejos. A la memoria de mi querido abuelo Nacho (Ignacio Roos) que en paz descanse. No tuve la oportunidad de decirte adiós.

A mis amigos de la maestría Eliezer, Daniela, Chema, Idaly, Armida, Damián, Lucy, Angie, Amanda y por compartir conmigo grandes momentos de diversión y convivencia.

Dedico este trabajo a mis mejores amigos de la universidad en Mazatlán Alfredo González “el Chikete” (El drogo, o el lolo para los camaradas de la prepa), Jorge Zamudio “El Chilillo” y Edgar Jiménez “El chino de Villa Unión” por su constante apoyo y palabras de aliento, porque a pesar del tiempo y la distancia, cuando nos reunimos seguimos siendo igual que como cuando estábamos en la academia. Gracias amigos.

A mi amiga Esmeralda Rubí Sánchez, por tu apoyo incondicional y cariño, infundir aliento y por esos momentos tan gratos y divertidos a tu lado, gracias te quiero.

A la familia Felix Padilla, especialmente a los pastores Tidal y su esposa Elizabeth por recibirme con los brazos abiertos en aquellos momentos en los

que creí que estaba solo, por enseñarme más a Dios. Se convirtieron en parte de mi familia e hicieron mi estancia más grata en esta ciudad. Muchas gracias.

“Censúrame y Lograras que me lean” (Miguel de Unamuno).

“Aquel que hace una bestia de sí mismo se libera del dolor de ser un hombre” (Dr. Samuel Johnson).

“Quien con monstruos lucha cuide de convertirse a su vez en monstruo. Cuando miras largo tiempo a un abismo, el abismo también mira dentro de ti” (Friedrich Nietzsche).

“Solamente hay dos cosas infinitas: el Universo y la estupidez humana. Y del universo no estoy seguro” (Albert Einstein).

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE TABLAS	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT	xvii
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO II. ANTECEDENTES	4
Emulsiones Lipídicas	4
Definición e Importancia en la Industria Alimentaria.....	4
Tipos y Propiedades de una Emulsión	5
Emulsiones Cárnicas.....	8
Estrategias para Mejorar el Contenido Lipídico de Emulsiones Cárnicas	10
Digestión de Lípidos.....	11
Proceso de Digestión de Lípidos	11
Encapsulación Como Mecanismo de Protección de Materiales Lipídicos	13
Encapsulación con Biopolímeros	13
Digestión de Lípidos Encapsulados	14
Digestibilidad de Productos Cárnicos Adicionados con Biopolímeros	15
CAPITULO III. HIPÓTESIS	17
CAPITULO IV. OBJETIVO GENERAL.....	18
Objetivos Específicos	18
CAPITULO V. MATERIALES Y MÉTODOS	19
Encapsulación de Grasa con Pectina	19
Elaboración de la Emulsión Cárnica	20

Preparación de la Emulsión Cárnica.....	21
Evaluación de la Distribución de las Partículas de Grasa en las Emulsiones Cárnicas y su Comportamiento Térmico.....	22

CONTENIDO (continuación)

CSLM de las Emulsiones Cárnicas.....	22
Elaboración de Salchichas.....	23
Evaluación de la Calidad de las Salchichas	25
Composición Proximal	25
Propiedades Fisicoquímicas	25
Evaluación Sensorial	27
Digestibilidad In-vitro de las Salchichas	27
Determinación de la Hidrólisis Enzimática de Triacilglicéridos	28
La determinación de tri, di y monoacilgliceridos se realizó por cromatografía de gases.	30
Evaluación de la Distribución de Glóbulos de Grasa en Salchichas Posterior a la Digestión <i>In-vitro</i>	30
Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico	31
CAPITULO VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
Encapsulación de grasa en la Pre-emulsión Grasa: Pectina (G/SP)	32
Estudio CSLM de G/SP	32
Evaluación de las Emulsiones Cárnicas.....	35
Conformación de las Emulsiones Crudas	35
Evaluación del Comportamiento Térmico	36
Evaluación de las Características de las Salchichas	39
Conformación de las Emulsiones Cocinadas.....	39

Composición Proximal	42
Propiedades Fisicoquímicas	44

CONTENIDO (continuación)

Evaluación Sensorial de Salchichas	48
Digestibilidad <i>In-vitro</i> de las Salchichas	50
Degradación Digestiva de Triglicéridos.....	50
Conformación de los Glóbulos de Grasa en Bolo y Quimo.....	54
CAPITULO VI. CONCLUSIONES	57
VII. REFERENCIAS.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ruptura de una emulsión separada en sus componentes de aceite en agua.....	5
Figura 2: Tipos de emulsiones presentes comúnmente en alimentos emulsificados.	6
Figura 3 : Representación esquemática del mecanismo de emulsificación.	7
Figura 4 : Imagen confocal de emulsión grasa:pectina en plano 2D, 25 μm (gotas de grasa envueltas en pectina).	33
Figura 5 : Imágenes confocales de emulsión grasa:pectina en plano 3D, escala 20 μm . a = grasa, b= pectina, c = conjunto de a y d, d = magnificación digital y corte digital para mostrar pared de la capsula y relleno. flecha azul (coraza de pectina), flecha amarilla (núcleo de grasa de cerdo) y círculo rojo (capsulas de pectina cortadas a la mitad).....	34
Figura 6: Imágenes confocales de emulsiones cárnicas crudas C(control), T1 (con adición de pectina) y T2 (grasa encapsulada), escala de 20 μm . (Flechas: coalescencia de grasa, círculos: partículas de grasa más finas).....	38
Figura 7: Imágenes confocales de glóculos de grasa en salchichas cocinadas. C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina), escala de 20 μm	41
Figura 8: Cambios en la concentración de triglicéridos (a), diacilglicéridos (b) y monoacilglicéridos (c) durante la digestibilidad <i>in-vitro</i> de lípidos de las salchichas control, T1 (grasa encapsulada con pectina) y T2 (adición directa de pectina)	52
Figura 9: Imágenes confocales de salchichas C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (encapsulación de grasa con pectina) posterior a digestión	

estomacal e intestinal, escala de 50 μm , ciculos verdes representan coalescencia de glóbulos de grasa..... 56

LISTA DE TABLAS

Cuadro 1: Composición porcentual de las emulsiones cárnicas para salchichas.	21
Cuadro 2: Métodos usados para el análisis proximal de salchichas de cerdo con pectina.....	24
Cuadro 3. Efecto de la incorporación de grasa encapsulada con pectina y suministro directo de pectina en las propiedades térmica de la emulsión cárnica	38
Cuadro 4: Composición proximal de salchichas de cerdo C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2.(grasa encapsulada con pectina)	41
Cuadro 5: Efecto de la incorporación de pectina sobre color L,a,b y ángulo de matiz interno y externo en salchichas de cerdo.	44
Cuadro 6: Efecto de la encapsulación y adición de pectina sobre la textura de salchichas de cerdo C (control), T1 adición directa de pectina y T2 (grasa encapsulada con pectina).	46
Cuadro 7: Evaluación sensorial de salchichas C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina).....	47

RESUMEN

La incorporación de grasa en productos cárnicos embutidos juega un papel primordial en su estructura, calidad y aceptabilidad. Actualmente, la tendencia de consumo de productos cárnicos se inclina hacia los productos bajos en grasa, ya que una alta ingesta de grasa se relaciona directamente con problemas de obesidad y otras enfermedades. Debido a esto, la industria cárnica requiere de buscar y desarrollar nuevas tecnologías de procesamiento que permitan reducir parcial o totalmente el contenido de grasa presente en estos productos. Una alternativa promisorio para disminuir el aporte de grasa contenida en un embutido puede ser impedir su digestión y absorción mediante la encapsulación de la grasa con carbohidratos indigestibles como la pectina. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue desarrollar un embutido cárnico con grasa encapsulada con pectina con características de calidad aceptables y una baja digestibilidad *in-vitro* de lípidos. Mediante microscopia confocal de barrido laser se logró corroborar que mediante la formación de una emulsión 40:60 grasa:solución de pectina (al 4%), fue posible encapsular partículas de grasa de cerdo; y también se logró evidenciar que esta encapsulación fue estable durante el proceso de elaboración y cocción de las salchichas. *Para determinar el efecto de la incorporación de grasa encapsulada en la formulación de salchichas (T2) sobre sus parámetros de estabilidad térmica (por DSC), composición, características físico-químicas y sensoriales, los resultados fueron comparados con salchichas control (C) y con salchichas formuladas con adición directa de pectina (T1). No se presentaron cambios ($p>0.05$) en las temperaturas de transición térmica de las proteínas musculare, ni tampoco en la cantidad de calor abosrbido durante el proceso térmico de las emulsiones T1 y T2 en comparación C. No obstante, en los parámetros físico-químicos de pH,*

color y textura instrumental de T1 y T2, si se *encontraron cambios significativos* ($p < 0.05$) *con respecto a C*. Sin embargo estos cambios, no tuvieron influencia ($p > 0.05$) en la aceptabilidad general y el sabor del producto, y si mejoró ($p < 0.05$) la aceptabilidad de la textura. La incorporación de grasa encapsulada con pectina fue capaz de disminuir ($p < 0.05$) en aproximadamente 20% la degradación de triacilglicéridos (TAG) de las salchichas durante su digestibilidad *in-vitro*, en comparación con las muestras control. Esta disminución fue mayor ($p < 0.05$) a la encontrada a la de 8% encontrada en T1. Estos resultados demuestran que incorporar la grasa encapsulada con un polisacárido indigerible como la pectina en un embutido cárnico, protege de una manera más eficiente a los TAG de la acción hidrolítica de las lipasas, y puede ser una estrategia potencial para disminuir el aporte de ácidos grasos saturados por la ingesta de embutidos cárnicos.

Palabras clave: Grasa, embutido, pectina, encapsulación, digestibilidad *in-vitro*.

ABSTRACT

The incorporation of fat in meat sausage products plays a key role in its structure, quality and acceptability. Currently, the trend of consumption of meat products leans toward the low-fat, since a high intake of fat is directly related to problems of obesity and other diseases. Because of this, the meat industry requires finding and developing new processing technologies to reduce partially or completely the fat content in these products. A promising alternative to reduce the intake of fat in a sausage may prevent digestion and absorption by encapsulating the fat indigestible carbohydrates such as pectin. Therefore, the objective of this study was to develop a meat sausage with encapsulated fat pectin with acceptable quality characteristics and low in-vitro digestibility of lipids. Using confocal laser scanning microscopy confirm that achieved by forming an emulsion 40:60 fat: pectin solution (4%), it was possible to encapsulate particles of lard; and also it managed to show that this encapsulation was stable during processing and cooking of the sausage. To determine the effect of the incorporation of fat encapsulated in the formulation of sausages (T2) on the parameters of thermal stability (DSC), composition, physic-chemical and sensory characteristics, the results were compared with sausages control (C) and sausages made with direct addition of pectin (T1). No changes ($p > 0.05$) occurred in the thermal transition temperatures of the muscle protein, nor in the amount of heat during the thermal process absorbed T1 and T2 emulsions compared C. However, the physicochemical parameters chemical pH, color and instrumental texture T1 and T2, if significant changes ($p < 0.05$) compared to C. However, physic-chemical parameters pH, color and instrumental texture T1 and T2, if significant changes (p found < 0.05) compared

to C. However these changes had no influence ($p > 0.05$) overall acceptability and flavor of the product, and if improved ($p < 0.05$) texture acceptability. The incorporation of fat encapsulated with pectin was able to decrease ($p < 0.05$) by about 20% degradation of triacylglycerols (TAG) of the sausages during in-vitro digestibility compared to control samples. This decrease was greater ($p < 0.05$) to that found in the 8% found in T1. These results demonstrate that incorporate fat encapsulated with indigestible polysaccharide such as pectin in a meat sausage, more efficiently protects the TAG hydrolytic action of lipases way, and can be a potential strategy to reduce the contribution of fatty acids saturated by eating meat sausages.

Keywords: Fat, sausage, pectin, encapsulation, in-vitro digestibility.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales factores que ha influido para que el consumo de algunos productos cárnicos este disminuyendo, principalmente el de los embutidos, es por el alto contenido de grasa saturada en la elaboración de estos productos (Bañón et al., 2000). Esto es debido a que su consumo, por ser ricos en grasas saturadas, se ha asociado con el desarrollo de enfermedades cardiacas, diabetes y obesidad (Chen et al., 2013). Por este motivo, la industria cárnica ha buscado la manera de desarrollar formulaciones y/o desarrollar nuevas tecnologías de procesamiento, las cuales le permitan disminuir o eliminar parcial o totalmente el contenido de grasa presente en sus productos.

Sin embargo, dado que la mayoría de los embutidos son elaborados a partir de emulsiones cárnicas, la grasa es un componente esencial en este tipo de productos. Por definición, una emulsión cárnicas es una dispersión de lípido en agua, en una emulsión cárnica la fase dispersa es la grasa y la fase continua está formada por el tejido muscular, agua, grasa, sales y condimentos. Adicionalmente, pueden contener proteína vegetal, almidones, gomas, colorantes y saborizantes (Ramos et al., 2004). De tal forma que la incorporación de grasa es indispensable en la elaboración de emulsiones cárnicas ya que es un ingrediente funcional que contribuye a la impartición de características organolépticas y de calidad. Por tanto, el remplazo o disminución de grasa representa un gran reto tecnológico.

Las principales estrategias implementadas con la finalidad de reducir, y/o mejorar el perfil nutricional de la grasa incorporada en embutidos cárnicos emulsionados han sido: 1) remplazar la grasa cárnica con lípidos de origen vegetal, 2) la incorporación de aceites de origen marino (Candogan et al., 2003;

Muguerza et al., 2004; Jimenez, 2007; Grasso et al., 2014) y 3) la incorporación de fibras, e hidrocoloides, ya sea como sustitutos de grasa o para que mediante sus interacciones con los lípidos impidan la hidrólisis digestiva enzimática de los triacilglicéridos y la posterior asimilación de los ácidos grasos (Mun et al, 2007; Hu et al., 2009; Pérez et al., 2011; Li et al., 2014; Mehta et al., 2015). No obstante, existe evidencia de que los lípidos procedentes de plantas o especies pesqueras, que generalmente son añadidos en forma, de aceite, poseen diferentes características fisicoquímicas que pueden tener un efecto negativo sobre los atributos de la calidad deseada en un producto cárnico reformulado (Muguerza et al., 2004; Jimenez, 2007; Grasso et al., 2014).

Una alternativa promisoría para disminuir el aporte de grasa a partir de un embutido cárnico puede ser impedir su absorción durante el proceso digestivo. Esto podría lograrse a través de la encapsulación de la grasa con materiales de baja digestibilidad. Esta encapsulación está basada en la creación de una barrera que minimiza las reacciones y cambios generados durante el proceso de digestión, por efecto de factores del entorno (temperatura, humedad, pH) y reacciones enzimáticas. De tal forma, que se pueda controlar la liberación de la grasa y por tanto disminuir o evitar la hidrólisis de su constituyente principal, los triacilgliceridos (TAG), y la absorción de los ácidos grasos (Schrooyen *et al.*, 2001; Parra, 2010; Li y McClements, 2011). Generalmente, el proceso de encapsulación de lípidos consiste en una preemulsificación del lípido ya sea con el material polimérico solo o con la ayuda de alguna sustancia surfactante.

Entre los polímeros más utilizados para encapsulación de sustancias lipídicas se encuentran: carrageninas, goma guar, quitosano, alginato, pectinas de alto y bajo metoxilo, entre otras (McClements y Rao, 2011). Diversos estudios han comprobado la habilidad que tienen estos compuestos para encapsular aceites y controlar la liberación de sus ácidos grasos en modelos de digestión *in-vitro*, (Mun *et al*, 2007; Hu *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2014).

Recientemente, Hur et al., (2014) evaluaron la incorporación de pequeñas cantidades de diferentes polímeros en la formulación de embutidos cárnicos con la finalidad de probar su efecto protector sobre la liberación de ácidos grasos en un modelo que simuló la digestión gastrointestinal humana. Entre los hallazgos más notorios, se observó que la adición directa de una solución al 1% de pectina durante el proceso de elaboración de salchichas de cerdo fue capaz de retardar, de una manera más efectiva, la digestión de lípidos presentes en el producto. Estas estrategias podrían ser útiles para desarrollar tecnologías enfocadas en el procesamiento y desarrollo de nuevos productos cárnicos con propiedades funcionales, que estén orientados a disminuir la biodisponibilidad de la grasa contenida en ellos durante la digestión; y de esta manera atender las demandas de los consumidores por productos cárnicos más saludables.

Hasta ahora la información del efecto que la digestión tiene sobre la degradación de la matriz de proteína y la liberación de grasa sola o recubierta con un polímero no digerible, es escasa. Además, la mayoría de los modelos se han enfocado en la encapsulación de aceites y no de grasa sólida a temperatura ambiente como la grasa de cerdo. Por lo que se desconoce la eficiencia que estos tratamientos pudieran tener de la disminución de asimilación y liberación de ácidos grasos de ésta.

Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación es evaluar la factibilidad de encapsular grasa animal con pectina que pueda ser incorporada en la elaboración un embutido cárnico, que sea aceptable, y que tenga el potencial de disminuir la digestibilidad de la grasa en un proceso de simulación gastrointestinal *in-vitro*.

CAPITULO II. ANTECEDENTES

Emulsiones Lipídicas

Definición e Importancia en la Industria Alimentaria

La mayor parte de los lípidos (tanto grasas como aceites) presentes en los alimentos se encuentran en forma de triacilglicéridos (TAG). Una gran parte de estos lípidos se encuentran de manera emulsionada en la matriz alimentaria, por ejemplo la leche, mantequilla, quesos, cremas, margarinas, productos cárnicos, etcétera. Una emulsión es, una dispersión de gotas de un líquido en otro completamente inmiscibles entre sí, en los cuales el líquido dispersado es llamado fase dispersa, mientras que el líquido en el cual es dispersado el otro se llama fase continúa. En alimentos, estas fases generalmente se conforman de TAG en agua (McClements, 1999; McClements, 2008). Estas dispersiones son sistemas de una naturaleza termodinámicamente inestable, debido a la energía libre positiva que se requiere para aumentar el área de superficie de contacto entre las fases lipídicas y acuosa (Dickinson, 1992). Dicha energía es originada por una desfavorable interacción entre el lípido y el agua, debido a que las moléculas de agua son capaces de formar fuertes enlaces de hidrógeno con otras moléculas de agua, pero no con moléculas de aceite (Dickinson y McClements, 1996).

En consecuencia, las fases continúa y dispersa de una emulsión tienden a separarse en capas por diferencia de densidades (lípido o aceite de baja densidad, agua de alta densidad) en un corto tiempo posterior a la homogenización (Figura 1). Debido a esto, las emulsiones son

homogenizadas en presencia de un agente químico llamado emulsificante, el cual es una molécula surfactante que es capaz de interaccionar entre las dos fases para estabilizarlas mediante la aplicación de energía mecánica vigorosa.

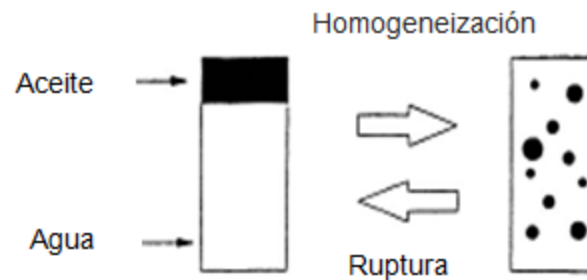


Figura 1. Ruptura de una emulsión separada en sus componentes de aceite en agua.

Dada la importancia que las emulsiones tienen en el procesamiento y elaboración de alimentos, existen importantes parámetros de calidad que deben ser cubiertos para la obtención de emulsiones viables para su aplicación en matrices alimentarias. Estas dependerán tanto del tipo de emulsificante empleado para su elaboración, como el tipo de aplicación que se le desee dar. Sin embargo existen otros aspectos, los cuales están directamente relacionados a la funcionalidad y estabilidad de las emulsiones lipídicas conforme a su estructura.

Tipos y Propiedades de una Emulsión

Dentro de las emulsiones de tipo alimentario, existe una variedad de estructuras que se diferencian entre sí, por el orden en el cual se encuentran dispersas dentro de la emulsión. De acuerdo a McClements (2008), en alimentos pueden existir hasta cuatro tipos diferentes de emulsiones:

1. Emulsión de dos fases Aceite/agua o/w (por sus siglas en ingles).
2. Emulsión de dos fases Agua/aceite w/o (por sus siglas en ingles).
3. Emulsiones múltiples aceite/agua/aceite o/w/o (por sus siglas en ingles).
4. Emulsiones múltiples agua/aceite/agua w/o/w (por sus siglas en ingles).

Cuando la emulsión se conforma de gotas de aceite dispersadas en una fase acuosa se le denomina o/w, por el contrario, si está conformada por gotas de agua dispersas en un aceite, entonces se le llama w/o. En comparación a las emulsiones de dos fases, los sistemas de las emulsiones múltiples pueden llegar a contener hasta tres fases dispersas en su estructura. Esto se da cuando su reacomodo se presenta de tal manera que las gotas de aceite se encuentran dentro de gotas de agua más grandes y estas a su vez se encuentran dispersas dentro de aceite, entonces se trata de una emulsión o/w/o y viceversa de w/o/w (Figura 2) (Dickinson y McClements, 1996).



Figura 2. Tipos de emulsiones presentes comúnmente en alimentos.

Las emulsiones múltiples pueden ser utilizadas en la industria alimentaria para mejorar características sensoriales y nutricionales en los alimentos, diseño y desarrollo de alimentos funcionales; así como protección y liberación controlada de ingredientes bioactivos durante el proceso digestivo (Choi et al., 2009; McClements et al., 2009; Dickinson, 2011).

Cada una de las emulsiones presenta ventajas y desventajas en cuanto a su estabilidad físico-química, facilidad de preparación, funcionalidad y costos de producción (McClements et al., 2007; McClements et al., 2010; Li y McClements, 2011). El equipo para producir emulsiones en la industria

alimentaria es diverso pero el principio mecánico es el mismo, las emulsiones de aceite en agua se preparan por homogeneización (en algunos casos a alta presión). De esta manera se busca provocar la ruptura de las gotas de la fase dispersa por una combinación de turbulencia y flujo de cizallamiento intenso. Al mismo tiempo, y para asegurar la estabilidad de la emulsión, se suministran emulsificantes que se adsorben en la interface aceite-agua, formando una capa de estabilización en la superficie de las gotas (Figura 3). Esto reduce la tensión superficial entre fases y facilita su interacción mediante la formación de micelas de menor tamaño (Singh et al., 2009). Por tanto, permitirá mantener la estabilidad de la emulsión por periodos de tiempo prolongados (McClements, 2008).

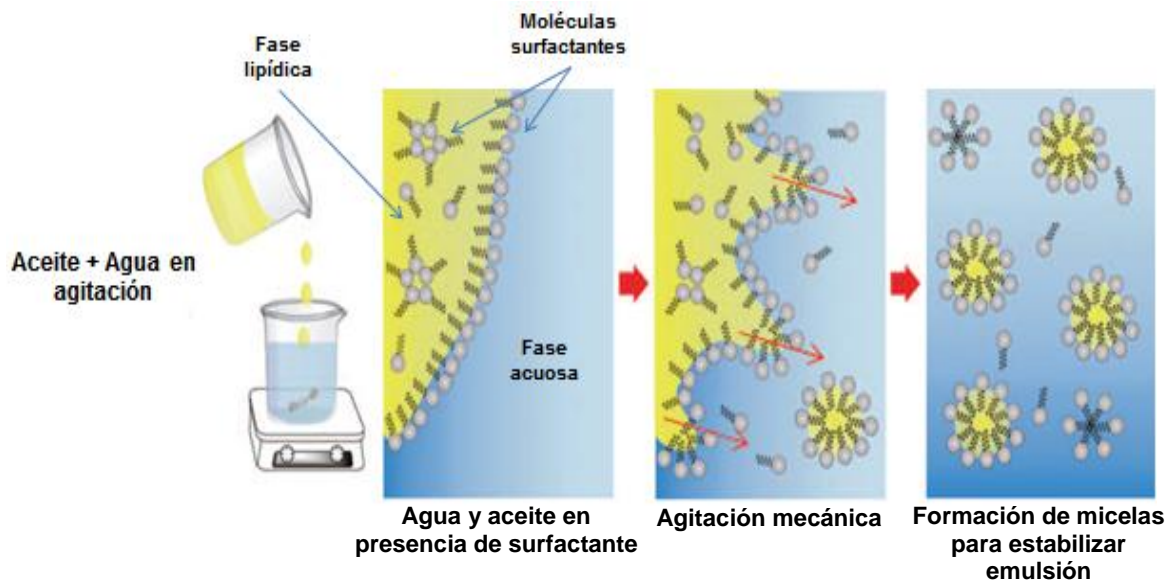


Figura 3. Representación esquemática del mecanismo de emulsificación.

Fuente: (McClements y Rao, 2011).

Entre los emulsificantes más comunes se encuentran biopolímeros como proteínas (emulsificantes por excelencia), polisacáridos, fosfolípidos, pequeñas

moléculas surfactantes de grado alimenticio (monoacilglicerol, diacilglicerol, lecitina y otros (Dalglish, 1997; McClements, 1998). Cada emulsificante difiere en su capacidad de interacción entre las fases, costo de producción, y especificidad de acuerdo a las características del producto que se desee elaborar. Muchas emulsiones alimenticias son estabilizadas por polímeros surfactantes que son absorbidos en las superficies de los glóbulos de grasa para formar una cobertura protectora (McClements, 2009).

Algunos de estos polímeros emulsificantes son componentes integrales de la matriz alimentaria. Un claro ejemplo de esto es la industria procesadora de productos cárnicos, la cual utiliza la proteína cárnica que se encuentra de manera natural en las fibras musculares, como emulsificadores de agua y grasa para el desarrollo de una gran variedad de productos cárnicos emulsionados.

Emulsiones Cárnicas

Entre su composición química, la carne contiene mayoritariamente tres tipos de proteínas: las miofibrilares (50-55%), las sarcoplásmicas (30-34%) y las proteínas de tejido conectivo (10-15%), las cuales pueden actuar como surfactantes capaces de estabilizar emulsiones. De éstas, la fracción con mayor importancia para la emulsificación y retención de agua es la miosina (Álvarez et al., 2010). Una emulsión cárnica se refiere a una dispersión de lípido en agua, donde la fase dispersa es la grasa y la fase continua está conformada por el tejido muscular, agua, y diferentes aditivos de tipo conservador, e intensificadores de sabor (Ramos et al. 2004).

Para la adecuada formación de una emulsión cárnica es necesario picar finamente la carne para reducir el tamaño de las fibras musculares drásticamente, para que después de la incorporación de la sal facilitar la extracción de proteínas miofibrilares que posteriormente ayudarán a emulsificar la grasa. Generalmente, en la elaboración de este tipo de emulsiones se

adiciona agua en forma de hielo para ayudar a mantener una temperatura baja durante el picado y evitar la desnaturalización proteica. Posteriormente, se añade grasa animal (comúnmente de cerdo) y se continúa el picado para distribuir la grasa en la pasta cárnica. En la elaboración de emulsiones cárnicas es común adicionar otros ingredientes que ayuden a la estabilidad, aceptabilidad e inocuidad del producto final, como nitrito de sodio (para curar y evitar crecimiento de *Clostridium botulinum*), fosfatos (evitar descenso del pH por debajo de 5.5 y perder funcionalidad emulsificante de las proteínas musculares), otras fuentes proteicas y almidón (mejorar gelación térmica), así como especias saborizantes. El proceso de picado usualmente se realiza al vacío y a una temperatura entre -2 a 12 °C. Comúnmente, los productos cárnicos emulsionados se consumen posteriores a un proceso térmico en el cual las proteínas cárnicas gelifican y estabilizan la emulsión (Terrel, 1980; Tornberg, 2005).

El consumo de productos cárnicos emulsionados, especialmente los embutidos se ha visto fuertemente reducido en las últimas dos décadas debido a la concientización y tendencias de consumo más saludables; así como de productos bajos en grasas. Esto debido a que, se sabe que durante su elaboración se incorpora cantidades adicionales de grasa (Bañón et al., 2000), principalmente con un alto contenido de ácidos grasos saturados; y se conoce que dietas ricas en grasas saturadas están frecuentemente relacionadas con enfermedades cardiacas, diabetes y obesidad (Chen et al., 2013).

Por tanto, la industria cárnica ha buscado la manera de crear formulaciones y desarrollar nuevas tecnologías de procesamiento, las cuales le permitan eliminar parcial o totalmente o mejorar la calidad nutricional de la grasa presente en sus productos. Sin embargo, la grasa emulsificada en la matriz cárnica, le confiere características organolépticas y de calidad, tales como sensación en la boca, jugosidad, textura, masticabilidad, entre otras de gran importancia para los consumidores (Ramos et a., 2004; Cáceres et al.,

2008; Li y McClements, 2011). Por lo que, el remplazo o disminución de grasa representa un gran reto tecnológico.

Estrategias para Mejorar el Contenido Lipídico de Emulsiones Cárnicas

Por su naturaleza, la grasa animal contiene una proporción moderadamente alta de ácidos grasos saturados y una baja proporción de ácidos grasos poliinsaturados. Esta combinación de proporciones de ácidos grasos se ha asociado con el incremento en la incidencia de enfermedades cardiovasculares y obesidad (Chen et al., 2013). Con la finalidad de que los embutidos cárnicos emulsionados posean un perfil lipídico más saludable se han evaluado diferentes estrategias para reducir y/o mejorar nutricionalmente la grasa presente en productos cárnicos emulsionados como remplazar la grasa cárnica con lípidos de origen vegetal o marino (Candogan et al., 2003; Muguerza et al., 2004; Jimenez, 2007; Grasso et al., 2014) o la incorporación de fibras, gomas e hidrocoloides ya sea como sustitutos de grasa o como factores de control de digestión lipídica (Mun et al, 2007; Hu et al., 2009; Pérez et al 2011; Stortz et al., 2012 ; Li et al., 2014; Mehta et al., 2015).

De manera natural los aceites de origen vegetal y marino contienen una menor cantidad de ácidos grasos saturados y una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Recientemente se han probado una gran variedad de aceites vegetales y marinos tales como aceites de oliva, semilla de algodón, maíz, soya, cacahuete, pescado y algas, así como combinaciones de estos para reemplazar parcialmente la grasa animal de productos cárnicos (Candogan et al., 2003; Muguerza et al., 2004; Jimenez, 2007; Grasso et al., 2014). Sin embargo, se ha comprobado que los lípidos de origen vegetal o especies pesqueras por su misma naturaleza de ser más insaturados son más inestables, y confieren diferentes características fisicoquímicas, que impactan

negativamente sobre los atributos de calidad deseados en un producto cárnico (Muguerza et al., 2004; Jimenez, 2007; Grasso et al., 2014).

Una alternativa promisorio para disminuir el aporte de grasa contenida en un embutido cárnico la ofrece la incorporación de carbohidratos complejos (fibras o gomas) o hidrocoloides. Estos compuestos además de poseer la funcionalidad para reemplazar parcialmente la grasa que se añade en los productos cárnicos (Pacheco Perez et al., 2011; Mehta et al., 2015), tienen la habilidad de interaccionar con los lípidos y pueden disminuir la hidrólisis digestiva enzimática de los triacilglicéridos y la posterior asimilación de los ácidos grasos (Hur et al., 2009; Hur et al., 2015). Esta habilidad la pueden presentar añadiéndolos directamente en la formulación. No obstante, diversos estudios han demostrado que estos biopolímeros tienen la habilidad de encapsular aceites e impedir la acción de las lipasas y disminuir la liberación de ácidos grasos (Li y McClements, 2011; McClements y Rao, 2011; Chen et al., 2013).

Digestión de Lípidos

Proceso de Digestión de Lípidos

Como se mencionó anteriormente, los lípidos digeribles que están presentes en los alimentos son triacilglicéridos y estos generalmente se encuentran en forma de glóbulos o gotas emulsionados en la matriz alimentaria ya sea embebidos en proteínas o polisacáridos u otros emulsificantes (fosfolípidos y surfactantes). Antes de que un triacilglicérido pueda ser absorbido por el cuerpo, este debe ser hidrolizado a diacilglicéridos (DAG), monoacilglicéridos (MAG) y ácidos grasos libres (AGL) por medio de la acción de las enzimas digestivas como las lipasas gástricas y pancreáticas (Lowe, 2002). Dependiendo del tipo de alimento, los glóbulos de lípidos pueden variar en sus dimensiones físicas o estado de agregación (aisladas o coalescencia).

Todos estos factores pueden afectar de manera importante la digestión de los lípidos en el tracto gastrointestinal humano (Li y McClements, 2010).

En la boca, el alimento es reducido de tamaño mecánicamente durante la masticación y las propiedades de los glóbulos de lípidos cambian apreciablemente por efecto del mezclado con la saliva, los cambios en pH, fuerza iónica, temperatura y por la interacción con las primeras enzimas digestivas (lipasa lingual, amilasa y proteasas). Cabe mencionar que la digestión de lípidos en la boca es muy limitada. Al material que es tragado después de la masticación del alimento se le denomina bolo. Al llegar al estómago, el bolo es rápidamente mezclado con los jugos digestivos ácidos que contienen las enzimas gástricas y es sometido a la agitación mecánica causada por los movimientos estomacales. Estos movimientos tienen la finalidad de fragmentar más el bolo para que pueda ser transportado al intestino delgado. El mínimo tamaño que puede pasar del estómago al intestino es de 1 a 2 mm. Por tanto, el grado de masticación toma una gran importancia ya que las partículas más grandes permanecerán por más tiempo dentro del estómago hasta lograr el tamaño requerido. El material que pasa del estómago al intestino se le llama quimo (Li y McClements 2010).

Si bien, el estómago contiene una cierta cantidad de lipasas, es en el intestino delgado la región del tracto gastrointestinal donde se lleva a cabo mayormente la digestión y absorción de lípidos. Al entrar al duodeno (parte superior del intestino delgado) el quimo es mezclado con bicarbonato de sodio, sales biliares, fosfolípidos y enzimas secretadas por el páncreas, hígado y vesícula (McClements y Li, 2010; Guo et al., 2014). Las sales biliares actúan como moléculas surfactantes para formar micelas para facilitar la deformación de los glóbulos de lípidos durante la movilidad e impiden la agregación. La lipasa pancreática juega un rol crítico en el proceso de digestión de lípidos ya que es la enzima responsable de convertir los TAG en DAG en MAG y AGL. Para catalizar la acción de las lipasas pancreáticas está se debe absorber en la interface aceite-agua para estar en contacto con las moléculas de TAG y DAG.

La composición y propiedades de cualquier sustancia presente en la superficie del glóbulo pueden afectar el grado de unión de la lipasa con el glóbulo. De tal manera, que si el glóbulo se encuentra recubierto con alguna capa indigerible (como fibras dietarias) está puede inhibir el acceso directo de la lipasa hacia el lípido encapsulado e impedir la hidrólisis de TAG para disminuir la absorción de MAG y AGL.

Encapsulación Como Mecanismo de Protección de Materiales Lipídicos

Encapsulación con Biopolímeros

Entre las principales aportaciones tecnológicas de la encapsulación en alimentos se tiene la obtención de productos con mejores características sensoriales, propiedades funcionales y nutricionales y protección de lípidos en alimentos para ser liberados de forma controlada mientras aún están activos dentro del cuerpo humano (Mun et al., 2007; Hur et a., 2009; Li y McClements, 2011; Chen et al., 2013). La encapsulación es un método de preservación que se basa en la creación de una barrera denominada cápsula (*shell*) que encierra un material de interés en su interior (*core*). Inicialmente utilizada para proteger moléculas lábiles, la finalidad de la encapsulación es la de proteger el material interior (*core*) de factores adversos del entorno (reacciones de oxidación, degradación enzimática, pH) durante el procesamiento, almacenamiento y consumo de productos alimenticios (Costa et al., 2015).

Los materiales de encapsulación son diversos y su uso depende de la aplicación y funcionalidad que se desee. Estos pueden ser proteínas, almidones, gomas o polímeros no-digeribles como el quitosano, alginatos o pectinas (McClements y Rao, 2011). Su habilidad de encapsular lípidos depende de factores tales como concentración del biopolímero, tensión superficial, carga eléctrica, pH y concentración de sales del medio (McClements

y Rao, 2011). El empleo de esta técnica puede ser útil en el diseño y desarrollo de alimentos con propiedades y funciones específicas para la salud.

De manera general, la encapsulación de aceites con biopolímeros se logra mediante la aplicación de una fuerza mecánica intensa que permite la formación de una emulsión, en la cual el aceite queda atrapado o rodeado por la matriz polimérica. Dependiendo de la funcionalidad deseada se pueden elaborar encapsulados más complejos en donde se forman emulsiones w/o/w (Singh et al., 2009; McClements y Rao, 2011).

Digestión de Lípidos Encapsulados

Varios estudios han evaluado el efecto del recubrimiento de lípidos con diferentes tipos de biopolímeros mediante la medición de la liberación de ácidos grasos durante el proceso de digestión en modelos *in vitro* (Mun et al. 2007; McClements et al., 2008; Li y McClements, 2011; Mao y McClements, 2012; Hur et., al 2013). Un estudio donde se evaluó la digestión de aceites emulsificados con coberturas de quitosano y alginato, llevado a cabo por Li y McClements, (2011), sugiere que la encapsulación de emulsiones con quitosano y alginato formados por coacervación compleja (separación de fases de un sistema coloidal por efecto de un cambio en el medio), son capaces de interrumpir la acción de las lipasas pancreáticas y con ello retardar la velocidad de la digestión de lípidos. Por su parte Li et al., (2009) estudiaron el impacto de los enlaces cruzados de tripolifosfatos sobre la estructura de emulsiones encapsuladas con quitosano. Estos investigadores encontraron que una mayor agregación de partículas a altas concentraciones de tripolifosfato retrasa de manera significativa la liberación de ácidos grasos durante los primeros 5 minutos de la digestión *in vitro*. Además del pH, la concentración inicial del biopolímero utilizado para la encapsulación puede afectar la velocidad y grado de digestión de lípidos encapsulados (Li y McClements, 2011).

Hur et al., (2013), probaron el efecto protector de varios biopolímeros para encapsular, mediante emulsiones, yema de huevo y pasarlas a través de un sistema de digestión *in-vitro*. Estos autores concluyeron que el quitosano y la pectina fueron los más efectivos para reducir la digestión y oxidación de lípidos de yemas de huevo así como la reducción de ácidos grasos libres.

Por consiguiente, el diseño de sistemas de lípidos con coberturas para minimizar la digestibilidad de lípidos, es una alternativa en la creación y desarrollo de nuevos productos que pueden tener un potencial en el mercado de alimentos funcionales enfocados en ayudar a personas con sobrepeso, obesidad, enfermedades cardíacas y otros problemas de salud asociados a una dieta alta en grasas Li y McClements, 2011. La incorporación de lípidos encapsulados en matrices cárnicas aún no ha sido evaluada. No obstante, se han reportado estudios que de manera indirecta muestran el potencial de la incorporación de biopolímeros para disminuir la digestibilidad de grasa incorporada en productos cárnicos (Hur et al., 2009; Hur et al., 2014).

Digestibilidad de Productos Cárnicos Adicionados con Biopolímeros

Recientemente se han dado a conocer estudios en los cuales se han utilizado la incorporación de biopolímeros tales como celulosa, quitosano, gomas y pectinas en la formulación y desarrollo de productos cárnicos como salchichas de cerdo y hamburguesas con la finalidad de probar su efecto protector ante la liberación de lípidos en simulaciones del tracto gastrointestinal (Hur et al., 2009; Hur et al., 2014).

Se ha encontrado que partículas de proteína (séricas de leche) que contienen partículas de grasa de 6-12 μ m, pueden ser degradadas más fácilmente durante la digestión gástrica dada su estructura de partícula rellena. Por otro lado, partículas agregadas de menos de 1 μ m pueden proteger las partículas de grasa del proceso digestivo (Guo et al. 2014a; Guo et al. 2014b).

En base a lo anterior, podría ser posible el desarrollo de un embutido cárnico, al cual se le incorpore grasa encapsulada con pectina, que sea aceptable, que se mantenga estable durante el proceso de elaboración del producto y que tenga el potencial de disminuir la digestibilidad de la grasa en un proceso de simulación gastrointestinal *in-vitro*.

CAPITULO III. HIPÓTESIS

Es posible desarrollar un embutido cárnico con la grasa encapsulada con pectina que sea aceptable y que dicha encapsulación permita disminuir la hidrólisis de triacilglicéridos durante la simulación *in-vitro*.

CAPITULO IV. OBJETIVO GENERAL

Elaborar un cárnico embutido con la grasa encapsulada con pectina, que sea aceptable y disminuya la digestibilidad de los triacilgliéridos en un proceso *in-vitro*.

Objetivos Específicos

- Desarrollar una emulsión grasa encapsulada con pectina.
- Determinar la estabilidad térmica de la emulsión cárnica elaborada con grasa encapsulada con pectina.
- Evaluar las características de calidad de un embutido cárnico elaborado con grasa encapsulada con pectina.
- Determinar la hidrólisis de triacilglicéridos durante la digestibilidad *in-vitro* del embutido cárnico elaborado con grasa encapsulada con pectina.

CAPITULO V. MATERIALES Y MÉTODOS

Encapsulación de Grasa con Pectina

Para encapsular la grasa de cerdo con pectina se procedió a elaborar una emulsión aceite en agua (O/W). Se utilizó pectina comercial (Grindsted® Pectin LA 410) de bajo metoxilo con grado de esterificación del 31% de Danisco México, S.A. de C.V. La grasa de cerdo fue comprada en un mercado local. Se preparó una solución de pectina al 4% disolviendo 40 g de pectina en un vaso de precipitado con 1 L de agua a 70 °C. La solución se dejó en agitación por un periodo de 2 h hasta su completa disolución. La grasa de cerdo fue fundida en un horno de secado a 50 °C por 2 h. Se pesó 300 g de la solución de pectina 4% y se mezcló por 3 min en un homogeneizador con 200 g de grasa de cerdo fundida en un homogeneizador (Modelo 2094 Foss Tecator, USA). La composición final de la emulsión fue 60:40 solución pectina al 4% (fase acuosa, continua) y grasa de cerdo (fase lipídica, dispersa), respectivamente. Posteriormente, la emulsión grasa: solución pectina (G/SP) se almacenó por 2 h en una cámara de refrigeración a 2 °C para su solidificación.

Se tomó una muestra de 0.5 g de la emulsión G/P fueron coclocados dentro de un tubo falcon de 50 mL y se le añadieron 5 gotas de una mezcla de los cromóforos Fast Green (Sigma Aldrich, USA) y Nile Blue (Acrorss Organics, USA) cada uno preparado al 1% (en solución etanólica al 50%) y se dejaron teñir por 15 min. El cromóforo Nile blue es específico para teñir lípidos y el Fast green para teñir carbohidratos y proteínas. Posteriormente, la muestra se homogenizó con 10 mL de agua destilada en vortex por un min. Una segunda homogenización por un minuto fue llevada a cabo con un equipo ULTRA-

TURRAX® UTC con una sonda 18G-ST a velocidad de 14000 rpm. El tubo con la emulsión fue centrifugado a 4500 rpm a 10 °C. El precipitado se recuperó en un tubo falcon de 50 mL y fue dispersado nuevamente en 10 ml de agua destilada en vortex por un minuto.

CSLM de la Emulsión Grasa/solución Pectina

Para evaluar la conformación de la emulsión G/SP se utilizó un microscopio confocal laser de barrido modelo RGB-SP8 (Leica, Wetzlar Alemania) con una lente de 63x. Una pequeña alícuota de la suspensión de emulsión G/SP preparada, fue colocada en un portaobjetos con un pozuelo cóncavo y cubierta con un cubreobjetos para su análisis al microscopio. Los colorantes fueron excitados con un láser de 488 nm para Nile blue y 633 nm para Fast green. Se empleó una captura de emisión secuencial para la adquisición de imágenes por medio del software especializado del equipo (LAS-X Leica mycrosystem Wetzlar, Alemania). Se tomaron y sus escalas (en micrómetros) se reportaron dentro de cada ilustración mostrada en los resultados.

Elaboración de la Emulsión Cárnica

Con la finalidad de evaluar el efecto de la incorporación de grasa encapsulada con pectina en el comportamiento de una emulsión cárnica se prepararon tres tratamientos. El primer tratamiento (C) fue una pasta o emulsión cárnica control la cual fue elaborada utilizando la formulación descrita en la Tabla 1, el cual no contiene pectina. Como fue mencionado en los antecedentes, el efecto de la adición directa de pectina en formulaciones de salchichas ya ha sido evaluado (Hur et al., 2014), por lo tanto como un tratamiento de referencia (T1) se preparó una emulsión con adición directa de

pectina en la pasta cárnica, y así poder diferenciar el efecto de la adición de la grasa pre-emulsificada o encapsulada con la pectina (T2). Cabe hacer notar que todos los tratamientos contienen la misma proporción de grasa (la cual se encuentra dentro de los rangos permitidos por la Norma Oficial Mexicana NOM-122-SSA,-1994) y que T1 y T2 contienen el mismo porcentaje de pectina (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición porcentual de las emulsiones cárnicas para salchichas.

Ingredientes (%)	C	T1	T2
Carne magra de cerdo	60	60	60
Grasa	10	10	10
Pectina	0	1.5	1.5
Sazonador	2	2	2
Sal	1.8	1.8	1.8
Almidón	4.5	4.5	4.5
Fosfato	0.5	0.5	0.5
Agua	21.185	19.685	6.185
Agua de la emulsión	0	0	13.5
Nitritos	0.015	0.015	0.015
Total	100	100	100

C Formulación control (sin pectina), T1 Formulación con adición directa de pectina, T2 Formulación con emulsión de grasa encapsulada con pectina.

Preparación de la Emulsión Cárnica

Se utilizó pierna de cerdo magra y manteca de cerdo la cual fue comprada en un comercio local. A la carne se le removió el exceso de tejido conectivo, se cortó en pequeños cubos y posteriormente se almacenó en una cámara de congelación a -18 °C durante 30 min para minimizar el riesgo de ocurrencia de una desnaturalización proteica, por elevación en la temperatura durante el procesamiento o preparación de la emulsión. Para la elaboración de la emulsión control los ingredientes fueron incorporados siguiendo el proceso

tradicional de elaboración de salchichas, el cual consiste inicialmente en colocar los cubos fríos de carne en una cortadora o cutter (Kilia CO., Kiel, Alemania) para reducir su tamaño (aproximadamente 40 segundos a una velocidad de cortado media). Inmediatamente después se adiciona el cloruro de sodio, sal cura, el sazón y la mitad del agua (en forma de hielo) para lograr la extracción de proteína miofibrilar. Posteriormente, se adicionó el fosfato, el almidón, y al final la grasa y el resto del agua y se incrementó la velocidad de picado de media a alta.

El mezclado se hizo hasta formar una pasta cárnica finamente picada (emulsión cárnica). El orden de incorporación de los ingredientes básicos para elaborar la emulsión cárnica del tratamiento T1 (adición directa de pectina) fue igual al tratamiento control y la pectina se incorporó seguida de la adición del almidón. Para la elaboración de la emulsión cárnica T2, también se siguió el orden inicial de adición ingredientes de la emulsión control, sin embargo la incorporación final de pectina, grasa y agua se hizo a través de la emulsión G/P (Tabla 1). Durante la formación de todas las emulsiones se aplicó vacío de -0.8 bares para evacuar el aire de la pasta cárnica y la temperatura fue constantemente monitoreada para asegurar que la temperatura de la emulsión no excediera los 10 °C.

Evaluación de la Distribución de las Partículas de Grasa en las Emulsiones Cárnicas y su Comportamiento Térmico

CSLM de las Emulsiones Cárnicas

Se obtuvieron imágenes mediante microscopia confocal de las emulsiones cárnicas con la finalidad de observar si la conformación y distribución de las partículas de grasa en la emulsión cárnica fue afectada por la incorporación de la grasa encapsulada. Se utilizó el mismo microscopio descrito en la evaluación de la emulsión G/P, pero se empleó un lente de 40x para la observación de la imagen.

Una pequeña muestra de cada una de las emulsiones cárnicas C, T1 y T2 se fijó sobre un portaobjetos plano de vidrio y teñida con la misma mezcla de cromóforos descrita en el apartado anterior. Inmediatamente después, se colocó un cubreobjetos de vidrio. Para asegurar una buena tinción la muestra se dejó reposar por 5 min a temperatura ambiente (aproximadamente a 21°C) antes de ser colocada en el microscopio. Las longitudes de onda utilizadas para excitar los cromóforos fueron las mismas que las utilizadas para la emulsión G/P (488-nm para Nile red y 638-nm para Fast green). Se tomaron fotografías y se seleccionaron las fotografías más representativas y de mayor claridad, y las escalas micrométricas se indicaron en cada foto.

Evaluación del Comportamiento Térmico

Con la finalidad de evaluar si la incorporación de pectina, ya sea directamente o encapsulando la grasa, tenía un efecto en el comportamiento térmico de las pastas cárnicas se procedió a analizar las emulsiones cárnicas C, T1 y T2 por calorimetría diferencial de barrido en un equipo DSC Q200 (TA Instruments, USA). Esta información permite definir si se requiere realizar una modificación en el proceso térmico para mantener la estabilidad de la emulsión durante la cocción. Muestras de 14 mg de emulsión cárnica cruda fueron colocadas en platos de aluminio (TA Instruments, USA) y se sellaron herméticamente antes de realizar el ensayo. Como referencia se empleó una charola vacía (solo aire), sellada. La velocidad de calentamiento fue 5°C/min de -5 °C, a 72 °C y luego se calentó hasta 90 °C. Las mediciones se hicieron por duplicado y los datos obtenidos en el análisis fueron expresados como la media de 2 réplicas. Los resultados reportados fueron las temperaturas de transición de las proteínas de musculares de las emulsiones cárnicas y la entalpia total del proceso térmico.

Elaboración de Salchichas

Una vez elaboradas las diferentes emulsiones cárnicas se procedió a embutir 4 kg cada una de ellas para elaborar salchichas. El embutido de la

pasta cárnica fue realizada en una maquina embutidora (Omet ICS60-B, Siena, Italia). en fundas de celulosa de 20-mm de diámetro. El procesamiento térmico se llevó a cabo en un horno (Enviro-Pak Mp 1000, Oregón, EUA) programado a 90 °C con un tiempo de calentamiento de 35 min. Después de este tiempo se insertó un termopar en una de las salchichas y se prosiguió por 25 min más a las mismas condiciones. El procesamiento térmico finalizó una vez que el centro del producto alcanzó los de 70 ± 2 C° y se mantuvo por 20 min. Después del procesamiento térmico, las salchichas se sumergieron en una bandeja de agua con hielo por 35 min y se almacenaron a 0°C para su posterior análisis.

CSLM de las Emulsiones Cárnicas Cocinadas

Con la finalidad de diferenciar si la incorporación de la grasa de manera encapsulada modificaba la conformación y la distribución de los glóbulos de grasa en las pastas cárnicas cocinadas, es decir después del proceso de cocción de las salchichas, se procedió a preparar las muestras para su análisis por CSLM utilizando el mismo equipo y condiciones descritas en los apartado de la emulsiones crudas. Mediante un bisturí se cortó un pequeño cubo con superficie plana de las emulsiones cárnicas cocinadas C, T1 y T2, el cual fue fijado en un portaobjetos plano para su tinción y análisis microscópico. Las escalas micrométricas de las fotografías reportadas se mostraron en cada imagen.

Evaluación de la Calidad de las Salchichas

Composición Proximal

El análisis proximal de las salchichas se realizó de acuerdo a los métodos de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990) (Cuadro 2). Se tomaron varias salchichas y cada una de ellas fue evaluada por triplicado. Los resultados se expresaron en porcentaje.

Cuadro 2. Métodos usados para el análisis proximal de salchichas de cerdo con pectina.

Parámetro	Método AOAC
Humedad	950,46
Cenizas	920,153
Grasa	960,39
Proteína	981,1

Propiedades Fisicoquímicas

pH

Para medir el pH se utilizó un potenciómetro de punción Hanna (modelo 211, USA). El electrodo fue introducido en el centro de la salchicha y las lecturas se registraron una vez estabilizada la medición de pH en el potenciómetro. Las mediciones se hicieron en 3 salchichas por triplicado para cada tratamiento.

Color

El color se evaluó tanto en la parte interna como externa de la salchicha. Para ello se utilizó un colorímetro (Konica Minolta CR-400, Japón). Los parámetros evaluados fueron: valor L^* (luminosidad con rangos de 0 a 100 donde 0 = negro, 50 = gris y 100 = blanco); valor a^* (valores positivos indican coloraciones rojas y valores negativos coloraciones verdes); valor b^* (valores positivos coloraciones amarillas y valores negativos coloraciones azules) (Litter, 1995). También se calculó el ángulo de matiz o Hue ° mediante la fórmula \tan^{-1} de b^*/a^* (McLellan et al., 1995). Las mediciones se hicieron en cinco salchichas por triplicado para cada tratamiento.

Análisis del Perfil de Textura APT

El APT se realizó con un texturómetro Texture Analyzer (modelo TAXT2, Scarsdale, N.Y., USA). Se tomaron muestras de salchicha de 2 cm de diámetro y 1 cm de altura utilizando un cortador tubular. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento aplicando una doble compresión al 75% de deformación con un tiempo de espera de 5 s entre compresiones.

Las condiciones se establecieron a una velocidad de cabezal de 2 mm/s y un desplazamiento de 30 mm. Los parámetros de textura que se reportan fueron: elasticidad (propiedad de un cuerpo sólido para recuperar su forma cuando cesa la fuerza que la altera), dureza (fuerza de la primera compresión medida en Kgf, para observar cambios físicos en el producto), cohesividad, (representada como la resistencia de las uniones internas de un alimento, expresada por la magnitud en la que puede llegar a deformarse), gomosidad (representada como la energía necesaria para desintegrar un alimento semisólido a un estado apto para la deglución), masticabilidad (medida de la energía requerida para masticar un sólido y desintegrarlo hasta que se pueda deglutir). Los parámetros fueron expresados en kg como promedio de 20 repeticiones en cada tratamiento.

Evaluación Sensorial

La evaluación sensorial se llevó a cabo con 12 panelistas previamente entrenados. El panel estaba compuesto por 9 hombres y 3 mujeres de edad entre 24 a 30 años; los cuales consumían salchichas de manera frecuente en su dieta habitual. Las muestras a evaluar fueron servidas a temperatura ambiente en una habitación con luz roja. A cada panelista se le proporcionó un plato debidamente identificado con claves asignadas al azar para cada tratamiento. También se les proporcionó agua, galletas saladas, servilletas, un tenedor, material para realizar la evaluación y un formato en el cual se les pidió evaluar: sabor, textura al morder, textura al masticar, grasa residual y aceptación global. Un segundo formato de evaluación fue proporcionado para evaluar los parámetros de apariencia externa, apariencia interna y color en una habitación con luz blanca. En una escala hedónica del 0 al 10 donde: (0 = Me disgusta mucho, 2.5 = Me disgusta, 5 = Ni me gusta ni me disgusta, 7.5 = Me gusta y 10 = Me gusta mucho). El estudio fue llevado a cabo en el laboratorio de evaluación sensorial de la planta piloto de productos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo de Hermosillo Sonora.

Digestibilidad In-vitro de las Salchichas

Este estudio se realizó en las instalaciones de Biotecnología Médica y Farmacéutica del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). Se utilizó un sistema de digestión gastrointestinal humana *in-vitro*, patentado por CIATEJ (Alonso et al., 2012). Las etapas digestivas que se simularon en el presente estudio fueron la estomacal e intestino delgado. La prueba de digestibilidad se realizó por triplicado. Una porción de 20 gr de salchicha de cada tratamiento (Control, T1 y T2) fue macerada en un mortero de porcelana y colocada dentro de un vaso de precipitados con 200 mL de agua destilada. En cada repetición del proceso digestivo se prepararon 4 muestras por tratamiento de salchicha. 2 muestras

fueron utilizadas para determinar los cambios en la etapa estomacal y los otros dos continuaron a la etapa intestinal. cada digestión se llevó a cabo por triplicado.

La simulación de la digestión estomacal se inició agregando 20 mL de una solución enzimática de pepsinas obtenida de mucosa gástrica porcina en la muestras de salchichas maceradas (en cada vaso de precipitados). La concentración de esta solución fue 0.7U/g. El pH fue ajustado a 2.3 con una solución de ácido clorhídrico 5 M y se mantuvo en agitación constante a 37 °C por 2h. Una vez concluida la simulación estomacal el pH del bolo fue ajustado a 5.5 con una solución de bicarbonato de sodio 84.7 g/l. Una vez retiradas las muestras de la etapa estomacal de cada tratamiento, a las muestras que continuaron para la simulación de la fase intestinal, se les adicionó 9 mL de una mezcla de lipasa pancreática 25000 Ug/L, amilasa pancreática 100000 Ug/L y proteasa pancreática 60000 Ug/L los cuales fueron comprados de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis,MO, USA).

La mezcla se mantuvo en agitación de 60 rpm por 4h a 37 °C. Pasado el proceso de digestión intestinal, el pH del quimo fue ajustado a 2.5 nuevamente para la inhibir la acción enzimática. Las muestras obtenidas en ambas etapas digestivas se colocaron en tubos falcon de 50 mL, se congelaron y almacenaron a – 20 °C para su posterior traslado y análisis de la hidrólisis enzimática de triacylgliceridos en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo de Hermosillo Sonora.

Determinación de la Hidrólisis Enzimática de Triacilglicéridos

Preparación de las Muestras

Para realizar la determinación del contenido de triacilgliceridos y sus productos de hidrólisis (di y monogliceridos) fue necesario primeramente realizar una extracción de lípidos de las muestras digeridas, tanto en las muestras de bolo (final de la etapa estomacal) como de quimo (final de la etapa intestinal) de los tres tratamientos evaluados. La extracción lipídica se realizó

mediante una variación del método descrito por Bligh y Dyer (1959). Se colocó 1 g de muestra finamente macerada por cada tratamiento dentro de matraces Erlenmeyer de 50 mL. Las muestras se homogenizaron con 10 mL de metanol grado reactivo (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) Ultraturrax T25 (IKA Works, EUA) a 1100 rpm por un minuto. Seguidamente se añadieron 20 ml de cloroformo grado espectrofotométrico con una pureza del 98.5% (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) y se homogenizó por una segunda vez por 2 min.

Las muestras homogenizadas se filtraron mediante un embudo de vidrio con filtros de papel whatman #1 y se hizo un lavado con 3 mL de una solución cloroformo-metanol (2:1). 5 mL de una solución de cloruro de potasio (MERCK-México, Edo. de México) al 0.88% en agua destilada fueron añadidas para separar la mezcla homogénea en dos fases. La capa inferior de cloroformo fue recuperada y se hizo un lavado con 4 mL de una solución de agua y metanol (2:2). Los sobrenadantes fueron desechados y las fases resultantes (cloroformo y lípidos) se colectaron dentro de tubos falcon de 50 mL y se removió aire de los viales por medio de un flujo de nitrógeno (Grado industrial, PRAXAIR, México). Posteriormente, estos extractos lipídicos fueron derivatizados siguiendo la técnica reoirtada por (Brüschweiler y Dieffenbacher, 1991).

Una muestra de 20 mg del extracto lipídico obtenido de cada muestra al final de la fase estomacal e intestinal de la digestión in-vitro de cada tratamiento se colocó dentro de un vial de tornillos con septos de teflón de 1.5 ml. A este se le añadió 100 µL de piridina, 20 µL de solución estándar interno de butanetriol y 200 µL de Bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida con trimetil clorosilano y se homogenizaron en vortex por 10 seg.

Determinación de Tri, Mi y Monoacilgliceridos por Cromatografía de Gases

La determinación de tri, di y monoacilgliceridos se realizó por cromatografía de gases con un equipo Hewlett packard (Agilent Technologies series 7890, USA) equipado con un detector por ionización de flama (fid) y un automuestreador 7693. Se utilizó una columna capilar analítica de sílice (MET-Biodisel SUPELCO, USA) de 0.53 mm de diámetro interno x 2m de longitud, con un grosor de película de 0.16 µm. Se hicieron tres lavados en la columna antes y después de la inyección de cada muestra con el solvente hexano. El tipo de puerto utilizado fue split-splitless a una temperatura de inyección de 260 °C. Como gas acarreador se utilizó helio con un flujo de 4.93 ml por seg e hidrogeno y aire para encender la flama del cromatógrafo de gases con flujo de 400 ml por min.

Las lecturas fueron registradas en una computadora con el programa Chem Station (agilent Technologies Open LAB CDS). Para la identificación de los tri, di y monoacilgliceridos se tomó como referencia los tiempos de retención y elución de los estándares trilaurin, tripalmitin, trimiristin, 1-monolauroyl-rac-glycerol, dilaurin, 1-monomysristoyl-rac-glycerol, diplalmitin y 1-monostearoyl-rac-glycerol del kit SIGMA-ALDRICH (MDT12-1KT SUPELCO Bellefonte, USA) y 1,3 diolein, 1,2 dioleoil-rac-glicerol, gliceril-triolato y monolein del kit SIGMA-ALDRICH (1787-1AMP SUPELCO Bellefonte, USA). Para cuantificar la concentración de mono, di y triacilglicéridos se integró el área bajo la curva de los picos de elución y fueron expresados como el porcentaje total de mono, di y triacilglicéridos presentes en las muestras. Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada réplica del proceso de digestibilidad *in-vitro*.

Evaluación de la Distribución de Glóbulos de Grasa en Salchichas Posterior a la Digestión *In-vitro*

Con la finalidad de diferenciar si la incorporación de la grasa de manera encapsulada modificaba la conformación y la distribución de los

glóbulos de grasa tanto del bolo (final de la etapa de digestión estomacal) como del quimo (al finalizar la etapa de digestión intestinal), se procedió a preparar las muestras para su análisis por CSLM utilizando el mismo equipo y condiciones descritas los apartados anteriores. Se tomaron muestras representativas de ambas etapas de cada uno de los tratamientos y se colocaron en portaobjetos cóncavos para su tinción y análisis microscópico. Las escalas micrométricas de las fotografías reportadas se muestran en cada foto.

Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico

El efecto sobre las variables de conformación y distribución de partículas de grasa en las pasta cárnicas crudas y cocinadas así como de la composición proximal, físico-química y sensorial de las salchichas se estableció mediante un experimento completo al azar con un solo factor de variación, el cual fue los tratamientos: Control sin pectina, T1 incorporación directa de pectina y T2 Salchicha con grasa encapsulada. La hidrólisis enzimática de los triacilgliceridos durante la digestión in vitro de las muestras fue evaluada mediante un diseño completo al azar con arreglo factorial 3x3, donde los tratamientos fue el primer factor de variación (Control, T1 y T2) y el segundo las etapas del proceso de simulación in-vitro del proceso gastrointestinal ((inicial, estomacal e intestinal).

Las variables respuesta cuantitativas fueron analizadas por medio de un análisis de varianza y cuando se encontró efecto significativo del (los) factor(es) de variación a una probabilidad en el error <0.05 , se determinaron diferencias en las medias por medio de una prueba múltiple de Tuckey-Kramer. Estos análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico NCSS 8 para Windows7.

CAPITULO VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Encapsulación de grasa en la Pre-emulsión Grasa: Pectina (G/SP)

Estudio CSLM de G/SP

En la Figura 4 se muestra una imagen confocal de la emulsión G/SP en 2D, en la cual se puede observar partículas de forma redonda, así como el atrapamiento de las gotas de grasa (color rojo) por una cobertura de pectina (color verde) alrededor de superficie de las gotas de lípidos. Además de imágenes en un plano de dos dimensiones, se capturaron imágenes con un plano adicional (3D) con un corte a la mitad, con las cual fue posible visualizar de una manera más clara la encapsulación de los glóbulos de grasa por la pectina (Figura 5). En la Figura 5(a) se puede observar la distribución y conformación de los glóbulos de grasa de la muestra de emulsión G/SP, y a su vez en la Figura 5(b) se observa la tinción de las partículas de pectina de la misma muestra. Mediante el software del microscopio, al sobreponer ambas figuras (a y b), como resultado se obtuvo la Figura 5(c) en la que se evidenció la formación de la capsula. En esta figura se puede observar las estructuras características de partículas encapsuladas, ya que la mayoría de ellas consiste de un núcleo (core) lipídico de color rojo formado por los glóbulos de grasa de cerdo, y una cobertura (Shell) polimérica de pectina de color verde en la superficie que forma la coraza de las capsulas (Costa et al., 2015). Una acercamiento de una de las Figura 5(c) se puede observar en la Figura 5(d) que muestra de una más clara al formación de la estructura núcleo-coraza en la emulsiónG/SP.

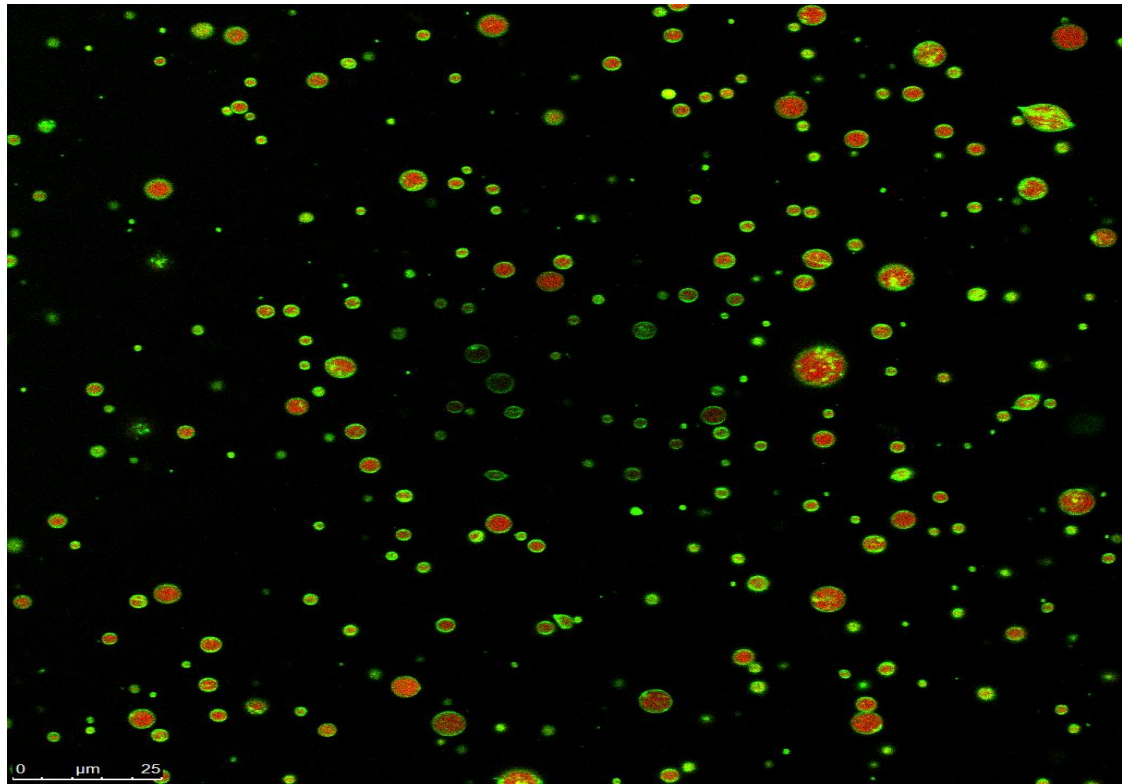
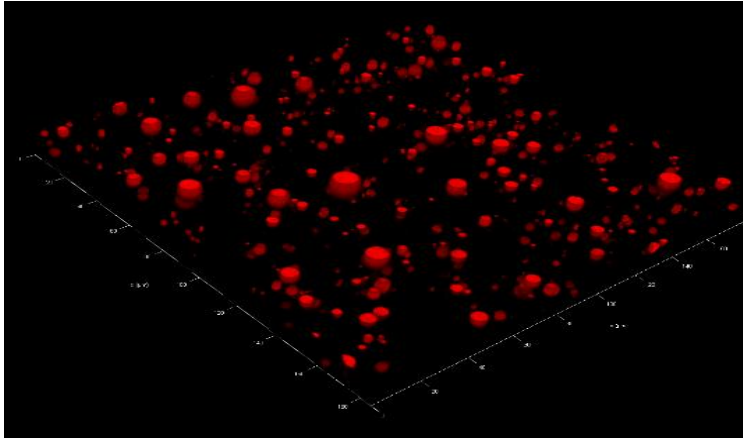
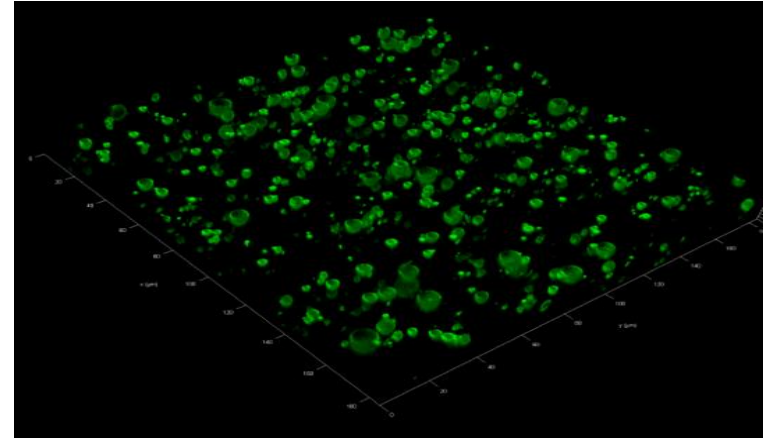


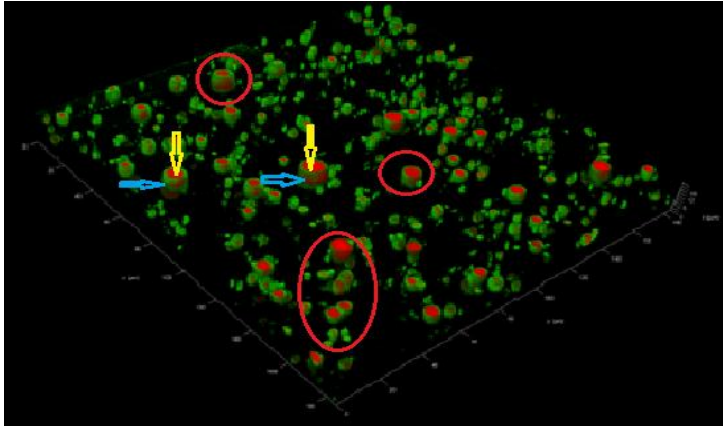
Figura. 4. Imagen confocal de emulsión grasa:pectina en plano 2D, escala de 25 μm . (Gotas de grasa envueltas en pectina).



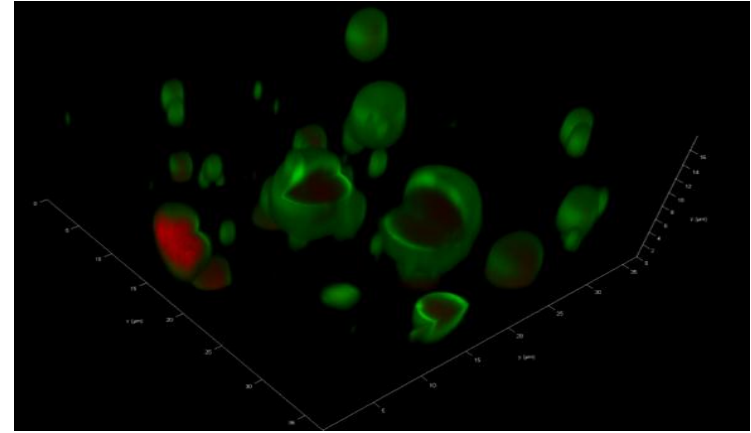
a)



b)



c)



d)

Figura 5. Imágenes confocales de emulsión grasa:pectina en plano 3D, a = grasa, escala 20 μm b = pectina, escala 20 μm c = conjunto de a y b, escala 20 μm y d = magnificación digital y corte digital para mostrar pared de la cápsula y relleno, escala 5 μm . Flecha azul (coraza de pectina), flecha amarilla (núcleo de grasa de cerdo) y círculo rojo (capsulas de pectina cortadas a la mitad).

La capacidad emulsificante de la pectina se empezó a estudiar de manera muy reciente (Ngouémazong et al., 2015, Schmidt et al., 2015, Wallecan et al., 2015), y sus propiedades surfactantes para reducir la tensión entre la fase acuosa y lipídica se ha atribuido a su estructura y composición. La pectina al ser un polisacárido hidrocoloidal posee en su estructura elementos heterogéneos de homogalacturonanos y rhamnoglacturonanos; y también dependiendo de su fuente y proceso de extracción contiene, entre 1 a 4% de proteína residual (Ngouémazong et al., 2015). De hecho, las propiedades surfactantes de la pectina se han atribuido a su contenido residual de proteína; mientras que su habilidad para estabilizar la emulsión se ha atribuido a las características estructurales y conformacionales de su porción de carbohidratos (Ngouémazong et al., 2015, Schmidt et al., 2015). La hidrofobicidad de las pectinas se ha atribuido a sus enlaces covalentes proteína-pectina y a la presencia de sus grupos acetilo (Leroux et al., 2003; Wallecan et al., 2015).

Evaluación de las Emulsiones Cárnicas

Conformación de las Emulsiones Crudas

Para evaluar la conformación y distribución de los glóbulos de grasa dentro en las emulsiones cárnicas previas al tratamiento térmico se obtuvieron imágenes por CLSM de las emulsiones cárnicas las cuales se presentan en la Figura 6. En ellas se puede observar que la pasta cárnica control (C) presentó glóbulos de grasa de mayor tamaño y con grandes áreas de coalescencia (se indican con flechas verdes), en comparación con las emulsiones preparadas con adición directa de pectina (T1) y con grasa encapsulada (T2). También es posible notar que la emulsión T2 presentó glóbulos de grasa más finamente divididos y con menos áreas de coalescencia que T1.

Al comparar las imágenes de C y T1 se evidencia el efecto o interacción de la pectina con los glóbulos de grasa ocasionado por el proceso de

elaboración de la emulsión cárnica. Es decir, se puede decir que la pectina adicionada de manera directa tiene la habilidad de interaccionar y emulsionar parte de la grasa presente en la pasta cárnica. No obstante, es posible notar que el hecho de incorporar la grasa pre-emulsionada (encapsulada) con la pectina (T2), disminuye aún más los tamaños y áreas de coalescencia en comparación con la adición directa. Esto podría ser una evidencia de que la encapsulación de la grasa fue bastante resistente al proceso de elaboración de la emulsión cárnica.

En el estudio realizado por Hur et al. (2014), el hecho de adicionar directamente la pectina durante la formulación de la pasta cárnica lo denominó como encapsulación. El presente estudio permite evidenciar diferencias en la distribución y conformación de los glóbulos de grasa cuando está fue pre-emulsionada o encapsulada con pectina antes de ser añadida a la pasta cárnica.

Evaluación del Comportamiento Térmico

Durante el procesamiento térmico de productos cárnicos tanto la cantidad de calor, así como la temperatura de transición térmica de las proteínas cárnicas se pueden ver modificadas por la interacción con los diferentes ingredientes que se añaden en la formulación de una emulsión cárnica, como por ejemplo almidones y/o gomas (Kajitani et al., 2011). El efecto de la incorporación directa y la adición de grasa encapsulada con pectina en el comportamiento térmico de las emulsiones cárnicas, se evaluó por calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en ingles). En el Cuadro 3 se puede observar que la incorporación directa de pectina y la adición de grasa encapsulada con pectina no modifica la cantidad de calor absorbido durante el proceso térmico (ΔH) en las emulsiones cárnicas con respecto al control ($p > 0.05$). Así mismo, tampoco se encontraron diferencias significativas en la temperatura de inicio de la transición térmica (T_0) ni en las temperaturas de los picos endotérmicos T_{Peak1} y T_{Peak2} por efecto de los tratamientos ($p > 0.05$). De tal

manera que el inicio de la transición térmica para todos los tratamientos se encontró cerca de 57 °C para la miosina (T_0), 67 °C para proteína sarcoplásmica ($T_{Peak 1}$) y en el rango de 72 a 75 °C para la actina ($T_{Peak 2}$). Las temperaturas de transición térmica de las proteínas musculares encontradas en el presente estudio, coinciden con otras previamente reportadas.

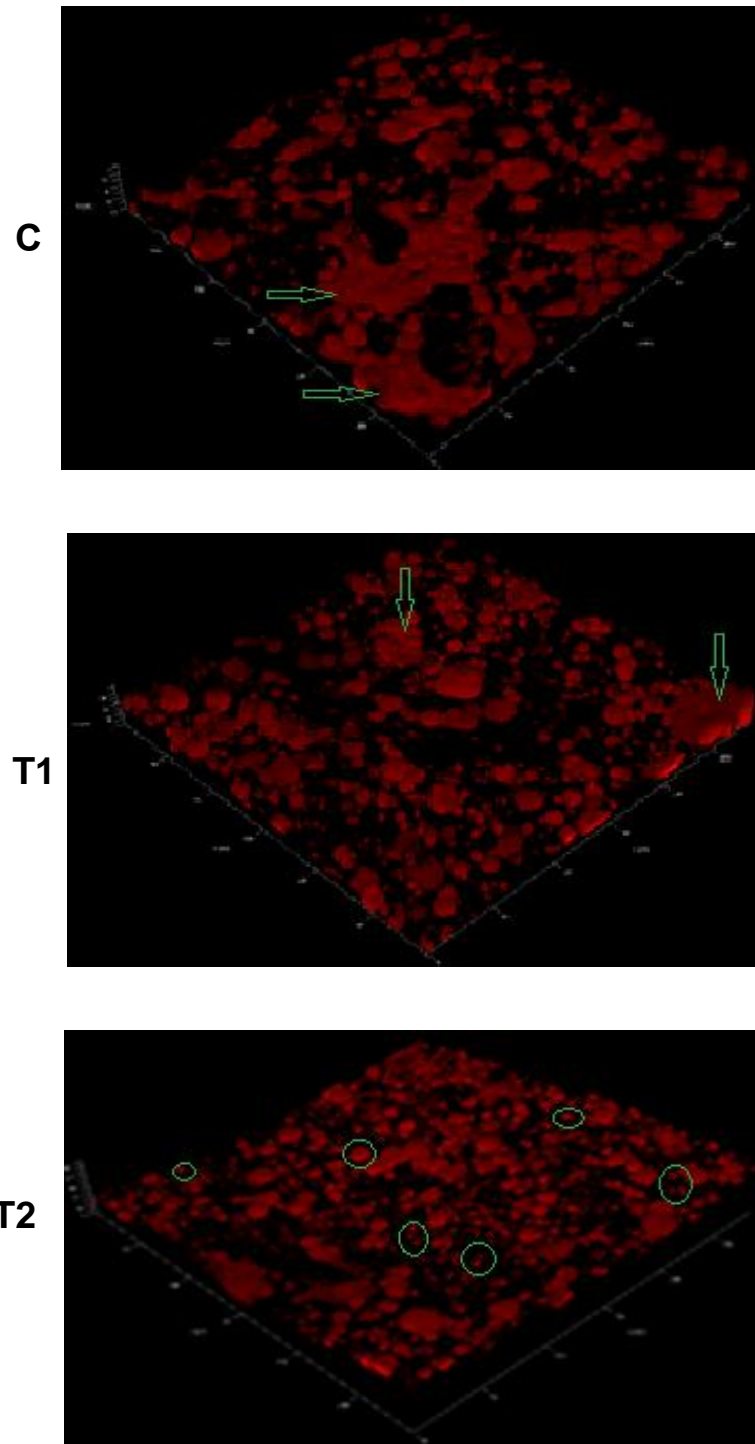


Figura 6. Imágenes confocales de emulsiones cárnicas crudas. C (control), T1 (con adición de pectina) y T2 (grasa encapsulada), escala de 20 μm . (Flechas: coalescencia de grasa, círculos: partículas de grasa más finas).

Cuadro 3. Efecto de la incorporación de grasa encapsulada con pectina y suministro directo de pectina en las propiedades térmica de la emulsión cárnica.

Tratamientos	Temperatura de transición (°C)			ΔH (J/g)
	T_0 °C	$T_{Peak 1}$ °C	$T_{Peak 2}$ °C	
Control	57.86 ^a	66.84 ^a	72.89 ^a	-2.067 ^a
T1	57.50 ^a	67.25 ^a	75.22 ^a	-1.731 ^a
T2	57.87 ^a	66.99 ^a	75.39 ^a	-2.025 ^a
EE	0.83	0.25	0.69	0.106

Medias con la misma literal dentro de columna, son similares estadísticamente ($P > 0.05$).

¹ Tratamientos: C, control; T1, adición directa de pectina; y T2, encapsulación de grasa con pectina. EE=error estándar.

Las temperaturas típicas de transición térmica para proteínas cárnica se encuentran en los rangos de 43 a 67 °C para miosina y sus subunidades, 67 a 69 °C para proteínas sarcoplásmicas y 71 a 83 °C para actina (Kajitani et al., 2011; Yu et al., 2012, Chen et al., 2007). En base a estos resultados se definió que no era necesario modificar el proceso térmico de cocción de ninguna de las pastas cárnica para la elaboración de las salchichas.

Evaluación de las Características de las Salchichas

Conformación de las Emulsiones Cocinadas

Las imágenes por microscopia confocal se presentan en la Figura 7. Al observar las imágenes correspondientes a las salchichas control (C), elaboradas con adición directa de pectina (T1) y mediante la incorporación de la grasa encapsulada con pectina (T2) es posible notar un comportamiento similar en la conformación y distribución de tamaño de partículas al que fue observado en las imágenes antes de la cocción. El control fue la salchicha con mayor coalescencia de grasa seguida de T1 y T2 presentó las gotas de grasa más

pequeñas y un número menor de áreas de coalescencia, comparada tanto con la muestra control como T1.

Estos resultados sugieren que el tratamiento térmico aplicado durante la cocción no modificó la distribución y tamaño de los glóbulos de grasa que se tenía antes de la cocción en cada uno de los tratamientos. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el estudio DSC, ya que los únicos cambios que se observaron por la aplicación de calor fueron los correspondientes a la transición térmica de gelificación de las proteínas musculares; y por tanto se explica porque las imágenes confocal de los glóbulos de grasa después de la cocción no evidencian cambios en este componente de la emulsión cárnica. Además, estos resultados permiten inferir que la interacción de la pectina con los glóbulos de grasa, ya sea adicionada de manera directa o encapsulando la grasa, se mantiene y se estabiliza con la cocción.

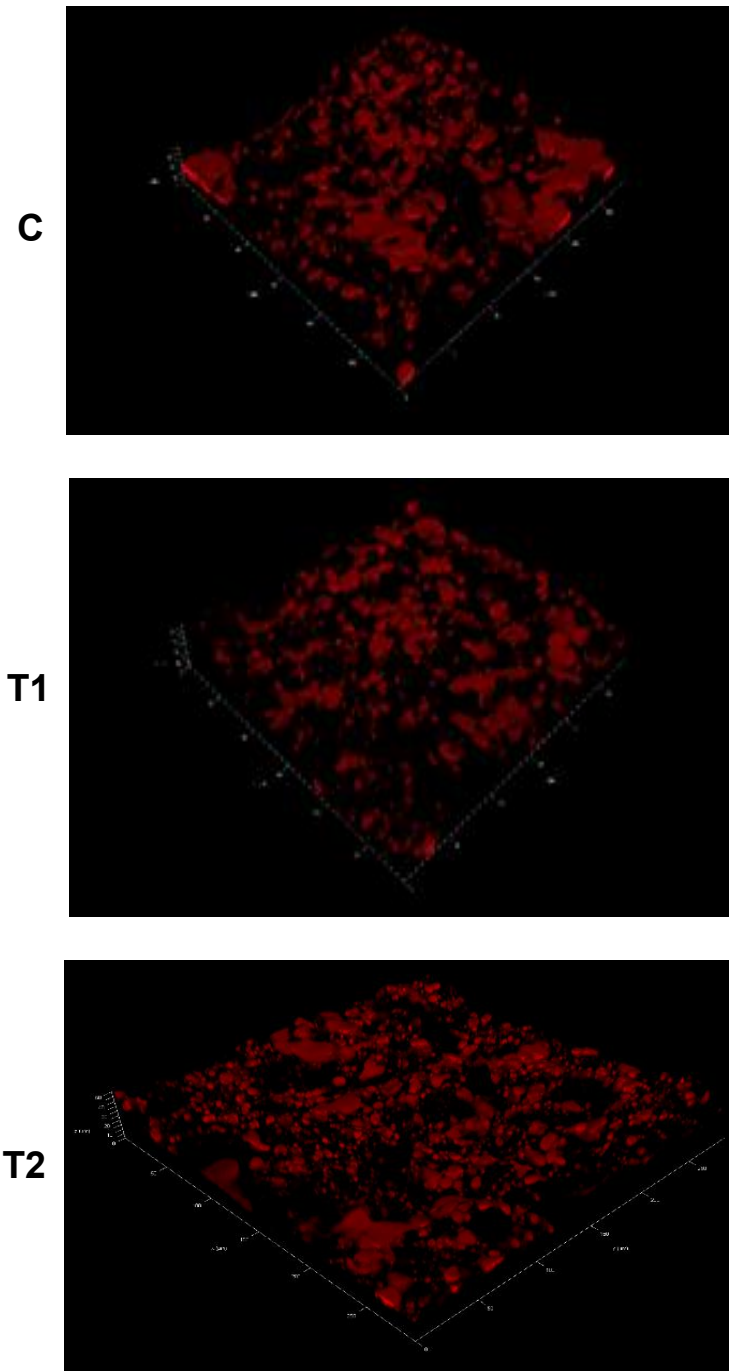


Figura 7. Imágenes confocal de glóbulos de grasa salchichas cocinadas. C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina), escala de 20 μm .

Composición Proximal

En el Cuadro 4 se muestran los resultados del análisis químico proximal realizado a las salchichas de cada tratamiento.

Cuadro 4. Composición proximal de salchichas de cerdo de cada tratamiento.

Variables %	Tratamientos			
	C	T1	T2	EE
Humedad	60.42 ^a	61.32 ^a	60.74 ^a	0.845
Grasa	14.78 ^a	14.92 ^a	14.1 ^a	0.39
Proteína	10.25 ^a	11.07 ^a	10.09 ^a	0.54
Ceniza	1.81 ^a	1.88 ^a	1.92 ^a	0.039

^{a,b} Medias con diferente literal dentro de la hilera, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). EE: error estándar. 1 Tratamientos: C, control; T1, adición directa de pectina y; T2, encapsulación de grasa con pectina.

Humedad

No se observaron cambios en el contenido de humedad, por efecto de la encapsulación o adición directa de pectina ($p > 0.05$). Esto indica que el contenido de agua quedó atrapado en la matriz de la emulsión cárnica y no se perdió de manera diferente durante la cocción, independientemente de la forma en la que se prepararon las emulsiones C, T1 y T2. Los valores de humedad obtenidos estuvieron entre 60.4 y 61.3% (Cuadro 4). Méndez et al., (2015) tampoco encontraron diferencias significativas en humedad por la incorporación de 1.46% de pectina en la elaboración de salchichas de cerdo, con valores entre 57 y 58% de humedad. Por su parte Candogan et al. (2003) encontraron valores más altos de humedad entre 74.4 y 75.8% para salchichas reducidas en grasa, sin embargo estas estuvieron elaboradas con 20% de pectina en gel. La Norma Mexicana NMX-F-065-1984 establece que las salchichas tipo Frankfurt deben tener una humedad máximo de 70%, por lo tanto, el contenido

de humedad del presente estudio se encuentra dentro del rango establecido por esta norma.

Proteína

La encapsulación de grasa y la adición directa de pectina no tuvieron efecto significativo en el contenido de proteína de las salchichas ($p>0.05$). El contenido de proteína fue de 10 a 11%, (Cuadro 4). Valores similares fueron reportados por Ordóñez et al. (2001) en salchicha con 0.5% carragenina y 0.4% pectina con 12.8% de proteína; y en salchichas reducidas en grasa con pectina e inulina con valores entre 10.96 y 10.43% (Méndez et al., 2015). Los niveles de proteína encontrados en todos los tratamientos evaluados se encuentran dentro del lineamiento de la Norma Mexicana NMX-F-065-1984; la cual establece un contenido mínimo de proteína de 9.5% en salchichas tipo frankfurters.

Grasa

La encapsulación de grasa y la incorporación de pectina no impactaron de forma significativa en el contenido de grasa de las salchichas ($p>0.05$). Los valores encontrados estuvieron entre 14.1 y 14.9% de grasa (Cuadro 4). Esto es una evidencia de que la grasa que se adicionó encapsulada o que interaccionó con la pectina adicionada directamente, quedó retenida dentro de la matriz cárnica de la misma manera que en el tratamiento control. La Norma Mexicana NMX-F-065-1984 establece que el contenido de grasa presente en una salchicha tipo frankfurter no debe ser mayor al 30% en su formulación. Todos los tratamientos se encuentran dentro del rango de dicha norma.

Cenizas

En este estudio el contenido de cenizas de la salchicha control presentó similitudes con los tratamientos T1 y T2 ($p>0.05$) con valores entre 1.7 a 1.9%. Candogan et al., (2003) emplearon pectina en proporciones 0.3, 0.5 y 0.7% para reducir grasa en salchichas y reportaron rangos de 2.36, 2.53 y 2.42% de

ceniza, mientras que Méndez et al., (2015) obtuvieron valores más altos de 6.74 y 6.96% en salchichas bajas en grasa con pectina e inulina. Los resultados obtenidos de este estudio presentan valores más bajos de ceniza respecto a las investigaciones citadas con anterioridad. Esta variación puede ser atribuible a las distintas proporciones de otros ingredientes incorporadas en las formulaciones de los otros estudios.

Propiedades Fisicoquímicas

pH

las propiedades fisicoquímicas de las salchichas se muestran en el cuadro 5. La incorporación de 1.5% de pectina en la formulación de salchichas de cerdo disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el pH del producto con respecto al control de 6.06 a 5.9. Sin embargo, el pH de las salchichas no fue afectado ($p > 0.05$) por la incorporación encapsulando la grasa (5.94) o por adición directa (5.93) de la pectina en la formulación. Hur et al., (2014) reportan el mismo valor de pH en salchichas de cerdo elaboradas con 1% de pectina. Sin embargo, Kim et al., (2015) reportaron valores superiores a los encontrados en el presente, de 6.07 en emulsiones cárnicas de cerdo preparadas con pectina de cascara de soya. No obstante estos autores atribuyeron sus resultados, al ajuste de pH cercano a la neutralidad que se realizó a la solución de pectina de cascara de soya previo a la preparación de las emulsiones cárnicas. Se ha reportado que incrementar la adición de pectina en formulaciones cárnicas tiende a disminuir de manera significativa el pH del producto final.

Méndez et al., (2015) obtuvieron valores de pH de 5.71 y 5.57 en salchichas de cerdo y res con 1.46 y 2.92% de pectina, respetivamente. Una disminución del pH por la incorporación de polisacáridos como la pectina puede atribuirse a la interacción de los polisacáridos y las proteínas a través interacciones electrostáticas de atracción y repulsión entre grupos polares y no

polares de gomas y proteínas que pueden resultar en variaciones de pH (Xiong et al. 1999).

Color

La medición del color es importante, debido que es uno de los principales parámetros de calidad y aceptación de productos cárnicos. En el presente estudio el añadir 1.5% de pectina en la formulación de salchichas de cerdo impactó de manera significativa en la luminosidad (L^*) en la capa externa y la parte interna de las salchichas de los tratamientos T1 y T2 con respecto al control ($p \leq 0.05$) (Cuadro 5). La incorporación directa de pectina (T1) incremento de manera significativa los valores de L^* tanto internos como externos. En tanto que la adición de la grasa encapsulada los valores de L^* (externos e internos) fueron más parecidos al control, aunque la diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Cuadro 5. Efecto de la incorporación de pectina en color L,a,b y ángulo de matiz interno y externo en salchichas de cerdo.

Variables	Tratamientos			EE
	C*	T1	T2	
Color Externo				
L*	70.74 ^a	75.29 ^c	72.87 ^b	0.38
a*	7.27 ^c	5.2 ^a	6.38 ^b	0.24
b*	15.62 ^b	14.79 ^a	14.31 ^a	0.17
Matiz	65.08 ^a	70.63 ^b	65.95 ^a	0.87
Color Interno				
L*	74.45 ^b	76.45 ^c	73.64 ^a	0.14
a*	8.44 ^b	8.03 ^a	9.34 ^c	0.43
b*	9.44 ^a	10.6 ^b	11.37 ^c	0.41
Matiz	48.12 ^a	52.86 ^c	50.57 ^b	0.16

* C: Tratamiento Control, T1: Adición directa de pectina; T2: Adición de grasa encapsulada ^{a,b,c} Medias con diferente literal dentro del mismo renglón, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). EE (error estándar).

La variación entre tratamientos en los tonos rojizos (*a) en la parte externa de las salchichas tuvo un comportamiento similar a la variación de los valores de L*. Es decir, los tonos rojizos disminuyeron significativamente en ambos tratamientos con respecto al control. El valor a* en la parte interna fue significativamente más alta para las salchichas elaboradas con la grasas encapsulada, seguido del control y el valor más bajo lo presentó T1. En lo que respecta a, la abundancia de amarillo (b*), este no fue distinto en la parte externa de T1 y T2 ($p > 0.05$), mientras que el control presentó el valor de b* más alto en la capa exterior y el más bajo en el interior de las salchichas.

El ángulo de matiz es un parámetro que ubica de una forma más precisa la tonalidad de las salchichas en la esfera de color. Con respecto a este parámetro, no se apreciaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el exterior de las salchichas entre el control y T2. T1 presentó el ángulo de matiz más alto ($p < 0.05$) tanto en la parte externa como en la interna. El control fue la muestra con matiz más bajo ($p < 0.05$) seguido por T1.

Cambios significativos en los parámetros de color, similares a los encontrados en el presente estudio en T1 fueron reportados por Kim et al., (2015) en emulsiones cocidas de cerdo con 3% pectina, ya que obtuvieron también valores de L^* y ángulo de matiz más altos que el control y valores a^* más bajos. Sin embargo, Méndez et al., (2015) no encontraron cambios significativos en color al adicionar 1.4% de pectina en salchichas elaboradas con una combinación de carne de res y cerdo, y además contenían inulina. Estas diferencias en formulación pueden explicar las discrepancias con los efectos en color encontrados en el presente trabajo.

Análisis del Perfil de Textura (APT)

En el cuadro 6 se muestra la influencia de la encapsulación con pectina y su adición directa en las propiedades de textura de salchichas de carne de cerdo. El de incorporar grasa encapsulada con pectina disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) ya que todos los parámetros de textura evaluados. Por otro lado, adicionar la grasa encapsulada con pectina solo disminuyó de manera significativa los parámetros de dureza y masticabilidad ($p < 0.05$).

Un efecto contrario de aumento en la dureza de las emulsiones cárnicas de cerdo cocidas fue reportado al adicionar directamente 3% de pectina de soya en emulsiones cárnicas de cerdo (Kim et al., 2015). No obstante, los resultados del presente estudio guardan una similitud con los reportados por Pappa et al. (2000) en salchichas de cerdo con bajo contenido de grasa con diferentes niveles de incorporación de pectina. Estos autores encontraron que la adición

de 1% de pectina resultó en salchichas más suaves y también incrementaron la suavidad en la piel externa de las salchichas.

Cuadro 6. Efecto de la encapsulación y adición de pectina sobre la textura de salchichas de cerdo.

Variables	Tratamientos			
	C	T1	T2	EE
Dureza (Kgf)	10.44 ^c	9.21 ^b	7.73 ^a	0.272
Elasticidad (cm*s ⁻¹)	0.86 ^b	0.85 ^b	0.76 ^a	0.006
Cohesividad	0.65 ^{ab}	0.635 ^b	0.388 ^a	0.008
Gomosidad (Kg)	6.65 ^b	6.08 ^b	3.06 ^a	0.174
Masticabilidad (Kg)	5.92 ^c	5.15 ^b	2.3 ^a	0.143

^{a,b,c} C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina). Medias con diferente literal dentro del mismo renglón indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

EE (error estándar).

Una textura más suave por incorporar concentraciones de pectina alrededor del 1% puede atribuirse al efecto que confiere la pectina de absorber agua (Pappa et al., 2000). No obstante a concentraciones de adición más altas, por arriba de 2%, la interacción de la pectina con los otros componentes de la emulsión puede revertir este efecto y causar un endurecimiento del producto (Kim et al., 2015).

Evaluación Sensorial de Salchichas

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos C, T1 y T2 para los atributos sensoriales de sabor, textura al masticar, grasa residual, color, apariencia interna y externa y aceptación global de las salchichas ($p > 0.05$) (Cuadro 7). En cuanto a la textura al morder, los jueces solo detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las salchichas control y las salchichas con adición directa de pectina y con grasa encapsulada. Cabe hacer

notar de que a pesar de que en las pruebas instrumentales de color y textura realizadas en el presente trabajo se encontraron diferencias estadísticas en los diferentes parámetros evaluados (Cuadros 5 y 6, respectivamente), estas diferencias no se vieron reflejadas en las calificaciones otorgadas por los jueces en la mayoría de los atributos evaluados, con excepción de la textura al morder. Los jueces prefirieron la textura más blanda que presentaron las salchichas de T1 y T2 en comparación con la textura más dura de las salchichas control. Por consiguiente, es posible inferir que la incorporación de 1.5% de pectina ya sea encapsulando la grasa o añadida directamente puede ser una buena opción para una mejora significativa en las propiedades sensoriales de textura de salchichas con carne de cerdo.

Cuadro 7. Evaluación sensorial de salchichas

Atributo sensorial	Tratamientos			
	C	T1	T2	EE
Sabor	6.34 ^a	6.48 ^a	5.84 ^a	0.42
Textura al morder	4.39 ^a	6.21 ^b	6.0 ^b	0.48
Textura al masticar	5.26 ^a	6.31 ^a	5.86 ^a	0.55
Grasa residual	6.71 ^a	6.36 ^a	6.47 ^a	0.36
Color	6.53 ^a	5.64 ^a	5.99 ^a	0.39
Apariencia externa	6.61 ^a	5.65 ^a	6.15 ^a	0.32
Apariencia interna	6.65 ^a	5.99 ^a	6.86 ^a	0.32
Aceptación global	6.18 ^a	6.87 ^a	6.2 ^a	0.39

^{a,b} C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina) Medias con diferente literal dentro del mismo renglón, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

EE (error estándar).

Las medias de T1 y T2 concuerdan con los datos obtenidos por Hur et al. (2014) en apariencia de 5.2, color de 5.9, y aceptación global de 6.89 en salchichas de cerdo elaboradas con adición directa de 1% de pectina y

evaluadas en una escala hedónica similar a la del presente estudio. Estos autores tampoco encontraron diferencias significativas entre las salchichas con 1% de pectina y las salchichas control. No obstante, Méndez et al. (2015) si encontraron mejoras en la apariencia y sabor de salchichas con 1.46% de pectina, pero estas salchichas fueron adicionadas con una cantidad similar de inulina, por lo que es posible que las mejoras en estos atributos sensoriales puedan ser atribuidas a la inclusión de inulina.

Digestibilidad *In-vitro* de las Salchichas

Degradación Digestiva de Triglicéridos

Al finalizar la etapa de digestión estomacal, la cantidad de TAG, diacilgliceridos (DAG) y de monoacilglicéridos (MAG) en el bolo proveniente de las salchichas, no se vieron modificadas con respecto al contenido inicial, ni tampoco por el tratamiento ($P>0.05$) (Figura 7). Estos resultados eran esperados ya que la simulación de la etapa de digestión estomacal se hizo en ausencia de lipasas, que son las enzimas capaces de hidrolizar los TAG (Carey *et al.*, 1983).

Al finalizar la etapa intestinal el porcentaje de TAG disminuyó significativamente ($P<0.05$) en el quimo de todos los tratamientos evaluados, con el consecuente incremento en la concentración de DAG y MAG (Figura 7 b y c, respectivamente) que fue significativo ($P<0.05$) en todos los tratamientos. Sin embargo, es importante hacer notar que T1 y T2 presentaron una degradación intestinal significativamente menor ($P<0.05$) de TAG con respecto al control; y además que esta degradación fue aun significativamente menor ($p<0.05$) en el tratamiento preparado con grasa encapsulada (T2) en comparación con el tratamiento con adición directa de pectina (T1). De tal forma, que la encapsulación de la grasa con pectina disminuyó la hidrólisis en un 20% en comparación con el control y la adición directa solo disminuyó la

hidrolisis en un 8%. Esto significa una concentración de TAG al final de la etapa intestinal 5 veces y 3 veces más alta para T2 y T1, respectivamente en comparación con el control.

Así mismo, se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en las concentraciones de DAG en el quimo de T2 con respecto a T1 y control (Figura 7b). El porcentaje de DAG en T2 fue significativamente mayor, en tanto que no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre T1 y control en la concentración de este producto de la hidrolisis parcial de TAG. Este resultado es importante, ya que significa que la encapsulación disminuye también la degradación de DAG a sus formas absorbibles de MAG y ácidos grasos libres.

Por su parte, el porcentaje de MAG en la etapa intestinal (Figura 7c) solo fue significativamente menor ($P < 0.05$) en T2 comparado en comparación con los otros dos tratamientos. Esto es un indicador adicional de una menor velocidad de degradación de TAG y DAG por efecto de la encapsulación en comparación con la adición directa de pectina.

Estos resultados evidencian que el adicionar, durante la elaboración de las salchichas, la pectina encapsulando la grasa ofrece una mejor barrera para impedir la interacción de las lipasas con su sustrato, durante la simulación digestiva, en comparación con la adición directa de pectina.

Solo fue posible encontrar un reporte sobre el uso de pectina u otros hidrocoloides, con la finalidad de disminuir la digestibilidad de la grasa adicionada en embutidos (Hur et al., 2014). En este estudio los autores al adicionar directamente la pectina a la formulación, asumen que la pectina encapsuló a la grasa y obtienen una disminución en la digestibilidad de lípidos, en comparación con la muestra control (sin pectina) de aproximadamente el 25%. Este valor es superior al encontrado en el presente estudio en las muestras elaboradas con adición directa de pectina (8%) e inclusive mayor al encontrado en las muestras con grasa encapsulada (20%). Esta diferencia puede explicarse en base a los diferentes procedimientos que se utilizaron para medir la digestibilidad de lípidos. En el estudio de Hur et al. (2014) los autores midieron la digestibilidad de lípidos mediante la determinación de la proporción

de lípidos totales (incluyendo ácidos grasos libres) que atravesó una membrana de diálisis en relación a los lípidos remanentes; y en el presente estudio se midió la digestibilidad en función de la hidrólisis de los TAG en DAG y MAG y no se consideró el contenido de ácidos grasos libres. Es importante recordar que los ácidos grasos libres es el producto final de la degradación enzimática de TAG, DAG y MAG y por su tamaño pueden pasar fácilmente a través de una membrana de diálisis.

Se han reportado otros estudios para determinar la efectividad de la pectina para disminuir la digestibilidad en hamburguesas de res (Hur et al., 2009; Hur et al., 2015). La incorporación de pectina al 0.5% disminuyó a la mitad la liberación de ácidos grasos (Hur et al., 2009) y la adición de 3% de pectina disminuyó en un 10% la difusión de lípidos totales a través de una membrana de diálisis (Hur et al., 2015). Estos reportes atribuyeron sus resultados a que la pectina actúa como una fibra dietaria que puede alterar la ruptura y la coalescencia de partículas lipídicas en el estómago y el intestino delgado, lo cual disminuye el área expuesta de los glóbulos de grasa a la actividad enzimática de las lipasas disminuyendo la hidrólisis de los TAG a compuestos más sencillos.

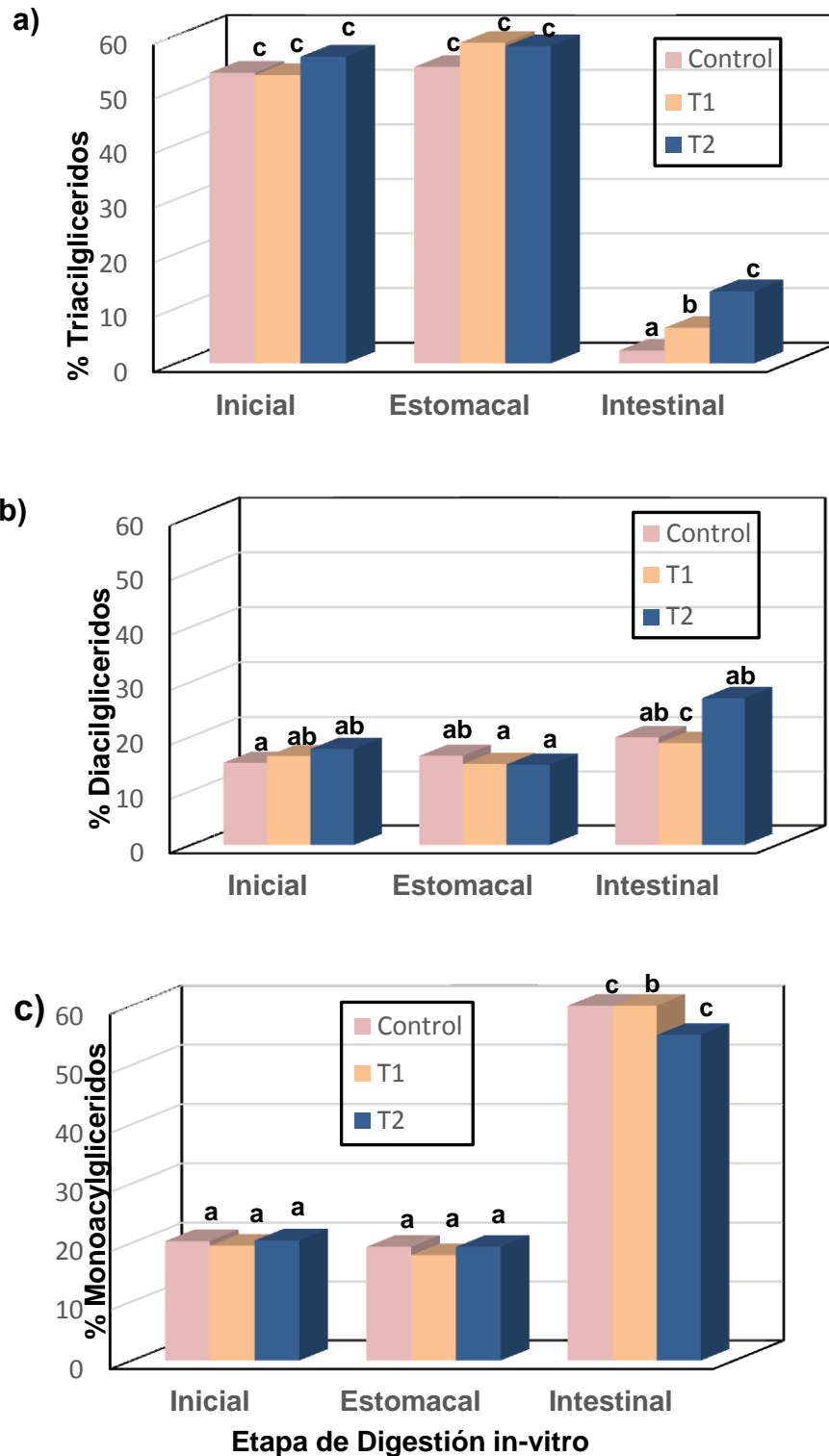


Figura 8. Cambios en la concentración de triacilglicéridos (a), diacilglicéridos (b) y monoacilglicéridos (c) durante la digestibilidad *in-vitro* de lípidos de las salchichas C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina).

Conformación de los Glóbulos de Grasa en Bolo y Quimo.

Con la finalidad de dar un seguimiento a los cambios en conformación y distribución de tamaño de partícula durante la simulación in vitro del proceso digestivo se utilizó la técnica de CMSL. Las imágenes confocal de las salchichas en la etapa de digestión estomacal e intestinal se muestran en la figura 8. Al observar los cambios con respecto a las muestras antes de la simulación digestiva es posible notar un comportamiento diferente entre los tres tratamientos. La grasa se observa más dispersa y con glóbulos de mayor tamaño y sin forma definida al finalizar la etapa estomacal en comparación a la muestra sin digerir. Esto puede ser explicado por el proceso de maceración y la degradación digestiva de la proteína cárnica. Dado que la pectina es resistente a la degradación digestiva, en las imágenes de T1 la grasa se puede notar el efecto protector de la adición directa de pectina, ya que los glóbulos de grasa se observan más definidos y no se ven tan afectado como el control por la degradación de proteína. No obstante, es posible notar un mayor número de áreas con coalescencia de grasa en el bolo de T1 (indicada con círculos verdes) en comparación con la muestra T1 sin digerir.

Un mayor número de glóbulos de grasa bien definidos y de tamaño aún menor que en T1, pueden ser observados en la imagen de T2 después del proceso digestivo gástrico. Esto puede ser una evidencia de que cuando menos algunos de los glóbulos de grasa se mantienen protegidos por la cápsula de pectina al finalizar la etapa estomacal, ya que si fue posible observar áreas de coalescencia de grasa en comparación con las muestras sin digerir.

Diferencias notorias entre en el número de glóbulos de grasa presentes al finalizar la etapa intestinal se pueden observar en las imágenes de los tres tratamientos, al comprarlos con sus respectivas muestras antes de digerir y al final de la etapa gástrica. No obstante, estas diferencias son realmente más evidentes en C en comparación con T1 y T2, ya que casi todos los glóbulos de grasa desaparecieron. En cambio, en la imagen de T2 se puede visualizar que persiste un gran cantidad de glóbulos, inclusive más que en T1.

Las diferencias encontradas en las imágenes confocal soportan los resultados obtenidos en la medición de la degradación de TAG realizada, en la cual se encontró una degradación significativa de los TAG en todos los tratamientos que fue del 95% para el control, del 88% para T1 y del 75% para T2, en relación con los TAG iniciales. La presencia de un mayor número y tamaño de glóbulos de grasa en las imágenes de T2 posterior a la digestión intestinal, confirman que fue el tratamiento con menor degradación.

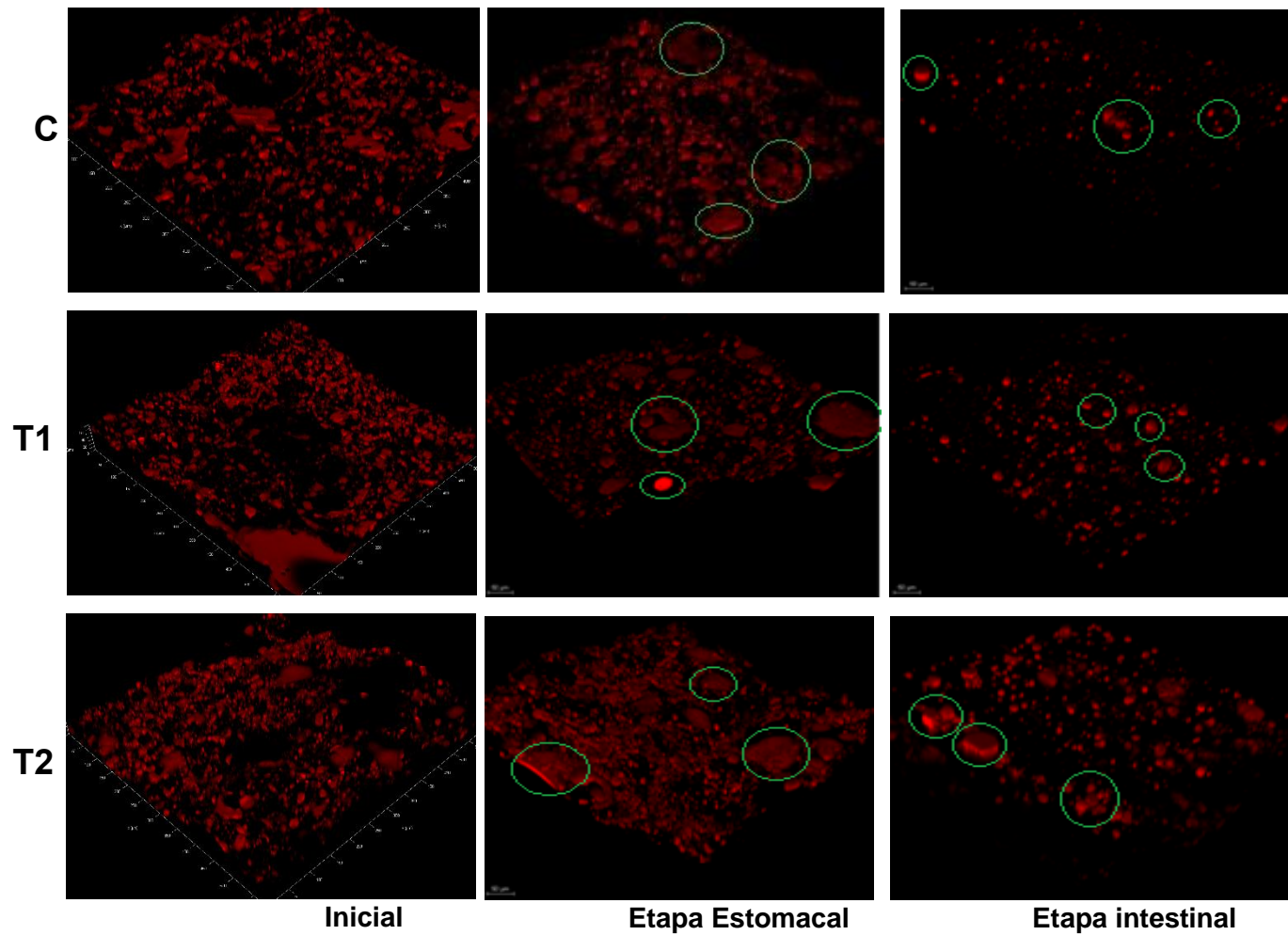


Figura 9. Imágenes confocales de salchichas C (control), T1 (adición directa de pectina) y T2 (grasa encapsulada con pectina) posterior a digestión estomacal e intestinal. Escala de 50 μm , (círculos verdes representan coalescencia de glóbulos de grasa).

CAPITULO VI. CONCLUSIONES

Fue posible mostrar que la pectina tiene la habilidad de emulsificar y encapsular glóbulos de grasa de cerdo mediante la preparación de una emulsión 60:40 (solución de pectina al 4%:grasa de cerdo). Se evidenció la habilidad de mantener su integridad al ser incorporada como materia prima en la elaboración de emulsiones cárnicas para preparar salchichas. El presente estudio también permitió concluir que no es necesario modificar el proceso para cocinar salchichas con una incorporación de 1.5% de pectina, ya sea adicionada de manera directa o encapsulando grasa, ya que su perfil calorimétrico no se ve afectado en las proteínas cárnicas. Además, fue posible concluir que la inclusión de grasa encapsulada no afectó en los parámetros de físico-químicos tales como a (pH y color) ni la aceptabilidad sensorial. Adicionalmente, la aceptabilidad de textura sensorial se vio favorecida por los cambios ocasionados por la adición de pectina y grasa encapsulada con pectina.

Las diferencias en el porcentaje de lípidos, así como las imágenes confocal obtenidas al final del proceso de digestión *in-vitro*, permitieron evidenciar que la incorporación de grasa encapsulada con pectina fue efectiva para disminuir aproximadamente en un 24% la digestibilidad de los lípidos; y que encapsular la grasa con pectina ofrece una mejor protección contra la acción de las lipasas que adicionar la pectina de manera directa en la formulación.

Para futuros estudios, podría incorporarse una mezcla de algunos otros biopolímeros para evaluar la acción de inhibición de lipasas pancreáticas, ácidos grasos libres, así como un posible estudio *in-vivo* para monitoriar el metabolismo de lípidos de salchichas.

VII. REFERENCIAS

Alonso, Segura D. González, Ávila M. Hernández, Moedano A. Moreno, Ramos E. Proceso de simulación de tracto digestivo humano. MX 2012005418. 9 de Mayo de 2012. 37p.

A.O.A.C. (1990). Official methods of analysis, 15th ed. A. o. o. a. chemists. Washington, D. C.

Alvarez, D., Castillo, M., Xiong, Y. L., & Payne, F. A. (2010). Prediction of beef meat emulsion quality with apparent light backscatter extinction. *Food research international*, 43(5), 1260-1266.

Bañón, S., Granados, M. V., Cayuela, J. M., Gil, M. D., Costa, E., & Garrido, M. D. (2000). Calidad de la grasa obtenida a partir de cerdos magros. In *Anales de Veterinaria* (Vol. 16, pp. 77-88).

Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*, 37(8), 911-917.

Brüschweiler, H., & Dieffenbacher, A. (1991). Determination of mono-and diglycerides by capillary gas chromatography: results of a collaborative study and the standardized method. *Pure and applied chemistry*, 63(8), 1153-1162.

Cáceres, E., García, M. L., & Selgas, M. D. (2008). Effect of pre-emulsified fish oil—as source of PUFA n- 3—on microstructure and sensory properties of mortadella, a Spanish bologna-type sausage. *Meat Science*, 80(2), 183-193.

- Candogan, K., & Kolsarici, N. (2003). The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. *Meat Science*, 64(2), 199-206.
- Carey, M. C., Small, D. M., & Bliss, C. M. (1983). Lipid digestion and absorption. *Annual Review of Physiology*, 45(1), 651-677.
- Chen, B., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2013). Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual review of food science and technology*, 4, 35-56.
- Choi, S. J., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2009). Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. *Food Chemistry*, 116(1), 271-276.
- Costa, A. M. M., Nunes, J. C., Lima, B. N. B., Pedrosa, C., Calado, V., Torres, A. G., & Pierucci, A. P. T. R. (2015). Effective stabilization of CLA by microencapsulation in pea protein. *Food chemistry*, 168, 157-166.
- Dahan, A., & Hoffman, A. (2008). Rationalizing the selection of oral lipid based drug delivery systems by an in vitro dynamic lipolysis model for improved oral bioavailability of poorly water soluble drugs. *Journal of Controlled Release*, 129(1), 1-10.
- Dalgleish, D. G. (1997). Adsorption of protein and the stability of emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 8(1), 1-6.
- Degueldre, C., & Laaksoharju, M. (2014). Ground water colloid properties from the Bangombé system. *Applied Geochemistry*, 45, 130-143.
- Dickinson, E. (1992). *An Introduction to Food Colloids*. 207 Seiten, zahlr. Abb. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.
- Dickinson, E., & McClements, D. J. (1996). *Advances in food colloids*. Springer Science & Business Media.

Dickinson, E. (2011). Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6(1), 1-11.

Grasso, S., Brunton, N. P., Lyng, J. G., Lalor, F., & Monahan, F. J. (2014a). Healthy processed meat products—Regulatory, reformulation and consumer challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 39(1), 4-17.

Guo, Q., Ye, A., Lad, M., Dalgleish, D., & Singh, H. (2014a). Behaviour of whey protein emulsion gel during oral and gastric digestion: effect of droplet size. *Soft matter*, 10(23), 4173-4183.

Guo, Q., Ye, A., Lad, M., Dalgleish, D., & Singh, H. (2014b). Effect of gel structure on the gastric digestion of whey protein emulsion gels. *Soft matter*, 10(8), 1214-1223.

Hepler, P. y B. S. Gunning. (1998). Confocal fluorescence microscopy of plant cells. *Protoplasma*. 201(3-4): 121-157

Hur, S. J., Lee, S. Y., & Lee, S. J. (2015). Effect of biopolymer encapsulation on the digestibility of lipid and cholesterol oxidation products in beef during in vitro human digestion. *Food chemistry*, 166, 254-260.

Hur, M., Li, Y., Decker, E. A., Xiao, H., & McClements, D. J. (2009). Influence of tripolyphosphate cross-linking on the physical stability and lipase digestibility of chitosan-coated lipid droplets. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(2), 1283-1289.

Hur, S. J., Lim, B. O., Park, G. B., & Joo, S. T. (2009). Effects of various fiber additions on lipid digestion during in vitro digestion of beef patties. *Journal of food science*, 74(9), C653-C657.

Hur, S. J., Kim, Y. C., Choi, I., & Lee, S. K. (2013). The effects of biopolymer encapsulation on total lipids and cholesterol in egg yolk during in vitro human digestion. *International journal of molecular sciences*, 14(8), 16333-16347.

Hur, S. J., Kim, D. H., Chun, S. C., Lee, S. K., & Keum, Y. S. (2013). Effects of biopolymer encapsulation on trans fatty acid digestibility in an in vitro human digestion system. *Food & function*, 4(12), 1827-1834.

Hur, S. J., Lee, S. Y., & Lee, S. J. (2014). Effects of biopolymers encapsulations on the lipid digestibility of emulsion-type sausages using a simulated human gastrointestinal digestion model. *Food and bioprocess technology*, 7(8), 2198-2206.

Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 567-578.

Jimenez-Colmenero, F., Salcedo-Sandoval, L., Bou, R., Cofrades, S., Herrero, A. M., & Ruiz-Capillas, C. (2015). Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products. *Trends in Food Science & Technology*.

Kajitani, S., Fukuoka, M., & Sakai, N. (2011). Kinetics of thermal denaturation of protein in cured pork meat. *Jpn J Food Eng*, 12(1), 19-26.

Li, Y., & McClements, D. J. (2011). Controlling lipid digestion by encapsulation of protein-stabilized lipid droplets within alginate–chitosan complex oocervates. *Food Hydrocolloids*, 25(5), 1025-1033.

Kim, H. W., Lee, Y. J., & Kim, Y. H. B. (2015). Efficacy of pectin and insoluble fiber extracted from soy hulls as a functional non-meat ingredient. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1071-1077.

Lairon, D. (1997). Soluble fibers and dietary lipids, in dietary fiber in health and disease. *Dietary Fiber in Health and Disease*, 427, 99–108.

Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., & Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 17(4), 455-462.

Li, Y., Zhao, Q., & Huang, Q. (2014). Understanding complex coacervation in serum albumin and pectin mixtures using a combination of the Boltzmann equation and Monte Carlo simulation. *Carbohydrate polymers*, 101, 544-553.

Mao, Y., & McClements, D. J. (2012). Influence of electrostatic heteroaggregation of lipid droplets on their stability and digestibility under simulated gastrointestinal conditions. *Food & function*, 3(10), 1025-1034.

Lowe, M. E. (2002). The triglyceride lipases of the pancreas. *Journal of lipid research*, 43(12), 2007-2016.

McClements, D. J. *Food emulsions: Principles, practice and techniques*. 1999.

McClements, D. J. (2004). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.

McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), R109-R124.

McClements, D. J. (2008). Lipid-based emulsions and emulsifiers. *Food Lipid Chemistry, Nutrition and Biotechnology*.

McClements, D. J. (2009). Biopolymers in food emulsions. *Modernbiopolymer science*, 129-166.

McClements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., & Weiss, J. (2009). Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 49(6), 577-606.

McClements, D. J. (2010). Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. *Annual review of food science and technology*, 1, 241-269.

McClements, D. J., & Li, Y. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in colloid and interface science*, 159(2), 213-228.

McClements, D. J., & Li, Y. (2010). Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & function*, 1(1), 32-59.

McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(4), 285-330.

McClements, D. J., & Xiao, H. (2012). Potential biological fate of ingested nanoemulsions: influence of particle characteristics. *Food & function*, 3(3), 202-220.

McLellan, M. R., Lind, L. R., & Kime, R. W. (1995). Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant Hunter L, a, b data. *Journal of Food Quality*, 18(3), 235-240.

Mehta, N., Ahlawat, S. S., Sharma, D. P., & Dabur, R. S. (2013). Novel trends in development of dietary fiber rich meat products—a critical review. *Journal of food science and technology*, 52(2), 633-647.

Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., & Astiasaran, I. (2004). New formulations for healthier dry fermented sausages: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 452-457.

Mun, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2007). Influence of emulsifier type on in vitro digestibility of lipid droplets by pancreatic lipase. *Food Research International*, 40(6), 770-781.

NMX-F-065-1984. Alimentos. Salchichas. Especificaciones.

Ngouémazong, E. D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Loey, A., & Hendrickx, M. (2015). The Emulsifying and Emulsion-Stabilizing Properties of Pectin: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 705-718.

Ordóñez, M., Rovira, J., & Jaime, I. (2001). The relationship between the composition and texture of conventional and low-fat frankfurters. *International journal of food science & technology*, 36(7), 749-758.

Pappa, I. C., Bloukas, J. G., & Arvanitoyannis, I. S. (2000). Optimization of salt, olive oil and pectin level for low-fat frankfurters produced by replacing pork backfat with olive oil. *Meat Science*, 56(1), 81-88.

Park, P. W., & Goins, R. E. (1994). In situ preparation of fatty acid methyl esters for analysis of fatty acid composition in foods. *Journal of Food Science*, 59(6), 1262-1266.

Parra Huertas, R. A. (2010). FOOD MICROENCAPSULATION: A REVIEW. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 63(2), 5669-5684.

Pérez, W. A. P., Molina, D. A. R., & Valencia, J. U. S. (2011). Revisión: uso de ingredientes no cárnicos como reemplazantes de grasa en derivados cárnicos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 64(2), 6257-6264.

Ramos, N. A. G., Farias, M. E., Almada, C., & Crivaro, N. (2004). Estabilidad de salchichas con hidrocoloides y emulsificantes. *Información tecnológica*, 15(4), 91-94.

Schmidt, U. S., Koch, L., Rentschler, C., Kurz, T., Endreß, H. U., & Schuchmann, H. P. (2014). Effect of Molecular Weight Reduction, Acetylation and Esterification on the Emulsification Properties of Citrus Pectin. *Food Biophysics*, 10(2), 217-227.

Schrooyen, P. M. M., Van der Meer, R., & De Kruif, C. G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. In *PROCEEDINGS-NUTRITION SOCIETY OF LONDON* (Vol. 60, No. 4, pp. 475-479).

Singh, H., Ye, A., & Horne, D. (2009). Structuring food emulsions in the gastrointestinal tract to modify lipid digestion. *Progress in Lipid Research*, 48(2), 92-100.

- Sorapukdee, S., Kongtasorn, C., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2013). Influences of muscle composition and structure of pork from different breeds on stability and textural properties of cooked meat emulsion. *Food chemistry*, 138(2), 1892-1901.
- Stortz, T. A., Zetzi, A. K., Barbut, S., Cattaruzza, A., & Marangoni, A. G. (2012). Edible oleogels in food products to help maximize health benefits and improve nutritional profiles. *Lipid Technology*, 24(7), 151.
- Terrel, R. (1980). What's going on inside that casing. *Meat Industry*, 51, 56-57.
- Tokle, T. Lesmes, U., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2012). Impact of dietary fiber coatings on behavior of protein-stabilized lipid droplets under simulated gastrointestinal conditions. *Food & function*, 3(1), 58-66.
- Versantvoort, C. H., Oomen, A. G., Van de Kamp, E., Rompelberg, C. J., & Sips, A. J. (2005). Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*, 43(1), 31-40.
- Vladisavljević, G. T., & McClements, D. J. (2010). Modification of interfacial characteristics of monodisperse droplets produced using membrane emulsification by surfactant displacement and/or polyelectrolyte electrostatic deposition. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 364(1), 123-131.
- Wallecan, J., McCrae, C., Debon, S. J. J., Dong, J., & Mazoyer, J. (2015). Emulsifying and stabilizing properties of functionalized orange pulp fibers. *Food Hydrocolloids*, 47, 115-123.
- Wang, B., Adhikari, B., & Barrow, C. J. (2014). Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin–sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food chemistry*, 158, 358-365.

Yu, X., Chen, C., Cai, K., Zhou, C., Mao, D., & Sun, G. (2012). Combined effects of blood plasma powder, agar, and microbial transglutaminase on physicochemical and textural properties of pork muscle gels. *Food Science and Biotechnology*, 21(4), 941-950.