

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Ingredientes funcionales (polifenoles y fibra) en harina de cáscara de granada (*Punica granatum* L.) y su utilización en un batido cárnico.

TESIS

Para obtener el grado de
Maestro en Biotecnología

PRESENTA

I. A. Jorge Luis Garrido Cruz

Directora:

Dra. María de Lourdes Pérez Chabela

Asesores:

Dr. Jorge Soriano Santos

Dra. María Eva Rodríguez Huevo

Fecha: Noviembre del 2020

“La Maestría en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluida en el Padrón Nacional de Posgrado del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el No. de Registro 0471-O”

AGRADECIMIENTOS

De manera especial a la Dra. María de Lourdes Pérez Chabela por haberme apoyado para la realización de este trabajo y por la oportunidad de trabajar en este gran grupo científico. Agradezco sobre todo el tiempo, sus conocimientos y consejos brindados, es una excelente profesora y gran persona, siempre mostrando disposición para ayudar.

Al Dr. Jorge Soriano Santos por haber aceptado formar parte del comité como asesor, por permitirme desarrollar parte experimental del trabajo en su laboratorio y todos los consejos y correcciones a lo largo del trabajo, siempre fueron de gran ayuda.

A la Dra. Eva Rodríguez Huevo de igual manera por formar parte del comité como asesora, es una persona agradable, por ayudarme en parte importante del trabajo como fue la encapsulación y todos los consejos brindados.

A la Dra. Gloria Trejo Aguilar por aceptar ayudarme con la revisión de la tesis, además de permitirme trabajar en su laboratorio una parte experimental del trabajo, sus observaciones y consejos fueron de gran ayuda.

A la Dra. Edith Ponce Alquicira por ayudarme con la revisión de tesis, sus observaciones y consejos fueron de gran ayuda para analizar los resultados de diferentes perspectivas, siempre se aprende mucho trabajando con usted.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada en apoyo a la realización de este trabajo de tesis.

DEDICATORIA

A toda mi familia en general que siempre me han apoyado desde niño, gracias a todos ustedes nunca me sentí solo a pesar de la distancia desde que decidí emprender este viaje en mi vida. Pero de manera especial a mis padres Jorge Luis y Caritina que son los que siempre me apoyan en las decisiones que tomo, son mi inspiración para ser un gran profesionalista, pero sobre todo una mejor persona.

A mis hermanos Eduardo y Antonio que a pesar de ser más jóvenes son una inspiración para mí y me motivan a ser mejor y superarme cada día.

A Michel que me has acompañado y compartes la pasión por siempre aprender, con tu apoyo y cariño me ha ayudado a superar momentos difíciles, juntos todo es mejor.

No sería posible lo que he conseguido hasta ahora sin ustedes, este logro se lo dedico a ustedes que siempre se sientan orgullosos de mí, que yo siempre doy lo mejor de mi para ser la mejor persona.

RESUMEN

Los coproductos agroindustriales pueden ser utilizados como fuente de ingredientes funcionales para el desarrollo de alimentos funcionales. La producción de granada en México se estima en 5,000 toneladas, y hay diversos estudios que muestran que la cáscara es fuente de compuestos como fibra y polifenoles. El objetivo de este trabajo fue estudiar la harina de cáscara de granada como fuente de ingredientes funcionales (fibra y polifenoles) para la utilización en un producto cárnico. Este trabajo se dividió en 2 etapas: en la primera, se caracterizó a la harina de cáscara de granada, en su contenido de polifenoles, actividad antioxidante, fibra y actividad prebiótica. En la segunda parte se adicionó la harina de cáscara de granada encapsulada por secado por aspersion, esto debido al pH ácido de la harina que hace que se rompa la emulsión. Se realizaron tres formulaciones: la formulación 1 correspondió al control, que no contenía la harina de cáscara de granada y tenía 15% de grasa dorsal. El tratamiento 1 tenía 10% de grasa dorsal y el tratamiento 2 contenía 20% de grasa dorsal. A los 2 tratamientos se les adicionó 5% de las cápsulas de la harina de granada. Las salchichas se cocieron hasta alcanzar una temperatura interna de 72°C se empaquetaron al vacío y se almacenaron a 4°C. A los días 1, 6, 12 y 18 se les realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos: pH, Aw, Rendimiento de la cocción, humedad liberada, humedad exprimible, grasa liberada durante la cocción, color, textura y rancidez oxidativa, al día 1 se realizó una evaluación sensorial con un panel no entrenado y utilizando una escala semiestructurada. Los resultados mostraron que la harina de cáscara de granada contiene una gran cantidad de polifenoles totales extraíbles (177.8 ± 1.8 mg eq de ácido gálico/ g de muestra) taninos condensados (134 ± 2.2 mg eq de catequina/ g de muestra). Proantocianidinas no extraíbles (106.8 ± 3.5 mg / g de muestra). Los resultados de la actividad antioxidante mediante la inhibición del radical DPPH con un extracto metanólico fue de $85.9\% \pm 0.8$ y para el extracto acetónico fue de $44.7\% \pm 1.7$. El contenido de Fibra total fue de $33\% \pm 2.5$, correspondiendo 5.8% para la fibra soluble 27.2% para la fibra insoluble. La actividad prebiótica de la harina de cáscara de granada utilizando a *L. rhamnosus* GG vs. *E. coli* fue de 0.42. La segunda parte consistió en la adición de la harina de cáscara de granada en un producto cárnico emulsionado. La harina tuvo que ser encapsulada (mediante secado por aspersion) ya que posee un pH bajo, que hace que se rompa la emulsión. Los resultados mostraron que no se

encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para la Humedad Exprimible, Actividad de agua, Color, Análisis del perfil de textura y Rancidez oxidativa (TBA). Sin embargo, si se encontraron diferencias significativas para la Humedad liberada, en donde el mejor tratamiento fue el 2 que contenía la mayor cantidad de lardo, en la Grasa liberada durante la cocción el mejor tratamiento fue el 1. Con respecto al pH, el mejor tratamiento fue el tratamiento 1 presentando un valor de 5.77, mientras que en el tratamiento 2 fue de 5.56 muy cercano al punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares. Con respecto al análisis sensorial se encontró que los jueces no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. De manera general se encontró que las cápsulas de harina de cáscara no tienen efecto significativo sobre las propiedades fisicoquímicas del producto cárnico. Se puede concluir que, la harina de cáscara de granada es una fuente importante de compuestos como fibra y polifenoles que pueden aportar características prebióticas y antioxidantes a un producto funcional siempre y cuando vaya encapsulada, sin modificar sus características fisicoquímicas.

ABSTRACT

Agro-industrial co-products can be used as a source of functional ingredients for the development of functional foods. The production of pomegranate in Mexico is estimated at 5,000 ton, and there are various studies that show that the peel is a source of compounds such as fiber and polyphenols. The objective of this work was to study pomegranate peel flour as a source of functional ingredients (fiber and polyphenols) for use in a meat product. This work was divided into 2 stages: in the first, the pomegranate peel flour was characterized in its polyphenol content, antioxidant content, fiber and prebiotic activity. In the second part, the encapsulated pomegranate peel flour was added by spray drying, this due to the acid pH of the flour that causes the emulsion to break down. Three formulations were made: formulation 1 corresponded to the control, which did not contain pomegranate peel flour and had 15% back fat. Treatment 1 had 10% back fat and treatment 2 contained 20% back fat. To the 2 treatments, 5% of the pomegranate flour capsules were added. The sausages were cooked to an internal temperature of 72°C, vacuum packed and stores at 4°C. On days 1, 6, 12, and 18, the following physicochemical analyzes were performed: pH, Aw, cooking performance, moisture released, fat released during cooking, color, texture and oxidative rancidity, on day 1 it was performed a sensory evaluation with an untrained panel and using a semi-structured scale. The results showed that pomegranate peel flour contains a large amount of total extractable polyphenols (177.8 mg eq of gallic acid/g of sample) condensed tannins (134 mg eq of catechin/g of sample). Non-extractable proanthocyanidins (106.8 mg/g sample). The results of the antioxidant activity by inhibiting the radical DPPH with a methanolic extract was 85.9% and for the acetonetic extract it was 44.7. The total fiber content was 33% corresponding to 5.8% for soluble fiber and 27.2% for insoluble fiber. The prebiotic activity of pomegranate peel flour using *L. rhamnosus* GG vs. *E. coli* was 0.42. The second part consisted of adding pomegranate peel flour to an emulsified meat product. The flour had to be encapsulated (by spray drying) since it has a low pH, which causes the emulsion to break down. The results showed that no significant differences were founded between the treatments for squeezable moisture, water activity, color, texture profile analysis and oxidative rancidity (TBA). However, if significant differences were found for the moisture released, where the best treatment was the 2 that contained the highest amount of back fat, in the fat released during cooking the best treatment was 1. With respect to pH, the best was

treatment 1 presenting a value of 5.77, while in treatment 2 it was 5.56 very close to the isoelectric point of myofibrillar proteins. Regarding the sensory analyses, it was founded that the judges did not find significant differences between the treatments. In general, it was found that the shell flour capsules have not significant effects on the physicochemical properties of the meat product. It can be concluded that pomegranate peel flour is an important source of compounds such as fiber and polyphenols that can provide prebiotic and antioxidant characteristics to a functional product as long as it is encapsulated, without modifying its physicochemical characteristics.

INDICE

1. Introducción	15
2. Antecedentes	17
2.1. Ingredientes funcionales	17
2.1.1. Polifenoles	17
2.1.1.1. Polifenoles extraíbles	19
2.1.1.1.1. Definición	19
2.1.1.1.2. Clasificación	19
2.1.1.2. Taninos condensados e hidrolizables	21
2.1.1.3. Polifenoles no extraíbles	22
2.1.1.3.1. Definición	22
2.1.1.3.2. Clasificación	23
2.1.1.3.3. Metabolismo y efectos a la salud de los compuestos fenólicos no extraíbles.	24
2.1.2. Fibra	25
2.1.2.1. Definición	25
2.1.2.2. Clasificación	26
2.1.2.2.1. Fibra soluble	26
2.1.2.2.2. Fibra insoluble	27
2.1.2.3. Fibra como prebióticos	27
2.1.3. Prebióticos	28
2.1.3.1. Definición	28
2.1.3.2. Clasificación	29
2.1.3.2.1. Celulosa	30
2.1.3.2.2. Pectina	30
2.1.3.2.3. Los fructanos	30
2.1.3.2.4. Galactooligosacáridos	31
2.1.3.3. Actividad Prebiótica	31

2.2. Coproductos agroindustriales	31
2.2.1. Definición	32
2.2.2. Cáscara de granada	33
2.2.2.1. Producción en México	33
2.3. Ingredientes funcionales de la granada	33
2.4. Aplicación de coproductos agroindustriales en productos cárnicos	34
2.5. Encapsulación de ingredientes funcionales	38
2.5.1. Secado por aspersion	39
2.5.2. Gelificación iónica	39
3. Justificación	40
4. Objetivos	41
4.1. Objetivo general	41
4.2. Objetivos específicos	41
5. Hipótesis	41
6. Metodología	42
6.1. Primera parte	45
6.1.1. Material de trabajo	45
6.1.2. Determinación de polifenoles	45
6.1.2.1. Método de Folin Ciocalteu	45
6.1.2.2. Método de vainillina	46
6.1.2.3. Método de Porter	47
6.1.2.4. Determinación de actividad antioxidante (DPPH)	47
6.1.3. Cuantificación de fibra	48
6.1.4. Actividad prebiótica	48
6.1.4.1. Determinación de azúcares totales	48
6.1.4.2. Análisis de la actividad prebiótica	49
6.1.4.3. Fermentación	50
6.2. Segunda parte	51

6.2.1. Microencapsulación por secado por aspersión	51
6.2.2. Elaboración del producto cárnico funcional	51
6.2.3. Parámetros fisicoquímicos	52
6.2.3.1. Rendimiento de la cocción	52
6.2.3.2. Humedad liberada	52
6.2.3.3. Humedad exprimible	53
6.2.3.4. Grasa liberada durante la cocción	53
6.2.3.5. Actividad de agua Aw	53
6.2.3.6. Determinación de pH	53
6.2.3.7. Color	53
6.2.3.8. Análisis del perfil de textura	54
6.2.3.9. Rancidez Oxidativa (TBA)	55
6.2.4. Análisis Sensorial	55
6.3. Análisis estadístico	55
7. Resultados	56
7.1. Primera parte	56
7.1.1. Método de Folin Ciocalteu	56
7.1.2. Método de vainillina	57
7.1.3. Método de Porter	58
7.1.4. Actividad antioxidante (DPPH)	60
7.1.5. Determinación de fibra	61
7.1.6. Determinación de azúcares totales	63
7.1.7. Actividad prebiótica	63
7.2. Segunda parte	66
7.2.1. Parámetros fisicoquímicos	66
7.2.1.1. Rendimiento de la cocción	66
7.2.1.2. Humedad liberada	66
7.2.1.3. Humedad exprimible	66

7.2.1.4.	Grasa liberada durante la cocción	66
7.2.1.5.	Actividad de agua	68
7.2.1.6.	Determinación del pH	68
7.2.1.7.	Rancidez Oxidativa (TBA)	69
7.2.1.8.	Color	70
7.2.1.9.	Análisis del perfil de textura	72
7.2.2.	Análisis Sensorial	73
8.	Conclusiones	76
9.	Bibliografía	77
10.	Anexos	90
10.1.	Anexo 1.- Optimización del método de la vainillina para taninos hidrolizables.	90
10.2.	Anexo 2.- Optimización del Método de Porter.	93
10.3.	Anexo 3.- Evaluación Sensorial	99

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1.- Clasificación de polifenoles extraíbles	19
Tabla 2.- Clasificación de polifenoles no extraíbles	23
Tabla 3: Formulación para un producto cárnico cocido	51
Tabla 4: Polifenoles totales extraíbles de la harina de cáscara de granada.	56
Tabla 5: Taninos condensados de la harina de cáscara de granada.	57
Tabla 6: proantocianidinas no extraíbles de la harina de cáscara de granada.	59
Tabla 7: Actividad antioxidante de la harina de cáscara de granada.	60
Tabla 8: Fibra dietética total, fibra soluble y fibra insoluble de la harina de cáscara de granada	61
Tabla 9: Azúcares solubles totales de la harina de cáscara de granada	63
Tabla 10.- Actividad prebiótica de la harina de cáscara de granada utilizando 2 microorganismos patógenos: <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i>	64
Tabla 11.- Parámetros de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.	67
Tabla 12.- Aw y pH de salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.	69
Tabla 13.- Rancidez oxidativa de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.	70
Tabla 14.- Color de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada	71
Tabla 15.- Textura de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.	73
Tabla 18.- Resultados de la prueba ANOVA del análisis sensorial.	74
Tabla 19.- Diferentes grupos según el atributo evaluado en el análisis sensorial.	75
Figura 1: Clasificación de los compuestos prebióticos según su origen.	29
Figura 2: Primera parte. Identificación de ingredientes funcionales	43
Figura 3: Segunda parte. Microencapsulado y adición en un producto cárnico cocido.	44
Figura 4: Estructura a partir de la reacción de fructosa con fenol en medio ácido.	49
Figura 5: Componentes del sistema Hunter lab	54

Introducción

La creciente demanda de cultivos para consumo humano, alimentos para animales y biocombustibles, llevó a explorar los coproductos agroindustriales como una nueva fuente de ingredientes funcionales como: fibra dietética, oligosacáridos y antioxidantes. Aproximadamente 70% del peso de la materia prima orgánica, como la cáscara y las semillas, se desperdicia y su eliminación representa un problema ambiental que solo se resuelve parcialmente usándolos como alimento para animales o como fertilizante.

Los coproductos agroindustriales derivados del procesamiento de frutas representan una fuente importante de compuestos bioactivos como fibra, antioxidantes y prebióticos, estos pueden ser utilizados como recursos alternativos económicos en productos cárnicos. El uso de coproductos agroindustriales con alto valor nutricional como nuevos aditivos o suplementos alimentarios ha ganado un interés creciente porque son productos de alto valor y su recuperación tiene un costo económico bajo.

La granada (*Punica granatum*), es una fruta nativa de Irán, pero se cultiva en todas partes del mundo. Es fuente de compuestos fitoquímicos tales como, los flavonoides (antocianinas), taninos condensados (proantocianidinas) y taninos hidrolizables (elagitaninos y galotaninos) además de fibra dietética que podría ser ocupada como prebiótico.

Los compuestos polifenólicos son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Se trata de un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas, poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante. Los compuestos fenólicos presentes en los tejidos de las plantas son una parte esencial de la dieta humana y tienen un interés considerable debido a sus propiedades antioxidantes. Las frutas y verduras son las principales fuentes de compuestos fenólicos en la dieta humana. Las industrias de procesamiento de alimentos y productos agrícolas generan cantidades sustanciales de coproductos ricos en fenólicos, que podrían ser valiosas fuentes naturales de antioxidantes.

Los alimentos funcionales son aquellos que incluyen en su formulación ingredientes aislados de alimentos que nos proporcionan beneficios fisiológicos no nutricionales y que pueden mejorar el estado de salud y del bienestar o bien que reduce el riesgo de una enfermedad. Actualmente tienen gran relevancia su investigación y aplicación en alimentos que son consumidos cada vez en mayor medida, por ejemplo los alimentos pueden contener ingredientes funcionales como Probióticos (microorganismos vivos), Prebióticos (carbohidratos; oligómeros y/o polímeros), Fibra (carbohidratos; oligómeros y/o polímeros), Productos con ω -3 (lípidos), Alimentos con minerales, Alimentos con péptidos antihipertensivos (proteínas/péptidos), Alimentos con antioxidantes (fitoquímicos), etc.

2. Antecedentes

2.1. Ingredientes funcionales

Son los ingredientes aislados de alimentos que proporcionan beneficios fisiológicos no nutricionales y que pueden mejorar el estado de salud y del bienestar o bien que reducen el riesgo de una enfermedad. Actualmente tienen gran relevancia en la investigación y aplicación en alimentos. Entre los ingredientes funcionales más utilizados tenemos a los probióticos (microorganismos vivos), prebióticos (carbohidratos; oligómeros y/o polímeros), fibra (carbohidratos; oligómeros y/o polímeros), productos con ω -3 (lípidos), minerales, péptidos antihipertensivos (proteínas/péptidos), polifenoles, así como antioxidantes (fitoquímicos), etc. (Hilliam, 2003).

2.1.1 Polifenoles

Las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, son compuestos de bajo peso molecular y se denominan metabolitos secundarios. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies (Fiehn y col., 2000).

Se agrupan en cuatro clases principales (Taiz y Zeiger, 2006):

- Terpenos. Entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales.
- Compuestos fenólicos. Cumarinas, flavonoides, lignina y taninos.
- Glicósidos. Saponinas, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos.
- Alcaloides.

La variedad estructural dentro de un mismo grupo de metabolitos secundarios está dada por modificaciones químicas a una estructura básica, originadas por reacciones químicas, tales como la hidroxilación, metilación, epoxidación, malonilación, esterificación y la glucosilación (Wink, 1999).

Los compuestos polifenólicos son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Se trata de un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas donde desempeñan diversas funciones de protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores. Poseen estructuras con anillos aromáticos y dobles enlaces conjugados a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante (Arranz, 2010).

Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables, que son ésteres de ácido gálico de glucosa y otros azúcares; y fenilpropanoides, como la lignina, flavonoides y taninos condensados (Wink, 1999).

Los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas (Fiehn y col., 2000). En el ser humano, parte de la actividad biológica de los polifenoles se debe a su capacidad de formar parte del sistema antioxidante celular

Los compuestos polifenólicos presentes en alimentos se extraen generalmente con disolventes acuoso-orgánicos. La extracción dependerá de la naturaleza química y del grado de polimerización de los propios compuestos, del método de extracción (polaridad de los solventes), del tamaño de partícula de la muestra y de las sustancias que pueden ejercer un efecto de interferencia. Independientemente del tipo de disolventes que se utilicen, la extracción siempre es incompleta y una cantidad de compuestos polifenólicos puede quedar en los residuos de la extracción. Por ello, de acuerdo con lo anteriormente expuesto, los compuestos polifenólicos se pueden dividir en polifenoles extraíbles (PE), aquellos que se solubilizan en los disolventes acuoso-orgánicos y polifenoles no extraíbles (PNE), los que quedan retenidos en el residuo resultante tras la extracción acuoso-orgánica (Saura-Calixto y col., 1991).

Además de los disolventes, también el tiempo de extracción es determinante a la h. de obtener un mayor rendimiento. Se han reportado tiempos de extracción desde 1 min. hasta 24 h teniendo en cuenta que largos periodos de extracción pueden producir oxidaciones, que se minimizan añadiendo agentes reductores (Price y col., 1978).

2.1.1.1 Polifenoles Extraíbles

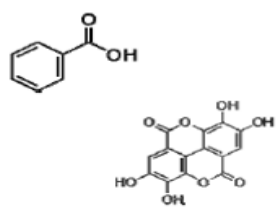
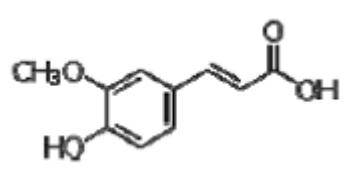
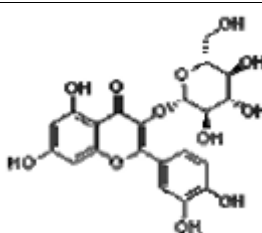
2.1.1.1.1 Definición

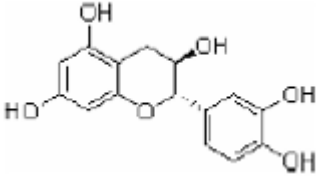
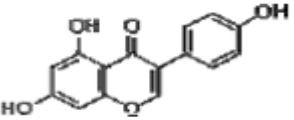
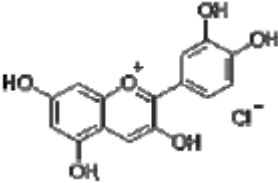
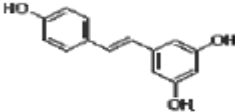
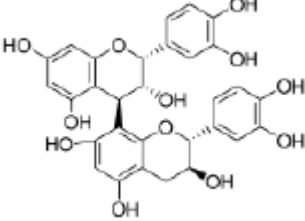
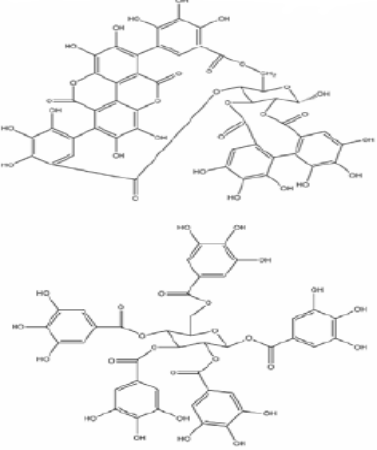
Los polifenoles extraíbles (PE), son aquellos que se solubilizan en los disolventes acuosos-orgánicos. Los compuestos extraíbles poseen pesos moleculares bajos o medios (de monómeros a decámeros) (Saura-Calixto y col.,1991).

2.1.1.1.2 Clasificación

Según su estructura química los compuestos extraíbles, pueden dividirse en estructuras simples como son los ácidos fenólicos que a su vez pueden encontrarse libres o esterificados, en flavonoides y en otras estructuras mucho más complejas que a su vez se subdividen en proantocianidinas de bajo peso molecular (oligómeros de catequina y epicatequina con grado de polimerización entre 2 y 10) y taninos hidrolizables (Arranz, 2010). En la tabla 1 se muestra una clasificación propuesta para la clasificación de los polifenoles extraíbles.

Tabla 1.- Clasificación de polifenoles extraíbles (Arranz, 2010).

Polifenoles Extraíbles (PE)		Estructura
Ácidos Benzoicos	Ácido p-hidroxibenzoico Ácido gálico Ácido protocatéquico Ácido vanílico Ácido siringico Ácido elágico	
Ácidos Hidroxicinámicos	Ácido clorogénico Ácido cefeico Ácido ferúlico Ácido sináptico	
Flavonoles	Rutina Quercetina Miricetina Glicosidos de quercetina	

Flavanoles	Catequina Epicatequina Galocatequina	
Isoflavonas	Daicina Genistina Daiceína Genesteína	
Antocianidinas	Malvidina Cianidina Delfinidina Glucósidos antocianidinas	de 
Estilvenos	Resveratrol	
Proantocianidinas Extraíbles	Dímeros A, B Oligómeros (GP 3-10) Polímeros	
Taninos Hidrolizados	Oligómeros de ácidos benzoicos y ácidos Hidroxicinámicos	

2.1.1.2 Taninos condensados e hidrolizables.

Los taninos son compuestos polifenólicos, más o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides (Cacace & Mazza, 2002).

Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas y se caracterizan por ser compuestos fenólicos, no nitrogenados y no cristalizables. Estos compuestos poliméricos se unen a proteínas desnaturalizándolas.

Sus propiedades principales están relacionadas con:

- La capacidad de formar complejos con las proteínas, que le confieren una característica gustativa interesante asociada al término globalmente conocido como astringencia.
- Su poder antirradicalario y su capacidad de consumir oxígeno disuelto, atribuyéndole su propiedad antioxidante, muy utilizada en la industria.

Gracias a los grupos hidroxilo de sus núcleos fenólicos, pueden formar quelatos con cationes metálicos, pudiendo eliminar parcialmente, bajo esta forma, cantidades representativas de hierro y cobre disueltos. Existen dos categorías de estos taninos: taninos condensados y taninos hidrolizables (Cacace & Mazza, 2002).

Los taninos condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados por un ácido fuerte para obtener su estructura base, la cual puede ser antocianidinas o proantocianidinas. Sus múltiples grupos hidroxilos fenólicos provocan la formación de complejos con las proteínas, con iones metálicos y con otras macromoléculas como polisacáridos (Prior y Gu, 2005).

Los taninos hidrolizables son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico o ácido elágico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente (Avalos-García & Pérez-Urria, 2009).

- Galotaninos: Estos son compuestos complejos que consisten básicamente en un núcleo de glucosa o azúcar en otro núcleo, esterificados con ácido gálico y sus derivados, lo que lo hace soluble en agua. Los galotaninos han demostrado tener actividad antioxidante y antibacteriana (Cacace & Mazza, 2002).
- Elagitaninos: se componen de un núcleo poliol (glucosa o el ácido quínico) y ésteres del ácido hexahidroxidifénico espontáneamente se reordena para formar la unidad de ácido elágico (Hartzfeld y col., 2002).

2.1.1.3 Polifenoles no extraíbles

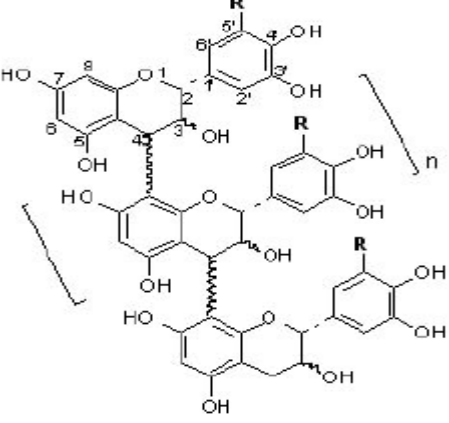
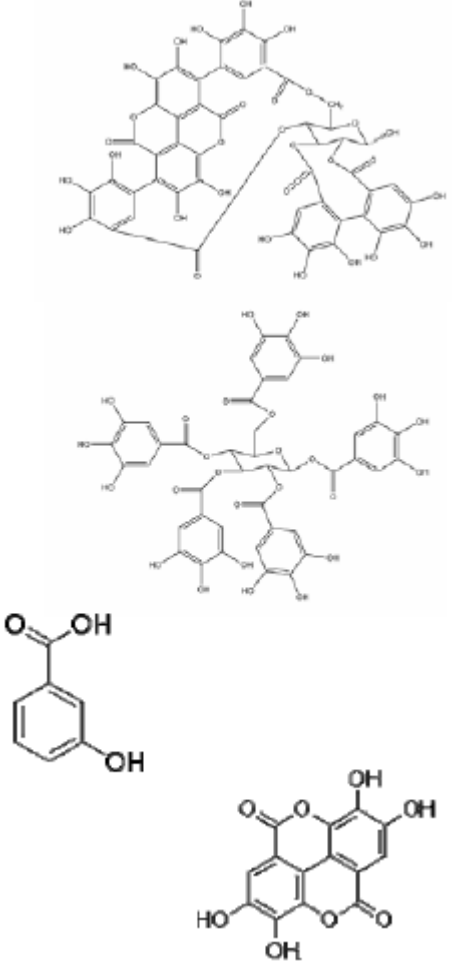
2.1.1.3.1 Definición

Los polifenoles no extraíbles son compuestos con un peso molecular elevado (5000 unidades o mayores) o polifenoles de bajo peso molecular unidos a los componentes de la matriz de la fibra dietética o a proteínas que se encuentran en los residuos de dicha extracción acuoso-orgánica (Bravo y col., 1994; Saura-Calixto y col., 1991) o también pueden quedar atrapados en la matriz vegetal inaccesibles a los disolventes.

2.1.1.3.2 Clasificación

Los polifenoles no extraíbles incluyen taninos hidrolizables que a su vez pueden dividirse en galotaninos si la unidad monomérica es el ácido gálico y en elagitaninos si es el ácido elágico o su dímero de condensación, el ácido hexahidroxidifénico (HHDF), polifenoles hidrolizables (ácidos benzoicos y ácidos cinámicos que se unen a estructuras más complejas mediante enlaces glicosídicos) y proantocianidinas de alto peso molecular o también llamados taninos condensados (Arranz, 2010). En la tabla 2 se muestra una clasificación propuesta para la clasificación de los polifenoles no extraíbles.

Tabla 2.- Clasificación de polifenoles no extraíbles (Arranz, 2010).

Polifenoles Extraíbles (PE)		Estructura
<p>Proantocianidinas no extraíbles o taninos condensados</p>	<p>Polímeros de catequina y epicatequina</p>	
<p>Polifenoles Hidrolizables</p>	<p>Galotaninos Elagitaninos Ácidos Benzoicos Ácidos Hidroxicinámicos</p>	

2.1.1.3.3 Metabolismo y efectos a la salud de los compuestos fenólicos no extraíbles.

Actualmente emerge la necesidad de conocer las estructuras de dichos compuestos no extraíbles para correlacionar las cantidades tan importantes presentes en algunas plantas con los posibles efectos biológicos que algunos autores ya han reportado como una actividad antiinflamatoria, la reducción del estrés oxidativo, el efecto antiproliferativo, el efecto de vasodilatador, entre otros (Serrano y col., 2009). Para ello es necesario conocer el metabolismo que los compuestos polifenólicos pueden sufrir en el organismo y donde pueden ejercer sus efectos.

Los polifenoles no extraíbles forman un grupo de compuestos importantes desde el punto de vista nutritivo por dos razones: a) algunos de ellos pueden ser hidrolizados por enzimas del intestino delgado donde se vuelven bioaccesibles y potencialmente biodisponibles; b) la fracción que llega al colon puede liberarse de la matriz alimentaria por la acción de la microbiota colónica y transformado en compuestos polifenólicos pequeños y metabolitos que subsecuentemente son absorbidos. Puesto que los metabolitos microbianos se están reconociendo que tienen un papel relevante por sus efectos a la salud (como actividad antiinflamatoria, reducción del estrés oxidativo, efecto antiproliferativo, efecto de vasodilatador (Serrano y col., 2009) la importancia de la contribución de esta fracción de polifenoles no extraíbles que generalmente no se considera en el análisis químico de los alimentos, cada vez toma mayor importancia.

Finalmente, la biodisponibilidad de los polifenoles no extraíbles se ha demostrado directamente determinando el contenido de polifenoles en plasma u orina o indirectamente evaluando la capacidad antioxidante en plasma (Saura-Calixto y col., 2007).

2.1.2 Fibra

La fibra es el componente no digerible de los alimentos de origen vegetal (como cereales, frutas, verduras y leguminosas) que contribuye a la buena salud. Las enzimas del sistema digestivo no rompen este importante componente de los alimentos; lo que significa que viaja casi intacta a través de todo el sistema digestivo, incluyendo el colon. El hecho de que la fibra no sea digerida por el cuerpo es una de las razones por las que es tan benéfica para la salud (International Food Information Council, 2008).

2.2.2.1 Definición

El término fibra dietética fue adoptado por primera vez por Hipsley en 1953 para describir los componentes de las paredes celulares de los vegetales en los alimentos. El significado fisiológico de la fibra se obtuvo en 1974 cuando Burkitt y col. recomendaron un mayor consumo de fibra dietética para mejorar la función intestinal, basado en estudios comparativos entre África y el Reino Unido. Muchas definiciones se han propuesto a nivel nacional e internacional.

Desde un punto de vista biológico la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos. Una definición más reciente, añade a la definición previa de fibra dietética el concepto nuevo de fibra funcional o añadida que incluye otros hidratos de carbono absorbibles como el almidón resistente, la inulina, diversos oligosacáridos y disacáridos como la lactulosa. Hablaríamos entonces de fibra total como la suma de fibra dietética más fibra funcional (Dietary Reference Intakes, 2001).

De acuerdo con la “Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2005”, la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y la absorción en el intestino delgado humano y que sufren una fermentación total o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias asociadas a las plantas. Se les divide en solubles e insolubles.

Epidemiológicamente su consumo insuficiente se ha asociado con la aparición de enfermedades crónicas. Se encuentra en leguminosas, cereales integrales, verduras y frutas. La fibra está constituida por tres componentes, cada uno de los cuales tiene un efecto diferente en el organismo:

- Polisacáridos. Constituyen la mayor proporción de la fibra. Este componente incluye salvado, pectinas de frutas y verduras, beta-glucanos de avena y centeno, y gomas tales como goma arábica y goma guar.
- Lignina. Es la parte dura y fibrosa de las paredes celulares de las plantas, y el segundo mayor componente de la fibra. Las ligninas incluyen los tallos y las cáscaras.
- Almidones resistentes y oligosacáridos no digeribles. Constituyen la parte de la fibra que resiste la digestión en el tracto digestivo superior, pero alimentan y estimulan el crecimiento de bacterias benéficas en el tracto digestivo inferior. Éstos se encuentran en las leguminosas, algunas frutas y verduras, semillas y granos. Los almidones resistentes, los oligosacáridos no digeribles, la polidextrosa, la fibra soluble de maíz y otros son añadidos algunas veces a los alimentos como ingredientes aislados (García, 2004).

En fechas recientes, una gran cantidad de estudios científicos sobre el papel de la fibra en la dieta han promovido innovaciones en el desarrollo de alimentos y de nuevos ingredientes mejorados con fibra, para ser incluidos en alimentos industrializados.

2.1.2.2 Clasificación

Tradicionalmente, la fibra ha sido clasificada en dos categorías: soluble e insoluble.

2.1.2.2.1 Fibra soluble

Como su nombre lo indica, la fibra soluble se puede disolver en agua. De hecho, puede absorber agua y, al hacerlo, forma una especie de gel. Comprenden aquellas fibras en las que la celulosa es un componente esencial y la lignina se combina de forma variable. Se incluyen también algunas hemicelulosas. En la dieta humana existen fuentes importantes de este tipo de fibra, como los cereales integrales, el centeno y los productos derivados del arroz. Estas fibras son escasamente degradadas por la acción de las bacterias colónicas, por lo que se excretan prácticamente íntegras por las heces (Trantwein y col., 1999).

Por este motivo y por su capacidad para retener agua, aumentan la motilidad gastrointestinal y el peso seco de las heces. El consumo de fibra soluble incrementa la sensación de saciedad, puede ayudar a disminuir los niveles de colesterol LDL en la sangre (de lipoproteínas de baja densidad, conocido también como el “colesterol malo”) y a mantener estables los niveles de glucosa sanguínea, al reducir el aumento en los niveles de glucosa en la sangre que ocurre después de comer. Algunos ejemplos de fibras solubles son: psyllium, salvado de avena, manzanas, peras, leguminosas, cebada, etc. (García, 2004).

2.1.2.2.2 Fibra insoluble

Como su nombre lo indica, no se disuelve en agua. Incluyen gomas, mucílagos, sustancias pécticas y algunas hemicelulosas, son de naturaleza viscosa y se encuentran fundamentalmente en frutas, legumbres y cereales. La fibra insoluble capta poco el agua, es poco fermentable por la microbiota intestinal y sus mezclas tienen baja viscosidad. Disminuye la viscosidad del bolo alimenticio y el tiempo de tránsito intestinal. Este tipo de fibra es muy útil en la prevención del estreñimiento, por otra parte, también contribuye a disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon. Es el tipo de fibra que predomina en el salvado de trigo, granos enteros, algunas verduras y en general, en todos los cereales (Ha y col., 2000).

2.1.2.2.3. Fibra como prebiótico

Algunos componentes presentes de la fibra son denominados prebióticos, definidos como ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas. Estos compuestos se caracterizan por ser moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal alto, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las Bifidobacterias y Lactobacilos, generando de esta forma una biomasa bacteriana saludable y un pH óptimo (Roberfroid, 2005).

2.1.3 Prebióticos

2.1.3.1. Definición

Un prebiótico se define como “un ingrediente fermentado selectivamente que permite cambios específicos tanto en la composición, como en la actividad de la microbiota del tracto gastrointestinal, otorgando al hospedero bienestar y salud” (Gibson y col., 2004).

Los criterios para la clasificación de un prebiótico son (Gibson, 1999):

- Compuestos con resistencia a la acidez gástrica, la hidrólisis por las enzimas digestivas de mamíferos y la absorción gastrointestinal.
- La fermentación de estos componentes por la microbiota intestinal.
- La estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad(es) de uno o un número limitado de bacterias intestinales benéficamente asociados con la salud y el bienestar.

Los hidratos de carbono no digeribles (oligosacáridos y polisacáridos), algunos péptidos y proteínas, y ciertos lípidos (ésteres y éteres) son considerados como prebióticos. Debido a su estructura química, estos compuestos no son absorbidos en la parte anterior del tracto gastrointestinal o no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas.

Los principales compuestos prebióticos utilizados en alimentos pertenecen al grupo de oligo y polisacáridos, denominados también como oligosacáridos no digeribles, destacando compuestos como la inulina, fructooligosacáridos, glucooligosacáridos y xilooligosacáridos, entre otros. Sin embargo, existen otros compuestos susceptibles a la fermentación por bacterias de los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* clasificadas como fibras dietéticas entre los que se encuentran almidones resistentes y algunos constituyentes vegetales no digeribles como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina (Rastall y Maitin, 2002).

Estos compuestos se podrían llamar «alimentos del colon», puesto que entran en el colon y sirven como sustratos para las bacterias endógenas del mismo, así indirectamente proporcionan al organismo energía, sustratos metabólicos y micronutrientes esenciales (Gibson y Roberfroid, 1995).

2.1.3.2. Clasificación

Su clasificación no se encuentra del todo definida y generalmente se basan en criterios como su origen, grado de polimerización de los compuestos (número de monómeros) o las características químicas que poseen.

Los prebióticos pueden obtenerse por tres vías (Gulewicz y Wardenska., 2003):

- 1.- Mediante la extracción a partir de componentes de una planta.
- 2.- Por síntesis enzimática o microbiológica.
- 3.- Por una hidrólisis enzimática de polisacáridos.

En la figura 1 se muestra una clasificación de los principales compuestos prebióticos, con base en su origen.

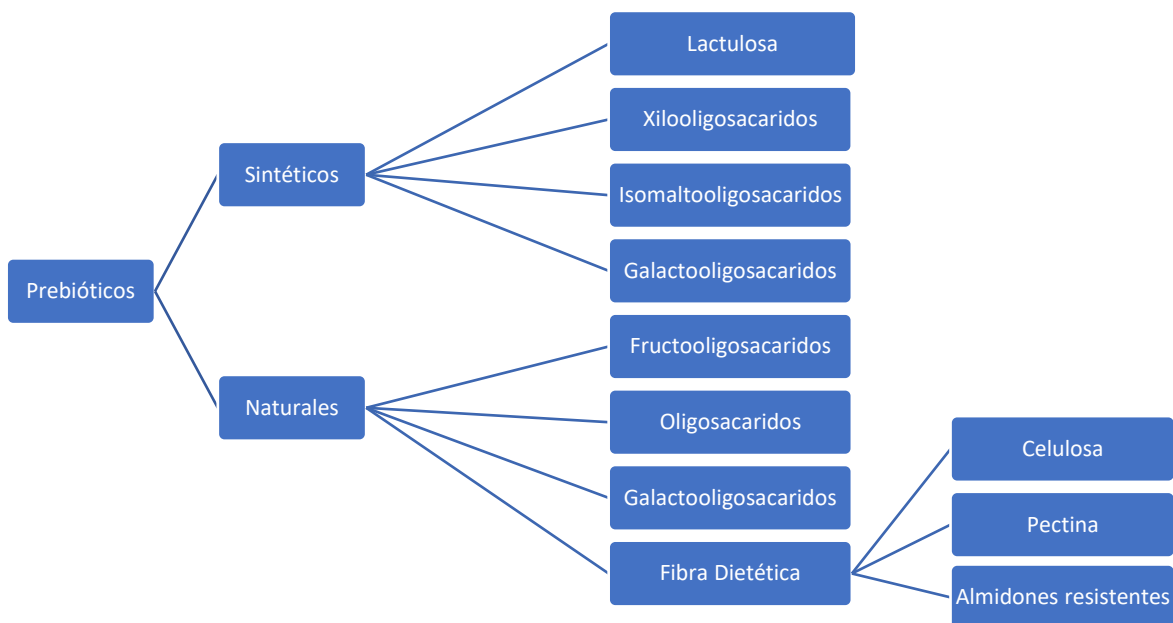


Figura 2: Clasificación de los compuestos prebióticos según su origen.

De los compuestos descritos en la clasificación de los prebióticos los que son de interés para este trabajo, son los naturales, en específico los de Fibra dietética. Se da una descripción de los compuestos que se encuentran en las cáscaras de las frutas y por ende en la harina de cáscara de granada.

Trowell (1976) fue de los pioneros en el estudio del efecto del consumo de fibra dietética sobre la salud, definiéndola como “sustancias de origen vegetal que no pueden ser digeridas por enzimas humanas, incluyendo componentes de la pared celular y polisacáridos intracelulares de plantas”.

2.1.3.2.1 Celulosa

Se trata de un polímero lineal de unidades β -1-4-D-glucopiranosas; la insolubilidad en agua de este polímero, la dificulta de ser digerida por enzimas humanas y provoca el aumento en el volumen de las heces fecales con tiempos más cortos de tránsito en el tracto gastrointestinal; otro efecto es el aumento en la producción de ácidos grasos de cadena corta como producto final (Vilcanqui-Pérez & Vílchez-Perales, 2017).

2.1.3.2.2 Pectina

Es un polisacárido formado por moléculas de ácido D-galacturónico en cadenas lineales unidas por enlaces glicosídicos, en las cuales se encuentra insertadas unidades de L-ramnopiranosas. La pectina, además de ser soluble en agua es estable en valores bajos de pH (2-4.5) debido a su grado de esterificación, permitiendo su paso a través del tracto gastrointestinal sin ser absorbido hasta llegar al colon, donde es metabolizada por la microbiota intestinal (Endress y Mattes, 2003).

Si tomamos en cuenta la clasificación por grado de polimerización, los compuestos prebióticos se pueden dividir en fructanos y galactooligosacáridos.

2.1.3.2.3 Los fructanos

La inulina es un polisacárido de la forma $\text{Glc } \alpha\text{-(1-2)-} [\beta \text{ Fru } 1\text{-2}]_n$, en la que $n > 10$. La estructura base de la inulina, los fructooligosacáridos (una versión de menor peso molecular) han sido los oligosacáridos más documentados por su efecto sobre bifidobacterias intestinales y son considerados importantes sustratos prebióticos. Se producen en grandes cantidades en varios países y se agregan a varios productos como galletas, bebidas, yogures, cereales para desayuno y edulcorantes (Roberfroid, 2008).

El término fructooligosacárido se puede usar para representar dos diferentes tipos, ya sea derivados de inulina por hidrólisis, o por síntesis a partir de sacarosa. Los FOS derivados de la inulina, son de la forma $\text{Glc } \alpha\text{-(1-2)-} [\beta \text{ Fru 1-2}]_n$, en la que $n = 2-9$. Los FOS derivados de sacarosa están en gran parte de compuestos por una mezcla de tres oligosacáridos, es decir: (Glc-Fru_2) , (Glc-Fru_3) y (Glc-Fru_4) (Gibson y col, 2004).

2.1.3.2.4 Galactooligosacáridos

Los Galactooligosacáridos (GOS) son carbohidratos que contienen galactosa que de la forma $\text{Glc } \alpha\text{-(1-4)-} [\text{Gal } \beta \text{ 1-6}]_n$, en la que $n= 2-5$ y se producen a partir de medios de reacción con exceso de lactosa mediante la actividad transgalactosidasa de la enzima β -galactosidasa (Gänzle, 2012).

El término Galactooligosacáridos tiende a ser utilizado genéricamente para cualquier mezcla de oligosacáridos derivados de la actividad por transgalactosilación de las β -galactosidasas.

2.1.3.3 Actividad Prebiótica

Varios estudios han demostrado que la capacidad de los lactobacilos y las bifidobacterias para fermentar carbohidratos prebióticos es específica de la cepa y del sustrato, además, no está claro qué carbohidratos prebióticos son los sustratos más adecuados para el crecimiento selectivo de cepas específicas.

En general, estos métodos proporcionan índices que reflejan la capacidad relativa de un prebiótico dado para producir efectos específicos, y se basan en la medición de poblaciones microbianas, tasas de crecimiento, asimilación de sustrato y / o producción de ácidos grasos de cadena corta. Los índices se usaron luego para clasificar varios carbohidratos por su potencial para estimular el crecimiento de miembros específicos de una microflora mixta (Huebner y col., 2007).

2.2. Coproductos agroindustriales

El procesamiento de frutas da como resultado grandes cantidades de materiales de desecho como cáscaras, semillas, etc. La eliminación de estos materiales representa un problema de contaminación y, normalmente, estos productos se utilizan como alimento o fertilizante para animales (Oreopoulou y Tzia, 2007).

En los últimos años, la valorización de los coproductos agrícolas está recibiendo más atención, los coproductos contienen valiosas sustancias, como pigmentos, azúcares, ácidos orgánicos, sabores y compuestos bioactivos con actividad antioxidante y son buenas fuentes de fibra dietética.

Estos coproductos pueden convertirse en productos comerciales, ya sea como materias primas para procesos secundarios (ingredientes alimentarios intermedios) como suministros operativos, o como ingredientes de nuevos productos.

2.2.1 Definición

Son los residuos secundarios de la agroindustria, materiales vegetales. Es por lo que su adecuada utilización y procesamiento mitigara los daños que causan al medio ambiente y minimizara los costos de producción.

Las materias primas para producir fibra de fruta están disponibles en grandes cantidades y son más o menos un subproducto del procesamiento de frutas para jugo o puré (Larrauri, 1999). Los compuestos fenólicos presentes en los tejidos de las plantas son una parte esencial de la dieta humana y tienen un interés considerable debido a sus propiedades antioxidantes. Las frutas y verduras son las principales fuentes de compuestos fenólicos en la dieta humana.

Las industrias de procesamiento de alimentos y productos agrícolas generan cantidades sustanciales de coproductos ricos en fenólicos, que podrían ser valiosas fuentes naturales de antioxidantes (Balasundram y col., 2006).

Los estudios epidemiológicos han demostrado claramente que las dietas ricas en alimentos vegetales protegen a los humanos contra enfermedades degenerativas como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares (Manach y col., 2005).

2.2.2 Cáscara de granada

La granada se caracteriza por ser un fruto de forma globosa, con un cáliz en forma de corona. La cáscara va de color amarillo rojizo a verde con zonas rojizas e inclusive rojo escarlata; es delgada y correosa, cubre una gran cantidad de granos, ordenadamente distribuidos.

2.2.2.1 Producción en México

En México, hasta 1980, el estado de Puebla fue el estado con mayor producción y consumo (López y col., 2010). Según datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SAGARPA, 2016) en México en el año 2016 se sembraron 813 hectáreas y se cosecharon 726 ha de granada, con una producción de aproximadamente 5,210 ton, siendo Oaxaca, Guanajuato e Hidalgo los estados con mayor producción de granada (1,235, 979 y 992 ton, respectivamente).

2.3 Ingredientes funcionales en granada

Estudios han reportado que usando métodos analíticos se ha detectado la presencia de antioxidantes prácticamente en todas las partes del árbol de granada. Los componentes más importantes están en la cáscara y las raíces, que son los flavonoides y taninos. También se encuentran presentes, entre otros, el ácido ursólico, alfa-tocoferol, ácido elágico, quercetina (Lansky y Newman, 2007).

Dentro de diversos estudios referentes a la funcionalidad antioxidante de los compuestos de la granada, está el realizado por Iqbal y col. (2008), quienes obtuvieron extractos metanólicos de la cáscara. Estos extractos purificados fueron adicionados al aceite de girasol. Este aceite se sometió a una comparación de funcionalidad antioxidante, contra un aceite adicionado con BHT (butil- hidroxil-tolueno), antioxidante sintético de uso convencional en la conservación de grasas y aceites. Se compararon los valores de índice de peróxidos, actividad antioxidante de dienos conjugados y trienos conjugados. Los resultados indicaron que el extracto de cáscara de granada es un potente antioxidante de aceite de girasol, comparable al BHT.

Singh y col. (2002) demostraron la eficiencia de la capacidad antioxidante sobre radicales peróxido y en la oxidación de lipoproteínas humanas de baja densidad (LDL). Las pruebas

se realizaron *in vitro* con extractos purificados, resultado de extracciones realizadas con metanol, con agua y con acetato de etilo, a partir de la cáscara y semillas.

La presencia de compuestos fenólicos en el pericarpio está relacionada con sus características antimicrobianas, aspecto que es revelado en el espectro *in vivo*, así como *in vitro* de extractos (Al-Zoreky, 2009). Su capacidad antimicrobiana fue estudiada por Haidari y col. (2009), quienes comprobaron que extractos con alto contenido de polifenoles, obtenidos del pericarpio de granada, inhiben la replicación del virus de la influenza humana A/Hong Kong (H3N2). Los extractos acuosos, especialmente de la cáscara de granada, facilitan la reparación de la epidermis; lo mismo ocurre con los extractos de semillas (Aslam y col., 2006) lo que establece la posibilidad de uso cosmético.

Bialonska y col. (2010) estudiaron la influencia de la cáscara de granada en diferentes microorganismos de la microbiota intestinal humana, encontrando que mejoró el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos, así como la producción de ácidos grasos de cadena corta en medios inoculados con microflora fecal humana.

Viuda Martos y col. (2012) analizaron las propiedades tecnológicas del extracto de cáscara de granada obtenido como co-producto del procesamiento del jugo. Obteniendo como resultado, que la cáscara es rica en compuestos funcionales como la fibra y compuestos fenólicos, con propiedades antioxidantes y que podrían ser de utilidad para su utilización en productos alimentarios, dándole de esta manera un valor agregado.

2.4. Aplicación de coproductos en productos cárnicos

Los coproductos agroindustriales derivados del procesamiento de la fruta son una fuente importante de biocompuestos que pueden utilizarse como ingredientes alimentarios funcionales. Los coproductos agroindustriales como la cáscara de la fruta se pueden utilizar como recursos alternativos y baratos de antioxidante, fibra y prebióticos.

Aleson-Carbonell y col. (2003) utilizaron albedo de limón en salchichas secas curadas como fuente de fibra, ellos evaluaron su efecto sobre el perfil sensorial y composición química,

encontrando que la incorporación de este coproducto además de representar una importante fuente nutricional, disminuyó la concentración de nitritos residuales así como el retraso en la oxidación del producto, sin embargo, la aceptación del mismo se vio influenciada negativamente de forma proporcional a la concentración de albedo incorporada.

Fernández-López y col. (2007) evaluaron el potencial de fibra de naranja como ingrediente funcional durante el secado de salchichas curadas, esto al monitorear el cambio en la composición química (nitritos residuales y peroxidación lipídica) y en parámetros físico-químicos (color y pH), los resultados obtenidos mostraron una disminución en la producción de sustancias reactivas con ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés), lo que indica una disminución en la peroxidación de lípidos, así como en la concentración de nitritos residuales, por otro lado, el comportamiento del pH en las salchichas curadas mostró un aumento durante el proceso de secado, asociado al incremento en la población de BAL durante la fermentación, indicando que la fibra dietética puede ser empleada como fuente de carbono.

Arranz y col. (2009) estudiaron los altos contenidos de polifenoles no extraíbles contenidos en las frutas, encontrando que, en los alimentos de una dieta normal española, el contenido de polifenoles no extraíbles era considerablemente alta comparada con los polifenoles extraíbles.

Gómez-Chávez y col. (2011) evaluaron el efecto prebiótico *in vitro* de la harina de cacao en el crecimiento de *P. pentosaceus* UAM 22 comparándolo con glucosa. Obtuvieron cuentas superiores con la harina de cacao, por lo que se adicionó a un batido cárnico, el cual además fue inoculado con bacterias lácticas. *Pediococcus pentosaceus* presentó buena adaptación al desarrollarse en presencia de la harina de cacao, incrementando su cuenta a lo largo del periodo de almacenamiento, situación que evidencia el potencial prebiótico de la harina de cacao, que además confirió un aumento en la cohesividad del batido cárnico sin modificar la elasticidad, afectando la textura del producto final.

Díaz-Vela y col. (2013) realizaron la evaluación *in vitro* de harina de cascara de tuna (*Opuntia ficus-indica L.*) y harina de cáscara de piña (*Ananas comosus*). El objetivo de este trabajo fue evaluar las harinas de cáscara de tuna y piña como fuente alternativa de carbono durante la fermentación utilizando bacterias con potencial probiótico; encontrando que “El contenido total de fibra de ambas harinas fue superior al 60%, con un contenido total de carbohidratos solubles del 20%, lo que indica una buena fuente de carbono para las bacterias del ácido láctico. Los parámetros cinéticos evaluados indicaron que las harinas de cáscara son una fuente de carbono adecuada y no hubo diferencia en el potencial o actividad prebiótica para las dos harinas. Ellos concluyeron que las harinas de cáscara de tuna y piña se pueden usar como ingredientes funcionales debido a sus propiedades fermentables”.

Trila y col. (2014) estudiaron la harina de tamarindo, la cual contiene 19.30% de fibra dietética total y una fracción de fibra soluble de 4.29%, sugiriendo que la harina de tamarindo presenta un alto contenido de celulosa, el cual puede ser empleado como aditivo por sus características funcionales y tecnológicas, además la concentración de fibra insoluble, puede ejercer algún efecto prebiótico en el tracto gastrointestinal inferior.

Parra Matadamas y col. (2015) estudiaron la cáscara y albedo de toronja, cáscara de piña y cáscara de tuna, como fuente de fibra, compuestos antioxidantes y sustratos potenciales para ser fermentados por las bacterias probióticas termotolerantes. Dichos subproductos agroindustriales mostraron concentraciones mayores al 50% de fibra dietética total. La harina de los cuatro subproductos fue susceptible de ser fermentada por las bacterias *P. pentosaceus* y *A. viridans*.

Pérez Chabela y col. (2015) evaluaron el efecto fisiológico *in vivo* de la harina de bagazo de manzana y harina de cáscara de tuna durante 90 días en ratas Wistar (*Rattus norvegicus*). Obteniendo como resultados que “La dieta que contenía inulina (como control) resultó en un peso corporal promedio más alto, pero la dieta a base de manzana mostró el mismo aumento de peso corporal. Las dietas reducen la glucosa y los triglicéridos en sangre. Las bacterias del ácido láctico y el recuento de bifidobacterias fueron más altos en la dieta de harina de cáscara de tuna, aunque la dieta de bagazo de manzana produjo una mejor producción de

ácidos grasos. Debido a la mayor cantidad de fibra insoluble, la harina de bagazo de manzana y la harina de cáscara de tuna dieron como resultado más carbohidratos no digeribles. La harina de bagazo de manzana mostró efectos fisiológicos similares en comparación con la inulina y se puede usar como una buena fuente prebiótica”.

Hernández Alcántara y col. (2016) realizaron una evaluación de co-productos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos. El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido de fibra, la capacidad antioxidante y la actividad prebiótica de tres harinas obtenidas de co-productos (cáscara de plátano, cáscara de manzana y bagazo de zanahoria). Los resultados mostraron un mayor contenido total de fibra en el bagazo de zanahoria y menor en la cáscara de manzana. Las harinas de co-productos de frutas son una fuente de carbono adecuada que aumentaba la tasa de crecimiento específico con una reducción en el tiempo de duplicación en comparación con la glucosa. La actividad prebiótica fue positiva en los tres coproductos, todas las harinas sobrevivieron a pH 1.0 y mostraron resistencia al ácido gástrico simulado durante aproximadamente 60 min.

Díaz Vela y col. (2017) estudiaron la influencia de la fibra de los coproductos agroindustriales como ingrediente alimentario funcional en la aceptación, neofobia y características sensoriales de las salchichas cocidas; este estudio obtuvo resultados desde el punto de vista sensorial, pues siempre es importante conocer la opinión del consumidor, que es a quien va dirigido el producto, en donde se encontró aceptación hacia los productos que incluían el co-producto.

Serrano y col. (2017) estudiaron la viabilidad de las bacterias ácido lácticas en condiciones ácidas empleando co-productos agroindustriales como prebióticos en la co-encapsulación de la matriz de gel ionotrópico del alginato. El objetivo de este trabajo fue mejorar la viabilidad de las bacterias del ácido láctico termotolerantes y probióticas, empleando co-productos agroindustriales como harina de cáscara de tuna o harina de bagazo de manzana, ellos encontraron que un mayor tamaño de microcápsulas se relacionó con una mejor viabilidad y tiempos más prolongados que resisten las condiciones ácidas.

Un antecedente directo para este trabajo es la tesis de maestría de Maillard (2019) en donde se caracterizó a la harina de cáscara de granada y se realizó un producto cárnico madurado debido a que el pH de la harina de la cáscara de granada es muy ácido y rompe la emulsión, es por esto, que en este trabajo se decidió encapsular la harina para poder utilizarlo en un producto cárnico cocido.

2.5 Encapsulación de ingredientes funcionales

La encapsulación es un proceso aplicado para proteger, mediante un material de recubrimiento o material pared, la estabilidad, biodisponibilidad y conservación de los componentes bioactivos y así mismo la viabilidad en microorganismos (Fritzen-Freire y col., 2012). Para la selección de un adecuado material pared se deberán considerar aspectos como grado alimenticio, costos y propiedades físicoquímicas como la solubilidad, peso molecular, transición vítrea / fusión, cristalinidad, difusividad, formación de películas y propiedades emulsionantes, biodegradabilidad y capacidad para formar una barrera entre el interior de la cápsula y sus alrededores. Se deberán considerar adicionalmente, las propiedades de la matriz alimenticia a la cual se incorporarán los encapsulados (Gharsallaoui y col., 2007). Existen numerosas técnicas como la atomización, coacervación compleja, polimerización interfacial e inclusión molecular, liofilización, emulsificación, liposomas y gelificación iónica, que son empleadas para la encapsulación (Fritzen-Freire y col., 2012).

Los materiales de recubrimiento más empleados en la encapsulación de bioactivos son los lípidos, polisacáridos (almidón y sus derivados amilosa, amilopectina, dextrinas maltodextrinas, celulosa y derivados), exudados y extractos de plantas (goma arábiga, goma tragacanto, goma mezquita, entre otras) carragenatos, alginatos, adicionalmente proteínas como suero lácteo y proteína aislada de soya. En términos generales, los polisacáridos presentan una alta facilidad para formar macropartículas esféricas durante el secado, por lo que son ampliamente usados (Burgain y col., 2011). Entre los métodos de encapsulación más utilizados tenemos al secado por aspersion y a la gelificación iónica.

2.5.1 Secado por aspersión

El secado por aspersión es probablemente el método más económico y eficaz usado en la industria para la deshidratación de materiales líquidos o estabilización de microorganismos para su encapsulación. El proceso implica la inyección del medio a alta velocidad a temperaturas de hasta 200°C, que luego a través de una boquilla conduce a la formación de gránulos (Zamora y col., 2006).

Durante el secado por aspersión, las células bacterianas encuentran estrés por calor, además de los otros factores como la exposición a oxígeno y el estrés osmótico. El efecto del secado por aspersión en la membrana celular también puede conducir a un aumento de la permeabilidad de la célula, lo cual puede resultar en la pérdida de componentes intracelulares en el medio (Meng y col., 2008).

2.5.2 Gelificación ionotrópica

La gelificación ionotrópica es una técnica química para encapsular usando alginato, carragenina, pectina y otras gomas como material de encapsulación. El principio de esta técnica se basa en la relación entre la fase continua y discontinua; así como el uso de un emulsionante, un agente tensoactivo y un agente solidificante. Las capsulas obtenidas tienen un diámetro pequeño, sin embargo, esto dependerá de la variación de la velocidad de agitación y la relación agua:aceite (Kailasapathy, 2009).

Esta técnica se reportó por primera vez por Calvo y col. (1997) y es una de las técnicas más utilizadas para la preparación de nanopartículas a partir de derivados de quitosano. Este método presenta numerosas ventajas, entre ellas podemos citar: el proceso es relativamente simple y no requiere la adición de disolventes orgánicos o procesos drásticos como la sonicación, evita el uso de altas temperaturas, además se lleva a cabo en un medio acuoso permitiendo así la encapsulación exitosa de moléculas frágiles (Rampino y col., 2013).

3. Justificación

En la actualidad, diversos estudios científicos se han centrado en el uso de los subproductos y coproductos agroindustriales, esto debido a que son una fuente importante de diversos compuestos funcionales como puede ser la fibra, prebióticos y compuestos antioxidantes por mencionar algunos. Debido a sus propiedades benéficas, pueden tener aplicación en diversos productos que se realizan de manera industrial, como ingredientes funcionales y de esta obtener un valor agregado, lo anterior hace que el uso de coproductos sea una opción atractiva para un nuevo campo de investigación y aplicaciones en la industria alimentaria o áreas afines.

El uso de prebióticos en alimentos es actualmente una tendencia debido al beneficio a la salud que estos aportan, la harina de la cáscara de granada podría funcionar como un prebiótico, además de ser una fuente importante de compuestos antioxidantes, de los cuales es importante destacar a los polifenoles no extraíbles los cuales diversos estudios indican que tienen una actividad antioxidante mayor a los polifenoles extraíbles y que también se sabe pueden ser un potenciador del efecto prebiótico.

Los alimentos funcionales contienen componentes activos que con un consumo habitual favorecen la salud de consumidor, es importante considerar que estos componentes son sensibles a factores tecnológicos y ambientales que pueden reducir su viabilidad, estabilidad y su capacidad funcional, pero existen tecnologías como la encapsulación, las cuales permiten mejorar las características antes mencionadas al protegerlos mediante un material de recubrimiento y asegurar sus propiedades funcionales.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Caracterización de los ingredientes funcionales (polifenoles y fibra) presentes en la harina de cáscara de granada y su efecto sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de un batido cárnico.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar la cantidad de polifenoles extraíbles y no extraíbles y la actividad antioxidante de la harina de cáscara de granada.
- Cuantificar la cantidad de fibra dietética total presente en la harina cáscara de granada.
- Evaluar el efecto prebiótico de la harina de cáscara de granada.
- Encapsular la harina de cáscara de granada mediante secado por aspersión para evitar que la emulsión se rompa debido a el pH ácido de la harina.
- Evaluar el efecto del encapsulado de la harina de cáscara de granada, sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de un batido cárnico

6. METODOLOGÍA

6.1.1 Material de trabajo

La harina de la cáscara de granada se obtuvo moliendo las cáscaras de granada obtenidas de la central de abasto de la ciudad de México, mediante la metodología descrita por Maillard (2019).

Este trabajo se dividió en 2 partes, la primera consistió en una caracterización fisicoquímica de la harina de cáscara de granada para conocer los ingredientes funcionales presentes en la harina de cáscara de granada (polifenoles, fibra y actividad prebiótica). En la segunda parte, se realizó una encapsulación de la harina de cáscara de granada para la elaboración de un producto cárnico cocido. Posteriormente, se evaluó su efecto sobre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del producto cárnico. La metodología realizada se muestra en las figuras 2 y 3.

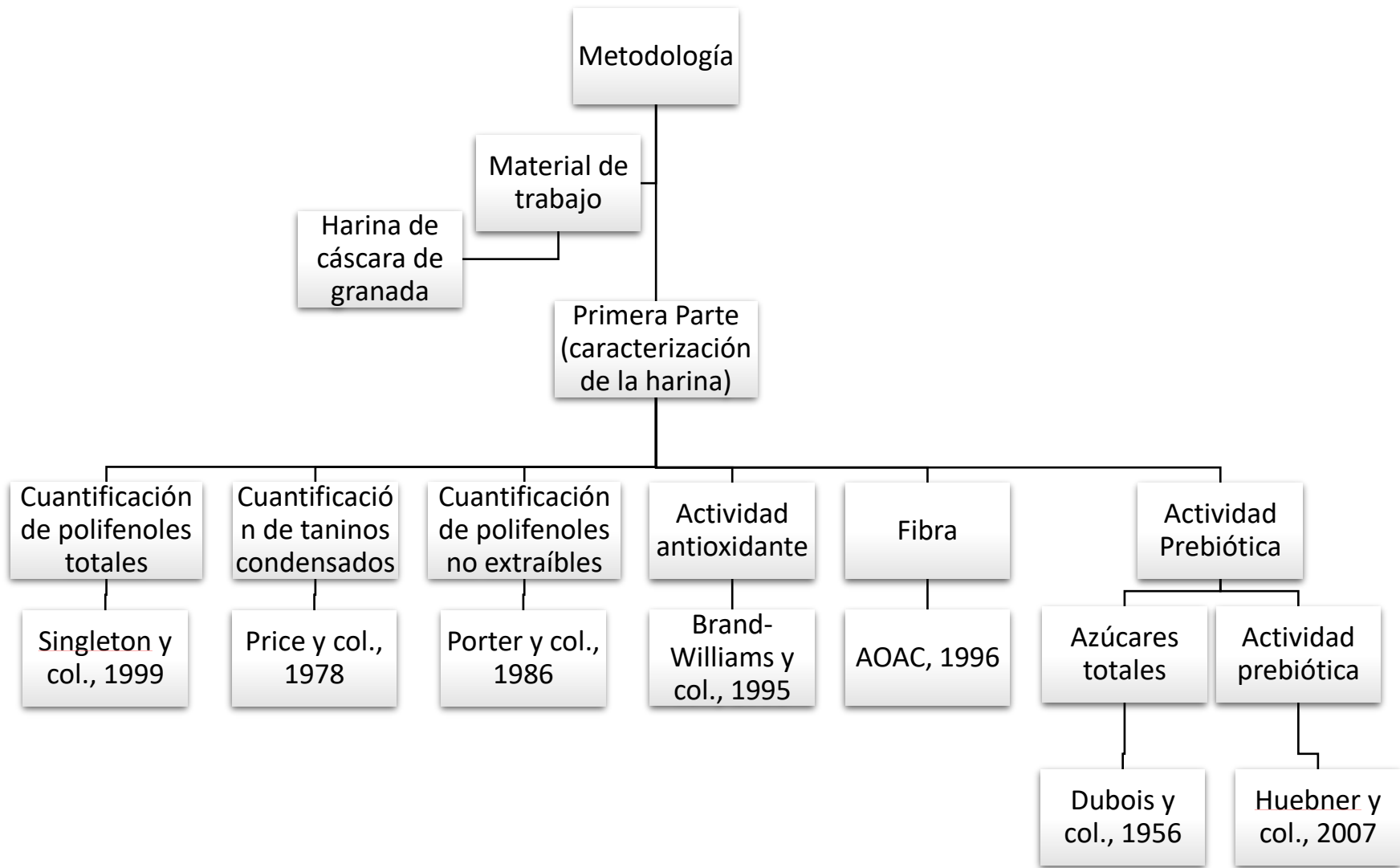


Figura 3: Primera parte. Identificación de ingredientes funcionales

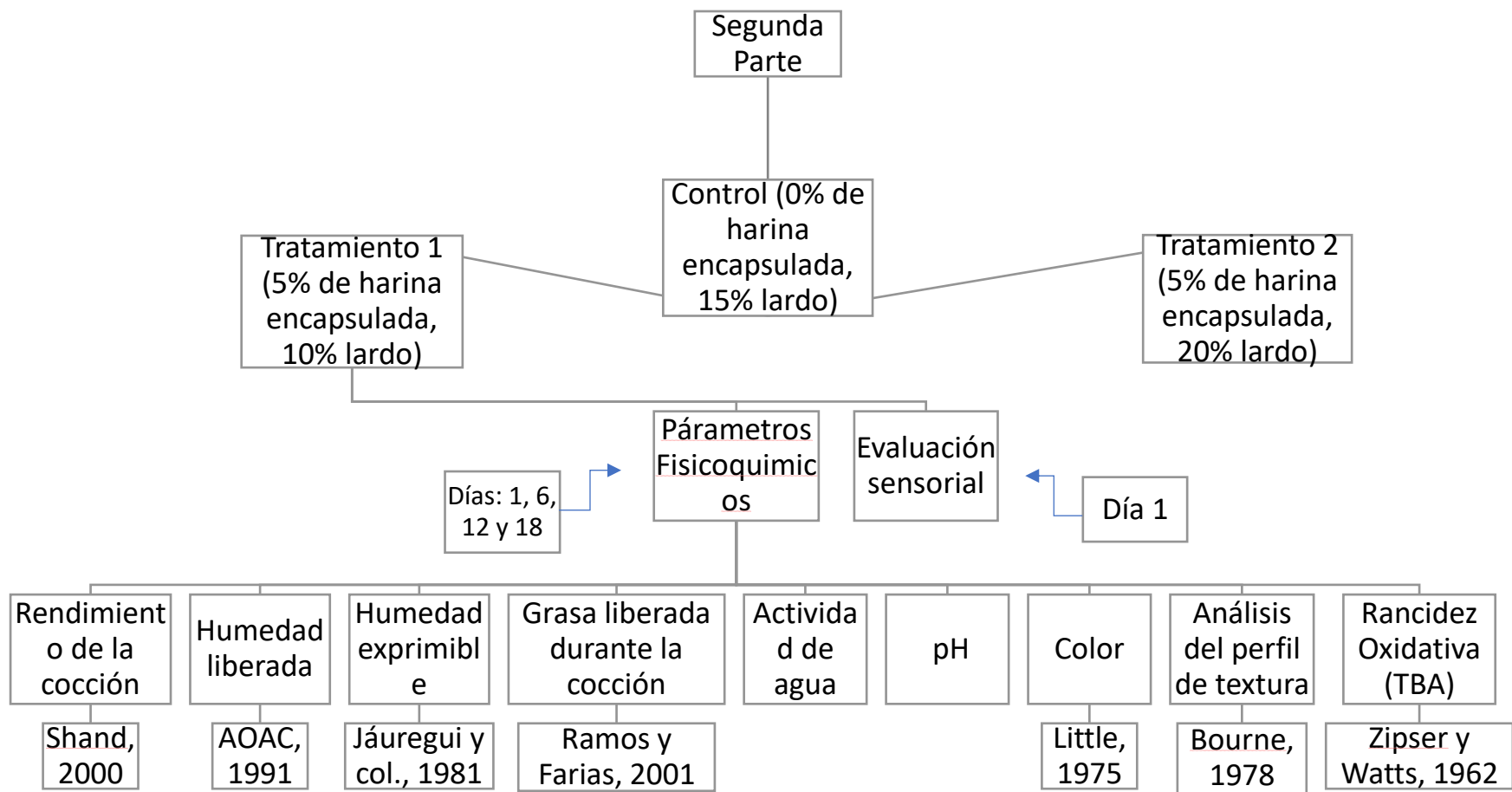


Figura 4: Segunda parte. Microencapsulado y adición en un producto cárnico cocido.

6.1 Primera parte.

6.1.2 Cuantificación de polifenoles (Perfil fenólico)

6.1.2.1 Método de Folin Ciocalteu

La determinación de polifenoles totales de la harina de cáscara de granada se realizó por el método descrito por Singleton y col. (1999) este método mide el contenido total de polifenoles. El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de molibdato de sodio (25 g), tungstato de sodio (100 g), ácido clorhídrico concentrado (100 mL), ácido fosfórico al 85% (50 mL) y agua (700 mL). Esta mezcla bullirá por 10 h. Después de esto se agrega sulfato de sodio (150 g) dando como resultado una solución de color amarillo intenso.

Solución stock de ácido gálico a 1000 ppm

Se pesó 1.005 gramos de ácido gálico y se disolvió en 1 mL de etanol para la disolución completa, después se aforó a 1 litro con agua destilada.

Método de extracción

Se pesó 1 g de la harina y se agregó 10 mL de etanol para la extracción de los polifenoles, se dejó en agitación por 60 min a temperatura ambiente, después se centrifugó por 10 min a 2500 rpm y se recuperó el sobrenadante para hacer la determinación.

Cuantificación de Polifenoles totales

La mezcla de reacción consiste en 500 μ L de muestra con 4.5 mL de agua, se agregó 200 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu y 500 μ L de solución saturada de Na_2CO_3 , se agitaron los tubos y se adiciona por último 4.3 mL de agua destilada. Se leyó la absorbancia a 765 nm después de 1 h de reposo en la oscuridad. El contenido total de polifenoles se calculó en equivalentes de ácido gálico se interpoló con la curva patrón de ácido gálico previamente realizada con la solución stock.

6.1.2.2 Método de Vainillina

Preparación de Reactivos de Trabajo.

Se realizó una optimización del método para las extracciones, utilizando una superficie respuesta que se presenta en el Anexo 1. Se ocupó la metodología descrita por Price y col. (1978). El reactivo de vainillina debe prepararse diariamente a partir de las soluciones descritas. Una parte de la solución de vainillina al 1% (vainillina en etanol) se mezcló con una parte de la solución de HCl al 8% (HCl en etanol). El reactivo de vainillina de trabajo y la solución de HCl al 4% (HCl en etanol) se llevan a 30°C en el baño de agua antes de comenzar el análisis cada día.

Extracción

Se pesó exactamente 200 mg de la muestra, y luego se extrajo con 10 ml de metanol absoluto durante 20 min. en tubos de tapón de rosca. La mezcla se centrifugó durante 10 min. a 2500 rpm y el sobrenadante es el que se utilizó en el análisis.

Análisis de extractos.

1. Se colocaron alícuotas de 1 mL de cada extracto en tubos de cultivo.
2. Los tubos se incubaron en el baño de agua.
3. Se agregó 5.0 mL del reactivo de vainillina en intervalos de 1 min a un conjunto de muestras y se agregó 5.0 mL de solución de HCl al 4% a intervalos de 1 min al segundo conjunto de muestras.
4. Las muestras se dejaron en el baño de agua durante exactamente 20.0 min.
5. Se leyó la absorbancia a 500 nm.

* Debido a que el color continúa desarrollándose a medida que pasa el tiempo, no se puede volver atrás y volver a leer ninguna muestra. Se deben mantener los estrictos intervalos de 1 min para la lectura.

La absorbancia de la pieza bruta se restó de la absorbancia de la muestra correspondiente que contiene vainillina.

6.1.2.3 Método de Porter

Determinación de proantocianidinas no extraíbles (NEPA)

Se realizó una optimización del método para las extracciones, utilizando una superficie respuesta que se presenta en el Anexo 2.

La muestra (0.5 g) se colocó en un tubo de centrifuga tapado; Se agregó 20 ml de metanol ácido/agua (70:30 v/v, pH = 2) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El tubo se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min y el sobrenadante se desechó. Se agregó veinte mililitros de acetona/agua (70:30 v/v) al residuo, y se repitió la agitación y la centrifugación (Saura-Calixto y col., 2007).

Los residuos de estas extracciones se trataron con 10 ml de butanol/HCl (97.5:2.5 v/v) con 0.7 g de FeCl₃ a 100°C durante 60 min. El tubo se centrifugó a 2500 rpm durante 10 min. y se recogió el sobrenadante. Después de dos lavados con 5 ml de butanol, los sobrenadantes se combinaron y la absorbancia se midió a 555 nm (Porter y col., 1986). Se utilizó una curva estándar para el concentrado de taninos de algarroba.

2.1.2.4 Determinación de actividad antioxidante (DPPH)

Se empleó el método de Brand-Williams y col. (1995). El 1,1-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH⁺), es un radical libre estable que presenta una coloración púrpura en medio metanólico, como consecuencia de la donación de un electrón o un protón por un compuesto con poder antioxidante la tonalidad desaparece. Este procedimiento se llevó a cabo, utilizando 10 µL del compuesto estudiado y 990 µL de la solución metanólica de DPPH⁺ (20 mg/L). Como referencia (blanco) se usó la misma cantidad de DPPH y 10 µL del solvente de la muestra (metanol o acetona). Luego de 30 min. de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. Para cada muestra estudiada se calculó el porcentaje de inhibición del radical.

$$\% \text{ de inhibición (DPPH)} = \frac{\text{abs (517 nm) muestra}}{\text{abs (517 nm) blanco}} * 100$$

6.1.3 Cuantificación de fibra

Se utilizó el kit para determinar fibra dietética de Sigma DF-100^a. Se basó en el método oficial de prueba del AOAC, 1996 se colocó 1 g de la muestra en un matraz agregando además 50 mL de buffer de fosfatos (pH 6) y 0.1 mL de α -amilasa, cubriendo el matraz con el papel aluminio y colocándolo en baño María a 95 °C durante 15 min, pasado el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se ajustó el pH a 7.5 agregando un aproximado de 10 mL de NaOH (0.275 N), se agregaron 0.1 mL de una solución de proteasa (50 mg/mL) en buffer de fosfatos, se tapó y se incubó en baño María a 60 °C por 30 min; pasado el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se ajustó el pH a 4- 4.6 agregando aproximadamente 10 mL de HCl (0.325 M), después se adicionó 0.1 mL de aminoglucosidasa, se tapó de nuevo el matraz y se incubó a 60 °C por 30 min. Inmediatamente que la solución se enfriara a temperatura ambiente, se añadieron 4 volúmenes de etanol al 95% dejándolo reposar toda una noche para completar la precipitación. Se filtró y se realizaron tres lavados con 20 mL de etanol a 78% y dos lavados de 20 mL de etanol al 95%, finalmente se lavó con 20 mL de acetona. Después de haberse filtrado toda la solución, las muestras fueron secadas en una estufa a 100 °C hasta lograr un peso constante, cuantificando el porcentaje de fibra por diferencia de peso.

6.1.4 Actividad prebiótica

6.2.4 Determinación de azúcares totales

Es necesario determinar la concentración de azúcares totales en la harina de cáscara de granada para las determinaciones posteriores como el de la actividad prebiótica pues de esto dependerá la formulación del medio de cultivo a utilizar y ser considerado para la fuente de carbono que se adicionará.

Esta determinación consiste en hacer reaccionar el azúcar con fenol utilizando ácido sulfúrico para generar un compuesto colorido.

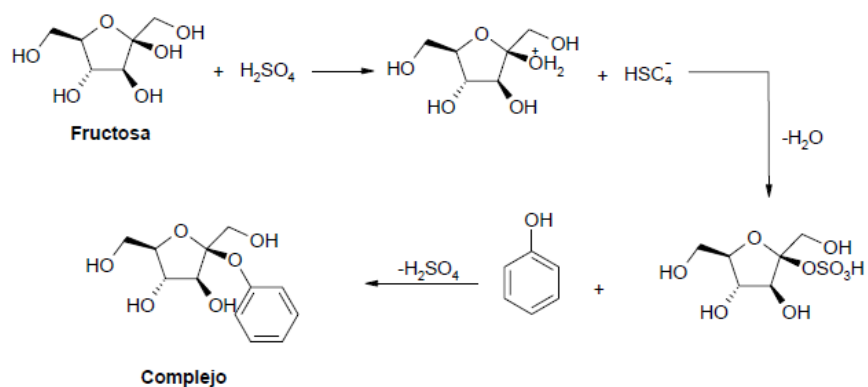


Figura 4: Estructura a partir de la reacción de fructosa con fenol en medio ácido.

Se determinó a través de una curva de calibración de la absorbancia en función de la concentración para la cual se prepararon soluciones de 10-70 mg/L utilizando glucosa como estándar. Como blanco para las lecturas se utilizó agua destilada aplicándole el mismo tratamiento.

El método de Dubois y col. (1956) describe como procedimiento que, a 2 mL de una solución de azúcares, se agregaron 1 mL de una solución de fenol al 5%; posteriormente, se deben agregar 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, realizando el procedimiento rápidamente entre cada una de las adiciones de los reactivos. Se debe asegurar la adición de los reactivos directamente sobre el líquido y no por las paredes del tubo. Los tubos de ensayo se dejaron en reposo durante 10 min, seguido de una agitación durante 30 seg., y su posterior reposo en un baño de agua a temperatura ambiente durante 20 min.

Finalmente, la medición se realizó en el espectrofotómetro utilizando una longitud de onda de 490 nm. Se interpola el valor de la absorbancia de la curva patrón previamente realizada.

Análisis de la actividad prebiótica

La actividad prebiótica de la harina de la cáscara de granada se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Huebner y col. (2007) considerando el crecimiento de bacterias del ácido láctico durante la fermentación, utilizando la harina de cáscara de granada y glucosa como fuente de carbono, de la siguiente manera:

$$\text{Actividad prebiotica} = \text{BAL} \frac{\Delta N \text{ prebiotico}}{\Delta N \text{ glucosa}} - \text{Entérica} \frac{\Delta N \text{ prebiotico}}{\Delta N \text{ glucosa}}$$

Donde $\Delta N = N_t - N_0$ (log de cfu/mL al tiempo final “menos” el log de cfu/mL al tiempo inicial) para este caso se utilizará como bacteria ácido láctica (BAL) a “*Lactobacillus rhamnosus gg*” y como bacteria entérica “*Escherichia coli*”.

6.1.4.3 Fermentación (Crecimiento bacteriano)

Para poder evaluar la actividad prebiótica fue necesario medir el crecimiento bacteriano, el crecimiento de las bacterias se determinó realizando la técnica de cuenta viable en placas de agar TPY, incubando a 37°C durante 24 h. Se realizó cada cuenta por duplicado.

6.2. Segunda parte

En la segunda parte se encapsuló la harina de cáscara de granada mediante secado por aspersión, con estas cápsulas se elaboró un producto cárnico cocido, donde se evaluaron sus características fisicoquímicas y sensoriales a los días 1, 6, 12 y 18. La Evaluación sensorial se realizó al día 1.

6.2.1 Microencapsulación por secado por aspersión

Encapsulación de la harina

Para el secado por aspersión se utilizó una mezcla de la harina de cáscara de granada con goma arábica hidratada (30% w/v) en una proporción 1:2 se llevó a cabo en el secador con una temperatura de entrada de 120°C y una temperatura de salida de 80°C a un flujo de entrada al aspersor de 5.1 mL/min y una presión de 2 bares. Las muestras de polvo se colocan en frascos previamente esterilizados y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su análisis.

6.2.2. Elaboración del producto cárnico cocido

Se realizó la formulación de acuerdo con la siguiente tabla. Ya pesados los ingredientes se siguió la metodología descrita por Guerrero y col. (2002).

Tabla 3: Formulación para un producto cárnico cocido.

Ingredientes	Control (%)	Tratamiento 1 (%)	Tratamiento 2 (%)
Carne de cerdo	50	50	50
Lardo	15	10	20
Harina	5	5	5
Cápsulas	0	5	5
Sal	2	2	2
Fosfatos	0.4	0.4	0.4
Sal cura	0.3	0.3	0.3
Hielo	27.5	27.5	17.5

1. Moler la carne y el lardo empleando un cedazo de 1/8" y 3/8", respectivamente.
2. Colocar en la picadora (cutter) la carne, el lardo, la sal, sal de cura, la mitad de los fosfatos y el hielo. Picar durante un min.
3. Detener la cutter y adicionar la otra mitad del hielo y fosfatos. Moler por otro min.
4. Sacar la pasta de la cutter y embutir en fundas de celulosa.
5. Cocer las salchichas en la paila hasta que alcancen una temperatura interna de 72°C (aproximadamente 15 min.).
6. Enfriar en baño de hielo, desenfundar, empacar al vacío en porciones de 250 g y mantener a 4°C.

Los análisis fisicoquímicos se realizaron a los días 1, 6, 12 y 18, mientras que la evaluación sensorial se realizó al día 1.

6.2.3. Parámetros fisicoquímicos

6.2.3.1 Rendimiento a la cocción

El rendimiento se determinó mediante el método reportado por Shand (2000). Se pesó la muestra cruda embutida en las fundas de celofán, la cual se colocó en un baño de agua hasta alcanzar 72°C en el centro. Se retiró la muestra del baño de agua caliente, se dejó enfriar y se pesó. El rendimiento a la cocción se calculó sobre la diferencia en porcentaje de peso de la muestra antes y después de la cocción.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

6.2.3.2 Humedad liberada

Se determinó utilizando el Método Oficial 9450.46 de la AOAC (1991). Se pesaron 3 gramos de muestra y se colocaron en una caja Petri de vidrio a peso constante, colocándolos en una estufa a 120°C durante 24 h. Transcurrido el tiempo se sacaron las cajas Petri y se colocaron en un desecador por 20 min. para enfriar la muestra, se pesó la caja y la humedad se reporta como porcentaje de peso perdido respecto al peso inicial de la muestra.

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \left(\frac{\text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100 \right)$$

6.2.3.3 Humedad Exprimible

Se determinó por el método descrito por Jáuregui y col. (1981). Dos filtros Whatman de 5.5 cm de diámetro, se doblaron de forma para caber dentro de un tubo de centrifuga. Se colocaron 3 g de muestra entre los filtros y se centrifuga a 2400 g por 15 min. Se pesó la muestra y la humedad exprimible se reporta como % de peso perdido

$$\% \text{ GLC} = \frac{\text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

6.2.3.4 Grasa liberada durante la cocción

La grasa liberada durante la cocción se determinó por el método descrito por Ramos y Farias (2001). Se pesaron los vasos de precipitado antes de someter las muestras al calentamiento. Se retiraron las muestras de los vasos, dejando evaporar el agua hasta que solo quedó la grasa al fondo del vaso, se dejó enfriar y se pesaron los vasos con la grasa liberada. La grasa liberada se cuantificó como el porcentaje en peso de la grasa liberada durante la cocción.

$$\% \text{ de grasa liberada en cocción} = \frac{\text{Peso Final}}{\text{Peso Inicial}} \times 100$$

6.2.3.5 Actividad de agua

Se determinó utilizando un medidor Decagon AquaLab CX-2, a una temperatura de 24 ± 1 °C. Se tomaron de 10 a 15 gramos de muestra y se colocaron en un portamuestra, se ajustó el equipo y se obtuvo la medida después de 5 min. aproximadamente.

6.2.3.6 Determinación del pH

Se determinó utilizando un potenciómetro de carne HI99163 marca HANNA, a una muestra de 30 g se le introducía el electrodo del potenciómetro, hasta que se estabilizaba la lectura, las lecturas se hicieron por triplicado.

6.2.3.7 Color

La evaluación de color se realizó con un colorímetro Hunter Lab (Chroma Meter CR-200,80025393 Tokio, Japón) modelo D25-PC2, por el método descrito por Little (1975) en el sistema Lab. En vasos de precipitado de 50 mL se adicionó la muestra completamente triturada

cubriendo el fondo del vaso sin pasar luz, las muestras se leyeron por cuadruplicado, rotando el portamuestras 90° en cada lectura. El sistema Lab consiste en componentes de luminosidad (L) de rangos de 0 a 100 en donde la luminosidad va del negro al blanco, con los dos componentes cromáticos (a^* y b^*) de -120 a +120: donde el componente a va de verde a rojo y el componente b va de azul a amarillo (Fig. 5).

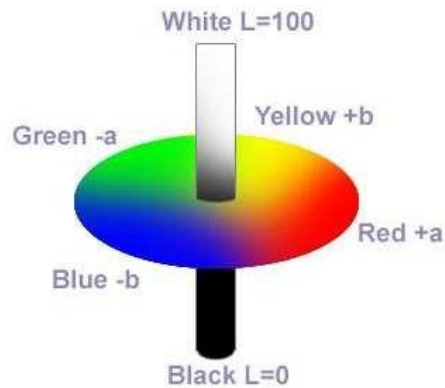


Figura 5: Componentes del sistema Hunter lab

6.2.3.8 Análisis del perfil de textura

Se determinó mediante el método reportado por Bourne (1978). Las muestras se evaluaron en un Analizador de Textura TA-XT2 (Texture Technologies Corporation, Scardale, Nueva York, EUA) acoplado al programa Textura Expert v1.2 (Stable Micro Sistem, Ltd, Surrey, Reino Unido) se equipó con una celda de 5 kg y una sonda de acrílico de 25 mm. Las muestras se cortaron en 20 mm de longitud por triplicado, se colocaron en el eje del centro del texturómetro, comprimiendo la muestra un 50% de su altura original en dos ciclos consecutivos. La velocidad del cabezal será de 5 mm/s y 5 seg. de espera para comenzar el segundo ciclo. El análisis de Perfil de Textura se calculó con el Software de Ensayos MetroTEST, que simula la masticación con la mandíbula y ayuda a medir y cuantificar parámetros como: Dureza, Elasticidad, Cohesividad y Adhesividad, que se relacionan a su vez con variables como la tasa de deformación aplicada y la composición del producto.

6.2.3.9 Rancidez oxidativa (TBA)

Se determinó por el método descrito por Zipser y Watts (1962). Se agregó 10 g de muestra a 49 mL de agua destilada a 50°C y 1 mL de sulfanilamida 0.5% en HCl al 20% (v/v) y se homogenizó. La mezcla se pasó a un matraz Erlenmeyer de 500 mL con 48 mL de agua destilada a 50°C y 2 mL de solución de HCl 1:2 (v/v) y 2 gotas de antiespumante. Se destiló hasta obtener 25 mL de destilado, se tomó por triplicado alícuotas de 5 mL y se colocaron en un tubo de ensaye con tapa. Se agregó 5 mL de solución de TBA (0.02M en ácido acético glacial al 90%) y se colocaron en un baño maría a ebullición 35 min, se enfriaron y midió la absorbancia a 538 nm.

6.2.4. Análisis Sensorial

Al día 1 se les realizó una evaluación sensorial con 30 jueces no entrenados y utilizando una escala semiestructurada. Se utilizó una prueba de aceptabilidad. Para esta prueba se presentó a los panelistas las tres muestras simultáneas, codificadas con números aleatorios. El panelista debía calificar las muestras en una escala hedónica de 5 puntos. Se realizó el análisis estadístico de comparación de varianzas (ANOVA) correspondiente. El formato empleado para la evaluación sensorial se presenta en el Anexo 1.

6.3 Análisis estadístico

Para el estudio de las mediciones de los parámetros de calidad del producto cárnico simbiótico realizado se utiliza el siguiente modelo, que de acuerdo con Montgomery (2006) es: $Y_i = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$

Dónde:

Y_i = el parámetro evaluado al i-ésimo nivel del tipo de producto cárnico.

μ = es la media global del modelo.

α_i = el efecto del tipo de producto cárnico, donde i = con capsulas, sin capsulas.

ϵ_i = es el error experimental.

Cuando se detectaron diferencias significativas en este análisis, las medias se discriminaron con la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p < 0.05$).

7. Resultados

7.1 Primera parte

7.1.1 Polifenoles totales extraíbles (Folin-Ciocalteu)

En la Tabla 4 se muestran los resultados de los polifenoles totales extraíbles.

Tabla 4: Polifenoles totales extraíbles de la harina de cáscara de granada.

	mg eq de ácido gálico/ g de muestra
Polifenoles totales extraíbles	177.8 ± 1.8

Existen diversos trabajos donde se reportan valores de polifenoles totales extraíbles, por ejemplo Ribeiro y col. (2008) estudiaron distintas variedades de mango cultivadas en Brasil, encontrando valores de 82.5 mg eq de ácido gálico/ g de muestra, Kim y col. (2010) reportaron valores de 92.6 mg eq de ácido gálico/ g de muestra en cáscara de mango sin madurar, Avilés y col. (2010) trabajaron con cáscara de “tara (*Caesalpinia spinosa*)” reportando valores de 84 mg eq de ácido gálico/ g de muestra, Villanueva Tiburcio y col. (2010) encontraron valores de 7.7 mg eq de ácido gálico/ g de muestra en cáscara de *Myrciaria dubia* (llamado comúnmente camu-camu, es un arbusto nativo de la Amazonía), Villamizar Jaimes y López Giraldo (2017) trabajando con la cáscara del cacao reportaron 61 mg eq de ácido gálico/ g de muestra y Ordoñez Gómez y col. (2018) reportaron valores de 3.22 y 3.08 para mg eq de ácido gálico/ g de muestra para harinas de cáscara de mandarina y toronja respectivamente.

Por lo cual, comparando estos datos con los resultados obtenidos en este trabajo, se observa que la harina de cáscara de granada es rica en compuestos fenólicos extraíbles y en mayor cantidad que otros coproductos estudiados y por lo tanto ofrece amplias posibilidades de aplicaciones en alimentos como lo son cárnicos funcionales.

En los alimentos, los polifenoles pueden contribuir al amargor, la astringencia, el color, el sabor, el olor y la estabilidad oxidativa. Como se mencionó, los polifenoles son moléculas capaces de atrapar los radicales libres generados por nuestro organismo. Por todo lo expuesto anteriormente, la harina de cáscara de granada al ser rica en estos compuestos aportaría grandes beneficios, como son el efecto antioxidante y la mejora de la microbiota intestinal por el efecto prebiótico tanto de la fibra por si sola como potenciada por acción de los polifenoles.

7.1.2. Taninos condensados (Vainillina)

Se realizó la optimización del método (Anexo 1) para obtener los valores óptimos para llevar a cabo el experimento.

Los valores óptimos de los factores encontrados fueron:

Temperatura de extracción 60°C, temperatura de reacción 60°C y tiempo de reacción 20 min.

En la tabla 5 se muestra la cuantificación de los taninos condensados extraíbles.

Tabla 5: Taninos condensados de la harina de cáscara de granada.

	mg eq de catequina/ g de muestra
Taninos condensados	134 ± 2.2

Es importante mencionar que hay muy pocos trabajos que cuantifiquen los taninos condensados en coproductos agroindustriales, sin embargo, podemos citar los trabajos de Scull y Savón (2003) los cuales trabajaron con forraje de *Vigna unguiculata* reportando valores de 30 mg eq de catequina/ g de muestra, Zapata y col. (2013) trabajaron con guayaba agria y encontraron valores de 92 mg eq de catequina/ g de muestra, Peñaloza y Rojano (2014) analizaron una mezcla de frutas colombianas obteniendo como resultado 850 mg eq de catequina/ g de muestra y Alarcón y col. (2016) donde trabajaron con cáscara de nueces encontrando valores de taninos condensados de 135 mg eq de catequina/ g de muestra, Robles Botero y col. (2020) trabajaron con cáscara de tejocote y reportaron valores de 60.3 mg eq de catequina/ g de muestra.

Observando los resultados obtenidos y comparándolos con los de otros autores, podemos considerar que nuestra harina de cáscara de granada tiene cantidades importantes de estos fitocompuestos. La importancia de esto, es que los taninos son potentes antioxidantes y se le reconoce cierta actividad anticancerígena, antidiabética y antioxidante aunque la mayoría de estos estudios, aún se encuentra en modelos experimentales *in vitro*, por lo cual sería de gran interés elaborar productos funcionales con ingredientes que sean ricos en estos compuestos biofuncionales como la harina de cáscara de granada, pero es importante mencionar una desventaja que presentan estos compuestos y es que son escasamente absorbidos en el intestino y son considerados factores antinutricionales debido a que tienen la habilidad de precipitar

proteínas e inhibir enzimas del intestino (Blasa y col., 2010). Por lo que sería interesante realizar pruebas para conocer cuál sería el efecto real una vez adicionada la harina a un producto cárnico.

Se ha descrito que los compuestos fenólicos como los procianidinas (taninos condensados) tienen propiedades antioxidantes, secuestradoras de radicales libres, antiinflamatorias, vasorelajantes e hipolipídicas, además de poseer propiedades antimicrobianas (Gundogdu y col., 2014). El color principal de los taninos oscila entre el blanco amarillento y el pardo claro y contribuye a la astringencia de los alimentos (Agostini y col., 2004), en parte esto explica el fuerte color café (pardo) de la harina de cáscara de granada y el sabor astringente que también presentaba.

7.1.3 Proantocianidinas no extraíbles (Porter)

Una vez obtenidas las optimizaciones (Anexo 3) de las extracciones tuvimos las siguientes condiciones:

- Extracción metanólica:

relación metanol: agua de 90:10

temperatura de reacción de 60°C

tiempo de reacción: 50 min.

- Extracción acetónica.

relación acetona: agua de 77:23

temperatura de reacción de 60°C

tiempo de reacción: 57 min.

En la tabla 6 se muestran los resultados de las proantocianidinas no extraíbles.

Tabla 6: proantocianidinas no extraíbles de la harina de cáscara de granada.

	mg / g de muestra
proantocianidinas no extraíbles	106.8 ± 3.5

Sáyago y Goñi (2010) reportaron valores de 38.3 mg de proantocianidinas / g de muestra en análisis realizados en flor de Jamaica, por su parte Huamán (2014) reportó valores de 66 mg de proantocianidinas/ g de muestra en harina de semilla de aguacate, Pérez Jiménez y col. (2013) reportaron valores de proantocianidinas no extraíbles para manzana, plátano y arándano de 43 mg, 115 mg y 168 mg de proantocianidinas / g de muestra.

De igual manera, estos compuestos han sido poco analizados en frutas o harina de coproductos, pero en comparación con los trabajos realizados se observa que la harina de cáscara de granada es superior en el contenido de estos compuestos en casi todos los coproductos analizados, por lo que podemos decir, que es una fuente importante de polifenoles no extraíbles, lo cual es alentador para la investigación puesto que los Polifenoles no extraíbles (PNE) incluyendo polifenoles hidrolizables (PH) y proantocianidinas no extraíbles (PANE), representan la mayor parte de polifenoles en la dieta y pueden llegar intactos hasta el tracto gastrointestinal donde la microbiota comenzará la fermentación. Además, los PNE son compuestos bioactivos que contribuyen al aumento del estatus antioxidante en el intestino humano y son degradados por la microflora colónica produciéndose metabolitos biodisponibles (urolitina, ácido fenilacético, ácido fenilpropiónico) (Arranz y col., 2009).

Los polifenoles no extraíbles son compuestos con un peso molecular elevado (5000 unidades o mayores) o polifenoles de bajo peso molecular unidos a los componentes de la matriz de la fibra dietética o a proteínas que se encuentran en los residuos de dicha extracción acuoso-orgánica pero también pueden quedar atrapados en la matriz vegetal inaccesibles a los disolventes (Bravo y col., 1994).

Las enzimas del sistema digestivo no pueden hidrolizar estos compuestos, lo que significa que viajan casi intactos a través de todo el sistema digestivo, incluyendo el colon. El hecho de que la fibra no sea digerida por el cuerpo es una de las razones por las que es tan benéfica para la salud (International Food Information Council, 2008) y se cree que los compuestos fenólicos no extraíbles tienen mayor actividad biofuncional que los compuestos extraíbles.

7.1.4 Actividad antioxidante (DPPH)

La actividad antioxidante es la capacidad de un compuesto para prevenir o retrasar algún proceso de degradación oxidativa reaccionando con radicales libres y especies reactivas de oxígeno o mediante la quelación de metales (Ozsoy y col. 2009).

Para poder conocer el efecto antioxidante de algunos polifenoles se utilizó el método descrito por Brand-Williams y col. (1995), que evalúa la capacidad captadora de radicales libres por parte de los compuestos antioxidantes. De las extracciones realizadas para el método de Porter, se utilizaron los residuos tanto metanólicos como acetónicos siendo la diferencia el tipo de polifenoles presentes, por ejemplo, en los residuos metanólicos se espera que se encuentren la mayoría de los polifenoles extraíbles polares como flavonoides y en los residuos acetónicos esperamos encontrar polifenoles extraíbles, pero poco hidroxilados como los taninos. Después de realizar la extracción y evaluar la actividad antioxidante mediante el porcentaje de inhibición del radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) y se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 7).

Tabla 7: Actividad antioxidante de la harina de cáscara de granada.

	Extracto metanólico	Extracto acetónico
Inhibición del radical (%)	85.9 ± 0.8	44.7 ± 1.7

Villanueva Tiburcio y col. (2010) reportaron valores de aproximadamente 82% de inhibición del radical DPPH trabajando con cáscara de *Myrciaria dubia*. Abou-Elella & Ali (2014) trabajaron con cáscara de nopal originario de Egipto (*Opuntia ficus-indica*), trabajando de igual manera con extracciones metanol: agua y acetona: agua obteniendo como resultado 87% y 36% de inhibición del radical DPPH respectivamente, como podemos observar, la mayor actividad antioxidante tomando como referencia la inhibición del radical DPPH se da en los extractos metanólicos, siendo superior al 80% mientras que en los extractos acetónicos no se supera el 50 %, esto lo podemos explicar debido a que las actividades de eliminación de radicales libres de los extractos dependen de la capacidad de los compuestos antioxidantes para perder hidrógeno y la conformación estructural de estos componentes (Abou-Elella & Ali, 2014).

Entonces considerando que las extracciones metanólicas dan mejores rendimientos comparados con las que ocupan acetona, podemos decir, que nuestra harina de cáscara de granada es rica en polifenoles extraíbles del tipo polar como los flavonoides y que presentan una alta inhibición del radical DPPH, por lo cual se espera que al ser añadido a un producto pueda aportar esta biofuncionalidad.

7.1.5 Determinación de fibra

Hay estudios que sugieren, que gran parte de los compuestos bioactivos como lo es la fibra, se encuentran en las cáscaras de los frutos, por encima de los reportados en la pulpa o la semilla de estos, en parte, esto se debe a la composición química de la pared celular de estos tejidos (Leontowickz y col., 2007). En la Tabla 8 se muestran los resultados de fibra obtenidos.

Tabla 8: Fibra dietética total, fibra soluble y fibra insoluble de la harina de cáscara de granada

Fibra	Total (%)	Soluble (%)	Insoluble (%)
Harina de cáscara de granada	33 ± 2.5	5.8	27.2

¿Y la desviación estándar?

Se puede observar en los resultados que la harina de cáscara de granada posee una gran cantidad de fibra siendo mayor el porcentaje de fibra insoluble que la soluble. Algunos estudios han reportado valores de: 26.1 para el subproducto del arándano (Juliá, 2017); 33.62 para el bagazo de zanahoria, 44.02 en cáscaras de mango (Chávez-Zepeda y col., 2009). Viuda-Martos y col. (2012) reportaron un valor de fibra dietética mayor para la cáscara de granada. (72.6%) algo que se puede atribuir a la variación misma del fruto debido a la variedad, clima, madurez, etc.

Además, es importante conocer la composición de la fibra dietética en la harina de cáscara de granada pues cada una de ellas promueve beneficios específicos al consumidor. La fibra soluble como su nombre lo dice se puede disolver en agua. De hecho, puede absorber agua y, al hacerlo, forma una especie de gel. Estas fibras son escasamente degradadas por la acción de las bacterias colónicas, por lo que se excretan prácticamente íntegras por las heces por este motivo y por su capacidad para retener agua, aumentan la motilidad gastrointestinal y el peso seco de las heces.

El consumo de fibra soluble incrementa la sensación de saciedad, puede ayudar a disminuir los niveles de colesterol LDL en la sangre (de lipoproteínas de baja densidad, conocido también como el “colesterol malo”) (García, 2004).

La otra para de la fibra dietética es la fibra insoluble que como su nombre lo indica, no se disuelve en agua, capta poco el agua, es poco fermentable por la microbiota intestinal, como funciones fisiológicas se sabe que disminuye la viscosidad del bolo alimenticio y el tiempo de tránsito intestinal. Este tipo de fibra es muy útil en la prevención del estreñimiento, por otra parte, también contribuye a disminuir la concentración y el tiempo de contacto de potenciales carcinogénicos con la mucosa del colon (Ha y col., 2000).

Analizando los resultados se puede observar que se encontró mayor cantidad de fibra insoluble en comparación a la soluble. Se ha reportado, que los compuestos que permanecen unidos a la fibra de cáscara de granada corresponden a taninos hidrolizables, como punicalagina, punicalina, pedunculagina, entre otros compuestos fenólicos, como ácido elágico, ácido gálico, rutina y quercetina (Middha y col., 2013).

Los compuestos fenólicos se encuentran unidos a polisacáridos por interacciones hidrofóbicas y enlaces covalentes, haciendo necesaria la hidrólisis para su extracción. Hay compuestos se caracterizan por ser moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal alto, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las Bifidobacterias y Lactobacilos, generando de esta forma una biomasa bacteriana saludable y un pH óptimo (Saura-Calixto y col., 2007; Roberfroid, 2005).

7.1.6 Azúcares solubles totales

Para el diseño de medios de cultivo, es importante tener en cuenta los requerimientos nutricionales de los microorganismos mediante la adición de los nutrientes en la forma y la proporción adecuadas. Las fuentes de carbono más empleadas son los alcoholes y los hidratos de carbono, fundamentalmente mono y disacáridos (Singleton y col., 2002). Los resultados de azúcares totales se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9: Azúcares solubles totales de la harina de cáscara de granada

	%
Azúcares solubles totales	18.00 ± 1.2

Para poder hacer nuestro medio de cultivo utilizando la harina de cáscara de granada, se debía de substituir la glucosa que es la fuente de azúcar, por lo que, para poder substituir 1 g de glucosa, se tuvieron que emplear 5.55 g de harina de cáscara de granada.

Los valores encontrados de azúcares totales son similares a varios estudios: Giraldo y col. (2007) reportaron valores de 15.4% en cáscara de mango (*Mangifera indica L.*), Santamaría Basulto y col. (2009) con papaya maradol, reportaron 8% de azúcares solubles en la cáscara, Díaz Vela y col. (2013) reportaron valores de 18.13% y 17.6% para cáscara de tuna y piña respectivamente y Rodríguez Luna y col (2019) trabajando con cáscara de melón encontraron 8.7%.

7.1.7 Actividad Prebiótica

La medición de la actividad prebiótica nos permite conocer la afinidad y efectividad del sustrato de interés, con diversos microorganismos benéficos como las bacterias lácticas con respecto a bacterias patógenas, estos métodos de análisis proporcionan índices que reflejan la capacidad relativa de un prebiótico dado, para producir efectos específicos, y se basan en la medición de poblaciones microbianas, tasas de crecimiento, asimilación de sustrato y / o producción de ácidos grasos de cadena corta (Huebner y col., 2007).

La actividad prebiótica está estrechamente relacionada con la estimulación selectiva del crecimiento de bacterias beneficiosas para la salud respecto a las patógenas (Gibson &

Roberfroid, 1995). Una actividad prebiótica positiva va a depender de que las fibras lleguen al colon sin ser absorbidas, digeridas en el tracto intestinal superior para poder realizar su fermentación en el colon produciendo ácidos grasos de cadena corta favorables para la salud (Bernal Castro y col., 2019). La Tabla 10 muestra la actividad prebiótica obtenida utilizando la harina de cáscara de granada.

Tabla 10.- Actividad prebiótica de la harina de cáscara de granada utilizando 2 microorganismos patógenos: *E. coli* y *Salmonella*

<i>L. rhamnosus GG</i>	Actividad Prebiótica
vs. <i>E. coli</i>	0.42
vs. <i>Salmonella sp.</i>	-0.13

Cuanto más alto es el valor de la actividad prebiótica mayor es el crecimiento de las bacterias probióticas y menor el de las bacterias patógenas, esto indica un mayor y más selectivo uso de los prebióticos por parte del microorganismo probiótico y un uso limitado por parte del microorganismo patógeno. Sin embargo, un valor negativo, no significa que no tenga actividad prebiótica, sino más bien que como los prebióticos son específicos, tal vez no funcione con ese microorganismo (Huebner, 2007). Nuestros resultados nos indicaron que existe una actividad prebiótica con *E. coli*, sin embargo, no existe actividad prebiótica utilizando *Salmonella spp.*

Díaz-Vela y col. (2013) reportaron valores de 0.33 y 0.32 para la cáscara de tuna y de piña respectivamente utilizando a *Pediococcus pentosaceus* UAM22. Hernández Alcantara y col. (2016) reportaron para la cáscara de manzana valores de 0.42 y 0.43 utilizando *P. pentosaceus* y para el bagazo de zanahoria reportaron valores de 0.38 y 0.40 utilizando *P. pentosaceus* y *L. rhamnosus* respectivamente, sin embargo, no encontraron actividad crecimiento cuando se utilizó cáscara de plátano.

Huebner y col. (2007) utilizando prebióticos comerciales como inulina y raftilosa reportaron valores de 1.17 y 0.99 respectivamente. Esto se puede explicar por la composición de la fibra

encontrada en la harina de cáscara de granada. La inulina es un prebiótico comercial que contiene 98% de fibra soluble, al contrario, nuestra harina solo contiene 5.8% de fibra soluble y 27.2 de fibra insoluble, sin embargo, se ha comprobado (Díaz-Vela y col., 2012 y Parra-Matadamas y col., 2015) que las bacterias lácticas pueden crecer con este tipo de fibras debido a que producen un crecimiento diaúxico que es un tipo crecimiento microbiano bifásico, que tiene lugar cuando hay presentes dos sustratos diferentes que pueden ser utilizados como fuente de carbono. En este tipo de crecimiento microbiano se observa una curva de crecimiento bifásica debido a la utilización secuencial distintas fuentes de carbono. El metabolismo del organismo es selectivo para uno de los sustratos (se usa la fuente de carbono que permite un crecimiento más rápido) y cuando la agota, comienza a metabolizar el otro (Monod, 1947).

7.2 Segunda parte

7.2.1. Parámetros fisicoquímicos

Rendimiento, Humedad Exprimible, Humedad Liberada y Grasa Liberada.

En la Tabla 11 se muestran los resultados de rendimiento, humedad exprimible, humedad y grasa liberada. No existió diferencia significativa entre tratamientos en cuanto a rendimiento, es importante mencionar que todos los valores fueron cercanos al 100%, los datos obtenidos nos indicaron que no hubo pérdida de peso debido a la cocción y esto se podría explicar porque la harina de cáscara de granada presenta buena retención de agua por su alto contenido de fibra aproximadamente 40% (Maillard Berdeja y col., 2019). Becerril Ibarra y col. (2019) utilizaron harina de garbanzo para la elaboración de salchichas, ellos obtuvieron resultados de 97% en promedio de rendimiento, por lo cual se podría decir que la harina encapsulada de cáscara de granada tiene una capacidad de retención de agua igual a la del garbanzo a pesar de que el garbanzo tiene mayor cantidad de almidón.

Tabla 11.- Parámetros de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.

Día	Parámetro	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2
1	Rendimiento (%)	102.00 ^a	101.60 ^a	100.73 ^a
1	Humedad Exprimible (%)	10.02±5.3 ^{a, A}	13.26±3.6 ^{a, A}	9.70±6.2 ^{a, A}
6		12.11±5.1 ^{a, A}	17.63±3.3 ^{a, B}	18.72±6.0 ^{a, B}
12		16.11±5.1 ^{a, B}	22.65±3.1 ^{a, C}	22.17±5.6 ^{a, C}
18		23.10±5.2 ^{a, C}	17.48±3.4 ^{a, B}	25.16±4.0 ^{a, D}
1	Humedad Liberada (%)	8.08±0.54 ^{a-b, A}	10.70±0.22 ^{a, A}	7.10±0.33 ^{b, A}
6		8.05±0.23 ^{a-b, A}	10.75±0.33 ^{a, A}	7.18±0.24 ^{b, A}
12		8.75±0.18 ^{a-b, A}	10.65±0.12 ^{a, A}	7.40±0.12 ^{b, A}
18		8.10±0.36 ^{a-b, A}	11.10±0.18 ^{a, A}	7.48±0.16 ^{b, A}
1	Grasa Liberada (%)	0.07±0.04 ^{a-b, A}	0.07±0.03 ^{b, A}	0.17±1.05 ^{a, A}
6		0.07±0.01 ^{a-b, A}	0.07±0.03 ^{b, A}	0.27±0.03 ^{a, A}
12		0.04±0.03 ^{a-b, A}	0.03±0.04 ^{b, A}	0.78±0.03 ^{a, A}
18		0.04±0.03 ^{a-b, A}	0.08±0.03 ^{b, A}	2.11±0.03 ^{a, A}

Los valores presentados son los promedios ± desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Para la humedad exprimible y liberada ambos experimentos permitieron conocer la cantidad de agua que se pierde debido a la fuerza centrífuga y la cocción respectivamente, en la humedad exprimible no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos y el control, en este caso, al tratarse de una fuerza centrífuga la pérdida de humedad se ve afectada por la capacidad que tenga el producto por atrapar el agua y como se explicó para el parámetro de rendimiento, la harina de cáscara de granada tiene buena retención de agua. Pérez Chabela y col. (2013) y Barragán-Martínez y col. (2020) reportaron valores promedio de humedad exprimible de 22% y 20% respectivamente, cabe mencionar, que ellos utilizaron harina de cáscara de tuna y bacterias probióticas respectivamente, por lo cual se puede decir que salchichas elaboradas solo con harina de coproductos tendrán una mejor retención de agua; con respecto a la humedad

liberada, si se encontraron diferencia entre tratamientos pero no con respecto al control, siendo el tratamiento 2 el que menor cantidad de humedad perdió esto se puede explicar debido a la formulación ya que contenía menor cantidad de agua (hielo) y mayor cantidad de grasa (lardo) por lo cual se espera que sea menor el porcentaje de agua que se pierde, Hernández García y Güemes Vera (2010) realizaron salchichas con harina de cáscara de naranja al 2% encontrando pérdidas de humedad entre un 20 y 40% dependiente de la cantidad de harina agregada, lo cual nos hace pensar, que la harina de cáscara de granada tiene mejor capacidad de retención de agua comparada con las otras harinas de coproductos. Con respecto a la grasa liberada, en la tabla 2 se observa que, si hay diferencia significativa entre los tratamientos, pero no con respecto al control, siendo el tratamiento más efectivo el 1 pues es donde presentó menor porcentaje de pérdidas, esto se puede explicar por la formulación, ya que el tratamiento 2 tenía mayor cantidad de grasa (lardo) por lo cual era de esperarse que fueran mayores las pérdidas por la cocción. Becerril Ibarra y col. (2019) utilizando harina de garbanzo al 20% reportaron valores de pérdida de la cocción del 26% lo que hace suponer, que utilizando harina de cáscara de granada encapsulada se forma una mejor emulsión ya que evita que se pierda tanta grasa en la cocción.

Actividad de agua (Aw) y pH

La tabla 12 nos muestra los valores obtenidos en lo referente a la actividad de agua (Aw) mostrando que no hay diferencia significativa entre los tratamientos y el control, Gutiérrez-Pacheco (2015) utilizando harina de cáscara de granada y jugo reportó valores de 0.95; Hernández García y col. (2018) que utilizaron flor de Jamaica al 5% obtuvieron valores de 0.98, por lo cual se puede ver que los valores son similares para las diferentes harinas de coproductos. La Aw es un parámetro importante para conocer la estabilidad del alimento por el posible desarrollo de organismos. El pH obtenido en los diferentes tratamientos resulta ser significativamente diferente, como se observa en la tabla 12, siendo el valor más alto para el control y el más bajo para el tratamiento 2, esto se debe a la adición de la harina de cáscara de granada, ya que es una harina ácida y a pesar de estar encapsulada, logra bajar el pH del producto, pero sin llegar al punto de romper la emulsión. Existen varios estudios: Ocampo Olalde y col. (2015) quienes realizaron salchichas con harina de cáscara de tuna al 5%; Hernández García y col. (2018) utilizando flor de Jamaica al 5% y Araya Quesada y col. (2014)

que trabajaron con harina de garbanzo al 15%; reportaron valores promedio de 6.0, 4.61 y 6.07 para el pH de la salchicha, en donde se puede ver que el pH de una salchicha es por arriba de 6.0, pero dependiendo de la naturaleza de la harina del coproducto que se utilice, puede bajar este valor y es algo con lo cual tener cuidado, pues se podría llegar a tener problemas con la formación de la emulsión debido al pH muy bajo. La harina de cáscara de granada presenta un pH aproximado de 4.8.

Tabla 12.- Aw y pH de salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.

Día	Parámetro	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2
1	Aw	0.98±0.006 ^{a, A}	0.97±0.007 ^{a, A}	0.96±0.005 ^{a, A}
6		0.98±0.004 ^{a, A}	0.98±0.004 ^{a, A}	0.96±0.004 ^{a, A}
12		0.97±0.003 ^{a, A}	0.97±0.003 ^{a, A}	0.97±0.003 ^{a, A}
18		0.97±0.003 ^{a, A}	0.97±0.004 ^{a, A}	0.96±0.005 ^{a, A}
1	pH	5.94±0.11 ^{a, A}	5.77±0.09 ^{b, A}	5.56±0.12 ^{c, A}
6		6.08±0.05 ^{a, A}	5.80±0.03 ^{b, A}	5.70±0.10 ^{c, B}
12		6.15±0.07 ^{a, A}	5.92±0.05 ^{b, A}	5.76±0.04 ^{c, B}
18		6.20±0.03 ^{a, B}	5.96±0.05 ^{b, A}	5.89±0.06 ^{c, D}

Los valores presentados son los promedios ± desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

7.2.1.7 Rancidez oxidativa (TBA)

En la tabla 13 se observa para el caso de la rancidez oxidativa que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, pero si con respecto al control, esto es lógico pues la harina de cáscara de granada tiene función como antioxidante debido a su alto contenido de polifenoles tanto extraíbles como no extraíbles, es por lo que, los valores son menores en estos casos a pesar de que el tratamiento dos tiene mayor cantidad de grasa que puede ser oxidada. Algunos autores (De la Vega Martínez y Michel López, 2012; Barragán-Martínez y col., 2020) que trabajaron con harinas de cáscara de ciruela al 5% y bagazo de manzana al 5%, respectivamente, reportaron valores de 0.32 mg/g, 0.40 mg/g, y 0.60 mg/g en promedio respectivamente, por lo cual se puede pensar, que la harina de cáscara de granada encapsulada tiene actividad antioxidante similar a la harina de cáscara de naranja, piña o de tuna, pues los valores se encuentran por debajo de 1 mg malonaldehído/g de muestra, lo que nos indica productos “frescos”. Los valores van

aumentando lógicamente pues el producto se va oxidando conforme pasan los días, aunque para el caso de los que contienen harina de cáscara de granada se puede hablar de productos frescos aún después de aproximadamente 20 días en refrigeración (esto considerando el límite recomendado de mg de malonaldehído/ g de muestra).

Tabla 13.- Rancidez oxidativa de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.

1	Rancidez Oxidativa (mg malonaldehído/ g muestra)	0.71±0.36 ^{a, A}	0.41±0.07 ^{b, A}	0.44±0.21 ^{b, A}
6		0.98±0.22 ^{a, A}	0.50±0.12 ^{b, A}	0.64±0.18 ^{b, B}
12		1.17±0.25 ^{a, B}	0.46±0.12 ^{b, A}	0.85±0.15 ^{b, C}
18		1.55±0.18 ^{a, B}	0.57±0.18 ^{b, A}	0.95±0.12 ^{b, C}

Los valores presentados son los promedios ± desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

7.2.1.8 Color

La tabla 14 nos muestra los datos obtenidos de color en sus tres coordenadas y como se observa no hay diferencia significativa para los valores de L* (luminosidad) entre los tratamientos pero si entre ellos y el control, esto se le atribuye a que la adición de la harina que por sí sola tiene un color muy naranja, causó un aspecto más oscuro en el producto en comparación con el control, en el caso de los valores de a* (tonalidad roja) no muestran diferencia significativa entre los tratamientos y el control, lo cual nos habla que la harina de cáscara de granada no tiene efecto sobre este parámetro del color, con respecto al parámetro b* (tonalidad amarilla) no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, pero si con respecto al control, siendo más altos los valores para los tratamientos lo cual se considera lógico, pues al contener la harina de cáscara de granada se espera que por el alto contenido de polifenoles le hayan aportado ese color característico al producto, algo que no se percibe en el control realizado.

Gutiérrez Pacheco (2015) adicionó jugo y cáscara de granada a salchichas de cerdo reportando valores promedios de 71 para L*, 8.8 para a* y de 21 para b*; Ocampo Olalde y col. (2015) reportaron valores de 62 para L*, 2 para a* y de 18.8 para b*; Pinzón Zárata y col. (2015)

elaboraron salchichas con extracto oleoso de chontaduro (fruta colombiana) al 20% encontrando valores de 79 para L*, 6.2 para a* y 10.4 para b*. Las diferencias encontradas se pueden atribuir a que en este estudio se utilizó el jugo además de la cáscara de granada y que al igual que la cáscara de tuna tiene alto contenido de carotenos los cuales aportan colores tanto rojos como amarillos por lo cual es normal que varíen los parámetros a* y b*.

Tabla 14.- Color de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.

Día	Parámetro	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2
1	L*	70.86±1.42 ^{a, A}	59.74±1.19 ^{b, A}	59.99±0.42 ^{b, A}
6		71.16±1.22 ^{a, A}	60.27±1.23 ^{b, A}	60.12±0.55 ^{b, A}
12		70.13±1.16 ^{a, A}	59.66±1.12 ^{b, A}	60.00±1.05 ^{b, A}
18		71.61±1.17 ^{a, A}	59.86±1.16 ^{b, A}	59.93±0.68 ^{b, A}
1	a*	5.22±0.54 ^{a, A}	4.82±0.75 ^{a, A}	5.08±0.49 ^{a, A}
6		5.02±0.49 ^{a, A}	4.76±0.70 ^{a, A}	4.89±0.55 ^{a, A}
12		4.73±0.45 ^{a, A}	4.97±0.78 ^{a, A}	5.14±0.44 ^{a, A}
18		4.77±0.56 ^{a, A}	4.92±0.62 ^{a, A}	5.43±0.42 ^{a, A}
1	b*	13.83±0.71 ^{b, A}	28.68±4.56 ^{a, A}	31.61±5.1 ^{a, A}
6		12.63±0.34 ^{b, A}	28.83±3.34 ^{a, A}	32.08±3.87 ^{a, A}
12		12.80±0.81 ^{b, A}	30.63±2.89 ^{a, A}	31.26±4.88 ^{a, A}
18		12.78±0.67 ^{b, A}	28.03±2.44 ^{a, A}	31.91±2.78 ^{a, A}

Los valores presentados son los promedios ± desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

7.2.1.9 Análisis del perfil de textura

En la tabla 15 se presentan los valores de los parámetros de textura obtenidos, para el caso de la dureza, no se observa diferencia significativa entre los tratamientos y el control, por lo cual se puede decir que la adición de la harina no afecta esta propiedad por lo tanto la harina no hace un producto más duro, diversos autores, Hernández García y Güemes Vera (2010) reportaron valores de entre 16 N y 11 N respectivamente para la dureza de salchichas adicionadas con cáscara de naranja, por lo que se cree, que la harina de cáscara de granada favorece productos menos duros que con otras harinas de coproductos. En cuanto a la adhesividad, se puede observar que hay diferencia significativa solo entre el tratamiento 1 y el control, siendo el valor más alto para el tratamiento 1, lo cual da indicios que la adición de harina de cáscara de granada en combinación con cierta cantidad de carne y grasa hace que la adhesión del producto sea mayor. Pérez Chabela y col. (2013), Ocampo Olalde y col. (2015) y reportaron valores de adhesividad de 0.5 y 0.64 los cuales son valores similares a los obtenidos en este trabajo, por lo que se puede pensar que la adición de cualquier harina de coproducto provocaría el mismo efecto. Con respecto a la elasticidad, no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos y con respecto al control. Para la cohesividad, se encontró que los valores obtenidos no presentaron diferencia significativa entre tratamientos y el control, lo cual nos dice que la harina de cáscara de granada se puede utilizar en la elaboración de productos cárnicos en las concentraciones antes mencionadas sin que haya modificación en la firmeza de producto. Araya Quesada y col. (2014) reportaron valores de 0.80 para salchichas con harina de garbanzo por lo cual presentaron mayor cohesividad que las obtenidas en este trabajo, esto se le puede atribuir a la alta cantidad de almidón de la harina de garbanzo, lo que influiría en este parámetro. De manera general se observa que, para los parámetros medidos para la textura, no hay variaciones o diferencias considerables, esto se puede atribuir a que no hay pérdida significativa tanto de humedad como grasa en los productos, por lo cual se puede hablar de una influencia positiva en la textura del producto por la utilización de harina de coproductos en especial la harina de cáscara de granada encapsulada.

Tabla 15.- Textura de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de granada encapsulada.

Día	Parámetro	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2
1	Dureza (N)	4.10±0.18 ^{a, A}	3.67±0.25 ^{a, A}	3.77±0.25 ^{a, A}
6		3.77±0.12 ^{a, A}	3.77±0.22 ^{a, A}	3.70±0.18 ^{a, A}
12		3.74±0.25 ^{a, A}	3.70±0.13 ^{a, A}	3.71±0.17 ^{a, A}
18		4.00±0.12 ^{a, A}	3.70±0.17 ^{a, A}	3.70±0.12 ^{a, A}
1	Adhesividad (Ns)	0.47±0.22 ^{b, A}	0.67±0.37 ^{a, A}	0.46±0.44 ^{a, A}
6		0.46±0.14 ^{b, A}	1.65±0.25 ^{a, D}	1.50±0.38 ^{a, B}
12		0.42±0.18 ^{b, A}	1.12±0.28 ^{a, B}	0.65±0.41 ^{a, A}
18		0.70±0.06 ^{b, A}	1.23±0.31 ^{a, C}	1.17±0.37 ^{a, B}
1	Elasticidad (mm)	5.17±2.42 ^{a, A}	6.43±0.97 ^{a, A}	6.25±0.84 ^{a, A}
6		5.12±1.21 ^{a, A}	5.72±1.13 ^{a, A}	4.98±1.05 ^{a, A}
12		5.17±1.03 ^{a, A}	6.43±0.92 ^{a, A}	6.25±0.97 ^{a, A}
18		6.66±0.88 ^{a, A}	6.01±1.02 ^{a, A}	4.75±0.81 ^{a, A}
1	Cohesividad	0.71±0.05 ^{a, A}	0.82±0.07 ^{a, A}	0.75±0.05 ^{a, A}
6		0.74±0.02 ^{a, A}	0.81±0.19 ^{a, A}	0.75±0.01 ^{a, A}
12		0.75±0.02 ^{a, A}	0.86±0.23 ^{a, A}	0.76±0.02 ^{a, A}
18		0.72±0.08 ^{a, A}	0.86±0.15 ^{a, A}	0.72±0.06 ^{a, A}

Los valores presentados son los promedios ± desviaciones estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey (P<0.05).

7.2.2 Análisis sensorial

Para el análisis de los resultados de la evaluación sensorial realizada a los productos cárnicos adicionados con harina de cáscara de granada, se puede observar que los jueces no encontraron diferencia significativa entre los tratamientos 1 y 2 para la aceptación del color, sabor y dureza algo que también podemos observar en la tabla 14 y 15 en donde los resultados de dureza en el análisis de textura nos dicen que no se encontró diferencia entre los tratamientos, por lo tanto se puede decir que la harina de cáscara de granada no influyó de manera significativa en estos parámetros, con respecto a la jugosidad si se detectó diferencia significativa entre los tratamientos siendo más aceptado el tratamiento 2 que no presenta diferencia significativa con el control, esto se puede atribuir a la formulación ya que contenía mayor cantidad de grasa por lo cual el producto era más jugoso. Para el caso de la apariencia general, los datos muestran que

existe diferencia significativa entre los tratamientos, siendo mayor la aceptación para el tratamiento 1 que a su vez no presenta diferencia significativa con el control, la apariencia general trata de englobar todos los atributos del producto que defina el juez, por lo cual se podría hablar de que, en cuanto a la evaluación sensorial, el tratamiento 1 resulta ser agradable para los consumidores. Es importante mencionar que, para la mayoría de los atributos, la media se mantuvo cercana al punto medio (no me gusta ni disgusta), por lo cual sería importante considerar algunas modificaciones en la formulación del producto que mejoren estos aspectos evaluados como variar la cantidad de harina adicionada. Gutiérrez Pacheco (2015) reportó que la salchicha elaborada con jugo y harina de cáscara de granada, mostró diferencia significativa entre sus tratamientos y el control, además menciona que los parámetros de sabor, textura y aceptabilidad general en la escala de “me gusta” y el parámetro de color se encuentra en el punto medio de aceptación, la jugosidad no fue evaluada por ellos, pero esto nos indica que sería interesante trabajar con el jugo de la granada pues podría mejorar nuestras características sensoriales.

Tabla 18.- Resultados de la prueba ANOVA del análisis sensorial.

Atributo	Nivel de probabilidad (Probabilidad calculada)	¿Hay diferencia entre los tratamientos?
Dureza	0.061	No
Color	0.000	Si
Sabor	0.0013	Si
Jugosidad	0.0083	Si
Apariencia general	0.010	Si

Se utilizó una P=0.05.

Tabla 19.- Diferentes grupos según el atributo evaluado en el análisis sensorial.

Atributo	Tratamiento	Diferencia con
Color	Control	1 y 2
	1	Control
	2	Control
Sabor	Control	1 y 2
	1	Control
	2	Control
Jugosidad	Control	1
	1	Control
	2	-
Apariencia General	Control	2
	1	-
	2	Control

Pruebas de comparaciones múltiples para todas las diferencias por pares entre las medias. Con la prueba de Tukey, utilizando un $\alpha=0.05$.

8. Conclusiones

La harina de cáscara de granada es fuente importante de ingredientes funcionales: como son fibra y compuestos antioxidantes, como los polifenoles (extraíbles y no extraíbles), tanto la fibra como los polifenoles pueden tener actividad prebiótica.

El secado por aspersión, es un método rápido y económico, con el cual se puede lograr que coproductos que son ácidos, como la cáscara de granada, se protejan, si se quieren adicionar en un producto cárnico emulsionado cocido.

Se puede utilizar la harina de cáscara de granada en la elaboración de productos cárnicos, sin que se modifiquen sus características fisicoquímicas, esto es de gran importancia para poder obtener un producto cárnico funcional a bajo costo.

Bibliografía:

- Abou-Elella, F. M., & Ali, R. F. M. (2014). Antioxidant and anticancer activities of different constituents extracted from Egyptian prickly pear Cactus (*Opuntia ficus-Indica*) Peel. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 3(2):1-9
- Agostini, L., Morón, J., Ramón, A., Ayala, A. (2004). Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides en frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente. *Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 54 (1): 89-92.
- Alarcón, W., Jiménez, V., Ponce, S., Obregón, E., García, J., Reyes, N. (2016). Extracción de fitocompuestos de la cáscara de nuez pecanera del estado de Chihuahua. *Revista del centro de graduados e investigación*. Instituto tecnológico de Mérida. Vol. 31 (63): 174 – 175.
- Aleson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Álvarez, J. A. (2003). Utilization of lemon albedo in dry cured sausages. *Journal of Food Science*. 68: 1826-1830.
- Al-Zoreky, N.S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*. 134:244–248.
- AOAC. 1991. Official method 950.46. Moisture in meat.
- AOAC, 1996: Official Method of Analysis of AOAC International, 16th edition. Washington, DC: AOAC International.
- Araya-Quesada, Y., Morales-Torres, A., Wexler, L., & Vargas-Aguilar, P. (2014). Potencial tecnológico de harina de plátano verde con cáscara (Musa AAB) como sustituto de grasa para geles cárnicos. *Innotec*, 50-60.
- Arranz, S. (2010). Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. (Tesis doctoral) Universidad Complutense de Madrid, España.
- Arranz, S., Saura-Calixto, F., Shaha, S. y Kroon, P.A. (2009). High contents of non-extractable polyphenols in fruits suggest that polyphenol contents of plant foods have been underestimated. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 7298–7303.

- Aslam, M. N., Lansky, E. P. y Varani, J. (2006). Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 103:311–318.
- Avalos-García, A., & Pérez-Urria Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3): 119- 145.
- Avilés, R., Carrión, J., Huamán, J., Bravo, M., Rivera, D., Rojas, N., & Santiago, J. (2010). Actividad antioxidante, polifenoles totales y contenido de taninos de extractos de tara, *Caesalpinia spinosa*. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 13(2), 5-11.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agroindustrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 121-203.
- Barragán-Martínez, L.P., Totosaús, A. & De Lourdes Pérez-Chabela, M. (2020). Probiotication of cooked sausages employing agroindustrial coproducts as prebiotic co-encapsulant in ionotropic alginate–pectin gels. *International Journal of Food Science and Technology*, 55: 1088-1096.
- Becerril-Ibarra O.A., Sosa-Morales M.E., Rodríguez Hernández G., Gómez-Salazar J.A. (2019). Efecto de la concentración de harina de garbanzo en las propiedades fisicoquímicas de salchicha tipo Frankfurt durante su almacenamiento. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4 (1): 686 – 694.
- Bernal-Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., & Gutiérrez-Cortés, C. (2019). Inclusion of prebiotics on the viability of a commercial *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* culture in a tropical fruit beverage. *Journal of food science and technology*, 56(2), 987-994.
- Bialonska, D., Ramnani, P., Kasimsetty, S. G., Muntha, K. R., Gibson, G. R., & Ferreira, D. (2010). The influence of pomegranate by-product and punicalagins on selected groups of human intestinal microbiota. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2-3), 175-182.
- Blasa, M., Gennari, L., Angelino, D., & Ninfali, P. (2010). Fruit and vegetable antioxidants in health. In: *Bioactive Foods in Promoting Health*. First Edit., pp. 37–58. Academic Press, U.S.A.
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32: 62-66.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel.-Wiss U Technology* 28:25-30.
- Bravo, L., Abia, R., & Saura-Calixto, F. (1994). Polyphenols as dietary fiber associated compounds. Comparative study on in vivo and in vitro properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(7): 1481-1487.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*; 104:467–483.
- Burkitt, D.P., Walker, A.R.P., Painter, N.S. (1974). Dietary fibre and disease. *JAMA*. 229: 1068-1074.
- Cacace, J. E. & Mazza, G. (2002). Extraction of Anthocyanins and Other Phenolics from Black Currants with Sulfured Water. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50: 5939-5946.
- Calvo, P., Remuñan-López, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharmaceutical research*, 14(10): 1431-1436.
- Chávez-Zepeda, L., Méndez, G. C., de la Caza, L. G., Vela, J. D., & Pérez-Chabela, M. L. (2009). Utilización de subproductos agroindustriales como fuente de fibra para productos cárnicos. *Nacameh*, 3(2): 71-82.
- De La Vega-Martinez, A. & Michel-López, I. (2012). Propiedades antioxidantes de la cascara de ciruela aplicados a un embutido cárnico: nota de investigación. *Nacameh*, 6(2): 33-39.
- Diaz-Vela, J., Mayorga-Reyes, L., Totosaus, A., & Pérez-Chabela, M. (2012). Parámetros cinéticos y perfil de ácidos grasos de cadena corta de bacterias ácido lácticas termotolerantes con diferentes fuentes de carbono. *Vitae*, 19(3): 253-260.
- Diaz-Vela, J., Totosaus, A., Cruz-Guerrero, A. E., & Pérez-Chabela, M. (2013). *In vitro* evaluation of the fermentation of added-value agroindustrial by-products: cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel and pineapple (*Ananas comosus*) peel as functional ingredients. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(7): 1460-1467.

- Díaz-Vela, J., Totosaus, A., Escalona-Buendía, H. B., & Pérez-Chabela, M. L. (2017). Influence of the fiber from agro-industrial co-products as functional food ingredient on the acceptance, neophobia and sensory characteristics of cooked sausages. *Journal of Food Science and Technology*, 54(2): 379-385.
- Dietary Reference Intakes (2001). Proposed definition of dietary fibre. Washington, DC: National Academy Press.
- Dubois, M., Gilles, K., Hamilton, J., Rebers, P., Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry* 28(3): 350–356.
- Endress, H. U., & Mattes, F. (2003). Rheological characterization of gum and jelly products. *In Advances in pectin and pectinase Research* 449-465.
- Fernández-López, J., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C. y Pérez-Álvarez, J. A. (2007). Orange fibre as potential functional ingredient for dry cured sausages. *Europe Food Research Technology*. 226: 1-6.
- Fiehn, O., Kopka, J., Dörmann, P., Altmann, T., Trethewey, R.N., Willmitzer, L. (2000). Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnology*. 18:1157-1161.
- Fritzen-Freire, C.B., Prudêncio, E.S., Amboni, R.D., Pinto, S.S., Negrão-Murakami, A.N., Murakami, F.S. (2012) Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Research International*. 45: 306–312.
- Gänzle, M. G. (2012). Enzymatic synthesis of galacto-oligosaccharides and other lactose derivatives (hetero-oligosaccharides) from lactose. *International Dairy Journal*, 22(2): 116-122.
- García, P. (2004). La fibra en la alimentación: Ámbito hospitalario. Unidad de Nutrición Clínica y Dietética Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. Edikamed S.L
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007) Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*; 40:1107-1121.

- Gibson, G.R. 1999. Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *Journal of Nutrition*, 129(Suppl.): 1438S-1441S.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125(6): 1401-1412.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2): 259-275.
- Giraldo, L. M., Correa, H. M., Gutiérrez, J. B., & Castano, C. C. (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*, 3(6): 41-62.
- Gómez-Chávez, G., Pérez-Chabela, M.L., Guerrero, I. y Totosaus, A. (2011) Propiedades de batidos cárnicos inoculados con bacterias ácido lácticas termotolerantes probióticas y harina de cacao como prebiótico: Alimento simbiótico *Revista de Ingeniería Agrícola y Biosistemas* 3(1):5-10
- Guerrero, L., Ponce, E., Pérez M. (2002). Curso Práctico de Tecnología de Carnes y Pescado. Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México. 16-24.
- Gulewicz, K., & Wardenska, M. (2003). Biological activity of raffinose family oligosaccharides isolated from legume seeds. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, (495): 349-357.
- Gundogdu, M., Ozrenk, K., Ercisli, S., Kan, T., Kodad, O. & Hegedus, A. (2014). Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven Hawthorn species (*Crataegus spp.*) from Turkey. *Biological Research*, 47: 1–5.
- Gutiérrez-Pacheco, S. (2015). Calidad y capacidad antioxidante de salchichas de cerdo adicionadas con jugo y cáscara de granada (*Punica granatum* L.). (Tesis de Maestría). Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. México.
- Ha, M., Jarvis, M., Mann, J. (2000). A definition for dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition*. 54: 861-864.

- Haidari, M., Ali, M., Casscells, S. W. y Madjid, M. (2009). Pomegranate (*Punica granatum*) purified polyphenol extract inhibits influenza virus and has a synergistic effect with oseltamivir. *Phytomedicin*. 16:1127–1136.
- Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., & Hagerman, A. E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7): 1785-1790.
- Hernández-Alcántara, A. M., Totosaus, A., & Pérez-Chabela, M. L. (2016). Evaluation of agro-industrial co-products as source of bioactive compounds: fiber, antioxidants, and prebiotic. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 20(2): 3-16.
- Hernández-García, E. M., González-De La Cruz, J. U., De La Cruz-Leyva, M. C., Pérez-Sánchez, C. D. C., Guzmán-Ceferino, J., Ramírez-Muñoz, I. Y., & Durán-Mendoza, T. (2018). *Hibiscus sabdariffa* L. en un embutido cárnico y su efecto en las características fisicoquímicas, nutritivas, microbiológicas, y aceptación sensorial. *Nacameh*, 12(2): 15-29.
- Hernández-García, S. & Güemes-Vera, N. (2010). Efecto de la Adición de Harina de Cáscara de Naranja sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Textuales y Sensoriales de Salchichas Cocidas. *Nacameh*, 4(1): 23-36.
- Hilliam, M. (2003). Future for dairy products and ingredients in the functional foods market. *Aust Journal Dairy Technology*. 58: 98-103.
- Hipsley, E. H. (1953). Dietary “fibre” and pregnancy toxemia. *British Medical Journal* 2: 420-422.
- Huamán, M. (2014). Evaluación del efecto de tratamientos con solventes orgánicos, agua y el tiempo de extracción en el rendimiento de polifenoles de la harina de semilla de palta (*Persea americana*). (Tesis profesional). Universidad Nacional Del Centro Del Perú.
- Huebner, J., Wehling, R. L., & Hutkins, R. W. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17(7): 770-775.
- International Food Information Council. (2008) Fiber Fact Sheet. Pag. 1-19

- Iqbal, S., Haleem, S., Akhtar, M., Zia-ul-Haq, M., & Akbar, J. (2008). Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. *Food Research International*, 41(2): 194-200.
- Jáuregui, C. A., Regenstein, J. M., Baker, R. C., (1981). A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. *Journal Food Science* 46: 1271-1273.
- Juliá, M. (2017). Caracterización de polvos deshidratados obtenidos a partir de bagazo de arándano y valoración de su utilización como ingrediente funcional. Trabajo fin de Máster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 1-21. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Kailasapathy, K. (2009). Encapsulation technologies for functional foods and nutraceutical product development. *CAB Reviews: Perspectives in agriculture, veterinary science, nutrition and natural resources*, 4(033): 1-19.
- Kim, S. J., Jung, S. H., & Kim, J. S. (2010). Fast pyrolysis of palm kernel shells: influence of operation parameters on the bio-oil yield and the yield of phenol and phenolic compounds. *Bioresource Technology*, 101(23): 9294-9300.
- Lansky, E. P. y Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. 109:177–206.
- Larrauri, J.A. (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science and Technology*. 10:3–8.
- Leontowickz, M., Leontowickz, H., Goristein, S., Martin-Belloso, O., & Trakhtenberg S. (2007). Apple peels and pulp as a source of bioactive compounds and their influence on digestibility and lipid profile in normal and atherogenic rats. *Medycyna Weterynaryjna*, 63 (11): 1434-1436.
- Little, A. (1975). Off on a tangent. *Journal of Food Science*. 40: 410-411.
- López, O., López, A., Palou, E. (2010). Granada (*Punica granatum* L): una fuente de antioxidantes de interés actual. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 64-63.

- Maillard, K. (2019). Caracterización de la cáscara de granada como fuente de ingredientes funcionales y su utilización en un producto cárnico madurado (Tesis Maestría). Universidad Autónoma Metropolitana, México.
- Maillard-Berdeja, K.V., Pérez-Chabela, M.L., Ponce-Alquicira, E., Schettino-Bermúdez, B. (2019). Caracterización bromatológica y microbiológica de la cáscara de granada (*Punica granatum* L.) como fuente de ingredientes funcionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4: 799-804.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 81(1): 230-242.
- Meng, X., Stanton, C., Fitzgerald, G., Daly, C., Ross, R. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotics cultures. *Food Chemistry Journal*, 106: 1406-1416
- Middha, S. K., Usha, T., & Pande, V. (2013). HPLC evaluation of phenolic profile, nutritive content, and antioxidant capacity of extracts obtained from *Punica granatum* fruit peel. *Advances in Pharmacological Science*, 2013: 1-6.
- Monod, J. (1949). The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology*, 3(1): 371-394.
- Montgomery, D. (2006). Diseño y análisis de experimentos. 2ª edición, Mexico, D.F. 685.
- Norma Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2005. Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación.
- Ocampo-Olalde, R., Delgado-Suárez, E. J., & Gutiérrez-Pabello, J. Á. (2015). Harina de cáscara de tuna como fuente de fibra y su efecto sobre las características fisicoquímicas y sensoriales de salchichas bajas en sodio y grasa. *Nacameh*, 9(2): 54-65.
- Ordoñez-Gómez, E. S., Reátegui-Díaz, D., & Villanueva-Tiburcio, J. E. (2018). Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, 9(1): 113-121.

- Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2007). Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants and colorants. In: utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. Oreopoulou, V., & Russ, W. ed. New York, Springer, 209-232.
- Ozsoy, N., Candoken, E., & Akev, N. (2009). Implications for degenerative disorders: Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and β -tocopherol in Aloe vera. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(2): 99-106.
- Parra-Matadamas, A., Mayorga-Reyes, L., & Pérez-Chabela, M. L. (2015). In vitro fermentation of agroindustrial by-products: grapefruit albedo and peel, cactus pear peel and pineapple peel by lactic acid bacteria. *International Food Research Journal*, 22(2): 859-865
- Peñaloza, J. K., & Rojano, B. A. (2014). Potenciación de la capacidad antioxidante mediante interacción sinergista entre bioactivos de frutas nativas colombianas. *Alimentos Hoy*, 22(33): 3-25.
- Pérez-Chabela, M. L., Lara-Labastida, R., Rodríguez-Huezo, E., & Totosaus, A. (2013). Effect of spray drying encapsulation of thermotolerant lactic acid bacteria on meat batters properties. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6): 1505-1515.
- Pérez-Chabela, M.L., Cerda, A., Diaz, J., Delgadillo, C., Diaz, M., Aleman, G. (2015). physiological effects of agroindustrial co-products: cactus (*Opuntia ficus*) pear peel flour and stripe apple (*Mallus domestica*) marc flour on wistar rats (*Rattus norvegicus*). *Pakistan Journal of Nutrition*. 14(6): 346-352.
- Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2): 118-129.
- Pinzón-Zárate, L. X., Hleap-Zapata, J. I., & Ordóñez-Santos, L. E. (2015). Análisis de los parámetros de color en salchichas Frankfurt adicionadas con extracto oleoso de residuos de chontaduro (*Bactris gasipaes*). *Información Tecnológica*, 26(5): 45-54.
- Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelfinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*. 25: 223–230.

- Price, M., Butler, L. & Brotherton, J. (1978). Vanillin assay for proanthocyanidins (condensed tannins): modification of the solvent for estimation of the degree of polymerization. *Journal of agricultural and food chemistry*. 30(6): 1087-1089.
- Prior, R. L., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, 66(18): 2264-2280.
- Ramos, N. A. G., & Farías, M. E. (2001). Stability of meat emulsion with non-meat proteins. In *Proceedings of the eighth international congress on engineering and foods-ICEF*. 8: 643-647.
- Rampino, A., Borgogna, M., Blasi, P., Bellich, B., & Cesàro, A. (2013). Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability. *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1-2): 219-228.
- Rastall, R. y Maitin, V. (2002). Prebiotics and simbyotics: Towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*. 13: 490-496.
- Ribeiro, S. M. R., Barbosa, L. C. A., Queiroz, J. H., Knödler, M., & Schieber, A. (2008). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. *Food Chemistry*, 110(3): 620-626.
- Roberfroid M. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*. 1:13-25.
- Roberfroid, M. (2008). Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies and products En: *Handbook of Prebiotics*. Gibson, G. R. y Robertfroid, M. (Eds) CRC Press (Ed) Florida, USA. Pp: 39- 68.
- Robles-Botero, M. V., Ronquillo-de Jesús, E., Quiroz-Reyes, C. N., & Aguilar-Méndez, M. A. (2020). Caracterización e identificación de compuestos bioactivos con actividad antioxidante de la cáscara, pulpa y semilla del fruto de tejocote (*Crataegus mexicana*). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23: 1- 10
- Rodríguez-Luna, D., Robledo-Olivo, A., González-Morales, S., Sandoval-Rangel, A., Cabrera de la Fuente, M. (2019). Bioconversión de desechos de melón para su uso como precursores en la

producción de bioetanol. Coloquio de Investigación Multidisciplinaria 2019. *Journal CIM*. 7 (1): 1321- 1326

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SAGARPA. (2016). Servicio de información agroalimentaria y pesquera.

Santamaría Basulto, F., Díaz Plaza, R., Sauri Duch, E., Espadas y Gil, F., Santamaría Fernández, J. M., & Larqué Saavedra, A. (2009). Características de calidad de frutos de papaya Maradol en la madurez de consumo. *Agricultura técnica en México*, 35(3): 347-353.

Saura-Calixto, F., Goñi, I., Manas, E., & Abia, R. (1991). Klason lignin, condensed tannins and resistant protein as dietary fibre constituents: Determination in grape pomaces. *Food Chemistry*. 39(3): 299-309.

Saura-Calixto, F., Serrano, J., & Goñi, I. (2007). Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry*. 101: 492–501.

Sáyago, S. & Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos Latinoamericanos De Nutricion. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 60 (1): 79- 84.

Scull, I., & Savón, L. (2003). Determinación de polifenoles totales y taninos condensados en harina de forraje de cuatro variedades de *Vigna unguiculata*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 37(4): 403-407.

Serrano, M., Díaz-Mula, H., Zapata, P.J., Castillo, S., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Valverde, J.M. and Valero, D. 2009. Maturity stage at harvest determines the fruit quality and antioxidant potential after storage of sweet cherry cultivars. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 57:3240–3246.

Serrano, V., Pérez, M., Cortés, E., Totosaus, A. (2017). Improvement of lactic acid bacteria viability in acid conditions employing agroindustrial co-products as prebiotic on alginate ionotropic gel matrix co-encapsulation. *Journal of Functional Foods*. 38: 293–297.

- Shand, P. (2000). Textural, water Holding and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley. *Journal of Food Science*. 65: 101 – 107.
- Singh, R., Chidambara, K. y Jayaprakasha, G. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 81-86
- Singleton, P., Keyser, H., & Sande, E. (2002). Development and evaluation of liquid inoculants. Inoculants and nitrogen fixation of legumes in Vietnam. *ACIAR Proceedings 109e*, Canberra, 52-66.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178.
- Taiz, L. Z., & Zeiger, Y. E. (2006). Fisiología vegetal. 3ra. Edición. Editorial Universitat Jaume. Brasil.
- Trantwein EA, Kunath-Ran A, Erbersdobler H. (1999). Increased fecal bile acid excretion and changes in the circulating bile acid pool are involved in the hypocholesterolemic and gallstonepreventive actions of psyllium in hamsters. *The Journal of Nutrition*; 129:896-902.
- Trila, U., Fernández-López, F., Pérez-Álvarez, J.A. y Viuda-Martos, M. (2014) Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica L.*). *Industrial Crops and Products* 55:155-162
- Trowell, H. (1976). Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases. *The American journal of clinical nutrition*, 29(4): 417-427.
- Vilcanqui-Pérez, F., & Vílchez-Perales, C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(2): 146-156.
- Villamizar-Jaimes, A. R., & López-Giraldo, L. J. (2017). Cáscara de cacao fuente de polifenoles y fibra: simulación de una planta piloto para su extracción. *Respuestas*, 22(1): 75-83.

- Villanueva-Tiburcio, J. E., Condezo-Hoyos, L. A., & Asquiere, E. R. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh). *Food Science and Technology*, 30:151-160.
- Viuda-Martos, M., Sánchez Zapata, E., Martín Sánchez, A., Ruiz Navajas, Y., Fernández López, J., Sendra, E., Sayas Barbera, E., Navarro, C., Pérez Álvarez, J. (2012). Technological Properties of Pomegranate peel extract obtained as coproduct of juice processing. Capítulo 37. In. Dietary fiber and health. S. Cho & N. Almeida (Eds.). Estados Unidos: CRS Press, pp.443-452
- Wink, M. (Ed.). (1999). Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology (Vol. 3). Taylor & Francis. Pag. 1-14.
- Zamora, L., Carretero, C. & Pares, D. (2006). Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray-drying and freeze-drying. *Food Science and Technology International*. 12: 77-84.
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*). *Información tecnológica*, 24(5): 103-112.
- Zipser, M., Watts, B. (1962). A modified 2-tiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meats. *Food Technology*. 17(7): 102 – 104.

Anexos

Anexo 1 Optimización del método de vainillina para taninos hidrolizables

La variable respuesta que se midió fue los mg equivalentes de catequina y los factores medidos: La temperatura de extracción (TE) con el nivel bajo de 20°C y nivel alto de 60°C, La temperatura de reacción (TR) con el nivel bajo de 30 °C y nivel alto de 60°C y Tiempo de reacción (TiR) con nivel bajo de 20 min. y nivel alto de 40 min. De esta manera se encontraron los valores óptimos para llevar acabo el experimento, asegurando que se obtendría la mayor cantidad de mg equivalentes de catequina.

Efectos estimados para CATEQUINA

<i>Efecto</i>	<i>Estimado</i>	<i>Error Estd.</i>	<i>V.I.F.</i>
Promedio	75.6922	4.7524	
A: Temp Extrac	3.62333	5.8204	1.0
B: Temp Reacc	-11.6008	5.8204	1.0
C: Tiempo Reacc	-33.5592	5.8204	1.0
AA	18.6861	8.5675	1.011
AB	-2.18167	8.2314	1.0
AC	-21.345	8.2314	1.0
BB	50.8011	8.5675	1.011
BC	-50.0033	8.2314	1.0
CC	-1.56889	8.5675	1.011
Bloque	0.0324444	6.0113	1.333
Bloque	-0.579556	6.0113	1.333

Errores estándar basados en el error total con 33 g.l.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 78.4386% de la variabilidad en CATEQUINA.

$$\text{mg eq de catequina} = 186.62 + 4.13 \cdot \text{TiR} + 0.023 \cdot \text{TE}^2 - 0.026 \cdot \text{TE} \cdot \text{TiR} + 0.112 \cdot \text{TR}^2 - 0.083 \cdot \text{TR} \cdot \text{TiR}$$

Análisis de Varianza para CATEQUINA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:TE	78.7713	1	78.7713	0.39	0.5379
B:TR	807.476	1	807.476	3.97	0.0546
C:TIR	6757.31	1	6757.31	33.24	0.0000
AA	966.934	1	966.934	4.76	0.0364
AB	14.279	1	14.279	0.07	0.7926
AC	1366.83	1	1366.83	6.72	0.0141
BB	7146.7	1	7146.7	35.16	0.0000
BC	7501.0	1	7501.0	36.90	0.0000
CC	6.81622	1	6.81622	0.03	0.8558
bloques	2.386	2	1.193	0.01	0.9941
Error total	6707.87	33	203.269		
Total (corr.)	31110.5	44			

R-cuadrada = 78.438% R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 71.251%

Error estándar del est. = 14.2572

Optimización de la variable respuesta

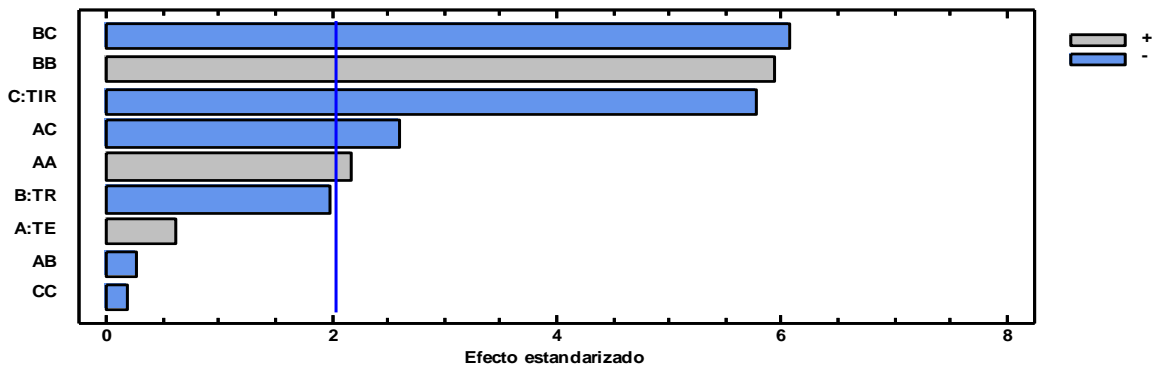
Meta: maximizar CATEQUINA

Valor óptimo = 156.976 mg eq de catequina/ g muestra

Optimización de los factores

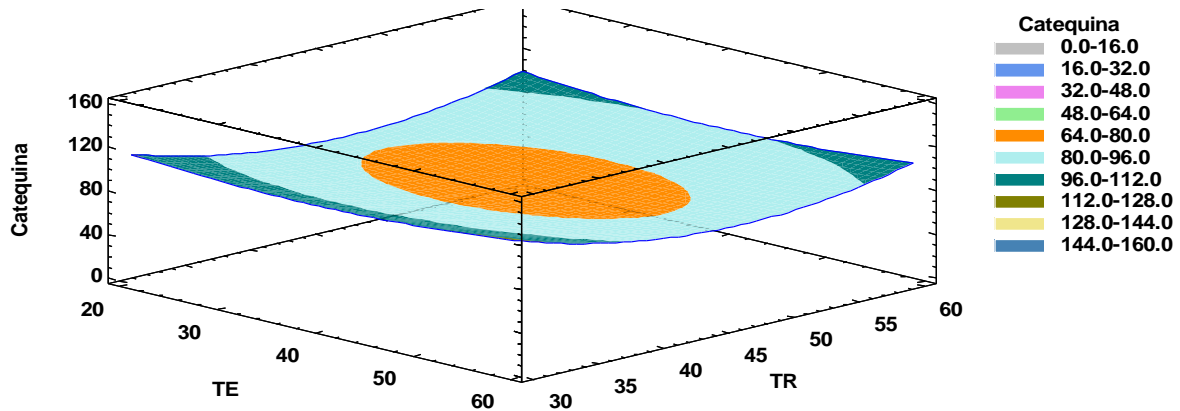
<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
TE	20.0	60.0	60.0
TR	30.0	60.0	59.98
TIR	20.0	40.0	20.0

Diagrama de Pareto estandarizado para la respuesta “catequina”.



En la siguiente figura se aprecia la superficie respuesta para el experimento realizado y como se había mencionado antes los valores óptimos se encuentran cercanos al 60°C tanto para la temperatura de extracción como para la temperatura de reacción en su interacción considerando el valor óptimo de 20 min para tiempo de reacción, ya que si se excede ese tiempo las estructuras de los polifenoles puedan sufrir daño estructural y por ellos se degraden y no puedan ser cuantificados.

Superficie respuesta para la respuesta “catequina”.



Anexo 2 Optimización del método de Porter

La variable respuesta que se midió fue los mg equivalentes de ac. gálico y los factores medidos: La combinación entre metanol: agua y acetona: agua respectivamente para la extracción con el nivel bajo de 50: 50 y el nivel alto 90:10, La temperatura de extracción (TE) con el nivel bajo de 20°C y nivel alto de 60°C y Tiempo de reacción (TiR) con nivel bajo de 20 min. y nivel alto de 60 min.

Efectos estimados para ac. gálico (metanol).

<i>Efecto</i>	<i>Estimado</i>	<i>Error Estd.</i>	<i>V.I.F.</i>
Promedio	173.731	7.94205	
A: Metanol: Agua	47.4692	9.72698	1.0
B: Temperatura	-2.11667	9.72698	1.0
C: tiempo	-16.3142	9.72698	1.0
AA	6.95639	14.3177	1.0111
AB	19.6133	13.756	1.0
AC	33.395	13.756	1.0
BB	36.5047	14.3177	1.0111
BC	13.08	13.756	1.0
CC	-29.9669	14.3177	1.01111
Bloque	-1.22311	10.046	1.33333
Bloque	1.49556	10.046	1.33333

Errores estándar basados en el error total con 33 g.l.

La ecuación del modelo ajustado es: ac galico (metanol) = 376.46 - 2.68*M:A + 0.041*M:A*tiempo+ 0.045*Temp^2 - 0.037*tiempo^2

Análisis de Varianza para ac gálico metanol

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: M:A	13519.9	1	13519.9	23.82	0.0000
B: Temp	26.8817	1	26.8817	0.05	0.8291
C: tiempo	1596.91	1	1596.91	2.81	0.1030
AA	134.007	1	134.007	0.24	0.6303
AB	1154.05	1	1154.05	2.03	0.1633
AC	3345.68	1	3345.68	5.89	0.0208
BB	3690.26	1	3690.26	6.50	0.0156
BC	513.259	1	513.259	0.90	0.3486
CC	2486.82	1	2486.82	4.38	0.0441
bloques	14.2759	2	7.13796	0.01	0.9875
Error total	18733.6	33	567.685		
Total (corr.)	45705.2	44			

R-cuadrada = 61.71% R-cuadrada = 58.34% Error estándar del est. = 23.8261

Optimizar Respuesta

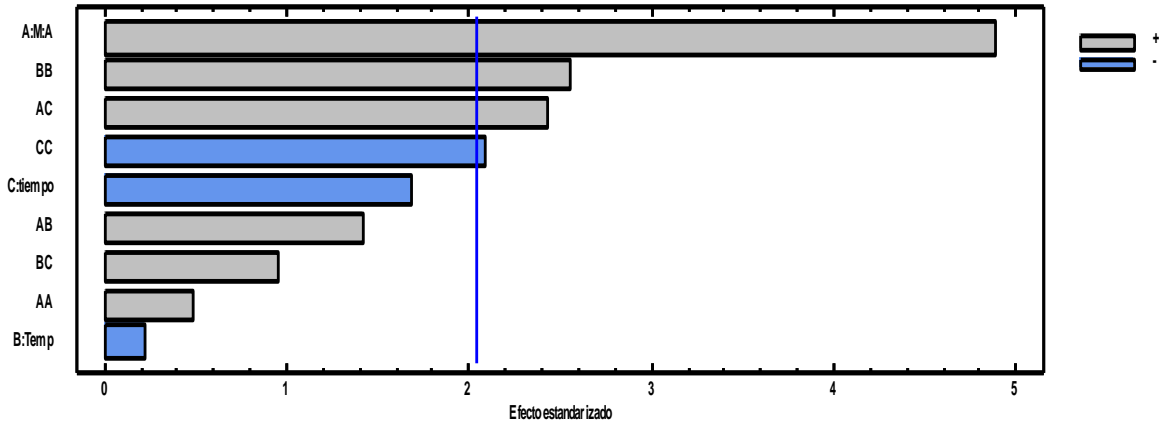
Meta: maximizar ac gálico (metanol)

Valor óptimo = 231.739 mg equivalentes de ac. gálico/ g de muestra

Optimización de los factores

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
M:A	50.0	90.0	90.0
Temp	20.0	60.0	60.0
tiempo	20.0	60.0	50.070

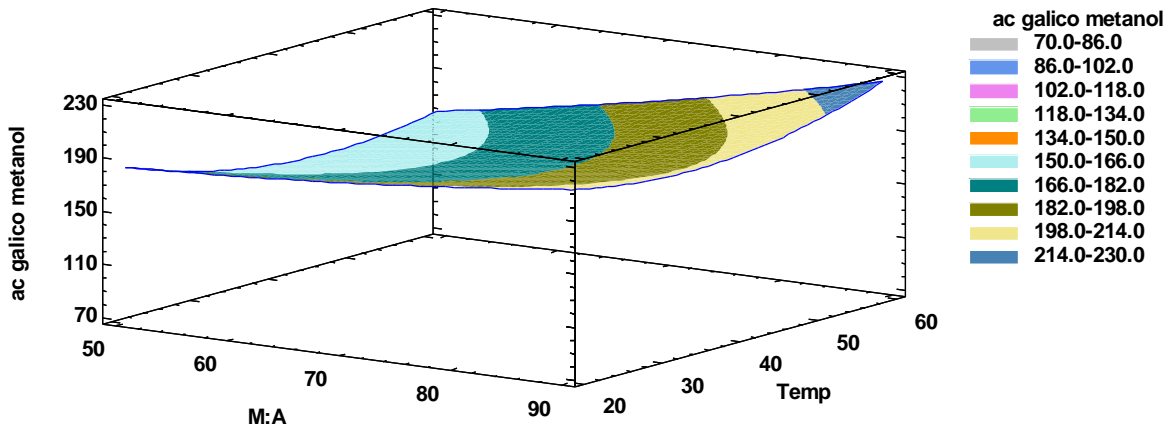
Diagrama de Pareto estandarizado para la respuesta “ac. gálico (metanol)”



En

la siguiente figura se aprecia la superficie respuesta para el experimento realizado y como se habia mencionado antes los valores optimos se encuentran cercanos a la relación 90:10 para la mezcla metanol: agua y al 60°C para la temperatura de extracción.

Superficie respuesta para la respuesta “ac. gálico (metanol)”.



En la siguiente tabla se muestran las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo.

Efectos estimados para ac gálico (acetona)

<i>Efecto</i>	<i>Estimado</i>	<i>Error Estd.</i>	<i>V.I.F.</i>
Promedio	34.3811	1.95038	
A: Acetona: Agua	9.14417	2.38872	1.0
B:Temp	26.1708	2.38872	1.0
C:tiempo	0.0933333	2.38872	1.0
AA	-11.5294	3.51611	1.01111
AB	2.48	3.37817	1.0
AC	-2.92167	3.37817	1.0
BB	32.0872	3.51611	1.01111
BC	18.0317	3.37817	1.0
CC	-9.64111	3.51611	1.01111
Bloque	0.711556	2.46706	1.33333
Bloque	-0.0351111	2.46706	1.33333

Errores estándar basados en el error total con 33 g.l.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 89.247% de la variabilidad en la respuesta de ac. gálico (acetona).

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{ac gálico (acetona)} = 0.906 + 2.26*M:A - 3.673*T + 0.014*M:A^2 + 0.04*T^2 + 0.022*T*tiempo - 0.012*tiempo^2$$

Análisis de Varianza para ac gálico (acetona).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: A: A	501.695	1	501.695	14.65	0.0005
B: Temp	4109.48	1	4109.48	120.03	0.0000
C: tiempo	0.0522667	1	0.0522667	0.00	0.9691
AA	368.109	1	368.109	10.75	0.0025
AB	18.4512	1	18.4512	0.54	0.4681
AC	25.6084	1	25.6084	0.75	0.3934
BB	2851.17	1	2851.17	83.28	0.0000
BC	975.423	1	975.423	28.49	0.0000
CC	257.403	1	257.403	7.52	0.0098
bloques	3.6192	2	1.8096	0.05	0.9486
Error total	1129.79	33	34.236		
Total (corr.)	10506.7	44			

R-cuadrada = 89.24%

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 85.66%

Error estándar del est. = 5.85%

Optimizar Respuesta

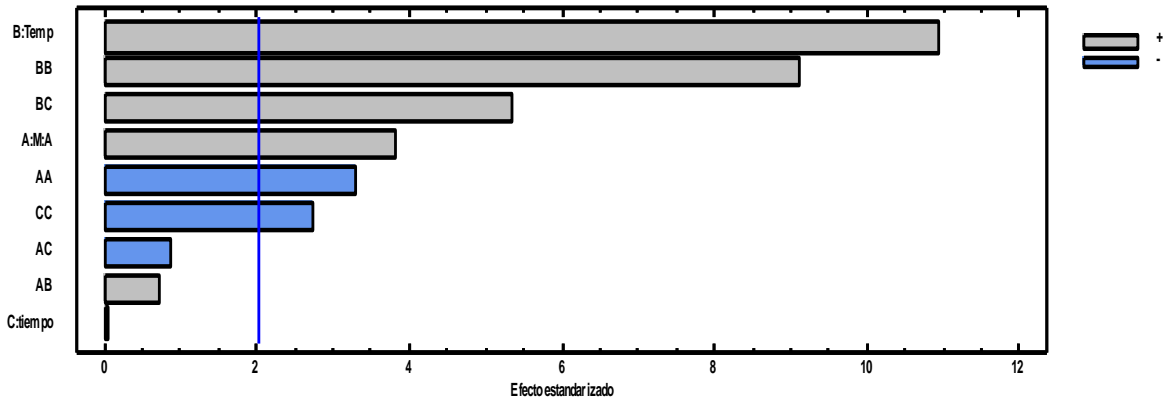
Meta: maximizar ac. gálico (acetona)

Valor óptimo = 68.6407

Optimización de los factores

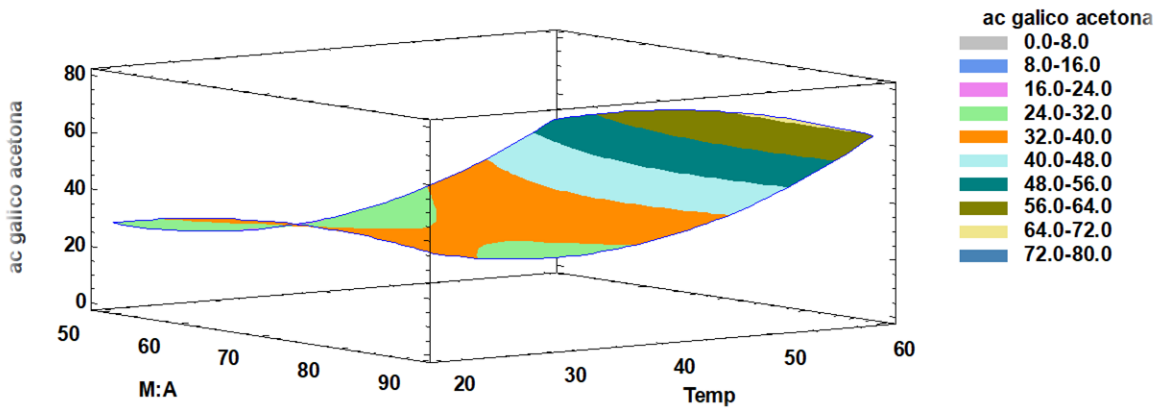
<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
A: A	50.0	90.0	77.8432
Temp	20.0	60.0	60.0
tiempo	20.0	60.0	57.6097

Diagrama de Pareto estandarizado para la respuesta “ac. gálico (acetona)”



Se aprecia la superficie respuesta para el experimento realizado y como se habia mencionado antes los valores optimos se encuentran cercanos a la relación 78:22 para la mezcla acetona: agua y al 60°C para la temperatura de extracción, con el tiempo cercano a los 60 min.

Superficie respuesta para la respuesta “ac. gálico (acetona)”.



Anexo 3.- Evaluación Sensorial

Nombre: _____ Edad: _____ Fecha: _____

A continuación, se presentan 3 muestras de salchichas codificadas con diferentes números, sobre la línea encierra el número que defina mejor la característica.

1. me disgusta mucho/ 2. me disgusta/ 3. no me gusta ni disgusta/ 4. me gusta/ 5. me gusta mucho.

Muestra: 358

Color:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Sabor:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Dureza:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Jugosidad:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Aceptación general:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>

Comentario: _____

Muestra: 723

Color:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Sabor:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Dureza:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Jugosidad:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Aceptación general:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>

Comentario: _____

Muestra: 139

Color:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Sabor:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Dureza:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Jugosidad:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Aceptación general:	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>

Comentario: _____



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00281

Matrícula: 2183801632

Ingredientes funcionales (polifenoles y fibra) en harina de cáscara de granada (*Punica granatum L.*) y su utilización en un batido cáamico.



Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 16:00 horas del día 18 del mes de noviembre del año 2020 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA
DRA. GLORIA MARIBEL TREJO AGUILAR
DRA. MARIA EVA RODRIGUEZ HUEZO
DR. JORGE SORIANO SANTOS

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:


MAESTRO EN BIOTECNOLOGIA

DE: JORGE LUIS GARRIDO CRUZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.


JORGE LUIS GARRIDO CRUZ
ALUMNO

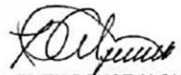
REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

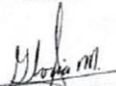
DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS


DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA


DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

VOCAL


DRA. GLORIA MARIBEL TREJO AGUILAR

VOCAL


DRA. MARIA EVA RODRIGUEZ HUEZO

SECRETARIO


DR. JORGE SORIANO SANTOS

El presente documento cuenta con la firma -autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta - Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella