



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

TESIS

**BIOACCESIBILIDAD DE DHA EPA Y ALA EN HAMBURGUESAS
DE BOQUICHICO (*Prochilodus nigricans*) BAJAS EN SODIO
ENRIQUECIDAS CON ÁCIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON
MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

PRESENTADO POR: ALBERTO JOSÉ BAZÁN FERRANDO

**ASESORES: ING. JUAN DARIO RÍOS MERA, DR.
ING. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, DR.
ING. FERNANDO TELLO CELIS, DR.**

IQUITOS, PERÚ

2024



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

TESIS

**BIOACCESIBILIDAD DE DHA EPA Y ALA EN HAMBURGUESAS
DE BOQUICHICO (*Prochilodus nigricans*) BAJAS EN SODIO
ENRIQUECIDAS CON ÁCIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON
MENCIÓN EN ECOLOGÍA AMAZÓNICA**

PRESENTADO POR: ALBERTO JOSÉ BAZÁN FERRANDO

**ASESORES: ING. JUAN DARIO RÍOS MERA, DR.
ING. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, DR.
ING. FERNANDO TELLO CELIS, DR.**

IQUITOS, PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
N°066-2024-OAA-EPG-UNAP

En Iquitos en la Escuela de Postgrado (EPG) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) a los veinticinco días del mes de abril de 2024 a las 11:00 a.m., se dió inicio a la sustentación de la tesis denominada "BIOACCESIBILIDAD DE DHA EPA Y ALA EN HAMBURGUESAS DE BOQUICHICO (*Prochilodus nigricans*) BAJAS EN SODIO ENRIQUECIDAS CON ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS", aprobado con Resolución Directoral N°0619-2024-EPG-UNAP, presentado por el egresado ALBERTO JOSÉ BAZAN FERRANDO, para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias con mención en Ecología Amazonica, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria 30220 y el Estatuto de la UNAP.

El jurado calificador designado mediante Resolución Directoral N°1302-2023-EPG-UNAP, esta conformado por los profesionales siguientes:

Blgo. Enrique Ríos Isern, Dr.	(Presidente)
Blgo. Luis Exequiel Campos Baca, Dr.	(Miembro)
Ing.Ind.Alim. Littman Gonzales Ríos, Dr.	(Miembro)

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron respondidas: potingadrasunira

Finalizado la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y, luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al resultado siguiente:

La sustentación pública y la tesis ha sido: aprobada con calificación Muy Buena.

A continuación, el Presidente del Jurado da por concluida el sustentación, siendo las 12:40 del veinticinco de abril de 2024; con lo cual, se le declara al sustentante opto, para recibir Grado Académico de Doctor en Ciencias con mención en Ecología Amazonica.



Blgo. Enrique Ríos Isern, Dr.
Presidente




Blgo. Luis Exequiel Campos Baca, Dr.
Miembro



Ing.Ind.Alim. Littman Gonzales Ríos, Dr.
Miembro



Ing.Ind.Alim. Juan De Ho Ríos Mera, Dr.
Asesor



Ing.Ind.Alim. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr.
Asesor



Ing. Ind.Alim. Fernando Tello Celis, Dr.
Asesor

Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonía del Perú, rumbo a la acreditación

Calle Los Rosales cuadra 5 s/n, San Juan Bautista, Maynas, Perú
Celular: 953 664 439 - 956 875 744
Correo electrónico: postgrado@unapiquitos.edu.pe www.unapiquitos.edu.pe



TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL DÍA 25 DE ABRIL DE 2024, EN LA ESCUELA DE POSGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS – PERÚ.



BLGO. ENRIQUE RÍOS ISERN, DR.
PRESIDENTE



BLGO. LUIS EXEQUIEL CAMPOS BACA, DR.
MIEMBRO



ING. IND. ALIM. LITTMAN GONZALES RÍOS, DR.
MIEMBRO



ING. IND. ALIM. JUAN DARIO RÍOS MERA, DR.
ASESOR



ING. IND. ALIM. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, DR.
ASESOR



ING. IND. ALIM. FERNANDO TELLO CELIS, DR.
ASESOR



Nombre del usuario:
Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

Fecha de comprobación:
22.08.2022 10:43:27 CDT

Fecha del Informe:
22.08.2022 10:59:45 CDT

ID de Comprobación:
71781435

Tipo de comprobación:
Doc vs Internet

ID de Usuario:
Ocultado por Ajustes de Privacidad

Nombre de archivo: **Tesis Final Alberto José Bazán Ferrando**

Recuento de páginas: **87** Recuento de palabras: **20482** Recuento de caracteres: **129707** Tamaño de archivo: **2.42 MB** ID de archivo: **82818092**

13% de Coincidencias

La coincidencia más alta: **2.95%** con la fuente de Internet (<https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/>).

13% Fuentes de Internet

860

..... Página 89

No se llevó a cabo la búsqueda en la Biblioteca

11.4% de Citas

Citas

68

..... Página 90

No se han encontrado referencias

0% de Exclusiones

No hay exclusiones

Modifind

Modificaciones del texto detectadas. Busque más detalles en el informe en línea.

Caracteres sustituidos

7

El presente trabajo de tesis le dedico a mi querida madre Maritza Ferrando, a mi esposa Melisenda Marín y a mis amados hijos Angello, Giannina, Claudia y Alberto.

AGRADECIMIENTO

Un especial agradecimiento al **CONCYTEC – PROCIENCIA** por el financiamiento de este trabajo en el marco de la convocatoria E041 - 01 (Contrato Nº 021-2018-FONDECYT – BM – IADT – MU).

Al Ing. Fernando Tello Celis, Dr. por habernos invitado a formar parte del proyecto de investigación y por sus orientaciones a lo largo del desarrollo del trabajo.

Al Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr. y al Ing. Juan Darío Ríos Mera, Dr. por sus valiosas contribuciones y el seguimiento en cada una de las etapas del proyecto.

Al Ing. Rafael Segundo Vela Paredes, M.Sc. por las facilidades brindadas en los laboratorios de la Universidad Nacional de San Martín.

A las Licenciadas Flavia Antuané Palomino Pérez y Estefany Deyhanyra Rengifo Silvano, Mgr. y al Licenciado Alexander Javier Imán Torres, Mgr. por su colaboración en los trabajos de laboratorio.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Resultado del informe de similitud	v
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vii
Índice de contenido	viii
Resumen	xiv
Abstract	xv
Resumo	xvi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1. Antecedentes.	4
1.2. Bases teóricas.	12
1.3. Definición de términos básicos.	31
CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS	37
2.1. Variables y definiciones operacionales.	37
2.2. Formulación de las hipótesis.	38
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	40
3.1. Tipo y diseño de la investigación.	40
3.2. Población y muestra.	40
3.3. Técnicas e instrumentos.	41
3.4. Procesamiento y análisis de la información.	56

3.5. Aspectos éticos.	56
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	58
4.1. Caracterización de la materia prima.	58
4.2. Perfil de ácidos grasos de los aceites.	62
4.3. Eficiencia de encapsulación de micropartículas producidas por coacervación compleja.	66
4.4. Análisis proximal de las hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>).	67
4.5. Bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA.	69
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE RESULTADOS	84
CAPÍTULO VI: PROPUESTA	85
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	87
CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES	89
CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia.	
2. Tabla de operacionalización de variables.	
3. Cromatogramas.	
4. Abreviaturas.	

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla Nº 1. Contenido de grasa (% de peso húmedo) y perfil de ácido graso (en % de ácidos grasos totales y en mg/100 g de peso húmedo) de los filetes de jurel (<i>Scomber japonicus</i>) y sardina (<i>Sardina pilchardus</i>) en conserva.	6
Tabla Nº 2. Contenido bioaccesible de DHA y bioaccesibilidad en fórmula para infantes.	8
Tabla Nº 3. Contenido bioaccesible de DHA y bioaccesibilidad en leche infantil preescolar.	9
Tabla Nº 4. Porcentaje de EPA y DHA en pescados.	25
Tabla Nº 5. Principales fuentes vegetales de ALA.	26
Tabla Nº 6. Contenido porcentual de ALA en plantas silvestres comestibles.	27
Tabla Nº 7. Ácidos grasos EPA y DHA producidos por algas.	28
Tabla Nº 8. Condiciones de trabajo para el análisis por cromatografía gaseosa.	54
Tabla Nº 9. Volúmenes de soluciones stock de electrolitos de fluidos simulados de digestión para un volumen de 400 ml diluidos con agua (concentraciones de 1.25x).	55
Tabla Nº 10. Evaluación de la calidad del boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) fresco. Método del Índice de la Calidad.	59
Tabla Nº 11. Rendimiento de los filetes de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) según su procedencia.	60
Tabla Nº 12. Composición centesimal de los filetes de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>).	60
Tabla Nº 13. Perfil de ácidos grasos de la pulpa cruda de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) en g/100 g de muestra.	61
Tabla Nº 14. Perfil de ácidos grasos del aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) crudo (g/100 g de muestra).	62
Tabla Nº 15. Perfil de ácidos grasos del aceite virgen de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (g/100 g de muestra).	63
Tabla Nº 16. Condiciones para la reticulación de las micropartículas coacervadas.	64
Tabla Nº 17. Composición centesimal de los materiales encapsulantes.	65
Tabla Nº 18. Composición centesimal hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) elaborada con aceite de menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulados.	67

Tabla Nº 19. Estabilidad oxidativa de hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>).	68
Tabla Nº 20. Ácidos grasos en hamburguesa cruda de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) microencapsulado (HAP) (g/100 g de muestra).	72
Tabla Nº 21. Ácidos grasos en hamburguesa cruda de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulado (g/100 g de muestra).	73
Tabla Nº 22. Contenido de EPA, DHA y ALA en hamburguesa cruda de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).	74
Tabla Nº 23. Ácidos grasos en muestras digeridas de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) microencapsulado (HAP) (g/100 g de muestra).	75
Tabla Nº 24. Ácidos grasos en muestras digeridas de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulado (HASI) (g/100 g de muestra).	77
Tabla Nº 25. EPA liberado durante la digestión <i>in vitro</i> en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).	78
Tabla Nº 26. DHA liberado durante la digestión <i>in vitro</i> en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).	79
Tabla Nº 27. ALA liberado durante la digestión <i>in vitro</i> en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).	80
Tabla Nº 28. Porcentaje bioaccesible de EPA, DHA y ALA en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia Tyrannus</i>) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulados.	82

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura Nº 1. Tracto gastrointestinal.	12
Figura Nº 2. Estructura química de la goma arábica.	22
Figura Nº 3. Estructura química de la gelatina.	23
Figura Nº 4. Estructura química de los ácidos grasos ALA, EPA y DHA.	34
Figura Nº 5. Procesamiento de la materia prima.	43
Figura Nº 6. Proceso de elaboración de hamburguesas de pescado.	45
Figura Nº 7. Diagrama de tiempo y flujo de la simulación de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> (INFOGEST 2.0). Tiempo esperado (izquierda) y las etapas correspondientes del proceso (derecha).	56
Figura Nº 8. Cosecha de boquichicos (<i>Prochilodus nigricans</i>).	58
Figura Nº 9. Proceso de obtención del aceite microencapsulado por el método de coacervación compleja.	64
Figura Nº 10. Micropartículas de aceite de menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>).	65
Figura Nº 11. Micropartículas de aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.).	66
Figura Nº 12. Índice de peróxido de hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) crudas elaboradas con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) y sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulados.	68
Figura Nº 13. Índice de peróxido de hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) cocidas elaboradas con aceite de menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) y sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) microencapsulados.	69
Figura Nº 14. Contenido de EPA, DHA y ALA en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) (HAP) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (HASI) microencapsulados. B: bucal, G: gástrica, I: intestinal.	74
Figura Nº 15. Liberación de EPA en la digestión <i>in vitro</i> de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) (HAP) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (HASI) microencapsulados.	78
Figura Nº 16. Liberación de DHA en la digestión <i>in vitro</i> de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia</i>	

<i>tyrannus</i>) (HAP) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (HASI) microencapsulados.	79
Figura Nº 17. Liberación de ALA en la digestión in vitro de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) (HAP) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (HASI) microencapsulados.	81
Figura Nº 18. Porcentaje bioaccesible de EPA, DHA y ALA en hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con aceite microencapsulado de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) (HAP) y de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) (HASI).	82

RESUMEN

El presente estudio se desarrolló en el Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la UNAP en el año 2022 y se centra en evaluar la bioaccesibilidad de los ácidos docosahexaenoico (DHA), eicosapentaenoico (EPA) y α -linolénico (ALA) en hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados. La estructura de las micropartículas fue modificada con enzima transglutaminasa y adicionadas a las hamburguesas. Los ácidos grasos DHA, EPA y ALA liberados durante la simulación gastrointestinal *in vitro* mostraron un comportamiento similar, la mayor cantidad liberada se observó en la etapa intestinal seguida de la etapa gástrica y bucal. Los porcentajes bioaccesibles de DHA, EPA y ALA en la hamburguesa enriquecida con aceite de pescado (HAP) fueron 44.04 ± 5.58 %, 50.54 ± 0.94 % y 30.56 ± 2.57 %, respectivamente y en la hamburguesa enriquecida con aceite de sachá inchi (HASI) fueron 31.01 ± 10.16 %, 41.64 ± 5.79 % y 35.40 ± 7.24 %, respectivamente. La hamburguesa HAP alcanza a suministrar la cantidad de EPA + DHA recomendada de consumo por día. Finalmente, se muestra la importancia de cuantificar la cantidad de EPA y DHA en el alimento enriquecido y también la cantidad bioaccesible de estos compuestos en la matriz alimenticia.

Palabras clave: Bioaccesibilidad, Microencapsulación, Omega-3, Aceite.

ABSTRACT

The present study was developed at the UNAP Natural Resources Research Center in 2022 and focuses on evaluating the bioaccessibility of docosahexaenoic (DHA), eicosapentaenoic (EPA) and α -linolenic (ALA) acids in hamburgers of boquichico (*Prochilodus nigricans*) made with microencapsulated oil from fish (*Brevoortia tyrannus*) and sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). The structure of the microparticles was modified with the enzyme transglutaminase and added to the hamburgers. DHA, EPA and ALA fatty acids released during *in vitro* gastrointestinal simulation showed a similar behavior, the highest amount released was observed in the intestinal stage followed by the gastric and buccal stage. The bioaccessible percentages of DHA, EPA and ALA in the burger enriched with fish oil (HAP) were 44.04 ± 5.58 %, 50.54 ± 0.94 % and 30.56 ± 2.57 %, respectively, and in the burger enriched with sachá inchi oil (HASI), were 31.01 ± 10.16 %, 41.64 ± 5.79 % and 35.40 ± 7.24 %, respectively. The HAP burger reaches the amount of EPA + DHA recommended for consumption per day. Finally, the importance of quantifying the amount of EPA and DHA in the fortified food and the bioaccessible amount of these compounds in the food matrix is shown.

Keywords: Bioaccessibility, Microencapsulation, Omega-3, Oil.

RESUMO

O presente estudo foi desenvolvido no Centro de Pesquisa de Recursos Naturais da UNAP em 2022 e tem como foco avaliar a bioacessibilidade dos ácidos docosahexaenóico (DHA), eicosapentaenóico (EPA) e α -linolênico (ALA) em hambúrgueres de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaborados com óleo de peixe menhaden microencapsulado (*Brevoortia tyrannus*) e sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). A estrutura das micropartículas foi modificada com a enzima transglutaminase e adicionada aos hambúrgueres. Os ácidos graxos DHA, EPA e ALA liberados durante a simulação gastrointestinal *in vitro* apresentaram comportamento semelhante, a maior quantidade liberada foi observada na fase intestinal seguida pelas fases gástrica e oral. As porcentagens bioacessíveis de DHA, EPA e ALA no hambúrguer enriquecido com óleo de peixe (HAP) foram 44.04 ± 5.58 %, 50.54 ± 0.94 % e 30.56 ± 2.57 %, respectivamente, e no hambúrguer enriquecido com óleo de sacha inchi (HASI) foram 31.01 ± 10.16 %, 41.64 ± 5.79 % e 35.40 ± 7.24 %, respectivamente. A hamburgueria HAP consegue fornecer a quantidade recomendada de EPA + DHA para consumo por dia. Por fim, mostra-se a importância de quantificar a quantidade de EPA e DHA no alimento enriquecido e também a quantidade bioacessível destes compostos na matriz alimentar.

Palavras chave: Bioacessibilidade, Microencapsulação, Ômega-3, Óleo.

INTRODUCCIÓN

La adición de compuestos bioactivos, como el ácido docosahexaenoico (DHA; C22:6n-3), el ácido eicosapentaenoico (EPA; C20:5n-3), y el ácido alfa linolénico (ALA; C18:3n-3) a los alimentos ha cobrado una importancia creciente en los últimos años¹⁻⁵. Esto se debe principalmente a los efectos beneficiosos de estos ácidos grasos⁶⁻¹⁰ que incluyen promover el desarrollo del cerebro, el hígado de los bebés y disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trastornos inflamatorios, tumores¹¹ y también al consumo insuficiente de alimentos que los contienen¹². Es por lo que, diferentes instituciones de salud han establecido recomendaciones dietéticas para la ingesta diaria de EPA más DHA y son aproximadamente de 0.25 a 0.50 g/día^{7,13-18} así mismo recomiendan la ingesta de ALA en 1.6 g/día (hombres) y 1.1 g/día (mujeres)¹⁹.

La carne y los productos cárnicos como las hamburguesas son alimentos que se aprecian porque son fuentes importantes de proteínas de alta calidad, así como de algunas vitaminas (especialmente vitamina B6 y B12) y minerales (hierro, selenio y zinc)²⁰. Sin embargo, estos productos a veces son cuestionados debido a su contenido graso, especialmente en relación con la proporción de ácidos grasos saturados (AGS) y al bajo contenido de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)^{5,21,22}.

Existen muchas investigaciones que han probado diferentes estrategias en productos cárnicos de gran aceptación para aumentar el contenido de DHA, EPA y ALA. Existen reportes sobre la incorporación de aceites de pescado, algas y aceites vegetales, a granel o emulsionados²³⁻²⁸. Sin embargo, una de las principales preocupaciones del enriquecimiento con AGPI omega-3 es su alta susceptibilidad a la oxidación²⁹, lo que implica una pérdida nutricional, rancidez inaceptable y mal olor, así como liberación de productos oxidados no saludables^{30,31} que en algunos casos no se puede evitar a pesar del uso de sustancias antioxidantes³²⁻³⁸. Otra de las preocupaciones importantes es la liberación de los AGPI omega-3 en los

intestinos durante el proceso digestivo que está en relación con la estabilidad que se requiere frente a las condiciones gástricas³⁹

Algunos investigadores están ensayando la adición de aceite de pescado y aceites vegetales microencapsulados con la finalidad de enriquecer productos cárnicos, no encontrándose efectos negativos marcados^{2,32,40-44}. El proceso de microencapsulación se basa en crear una barrera física entre los compuestos encapsulados y el medio ambiente, reduciendo el contacto y la reactividad con agua, oxígeno, hierro y otros promotores oxidantes^{37,38,45,46}. Se han utilizado diferentes tipos de microcápsulas de aceite de pescado y de aceites vegetales para enriquecer productos cárnicos⁴⁷⁻⁵¹. Existen estudios que han evaluado la influencia de la adición de microcápsulas de aceite de pescado y de aceites vegetales sobre la composición proximal de los productos enriquecidos, la estabilidad a la oxidación de los lípidos, los atributos sensoriales y solo algunas pocas investigaciones sobre el porcentaje bioaccesible de EPA y DHA^{2,41,52,53}. Sin embargo, no existe ninguna referencia sobre el porcentaje bioaccesible de DHA, EPA o ALA en hamburguesas de pescado.

Entre las diferentes tecnologías de microencapsulación que existen, la basada en la coacervación se está utilizando cada vez más en las industrias alimentaria y farmacéutica debido a su bajo costo, alta eficiencia de encapsulación, alta carga útil, condiciones de procesamiento suaves como el uso de bajas temperaturas además de conferir estabilidad oxidativa en el caso de encapsulación de lípidos⁵⁴. Cuando se desarrollan nuevos vehículos de compuestos lipídicos bioactivos, es necesario saber cuál es su comportamiento durante el proceso de digestión, así como su bioaccesibilidad. Estudiar la bioaccesibilidad de los componentes bioactivos que forman parte de una matriz alimenticia requiere del uso de un protocolo de digestión *in vitro* adecuado que permita simular de forma fiable la digestión humana. El modelo de digestión *in vitro* que actualmente se está empleando para este tipo estudios es el protocolo propuesto por INFOGEST 2.0⁵⁵.

Considerando todos estos aspectos, el presente trabajo plantea responder al siguiente problema de investigación: ¿Cuál es el porcentaje

bioaccesible de DHA, EPA y ALA presente en la hamburguesas de Boquichico (*Prochilodus nigricans*) bajas en sodio y enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados? y como objetivo determinar el porcentaje bioaccesible de los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) bajas en sodio elaboradas con aceite de pescado (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados por el método de coacervación compleja, de tal manera que se pueda probar la hipótesis de investigación que plantea que existe un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA contenidos en la hamburguesa de boquichico (*Prochilodus Nigricans*) bajas en sodio enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.

La justificación del presente trabajo de investigación radica en que, si se desarrolla un alimento enriquecido, no basta con agregar a la matriz alimenticia un nutriente o sustancia que aumente su valor nutricional y sus propiedades beneficiosas para la salud, sino que es necesario conocer que porcentaje de esos nutrientes se libera en el proceso digestivo (bioaccesibilidad) para estar disponibles posteriormente en el torrente sanguíneo (biodisponibilidad). Los resultados del presente trabajo tienen gran relevancia puesto que en la actualidad existe un gran interés a nivel global en la industria y en la comunidad científica de producir alimentos funcionales dado que los consumidores están cada día más interesados en cuidar su salud y en consumir alimentos saludables.

La producción de hamburguesas de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con DHA, EPA y ALA se constituyen en una propuesta que pueden ser aprovechada tanto por el sector público como por el sector privado para establecer una industria sustentable que permita estimular la producción piscícola en la Región Loreto, dar uso a su gran infraestructura no aprovechada y poner en valor la crianza comercial de peces amazónicos.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes.

Incorporar elementos bioactivos en los alimentos procesados como parte de su composición no garantiza que estarán disponibles para que el organismo los metabolice. Durante el proceso de digestión, un porcentaje de los nutrientes se liberan de la matriz alimenticia para ser absorbidos (bioaccesibilidad) y pasar al torrente sanguíneo donde finalmente, una parte de la fracción bioaccesible, será aprovechada en las diferentes funciones del organismo (biodisponibilidad).

Los nutrientes estudiados en el presente trabajo de investigación son los ácidos grasos poliinsaturados ácido docosapentaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido α -linolénico (ALA) provenientes de los aceites microencapsulados de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y de la propia pulpa del pescado que se ha utilizado para la elaboración de las hamburguesas. Algunos antecedentes de las fuentes y beneficios de estos ácidos grasos se detallan a continuación.

Un primer aspecto que se debe tomar en consideración desde el punto de vista de la nutrición es que, si bien es cierto que el pescado es una de las fuentes principales de ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA, con sólo ingerir este tipo de alimento no es posible alcanzar el nivel mínimo de ingesta recomendado. Una forma fácil de incrementar la cantidad que se debe ingerir de ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA es mediante el uso de suplementos constituidos por aceites de pescado ahora disponibles como aceite de pescado purificado o concentrado⁵⁶. Sin embargo, otro aspecto a considerar es que, al enriquecer productos alimenticios con aceite de pescado, tiene el inconveniente de que son susceptibles a la oxidación⁵⁷ lo que a su vez genera productos oxidados no saludables, rancidez, pérdida nutricional y mal sabor en el producto⁵⁸. Por consiguiente, se han evaluado diferentes estrategias para enriquecer

la carne, productos cárnicos y otros alimentos con ácidos grasos poliinsaturados y se ha determinado que la técnica de microencapsulación es una de las más apropiadas^{2,39-44,47,52,59-64}.

Se ha evaluado la bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA y DHA en dos tipos de microcápsulas de aceite de pescado tanto como producto puro y agregado a dos tipos de productos cárnicos. Para producir las microcápsulas se utilizó como encapsulante lecitina–maltodextrina (LM) y lecitina + quitosano–maltodextrina (LQM) respectivamente. Los productos cárnicos fueron elaborados con carne de cerdo picada (65%), grasa abdominal picada (15%), agua (20%), sal (20 g/kg) y las micropartículas correspondientes para el caso de los productos enriquecidos. La mezcla fue amasada en un equipo Thermomix, se introdujo en tubos Falcon de 50 mL, se coció en un baño de agua a 80 °C por 15 minutos (CC), el otro producto se elaboró con carne de cerdo picada (87%), grasa abdominal picada (13%), sal (20 g/kg) y las micropartículas correspondientes para el caso de los productos enriquecidos, la mezcla también se amasó utilizando un equipo Thermomix, se colocó en tubos Falcon de 50 mL y se sometió a un proceso de curado en seco a 15 °C y 80% de humedad relativa durante 12 días (CS). En ambos sistemas, la cantidad de LM y LQM añadida fue de 3 y 5 g, respectivamente, por 100 g de masa. Este estudio demostró que el mayor porcentaje de EPA y DHA liberado durante la digestión *in vitro* se encontró en CC-LM, seguido de CC-LQM, LQM y LM, y CS-LQM y CS-LM. Así, se determinó que las características de las microcápsulas y del tipo de producto cárnico influyen tanto en el enriquecimiento como en la bioaccesibilidad de EPA y DHA⁵³.

En un trabajo de investigación se estudió la composición lipídica (Tabla Nº 1) y la bioaccesibilidad en sardinas (*Sardina pilchardus*) y en jurel (*Scomber japonicus*) en conserva, encontrando que la bioaccesibilidad dependía de la especie del pescado enlatado, observando que los niveles de bioaccesibilidad de los lípidos y los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 EPA y DHA eran mayores en sardina que en jurel. Concluyeron además que, el consumo diario de 278 g de jurel en lata o

47 g de sardina en lata garantizaría la ingesta recomendada de EPA + DHA por día⁶⁵.

Tabla № 1. Contenido de grasa (% de peso húmedo) y perfil de ácido graso (en % de ácidos grasos totales y en mg/100 g de peso húmedo) de los filetes de jurel (*Scomber japonicus*) y sardina (*Sardina pilchardus*) en conserva.

Grasa total	Jurel enlatado (% peso húmedo)		Sardina enlatada (% peso húmedo)	
Grasa	4.8 ± 0.0		12.5 ± 0.0	
Ácido graso	Jurel enlatado		Sardina enlatada	
	(%)	(mg/100g)	(%)	(mg/100 g)
14:0	0.7 ± 0.0 ^{aa}	29 ± 0	3.7 ± 0.0 ^{ba}	431 ± 4
16:0	12.7 ± 0.1 ^{aa}	548 ± 3	16.5 ± 0.1 ^{ba}	1900 ± 16
18:0	4.3 ± 0.1 ^{aa}	187 ± 2	4.0 ± 0.0 ^{ba}	643 ± 3
ΣAGS	19.0 ± 0.2 ^{aa}	823 ± 7	25.9 ± 5.7 ^{ba}	2979 ± 17
16:1 ω7	1.3 ± 0.0 ^{aa}	57 ± 1	4.3 ± 0.0 ^{ba}	494 ± 4
18:1 ω9	55.9 ± 0.2 ^{aa}	2422 ± 9	35.2 ± 0.2 ^{ba}	4051 ± 22
20:1 ω11	0.1 ± 0.0 ^{aa}	4 ± 0	0.3 ± 0.0 ^{ba}	31 ± 4
ΣAGMI	58.7 ± 0.6 ^{aa}	2543 ± 27	42.7 ± 5.8 ^{ba}	4915 ± 23
18:2 ω6	7.4 ± 0.1 ^{aa}	318 ± 3	3.1 ± 0.0 ^{ba}	353 ± 0
20:4 ω6	0.6 ± 0.0 ^{aa}	25 ± 0	0.9 ± 0.0 ^{ba}	107 ± 1
18:3 ω3	0.6 ± 0.0 ^{aa}	27 ± 1	0.4 ± 0.0 ^{ba}	51 ± 0
18:4 ω3	0.3 ± 0.0 ^{aa}	14 ± 1	0.9 ± 0.0 ^{ba}	99 ± 0
20:4 ω3	0.1 ± 0.0 ^{aa}	6 ± 0	0.6 ± 0.0 ^{ba}	69 ± 0
20:4 ω3	0.1 ± 0.0 ^{aa}	6 ± 0	0.6 ± 0.0 ^{ba}	69 ± 0
20:5 ω3	2.3 ± 0.0 ^{aa}	100 ± 2	10.9 ± 0.0 ^{ba}	1252 ± 5
22:5 ω3	0.4 ± 0.0 ^{aa}	19 ± 0	1.9 ± 0.0 ^{ba}	223 ± 2
22:6 ω3	7.8 ± 0.1 ^{aa}	338 ± 4	5.0 ± 0.1 ^{ba}	575 ± 6
ΣAGPI	20.7 ± 0.2 ^{aa}	893 ± 10	27.4 ± 6.1 ^{ba}	3156 ± 15
Σ ω3	11.9 ± 0.2 ^{aa}	514 ± 8	21.4 ± 6.5 ^{ba}	2461 ± 15
Σ ω6	8.4 ± 0.1 ^{aa}	363 ± 3	4.4 ± 2.4 ^{ba}	502 ± 1
Σ ω3/Σ ω6	1.42 ± 0.01 ^{aa}	1.42 ± 0.01	4.9 ± 0.02 ^{ba}	490 ± 0.02

Fuente: García et al.⁶⁵

En otro estudio se investigó mediante un modelo de digestión *in vitro*, los efectos del nivel de grasa, proteínas y otros componentes en la bioaccesibilidad de los lípidos, la bioaccesibilidad de los lípidos totales y los ácidos grasos particulares de las muestras de peces con diferentes niveles de grasa (5.4% p/p, 10.2% p/p, y 16.6% p/p) y el suplemento de aceite de hígado de bacalao en diferentes cantidades (82, 154, 313, 604 y 1027 mg). Se encontró que la digestión de las muestras de pescado y aceite (hasta 154 mg) medida por la desaparición de triacilglicerol (TAG) fue completa. La lipólisis se vio afectada por altas cantidades de aceite (≥ 313 mg). Los perfiles de ácidos grasos bioaccesibles tenían similitudes con los perfiles de ácidos grasos iniciales (antes de la digestión). Sin embargo, los contenidos totales de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácido oleico fueron mayores en la fracción bioaccesible. La bioaccesibilidad de EPA y DHA fue generalmente menor que la del ácido oleico y los AGMI total. El nivel de grasa no afectó la bioaccesibilidad de los ácidos grasos. Por otro lado, las proteínas y otros componentes pueden haber interferido en la bioaccesibilidad de los lípidos y se descubrió que la reducción de la bioaccesibilidad era mayor cuando la proporción de la fracción de lípidos a la fracción no-lipídica (principalmente proteína) era menor⁶⁶.

Se ha comparado la bioaccesibilidad del EPA en las formas de monoacilglicerol (EPA-MAG), triacilglicerol (EPA-TAG) y fosfolípidos (EPA-FL) durante el paso gastrointestinal utilizando un modelo gastrointestinal dinámico (sistema MGD). El sistema MGD simuló las condiciones promedio del tracto gastrointestinal superior de adultos humanos sanos después de la ingesta de una comida (condiciones de estado alimentado). En este estudio, los tres aceites ricos en EPA se homogeneizaron por separado con leche entera para obtener emulsiones de aceite en agua. Se añadió yogur natural a la mezcla en una relación emulsión/yogur de 4:1 (p/p) como matriz alimenticia de los productos de prueba. Los resultados mostraron que las comidas de prueba que contienen EPA-FL abandonaron el compartimento del estómago de manera más eficiente en comparación con el vaciado gástrico de

EPA-MAG y EPA-TAG. Los FL también mostraron una significancia mayor ($P < 0.05$) de bioaccesibilidad de EPA (75–80%) en comparación con MAG (30%) y TAG (38%). Los resultados de este trabajo indicaron que EPA-FL es una forma más efectiva de EPA para una mayor bioaccesibilidad de lípidos que MAG y TAG en las condiciones de prueba⁶⁷.

Se ha estudiado la bioaccesibilidad de DHA en fórmulas infantiles y en leches para niños en edad preescolar⁶⁸. Se utilizaron para este estudio, cuatro muestras comercialmente disponibles en el mercado brasileño, dos fórmulas infantiles y dos leches para niños en edad preescolar, todas con etiquetas que indican que contienen DHA. La digestión *in vitro* de todas las muestras se realizó de acuerdo con el protocolo Infogest 2.0⁶⁹, a parte se hizo la digestión de las fórmulas infantiles, utilizando el método descrito por Ménard et al.⁷⁰ que es específico para simular la digestión de lactantes de 0 a 6 meses de edad, este método no incluye la fase oral, y fue modificado mediante el uso de los fluidos simulados descritos por Infogest 2.0⁶⁹. Los resultados respecto a digestión simulada de las muestras de las fórmulas infantiles reportaron que el contenido de DHA bioaccesible para absorción (Tabla № 2) fue el mismo en las dos muestras ($p \geq 0.05$), sin embargo, estos valores fueron menores cuando las muestras fueron sometidas al protocolo Infogest 2.0, que no es específico para lactantes.

Tabla № 2. Contenido bioaccesible de DHA y bioaccesibilidad en fórmula para infantes.

Muestra	Contenido de DHA (mg/100 g de polvo)		Bioaccesibilidad %	
	Ménard et al.*	Infogest 2.0**	Ménard et al.*	Infogest 2.0*
Fórmula infantil 1 (8 mg DHA/100 mL)	7.39±0.28 ^{aA}	9.81±0.30 ^{aB}	9.1±0.2 ^{aA}	12.1±0.3 ^{aB}
Fórmula infantil 2 (11 mg DHA/100 mL)	7.23±0.33 ^{aA}	8.20±0.41 ^{bB}	8.9±0.3 ^{aA}	10.1±0.6 ^{bB}

Los valores son la media (\pm) la desviación estándar. La misma letra minúscula en la misma columna no representa una diferencia significativa entre las muestras a un nivel del 95% ($p \geq 0.05$). Letras mayúsculas diferentes en la misma fila representa una diferencia significativa entre los métodos de digestión *in vitro* a un nivel de 95% ($p \geq 0.05$). * Digestión *in vitro* según Ménard et al.⁷⁰ ** Digestión *in vitro* según Infogest 2.0⁶⁹.

Al usar el protocolo INFOGEST 2.0⁵⁵, la fórmula infantil 1, mostró un contenido significativamente mayor de DHA bioaccesible que la fórmula infantil 2, a pesar de la presencia de fosfolípidos de huevo adicionales en la fórmula infantil 2, ingrediente que supuestamente podría mejorar la bioaccesibilidad de DHA. En consecuencia, la bioaccesibilidad del DHA de las fórmulas infantiles siguió la misma tendencia (Tabla № 2), siendo en promedio 9.0% cuando las muestras fueron digeridas por la digestión simulada específica para infantes.

Tabla № 3. Contenido bioaccesible de DHA y bioaccesibilidad en leche infantil preescolar.

Muestra	Contenido de DHA (mg/100 g de polvo) *	Bioaccesibilidad (%) *
Leche infantil preescolar 1	9.22±0.69 ^a	6.9±0.5 ^a
Leche infantil preescolar 2	9.37±0.53 ^a	7.2±0.4 ^a

Los valores son la media (±) desviación estándar. La misma letra minúscula en la misma columna no representa una diferencia significativa entre las muestras a un nivel del 95% ($p \geq 0,05$). * Digestión *in vitro* según Infogest 2.0⁶⁹.

El contenido de DHA bioaccesible (Tabla № 3) fue el mismo en la leche infantil 1 y la leche infantil 2 ($p > 0.05$), así como la bioaccesibilidad de DHA que fue en promedio 7.1%, indicando que ambos productos tienen la misma cantidad de DHA disponible para absorción.

En otro estudio, se midió la bioaccesibilidad de EPA + DHA en micropartículas y nanopartículas lipídicas cargadas con aceite de pescado menhaden preparadas mediante atomización y expandidas con CO₂. Se realizó un proceso de digestión secuencial *in vitro* según el método de Minekus et al.⁷¹ y Ubeyitogullari et al.⁷² con ligeras modificaciones. Las muestras estudiadas fueron, aceite de pescado crudo, mezcla de aceite de soya totalmente hidrolizadas a granel con aceite de pescado crudo, mezcla física de micropartículas lipídicas sólidas huecas vacías con aceite de pescado crudo y micropartículas cargadas de aceite de pescado. Como resultado se obtuvo que las partículas cargadas de aceite de pescado

tuvieron la mayor bioaccesibilidad de EPA + DHA ($18.2 \pm 1.3 \%$), seguido de la mezcla física de partículas vacías y aceite de pescado ($14,0 \pm 0,4 \%$) y aceite de pescado crudo ($9.7 \pm 0,4 \%$), siendo la mezcla física de aceite de soya totalmente hidrogenado a granel y aceite de pescado la más baja ($5,0 \pm 0,3 \%$)⁷³.

La literatura sugiere que debe tenerse en cuenta que la cantidad absorbible de un compuesto en el tracto gastrointestinal no se predice con precisión al determinar su contenido total en el producto. Esto es de suma importancia, ya que algunos nutrientes relevantes podrían no ser absorbidos por el organismo. Como se indicó inicialmente la bioaccesibilidad corresponde a la parte del contenido inicial que se libera de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal. Como resultado de otro estudio se encontró, que para EPA y DHA, los porcentajes de bioaccesibilidad fueron bajos, nunca superando el 50% en corvina (*Argyrosomus regius*) magro crudo, hervido y asado⁷⁴. Este porcentaje de los nutrientes está disponible para la absorción intestinal, pero eso no significa que se absorba en su totalidad de manera efectiva.

En cuanto a las fuentes vegetales de ácidos grasos omega-3, un estudio evaluó la estabilidad y el perfil de liberación de aceite de soya aplicando la técnica de microencapsulación por spray-dried y como agentes encapsulantes utilizaron maltodextrina (MD), quitosano (QS) y conjugados covalentes quitosano - epigalocatequina-3-galato (QSEG). Luego las microcápsulas fueron sometidas a una simulación de la digestión *in vitro* observándose que las microcápsulas que más retrasaron la liberación del aceite fueron las correspondientes a la conjugación MD – QSEG seguida de MD – QS y MD.

Otra experiencia reciente es el estudio del efecto de diferentes métodos de incorporación del aceite de linaza sobre la bioaccesibilidad de ácido α -linolénico (ALA) en salchichas de pollo⁷⁵. En este estudio se evaluó el efecto de la adición de: aceite de forma directa (O); aceite emulsionado (E); aceite encapsulado liofilizado (F); aceite encapsulado liofilizado reticulado con genipina (G); aceite encapsulado atomizado (S). Se utilizó

un modelo de digestión *in vitro* basado en los métodos de Minekus et al.⁷¹; Tobin, O'Sullivan, Hamill y Kenry⁷⁶ y Grasso, Harrison, Monahan, Brayden y Brunton⁷⁷ para evaluar la bioaccesibilidad del ALA en las salchichas y como resultado se encontró que estaba entre 19.2 y 33.2 % (O: 22.6 %, E: 26.5 %, F: 33.2 %, G: 32.1 %, S: 19.2 %, EEM = 2.05), observándose que la mayor parte del ALA se liberó en la fase intestinal. Se concluyó que la bioaccesibilidad de ALA en salchichas de pollo depende del método de incorporación del aceite y por lo tanto debe ser considerado en la elaboración de productos cárnicos fortificados con ácidos grasos omega-3.

Un evento importante para el presente estudio sucedió en el mes de abril de 2019, en esta fecha se celebró en Granada (España) la VI Conferencia Internacional sobre Digestión de Alimentos, en el que se presentó la nueva versión del modelo de digestión *in vitro* INFOGEST 2.0 publicado el 18 de marzo de 2019 en la revista Nature Protocols⁷⁸. La red internacional INFOGEST está compuesta por más de 400 investigadores de 44 países con el propósito obtener mejoras en las propiedades saludables de los alimentos mediante el intercambio de conocimientos sobre los procesos de digestión. Los investigadores durante muchos años han dedicado esfuerzos para conseguir simular la digestión de los alimentos *in vitro*. Hasta ese entonces, existían más de 130 protocolos de investigación que hacían imposible la comparación de los resultados por los grupos de investigadores internacionales.

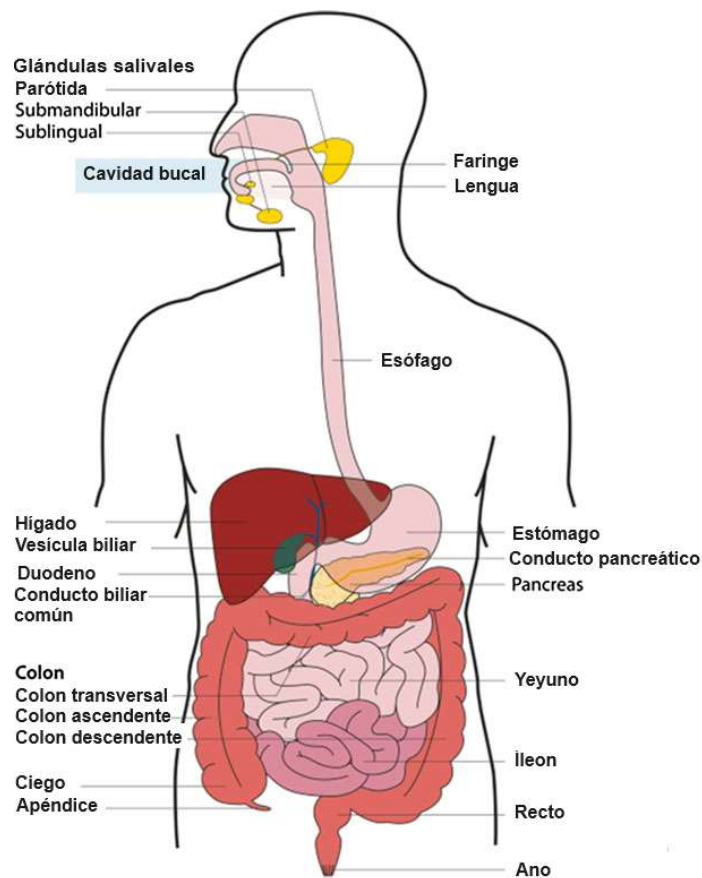
En el 2014, INFOGEST propuso el primer modelo armonizado de digestión estática *in vitro* y desde su publicación este método se ha utilizado ampliamente en todo el mundo. Con la nueva versión del modelo (INFOGEST 2.0) publicado bajo la coordinación de André Brodkorb se aclaró una serie de aspectos del protocolo original. Este método se convirtió, entonces, en el estándar académico e industrial para simular la digestión de los alimentos. Ha sido validado en varios ensayos *in vivo* y simula de forma realista la digestión gastrointestinal de los alimentos además que ha sido diseñado para su uso con equipos de laboratorio estándar, es económico y sencillo de implementar.

1.2. Bases teóricas.

1.2.1. Digestión y absorción.

El tracto gastrointestinal representa la interfaz más grande entre nuestro cuerpo y el medio ambiente, cuando funciona correctamente, absorbe nutrientes al tiempo que brinda protección contra componentes dañinos. Según la definición más amplia, el tracto gastrointestinal se extiende desde la boca hasta el ano y puede dividirse en los tractos superior e inferior. El tracto superior consiste en la cavidad oral, el esófago, el estómago, el duodeno, el yeyuno y el íleon. Los tres últimos juntos representan el intestino delgado. El tracto inferior comprende el intestino grueso que consiste en el ciego, el colon, el recto y el canal anal (Figura Nº 1).

Figura Nº 1. Tracto gastrointestinal.



Fuente: Verhoeckx K. et al⁷⁹

Cada parte del tracto gastrointestinal tiene su propia función en el proceso de digestión de los alimentos. La boca es responsable de la masticación y la mezcla de los alimentos con la saliva, la misma que contiene una variedad compleja de componentes, incluida la amilasa, que es una enzima cuya acción cataliza la hidrólisis del almidón en azúcares. Después de la formación de un bolo alimenticio, la comida se transporta vía el esófago hasta el estómago, donde se procesa más.

El bolo alimenticio se entremezcla con enzimas como la proteasa y la lipasa, que descomponen las proteínas y los lípidos, respectivamente. El ácido también se secreta en el estómago y esto disminuirá gradualmente el pH del contenido y ayudará a la hidrólisis. El bolo alimenticio se descompone en quimo, que se transporta gradualmente al intestino delgado. En el duodeno, el pH bajo del estómago es neutralizado por el bicarbonato y los jugos digestivos del páncreas (enzimas digestivas como la tripsina y la quimotripsina) y la vesícula biliar (ácidos biliares). Las enzimas digestivas descomponen aún más las proteínas, los lípidos y el almidón, mientras que los ácidos biliares ayudan a emulsionar los productos de la hidrólisis lipídica en micelas^{80,81}.

La etapa final en la digestión de los carbohidratos y las proteínas de la dieta ocurre directamente en la superficie de los enterocitos del intestino delgado por las enzimas del borde estriado⁸². Estas enzimas, que incluyen maltasa, sacarosa-isomaltasa, lactasa y peptidasas, son proteínas integrales de membrana que están presentes en los enterocitos. Los nutrientes producidos son absorbidos principalmente por los enterocitos del yeyuno y, en menor medida, en el íleon⁸³. Una de las funciones principales del intestino grueso es la absorción de agua. Además, aunque se sabe que el tracto gastrointestinal contiene una gran población microbiana, la concentración de esta población es mayor en el intestino grueso. Muchos de estos microorganismos contribuyen a la digestión de los componentes de los alimentos, incluidos los prebióticos como los polisacáridos complejos que no pueden ser digeridos por enzimas

humanas⁸⁴. Después de la absorción de nutrientes por los enterocitos, los compuestos, especialmente los péptidos, pueden degradarse aún más por las proteasas intracelulares antes de que ingresen al torrente sanguíneo o al sistema linfático. Los nutrientes solubles en agua se liberan principalmente en el torrente sanguíneo y terminan en el hígado a través de la vena porta hepática. Los nutrientes solubles en grasa se transportan a la linfa después del ensamblaje en quilomicrones. Después del reprocesamiento, estos compuestos también terminan en la sangre⁸³.

1.2.2. Bioaccesibilidad de nutrientes.

Parte de los nutrientes contenidos en las matrices de alimentos se extraen a través del tracto gastrointestinal y están disponibles para absorción en el intestino⁸⁵. Determinar el porcentaje bioaccesible de un nutriente o bioactivo nos permite evaluar el potencial nutricional de cualquier alimento. Un estudio de bioaccesibilidad requiere la utilización de un modelo de digestión *in vitro* que simule de manera adecuada el proceso de digestión humana. Entre las ventajas de los métodos *in vitro* se encuentran su rapidez y su bajo costo; no obstante, es importante tomar con sumo cuidado los resultados obtenidos. En el desarrollo de alimentos funcionales o nutracéuticos las industrias, farmacéutica, parafarmacia y las industrias alimentarias cada día más se apoyan en las tecnologías que utilizan modelos de digestión *in vitro*, que permiten simular la digestión gastrointestinal e incluso complementar con algunos cultivos celulares que simulan nuestras células, para luego evaluar la biodisponibilidad de un determinado compuesto activo⁸⁶.

1.2.3. Simulación gastrointestinal *in vitro*.

El método de simulación *in vitro* que se utiliza para determinar la bioaccesibilidad de los nutrientes presentes en la carne de pescado, se basa en un protocolo estandarizado que ha sido consensuado internacionalmente por la red COST INFOGEST para la simulación del proceso gastrointestinal, en el cual se consideran las tres etapas de la digestión: oral, gástrica e intestinal^{69,87}. El método está diseñado para

usarse con equipo de laboratorio estándar y requiere una experiencia mínima para implementarlo. Es un método de digestión estática que utiliza proporciones constantes de alimento que se mezclan con fluidos digestivos a un pH constante en cada etapa de la digestión. Esto hace que el método sea simple de usar, aunque no adecuado para simular la cinética de la digestión.

Con este método, las muestras de alimentos se someten a una digestión secuencial oral, gástrica e intestinal, mientras que parámetros tales como electrolitos, enzimas, bilis, dilución, pH y tiempo de digestión se trabajan basados en los datos fisiológicos disponibles. Este método de digestión modificado y mejorado (INFOGEST 2.0) evita los desafíos asociados con el método original, como la inclusión de la fase oral y el uso de la lipasa gástrica. El método se puede utilizar para evaluar los puntos finales resultantes de la digestión de los alimentos mediante el análisis de los productos de la digestión (por ejemplo, péptidos/aminoácidos, ácidos grasos, azúcares simples) y evaluar la liberación de micronutrientes de la matriz alimentaria. Todo el protocolo se puede completar en aproximadamente siete días, incluidos aproximadamente cinco días necesarios para la determinación de las actividades enzimáticas.

1.2.4. Microencapsulación.

La microencapsulación es una tecnología que sirve para proporcionar un recubrimiento a compuestos que pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos, utilizando diferentes tipos de materiales poliméricos. A partir de esta técnica, se pueden alterar las propiedades coloidales y de superficie de ciertos materiales, de tal manera que sean capaces de proporcionar protección a los compuestos microencapsulados de los efectos del ambiente y además controlar su liberación en el proceso digestivo y su consiguiente biodisponibilidad⁸⁸.

Las micropartículas nos dan la posibilidad encapsular, proteger y liberar componentes bioactivos, que incluyen fármacos, suplementos alimenticios y compuestos nutraceuticos. La retención y liberación de los

componentes bioactivos microencapsulados depende de ciertas características como el tamaño de poro de la micropartícula, así como, las interacciones atractiva o repulsiva entre los bioactivos y los polímeros⁸⁹.

Las micropartículas de microgel destinadas a la ingestión oral, es uno de los mecanismos más comunes utilizados para la liberación de bioactivos es la digestión enzimática de la red de biopolímeros. Las micropartículas de microgel fabricadas a partir de proteínas pueden ser digeridas por proteasas en el estómago o en el intestino delgado⁹⁰, mientras que las fabricadas a partir de almidones pueden ser digeridas por amilasas en la boca, el estómago o el intestino delgado⁹¹.

Los microgeles se han utilizado para encapsular los lípidos enriquecidos en gotitas de curcumina⁹². Los microgeles de carragenina tienen estructuras relativamente frágiles que se deforman fácilmente y se alteran en el tracto gastrointestinal, liberando así las gotas de lípidos cargadas de curcumina. En cambio, microgeles de alginato tienen una estructura más robusta y retienen las gotas de lípidos en todo el tracto gastrointestinal. La bioaccesibilidad de la curcumina es por lo tanto considerablemente mayor cuando se encapsula en microgel de carragenina que en los de alginato. En consecuencia, diferentes tipos de microgeles pueden ser utilizados para obtener diferentes características de retención y liberación. El impacto del tipo de alginato, la adición de inulina y dimensiones del cordón en la encapsulación y liberación de polifenoles bioactivos ha sido recientemente examinados⁹³.

1.2.5. Aplicaciones en la industria alimentaria.

La microencapsulación ha permitido resolver diversos problemas en relación con el uso de ingredientes y aditivos alimenticios, dándonos la posibilidad de manipular el producto, controlar la liberación de los componentes bioactivos, enmascarar sabores, limitar el uso de saborizantes, así como reducir la volatilidad, higroscopicidad y reactividad con el ambiente externo, favoreciendo su estabilidad^{94,95}.

El uso cada vez mayor de la técnica de microencapsulación en la industria de los alimentos abre mayores posibilidades de aplicación utilizando materiales como aceites poliinsaturados, enzimas, microorganismos, vitaminas, colorantes, sales, aminoácidos y aceites esenciales. Algunas de sus aplicaciones están relacionadas con la protección de los compuestos aromáticos, que se pueden perder por evaporación, oxidación o por la interacción con otros compuestos, dando la posibilidad de una liberación controlada de éstos⁹⁶. Diversos estudios revelan una importante expansión del mercado de la microencapsulación en alimentos, impulsado por el cambio de hábitos alimentarios, por la creciente demanda por innovaciones tecnológicas y búsqueda de compuestos bioactivos y funcionales, además de la creciente preocupación por la preservación de los alimentos⁹⁷.

Se presenta un importante desafío en la identificación de matrices alimenticias que se puedan fabricar con materiales de grado alimenticio como son las proteínas y los polisacáridos, con aplicación de métodos de fabricación económicamente viables, que garanticen que las micropartículas mantengan su funcionalidad en los productos alimenticios y también en el paso por el tracto gastrointestinal humano⁹⁸.

1.2.6. Técnicas de microencapsulación.

La microencapsulación es una técnica que se lleva a cabo a través del desarrollo de ciertos procesos físicos o mecánicos como son la co-cristalización, secado congelamiento/enfriamiento, extrusión y el secado por aspersion, siendo ésta la más importante y utilizada en la industria alimentaria. También puede llevar a cabo a través de procesos químicos entre los cuales se encuentran la gelificación iónica, coacervación, incompatibilidad polimérica, polimerización interfacial, atrapamiento en liposomas e inclusión molecular⁹⁹.

1.2.7. Coacervación.

La coacervación es una técnica que tiene relación con la formación de una capa homogénea polimérica alrededor de un material llamado núcleo. Es un término que deriva de la palabra en latín coacervare, cuyo significado es “reunir o agrupar”. Un coacervado es una pequeña gota esférica compuesta de moléculas orgánicas diversas, que se mantiene unida por fuerzas hidrofóbicas y cuyos tamaños varían de 1 a 100 μm ¹⁰⁰. En función del número de polímeros presentes el proceso puede denominarse coacervación simple cuando sólo está involucrado un tipo de polímero o coacervación compleja cuando están presentes dos o más tipos de polímeros de cargas iónicas opuestas¹⁰¹.

Coacervación simple. La coacervación simple es un proceso en la que la adición de una sustancia inductora reduce la hidratación de una solución coloidal hidrofílica, dando como resultado la formación de dos fases, una de ellas es rica en moléculas coloidales (coacervado) y la otra contiene una pobre concentración de ellos^{102,103}. En el caso de la coacervación simple, únicamente está involucrado un polímero, siendo el más utilizado la gelatina, dado que es ideal para este tipo de proceso ya que es un polianfolito, que presenta cargas positivas y negativas constituyendo aproximadamente el 22 % de la longitud de la cadena del colágeno desnaturalizado¹⁰⁴.

Generalmente, el sulfato de sodio o el etanol funcionan como inductores y promueven la coacervación a través de la neutralización secuencial de la auto carga de moléculas de gelatina que son en su mayoría intermoleculares. Por ejemplo, cuando el sulfato de sodio se agrega gradualmente a una solución de gelatina en agitación, se forma un coacervado¹⁰³.

Coacervación compleja. La coacervación compleja es un método en el que una solución se separa en una fase con gran densidad de polímeros y otra fase con una concentración pobre de polímeros. Uno de los coloides suele ser gelatina o proteínas de suero, mientras que el otro

es un coloide con carga opuesta, como la goma arábica, el polifosfato de sodio o la carboximetilcelulosa. La coacervación se inicia haciendo una emulsión de gotitas de aceite en la solución coloidal acuosa. Disminuyendo el pH, se obtiene la separación de fases de la solución, una de las fases tendrá una alta concentración de polímeros y la otra será pobre en polímeros, luego los polímeros precipitan junto con las gotitas de aceite. Debido a que la reacción es reversible y los polímeros se disuelven nuevamente si se aumenta el pH, podría ser necesario endurecer las capas de polímero. Esto se puede lograr mediante tratamiento térmico y, en consecuencia, la desnaturalización de la gelatina proteica, o también mediante el entrecruzamiento de las cadenas proteicas con glutaraldehído o transglutaminasa¹⁰¹.

1.2.8. Reticulación enzimática con transglutaminasa

La reticulación es un proceso de unión química donde las cadenas de dos o más moléculas que conforman los biopolímeros se unen entre sí por medio de enlaces covalentes, teniendo como resultado de esta unión el aumento de la masa molecular del polímero. Es una etapa clave en el proceso de obtención de las micropartículas ya que las uniones que forman estos enlaces covalentes son estables mecánica y térmicamente, es decir, que una vez que se han formado son difíciles de romper. Si se consigue una buena reticulación de las micropartículas se puede conseguir que estas tengan una buena estabilidad y no se desestabilicen fácilmente. La reticulación ha sido utilizada para alterar propiedades de barrera de las paredes de las micropartículas favoreciendo el control de liberación del componente activo encapsulado. Generalmente son reticulaciones proteicas y se refiere a la formación de enlaces covalentes en la propia cadena de polipéptidos intramoleculares o intermoleculares^{105,106}.

Entre los grupos presentes de las proteínas los residuos de las aminas usualmente están expuestos y son muy reactivos sin haberles dado ningún tipo de una activación previa. Por eso muchos agentes reticulantes son formulados específicamente para atacar estos grupos. La gelatina por ejemplo contiene aproximadamente 33 grupos aminos y 120

grupos de ácidos carboxílicos en una molécula ideal de 100 kDa compuesta de 1000 residuos de aminoácidos¹⁰⁷.

Fueron estudiados los efectos de los agentes reticulantes transglutaminasa, formaldehído y glioxal sobre las propiedades de barrera de las moléculas de gelatina reticuladas, los resultados mostraron reducción de 20% de la solubilidad para todas las membranas reticuladas, en cuanto a la reducción de la permeabilidad o vapor de agua fue mayor para la membrana reticulada con transglutaminasa. Por otro lado, la mejora de las propiedades mecánicas de las membranas fue observada solamente para la membrana reticulada con formaldehído. Utilizaron reticulación con transglutaminasa a partir de hidrolizados proteicos observando que el sistema no fue adecuado para producir buenas membranas. La acción de la enzima sobre las membranas incremento la resistencia a la permeabilidad al vapor de agua¹⁰⁸.

Enzima transglutaminasa. La enzima transglutaminasa cataliza la reticulación entre los grupos γ -carboxiamida de residuos de la glutamina y los grupos ϵ -amino de residuos de lisina en cadenas polipeptídicas, produciendo enlaces de ϵ -(γ -glutamil) de lisina (G-L). Al formar una estructura de red en la proteína a través de enlaces G-L, es posible aumentar la viscosidad de las soluciones de proteínas o provocar la gelificación. Han pasado casi treinta años desde que la transglutaminasa microbiana (TGM) apareció en el mercado de enzima alimentaria. Desde el inicio de la investigación y desarrollo, TGM se ha utilizado en productos pesqueros como kamaboko (pasta de pescado hervida), productos de carne como salchichas, productos lácteos como yogur, productos de soja procesada como tofu, y productos de trigo como pan y fideos. TGM ha proporcionado efectos como agregar nuevas funciones y reducción de residuos en aplicaciones alimentarias^{109,110}.

La enzima transglutaminasa cataliza una reacción de transferencia de acil entre el γ -grupo carboxamida de residuos de glutamina unidos a péptidos y una variedad de aminoácidos. El uso de reacciones catalizadas por transglutaminasa para modificar las propiedades funcionales de las

proteínas alimentarias continúa siendo ampliamente estudiada^{111,112}. La gelatina es un buen sustrato para la transglutaminasa y, por lo tanto, la enzima se ha utilizado para modificar las propiedades de la gelatina para aplicaciones biomédicas y alimentarias^{113,114}.

1.2.9. Biopolímeros encapsulantes.

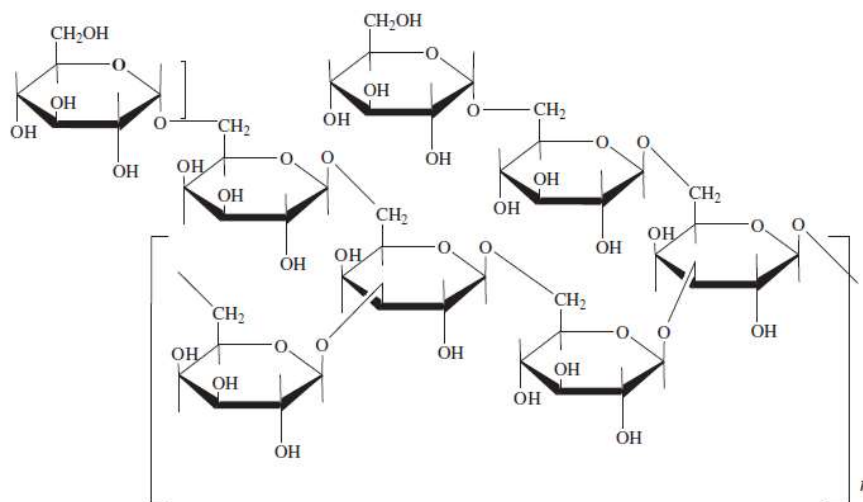
Goma arábica. La goma arábica es una resina natural que se exuda de los troncos y ramas del árbol Acacia Senegal cuando se rompe la superficie de la corteza. Las acacias de este tipo crecen principalmente en la zona del Sahel en el norte de África¹¹⁵⁻¹¹⁷.

La goma arábica, es un heteropolisacárido generalmente utilizado como material de pared en microencapsulación por sus propiedades únicas de emulsificación, buena retención de volátiles, propiedades con carga negativa, bajo costo, alta solubilidad, baja viscosidad, uso facilitado, la característica incolora de las soluciones e inhibición de las reacciones de oxidación¹¹⁸. La gelatina y goma arábica son un par de biopolímeros que son utilizados de manera combinada como un sistema clásico para la microencapsulación por coacervación compleja¹¹⁹.

La goma arábica químicamente es una sal neutra o ligeramente ácida, está compuesta de polisacáridos que contienen iones calcio, magnesio y potasio en su molécula además de múltiples glicoproteínas¹²⁰. Incluye una mezcla de polisacáridos con fracciones que se basa en su masa molar y composición de proteínas: que son 90-99% de arabino galactano y 1% de glicoproteína. La viscosidad de una solución de goma arábica depende directamente del peso molecular de las cadenas poliméricas, que, sin embargo, no se producen de manera uniforme en el producto final. La calidad de las cosechas de goma arábica tiende a variar considerablemente según las condiciones climáticas del año de cosecha en particular. Por lo tanto, las viscosidades logradas pueden variar hasta en un 50%. Además, la viscosidad está influenciada por otros factores de la matriz, como el pH, el contenido de sal y la temperatura. La goma

arábica es sensible tanto al pH como a la temperatura; Esto debe tenerse en cuenta si el producto se somete a un tratamiento térmico adicional¹²¹.

Figura Nº 2. Estructura química de la goma arábica.



Fuente. Dave, P.N.¹¹⁷.

Gelatina. La gelatina o colágeno hidrolizado es una proteína obtenida por hidrólisis parcial del colágeno que es el principal componente proteico fibroso en cartílagos, huesos y pieles de animales rumiantes o peces, obtenido a través de un pretratamiento químico y un posterior tratamiento térmico¹²¹⁻¹²³. Representa aproximadamente el 30% del conjunto proteico en mamíferos y el 25% en especies marinas, con composición variada de acuerdo con la especie y edad¹²⁴. El colágeno está conformado por un conjunto de cadenas polipeptídicas (α) helicoidales, que, al unirse entre ellos, forman una red con triple hélice ligados por puentes de hidrógenos y enlaces covalentes¹²⁵. Estas cadenas se constituyen en una gran fuente de aminoácidos conformadas por glicina (33%), hidroxiprolinas (12%), prolina (12%), alanina (11%) e hidroxilisina (1%)¹²⁶. El paso de colágeno a gelatina está asociado con el grado de solubilidad que poseen como resultado de tratamientos en aguas calientes (≥ 45 °C) con medios ácidos o alcalinos¹²⁵. Durante el tratamiento, la estructura del colágeno (triple hélice) sufre un proceso de desnaturalización debido al efecto de la temperatura, ocasionando que las

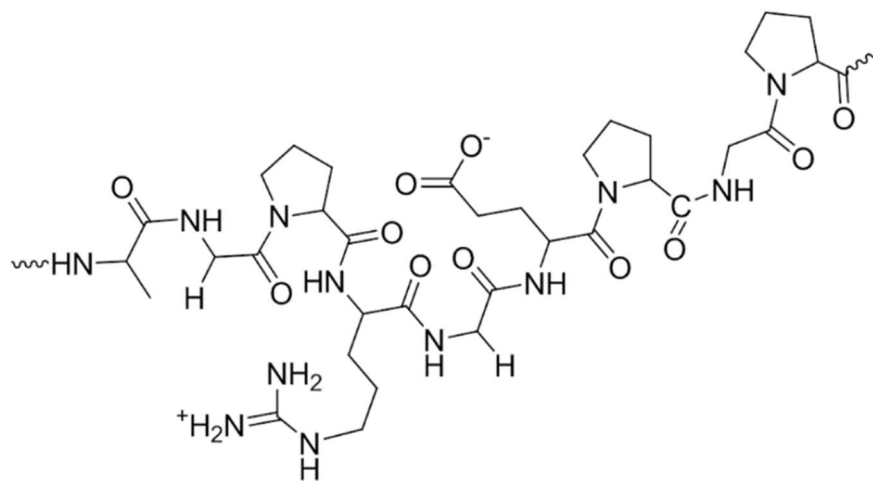
moléculas de colágeno se dividan en cadenas independientes (α , β y γ) para obtener finalmente gelatina soluble¹²⁷.

La desnaturalización del colágeno origina dos tipos de gelatina las cuales son clasificadas en función del proceso de obtención, siendo la de tipo A una gelatina extraída en medios ácidos con punto isoeléctrico entre 7.0 y 9.4 y por otro lado se encuentra la de tipo B una gelatina extraída en medios alcalinos con punto isoeléctrico entre 4.6 y 5.2¹²⁸.

El tipo de proceso a utilizar se aplica según la materia prima, es decir, de acuerdo con la composición que posea, tendrá tiempos prolongados de obtención¹²⁹. La aplicación de prolongados tiempos de extracción optimiza el rendimiento de la gelatina, sin embargo, dichos tiempos produce gelatinas de cadenas cortas, el cual indicaría un producto de baja calidad¹³⁰, por lo que su posible modificación, podría contribuir a obtener mejores rendimientos con propiedades reológicas de calidad¹³¹.

Estudios sobre la extracción de gelatina a partir de las pieles de peces obtuvieron resultados cuando trabajaron con salmón¹³², tilapia¹³³, doncella¹³⁴, bagre de canal¹³⁵, entre otros. Debido a su similitud en su composición proteica, la gelatina a partir de pieles de peces constituye una buena alternativa a la gelatina proveniente de mamíferos.

Figura № 3. Estructura química de la gelatina.



Fuente. Ward A.G.¹³⁶

1.2.10. Fuentes de EPA, DHA y ALA.

Las fuentes de EPA y DHA se pueden observar en la Tabla № 4. Tradicionalmente la mejor forma de ingerir EPA y DHA es a través del consumo de productos del mar y según el tipo de pescado que se consuma afectará la concentración de estos ácidos grasos en la dieta¹³⁷. Sin embargo, han surgido algunas preocupaciones debido a la presencia de metales pesados (mercurio, plomo, cadmio) y materia orgánica (bifenilos policlorados, PCB) en algunos peces¹³⁸⁻¹⁴⁰. En la actualidad, los profesionales de la salud, como médicos y nutricionistas, recomiendan a las mujeres embarazadas reducir o evitar el consumo de pescados y mariscos debido a posibles riesgos de contaminación. No obstante, existen alternativas nutricionales para obtener EPA y DHA¹⁴¹. Una de ellas es el aceite de pescado que también proporcionan DHA y EPA.

Estos aceites, que se obtienen cociendo y prensando pescados pelágicos (caballa, sardina, anchoa, etc.) pueden ser altamente desodorizados, estabilizados para evitar a la oxidación y despojados de contaminantes e incluso de colesterol. Estos aceites altamente refinados pueden consumirse en cápsulas o microencapsulados y más recientemente nanoencapsulados, proceso que permite su incorporación a una amplia variedad de matrices alimentarias (leche, jugos, cereales, productos cárnicos, etc.)^{3,45,54,142,143}.

En cuanto al ácido α -linolénico (ALA), se puede decir que es uno ácidos grasos más usados que proviene de fuentes vegetales¹⁴⁴, se encuentra en algunas semillas, principalmente en aquellas que son ricas en contenido lipídico, también en ciertos aceites, frutos secos y algunas algas¹⁴⁵. La Tabla № 5 muestra las principales fuentes vegetales del ácido graso ALA.

Otro grupo de plantas silvestres que contienen ALA se muestran en la Tabla № 6. El contenido de ALA en los peces es pequeño, por ejemplo, 1.1 % en el total de ácidos grasos en los músculos de la sardina salvaje (*Sardina pilchardus*)¹⁴⁶.

Tabla No 4. Porcentaje de EPA y DHA en pescados.

Pescado	EPA	DHA
Anchoa	0.538	0.991
Bluefish	0.323	0.665
Turbot	0.090	0.123
Carp	0.305	0.146
Pez gato	0.100	0.137
Caviar	2.741	3.800
Cod	0.004	0.154
Croaker	0.122	0.097
Dolphin fish	0.026	0.113
Grouper	0.035	0.213
Sablefish	0.867	0.920
Salmón del Atlántico (cultivado)	0.690	1.457
Sardina	0.473	0.509
Shad	1.086	1.321
Shark	0.316	0.527
Sheepshead	0.083	0.107
Snapper	0.048	0.273
Atún light en conserva en aceite	0.027	0.101
Atún light en conserva en agua	0.047	0.223
Wolffish	0.393	0.405
Haddock	0.076	0.162
Halibut	0.091	0.374
Arenque	0.970	1.179
Lingcod	0.133	0.130
Mackerel del Atlántico	0.504	0.699
Mullet	0.180	0.148
Ocean perch	0.103	0.271
Pike (walleye)	0.110	0.288
Abadejo	0.091	0.451
Rock fish	0.181	0.262
Smelt	0.353	0.536
Spot	0.282	0.526
Sturgeon	0.249	0.119
Sucker	0.244	0.371
Swordfish	0.138	0.681
Tilefish	0.172	0.733
Trout	0.259	0.677
Whitefish	0.406	1.206
Whiting	0.283	0.235
Caspian kutum	4.550	7.140
Common kilka	5.670	9.93
Golden gray mullet	7.560	3.860

Fuente: Abedi¹⁴⁷

Tabla Nº 5. Principales fuentes vegetales de ALA.

Nombre común	Nombre científico	Contenido de ALA % de ésteres metílicos
Semilla de linaza	<i>Linum usitatissimum</i>	23
Aceite de linaza	<i>Linum usitatissimum</i>	54
Perilla	<i>Perilla frutescens</i>	58
Semilla de chía	<i>Salvia hispanica</i>	17
Aceite de chía	<i>Salvia hispánica</i>	65
Semilla de sclarea	<i>Salvia sclarea</i>	15
Aceite de sclarea	<i>Salvia sclarea</i>	60
Aceite de sacha inchi	<i>Plukenetia volubilis</i>	46
Aceite de perilla	<i>Perilla frutescens</i>	55
Aceite de camelina	<i>Camelina sativa</i>	38
Aceite de rosa mosqueta	<i>Rosa Rubiginosa</i>	26 - 37
Aceite de canola/colza	<i>Brassica campestris</i>	11 - 9
Aceite de soja	<i>Glycine max</i>	7
Nueces	<i>Juglans regia</i>	9
Frambuesa	<i>Rubus chamaemorus</i>	1

Fuente: Morales, J. et al¹⁴⁸

Algunas algas y microalgas son una alternativa renovable para obtener EPA y DHA. La Tabla Nº 7 muestra algunas especies de microalgas que pueden cultivarse artificialmente en biorreactores industriales que producen aceites ricos en triglicéridos que contienen EPA y DHA. Estos productos celulares, inodoros y libres de contaminantes, ya están disponibles para ser incorporados a diferentes matrices alimentarias, especialmente a fórmulas infantiles¹⁴⁴.

Tabla № 6. Contenido porcentual de ALA en plantas silvestres comestibles.

Planta	ALA
<i>Amaranthus viridis</i> L. (amaranth)	24.34
<i>Beta maritima</i> L. (wild beet)	29.44
<i>Cakile maritima</i> Scopoli (sea rocket)	23.84
<i>Cardaria draba</i> L. (hoary cress)	30.56
<i>Chenopodium album</i> L. (goosefoot)	44.82
<i>Chenopodium murale</i> L. (goosefoot)	36.04
<i>Chenopodium opulifolium</i> Schrader (goosefoot)	33.02
<i>Crithmum maritimum</i> L. (rock samphire)	9.98
<i>Malva sylvestris</i> L. (common mallow)	42.22
<i>Parietaria diffusa</i> Mert. (pelitory-of-the-wall)	21.18
<i>Pichris echioides</i> L. (ox-tongue)	43.20
<i>Plantago major</i> L. (plantain)	33.32
<i>Portulaca oleracea</i> L. (purslane)	32.60
<i>Rumex crispus</i> L. (curly dock)	41.21
<i>Salicornia europaea</i> L. (glasswort)	28.03
<i>Sisymbrium irio</i> L. (hedge mustard)	31.04
<i>Sonchus oleraceus</i> L. (sow-thistle)	43.58
<i>Sonchus tenerrimus</i> L. (sow-thistle-of-the-wall)	30.33
<i>Stellaria media</i> Villars (chickweed)	22.75
<i>Verbena officinalis</i> L. (vervain)	54.99

Fuente: Guil et al.¹⁴⁹

Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Es una planta trepadora o liana, que fue identificada en el año 1753 por el naturalista Lingneo en la Amazonía peruana. Su nombre vulgar deriva de dos palabras quechuas: “sacha” cuyo significado es silvestre, “inchi” que significa maní. También se le conoce como con los nombres de maní del inca, maní del monte, maní silvestre, sacha inchik, sacha yuchiqui, inca peanut, etc. y según refieren las investigaciones existen evidencias que era cultivada desde hace más de 3000 años¹⁵⁰.

Tabla No 7. Ácidos grasos EPA y DHA producidos por algas.

Ácido graso	Microalga	Referencia
EPA y DHA	<i>Arthrospira, Dunaliella, Haematococcus, Chlorella, Schizochytrium, Porphyridium cruentum, Diacronema vlkianum, Isochrysis galbana, Crypthecodinium cohnii</i>	151–154
EPA	<i>Liagora boergesenii</i>	155
DHA	<i>Crypthecodinium cohnii</i>	156
EPA	<i>Chlorella vulgaris</i>	157
EPA	<i>P.tricornutum</i>	158

Plukenetia es un género perteneciente a la familia de las Euforbiáceas y la componen 19 especies. Su distribución es pantropical, encontrándose 12 especies en América del Sur y las restantes en el viejo mundo¹⁵⁹. Se encuentra en estado silvestre desde América Central hasta Bolivia en sitios que se encuentran a una altitud entre 30 y 2000 m.s.n.m, de clima tropical o subtropical, cuyas temperaturas oscilan entre 10 a 26 °C y humedad relativa de 78%¹⁶⁰. En Perú, se distribuye principalmente las regiones de Loreto, San Martín, Ucayali, Amazonas, Huánuco y Madre de Dios. La semilla de *Plukenetia volubilis* L. es considerada como una fuente rica en aceites y proteínas. El aceite ha sido investigado por su especial composición y sus potenciales beneficios para la salud ya que tiene la particular característica de poseer una alta concentración de ácidos grasos polinsaturados tales como el α -linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2), representando aproximadamente el 82% del contenido total de aceite¹⁶¹. Presenta otros componentes importantes como fitoesteroles, carotenos tocoferoles, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante¹⁶².

Los compuestos fenólicos presentes tienen hoy en día una gran importancia debido a sus propiedades antioxidantes y a los atributos sensoriales que dan a los alimentos tales como: sabor, color, y además por atribuir estabilidad dado su resistencia a la oxidación lipídica. También son formidables conservadores naturales que brindan estabilidad a los alimentos pudiendo desplazar a otros conservadores sintéticos¹⁶³. La

capacidad antioxidante exhibida por el aceite de *Plukenetia volubilis* L. estaría asociada principalmente a los ácidos grasos monoinsaturados (omega-9), poliinsaturados (omega-3 y omega-6) y funcionales (malválico, estercúlico y abiético), terpenos, esteroides, β caroteno y clorofila¹⁶⁴.

Menhaden (*Brevoortia tyrannus*). Comúnmente llamada Atlantic Menhaden, se puede encontrar en cualquier parte del Atlántico occidental, Nueva Escocia, Canadá y al sur hasta Indian River, Florida, EE. UU. Menhaden también es frecuente en todas las salinidades de la Bahía de Chesapeake.¹⁶⁵ Los menhaden, mayormente se pueden encontrar a una profundidad de hasta 20 m. Esto los ubica en el área marina, salobre y pelágica del Océano Atlántico. En este tipo de hábitat, los depredadores del menhaden están conformados por animales acuáticos como tiburones, rayas y peces óseos.

Brevoortia tyrannus se puede describir como de coloración plateada. Los lados difieren del color plateado y se acercan más a una coloración cobriza. Los menhaden tienen el dorso verde azulado oscuro. Por lo general, se caracterizan por unas pequeñas escamas colocadas de forma irregular en la espalda, por sobre las aletas anales. También se distinguen por una mancha negra que se puede encontrar detrás de sus aberturas branquiales. Luego de este punto negro más grande tienen aproximadamente seis líneas de puntos más pequeños. Tienen aletas internas y externas y una aleta pélvica con márgenes posteriores redondeados.

El desove de menhaden suele ocurrir durante todo el año. Sin embargo, se ha observado que el desove productivo sucede entre marzo y mayo, pero nuevamente entre septiembre y octubre. Los estuarios suelen ser los refugios de agua salada más seguros dentro del hábitat de los menhaden, por lo que sus viveros se ubican allí. La reproducción puede verse mermadas por las altas temperaturas del agua.

Menhaden se puede encontrar en la costa. Pero también, cuando se acercan las temperaturas frías, se han encontrado en niveles más

profundos en el agua. Se les puede encontrar deambulando juntos en lo que se conoce como "escuelas". Sus cardúmenes suelen ser de gran tamaño, incluidos juveniles y adultos maduros. Los menhaden generalmente se encuentran en bahías y ensenadas, pero a inicios del otoño se produce la migración. Permanecen en su hábitat de migración, por lo general Carolina del Norte, hasta marzo e inicios de abril. Luego retornan a sus bahías. A veces, los jóvenes permanecen en las bahías, mientras que los menhaden más viejos se van al norte. Se sabe que los menhaden llegan a la madurez a los 2.1 años y su esperanza de vida es de unos 8.4 años.

En los últimos años el menhaden ha tomado importancia por su aceite dado su elevada concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) y se viene utilizando para enriquecer diferentes matrices alimenticias mediante la microencapsulación.

1.2.11. Oxidación lipídica.

En la industria alimentaria la oxidación de lípidos es un problema extremadamente complejo, y se le considera un fenómeno porque provoca la formación y a la vez la descomposición de productos volátiles y no volátiles¹⁶⁶. La oxidación de lípidos es una reacción en cadena, que lleva a la producción de hidroperóxidos como productos primarios, que, al ser degradados dan lugar a productos finales. Tales como, aldehídos, cetonas, hidrocarburos, y epóxidos que afectan considerablemente la calidad de productos alimenticios¹⁶⁷. Debido a que, no solo afectan sus características organolépticas (sabor, olor, textura, etc.), sino también su valor nutricional, además de afectar la salud de las personas, ya que, estos subproductos finales son tóxicos¹⁶⁸.

1.2.12. Microscopia óptica

La fácil y rápida preparación de la muestra a visualizar hace que, en la presente tesis, este equipo se haya utilizado para determinar el tamaño

y la estabilidad relativa de las micropartículas formadas, y la morfología final de las micropartículas, además de poder visualizar si queda aceite libre al final del proceso.

Microscopia óptica. La microscopía óptica resulta un método rápido y eficaz para determinar la morfología de las micropartículas. Además, debido a las opciones ópticas y de luminosidad que presenta, permite determinar si, en el caso de la presente tesis, estas micropartículas formadas contienen aceite en su interior¹⁶⁹. Las imágenes ópticas sin etiquetas acopladas a una activación electroquímica se pueden utilizar para observar el funcionamiento de las propiedades físicas y electroquímicas de nanopartículas individuales, con alta resolución y sensibilidad¹⁶⁹.

Microscopia electrónica de barrido (MEB). El microscopio electrónico de barrido es la técnica que actualmente es utilizada para estudiar la microestructura de las micropartículas, permite generar imágenes de una superficie, con una alta resolución y un aspecto tridimensional, consiguiendo resoluciones de hasta un nanómetro, aspecto que facilita el estudio de la topografía de la micropartícula, determinando las características de la superficie, el tamaño y la distribución de las micropartículas. A diferencia del microscopio óptico que utiliza haces de luz, la imagen proporcionada por el MEB se genera por la interacción de un haz de electrones que recorre la superficie de la muestra y de detectores que transforman las señales en corrientes eléctricas que se utilizan para formar la imagen¹⁷⁰.

1.3. Definición de términos básicos.

1.3.1. Compuestos bioactivos.

Es un conjunto de sustancias químicas presentes en las plantas y algunos alimentos en pequeñas cantidades. Estos compuestos ejercen funciones específicas en el organismo, tienen la capacidad de promover buena salud y, además, tienen efecto benéfico en la prevención de

enfermedades cardiovasculares, de algunos tipos de cáncer y cambios hormonales¹⁷¹.

1.3.2. Ácidos grasos.

Son biomoléculas de origen lipídico, que forman parte constituyente de los triglicéridos, fosfolípidos y glucolípidos, están constituidos por carbono, hidrogeno y oxígeno, y se encuentran presentes en mayor proporción en tejidos de origen animal (carne de cerdo, de bovino, etc.) como también en tejidos de origen vegetal (frutos oleaginosos o semillas)¹⁷². Su composición nutricional está en función de la diversidad biológica en vegetales y en el tipo de alimentación en animales. Su consumo diario suministra elementos esenciales para desarrollar algunas funciones del organismo, por esa razón se recomienda ingerir determinadas cantidades para brindar protección y lograr un correcto funcionamiento del organismo¹⁷³. Por otro lado, estas biomoléculas de ácidos grasos presentan estructuras lineales, conformados por cadenas alifáticas que pueden contener entre 4 a 24 carbonos, unidos mediante enlaces covalentes cuyo extremo contiene un radical carboxilo (-COOH)¹⁷⁴. Su clasificación se denota de acuerdo con su cadena hidrocarbonada o presencia de dobles enlaces, dentro de los cuales se destacan los ácidos grasos saturados e insaturados, estos últimos se distinguen en monoinsaturados y poliinsaturados¹⁷⁵.

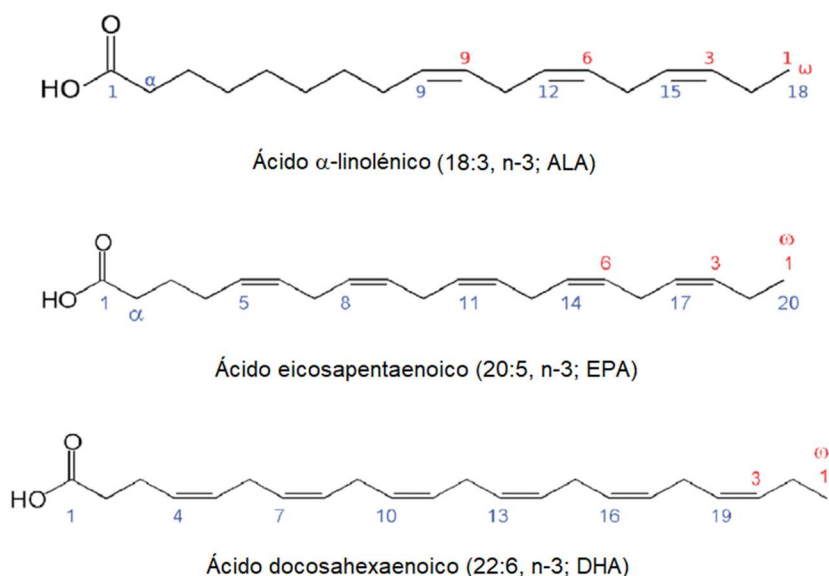
Ácidos grasos saturados. Son ácidos grasos que tienen estructuras lineales con átomos de carbono en número par, se caracterizan por no tener dobles enlaces. De acuerdo con su peso molecular, estos ácidos pueden ser de cadenas cortas (< 14 carbonos) que se presentan en estado líquido o de cadenas largas (<18 carbonos) que se presentan en estado sólido, entre los que podemos encontrar a los ácidos esteárico (C18:0), palmítico (C16:0), mirístico (C14:0), láurico (C12:0), y lignocérico (C24:0)¹⁷⁶. Estas biomoléculas de origen lipídico, con frecuencia se encuentran en mayor cantidad en alimentos de origen animal (carne de cerdo, bovino y pollo), como también se encuentran en menor cantidad en alimentos leguminosos, es por esta razón que su

presencia es frecuente a diario en las dietas. Sin embargo, es importante indicar que a pesar de que estos ácidos grasos se consideran dentro de los principales aportantes de energía, su excesivo consumo conlleva efectos dañinos para el organismo, causando el incremento del colesterol total, promoviendo infartos y enfermedades coronarias. Así también, son los responsables de promover el desarrollo de enfermedades de tipo hepático, cerebrales y diabéticas, por lo que en la actualidad se recomienda su consumo en mínimas cantidades^{177,178}.

Ácidos grasos monoinsaturados. Son ácidos grasos insaturados, que se caracterizan por poseer una cadena de 10 a 22 carbonos y un único doble enlace en su estructura, dentro de los cuales podemos mencionar a los ácidos nervónico (24:1 n-9), eúrico (22:1 n-9), palmitoleico (C16:1), elaídico (18:1 n-9) y el oleico (C18:1 n-9)¹⁷⁹. Su presencia está en mínimas cantidades en animales como la carne de res y en mayor cantidad en vegetales leguminosos como el maní, colza, oliva etc., por lo que, su consumo a diferencia de los ácidos grasos saturados, previenen de ciertas enfermedades como presión arterial, cerebral y enfermedades cardiovasculares mediante el aporte de colesterol bueno, actuando como promotores de la salud y disminución de la presencia de radicales libres, causantes principales de enfermedades cancerígenas y degenerativas¹⁸⁰.

Ácidos grasos poliinsaturados. Son ácidos grasos insaturados, que se caracterizan por tener más de 18 carbonos y también dobles enlaces en su estructura, dentro de este grupo podemos mencionar algunos de los más representativos como el ácido linoleico (18:2 n-6) con su derivado araquidónico (20:4 n-6) que los podemos encontrar en vegetales y el ácido linolénico (18:3 n-3) con su derivado eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) que los podemos encontrar en fuentes como los pescados¹⁸¹ (Figura № 4). Estos ácidos grasos se consideran esenciales, debido a que el organismo humano los necesita, pero no puede sintetizarlos, es por esta razón que la única manera de obtenerlos es a través de la dieta consumiendo alimentos que contengan ácido linoleico y linolénico¹⁸².

Figura № 4. Estructura química de los ácidos grasos ALA, EPA y DHA.



Fuente: Mendonça, L.F.A. et al¹⁸³.

El proceso de síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados se inicia con la síntesis de los ácidos grasos saturados, luego, el ácido palmítico (16:0) por acción de la enzima sintasa, es catalizado para producir otros compuestos esenciales para el organismo. Este proceso se inicia con el alargamiento de su cadena hidrocarbonada, que por acción de la enzima elongasa se formará el complejo estearato (18:0). Posteriormente, estos complejos siguen un proceso de desaturación, en el cual se lleva a cabo la inserción de dobles enlaces cis en la cadena hidrocarbonada a partir del carbono 9 hacia adelante, dando como resultado la conversión a complejos oleicos, sustancias disponibles para la síntesis de los ácidos grasos poliinsaturados¹⁸⁴. Estos ácidos grasos esenciales no es posible que se sintetizen en el organismo (debido a la ausencia de la enzima desaturasa), a través de la alimentación es la única forma de obtenerlos¹⁸⁵.

Los ácidos grasos linoleico y linolénico se catalizan por la acción de las enzimas elongasa y desaturasa. Estos ácidos grasos son los precursores de los ácidos grasos esenciales de cadena larga como son los ácidos araquidónico y docosahexaenoico (DHA). Su transformación se inicia desde el proceso de elongación y doble desaturación en el carbono

5, 6 de su estructura química correspondiente para formar los ácidos araquidónicos y eicosapentaenoicos¹⁸⁶. Por otra parte, estos ácidos grasos también juegan un importante rol en el organismo, ya que intervienen en algunos procesos metabólicos y estructurales. Sus componentes son precursores de moléculas que tienen mucha actividad biológica, siendo los tromboxanos, leucotrienos y prostaglandina, los compuestos encargados de la disminución de algunas enfermedades inflamatorias, cerebrales y sanguíneas, y también enfermedades como la diabetes, cardiovasculares y cancerígenas^{187,188}. Diversos estudios realizados como el de Pérez & Guerrero¹⁸⁹, señalan que al sustituir los ácidos grasos saturados por poliinsaturados, se regulan los niveles de glucosa, colesterol y de los triglicéridos, por otra parte, mejora la transferencia de oxígeno a los plasmas sanguíneos necesario para llevar a cabo el proceso de síntesis de hemoglobina y división celular, ayudando a establecer las condiciones apropiadas de las funciones estructurales (membranas celulares), cerebrales y nerviosas (relacionadas con la prevención de Huntington, Parkinson y Alzheimer)¹⁹⁰⁻¹⁹². También se han llevado a cabo estudios que tienen el propósito de determinar la cantidad necesaria que requiere el organismo para controlar o reducir diversas enfermedades que pueden presentarse debido a una inadecuada dieta alimentaria, donde se indica la cantidad necesaria para prevenir diversas enfermedades como es el caso de las enfermedades cardiovasculares para la cual se recomienda 5.5 gramos/mes¹⁹². Por otra parte, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) señalan que la cantidad debe ser de 15.0 gramos/mes en adultos y 9.0 gramos/mes en mujeres lactantes. En consecuencia, está claro que la incorporación de estos bioelementos en la dieta es esencial, ya que mediante ella podemos mantener ciertas condiciones necesarias para el adecuado desarrollo vital de seres vivos¹⁸⁵.

1.3.3. Microencapsulación y liberación controlada.

Los sistemas de encapsulación y liberación controlada son procesos tecnológicos que consisten en la incorporación de una sustancia o compuesto bioactivo en el núcleo de una matriz biopolimérica (microcápsula), cuyo propósito es proteger y preservar las propiedades funcionales que posee al mismo tiempo que mejoran su funcionalidad y biodisponibilidad, por otra parte se podría enmascarar el sabor de componentes amargos, asegurar el suministro adecuado de componentes activos lábiles al calor u oxidación y su liberación a una velocidad previamente determinada y en un lugar específico en el proceso digestivo^{193,194}. Este proceso tecnológico consiste en aplicar un recubrimiento a un material que puede ser de origen sólido, líquido o gaseoso mediante una membrana biopolimérica resistente y estable¹⁹⁵. La idea de este proceso se generó tomando como base el modelo celular, donde el núcleo se encuentra protegido mediante una barrera llamada membrana semipermeable la misma que es capaz de controlar la interacción entre la parte interior y exterior de la célula¹⁹⁵. Así mismo, la encapsulación además de la formación de un ambiente capaz de controlar las interacciones de sus componentes con el medio que los rodea, conlleva también el proceso de liberación de su contenido bajo ciertas condiciones específicas de pH, luz, humedad y temperatura¹⁹⁶. La encapsulación genera diversas morfologías y tamaños al momento de producirlas, por lo que su definición se hace de acuerdo con esas características, siendo clasificadas como micropartículas o denominadas también como microcápsulas o microsferas (partículas entre 1 – 250 μm) y nanopartículas que son denominadas también como nanocápsulas o nanoesferas (partículas < 1 μm)^{197,198}.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1. Variables y definiciones operacionales.

2.1.1. Variables independientes.

a) Definición conceptual.

Contenido del nutriente inicial. Es la cantidad del nutriente estudiado (EPA, DHA o ALA) en relación con la cantidad de muestra antes de someter al proceso de digestión *in vitro* a la muestra de la matriz alimenticia.

Contenido de nutriente liberado. Es la cantidad del nutriente estudiado (EPA, DHA o ALA) liberado en relación con la cantidad de materia seca después de someter al proceso de digestión *in vitro* a la muestra correspondiente de la matriz alimenticia.

b) Definición operacional.

Contenido del nutriente inicial. Para determinar la cantidad de nutriente estudiado (EPA, DHA o ALA) presente en la muestra antes de someterla al proceso de digestión *in vitro*, se utilizará el método de cromatografía de gases del cual se obtendrá una gráfica (cromatograma) que permitirá identificar los ácidos grasos presentes y su respectiva cantidad la misma que está representada por el área del pico que se forma para cada tipo de molécula y que equivale a la concentración del nutriente estudiado ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ o $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

Contenido de ácido graso liberado. Para determinar la cantidad de nutriente estudiado (DHA, EPA o ALA) presente en la muestra después de someterla al proceso de digestión *in vitro*, se utilizará el método de cromatografía de gases del cual se obtendrá una gráfica (cromatograma) que permitirá identificar los ácidos grasos presentes y su respectiva cantidad la misma que está representada por el área del pico que se forma

para cada tipo de molécula y que equivale a la concentración del nutriente estudiado ($\mu\text{g. g}^{-1}$ o mg. g^{-1}).

2.1.2. Variables dependientes.

a) Definición Conceptual.

Bioaccesibilidad. Es el porcentaje del nutriente liberado en relación con la cantidad inicial del nutriente contenido en cada muestra.

b) Definición operacional.

Bioaccesibilidad. Es el resultado de dividir la cantidad del nutriente (EPA, DHA o ALA) liberada en el proceso de digestión *in vitro* entre la cantidad del nutriente estudiado en la muestra antes de la digestión *in vitro* multiplicado por 100. Las cantidades de los nutrientes se determinan aplicando el método de cromatografía gaseosa.

2.2. Formulación de las hipótesis.

2.2.1. Hipótesis principal.

Existe un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA contenidos en la hamburguesa de boquichico (*Prochilodus Nigricans*) bajas en sodio enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.

2.2.2. Hipótesis derivadas.

- a) El aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) contiene los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en su composición.
- b) El aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) contiene los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en su composición.
- c) La pulpa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) contiene los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en su composición.
- d) La hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) posee un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA.

- e) La hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) posee un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

El presente estudio ha sido parte de un proyecto de investigación patrocinado por CONCYTEC con fondos del Banco Mundial que incluye la elaboración de hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) como una propuesta para aprovechar de forma sostenible la producción de estas especies provenientes de piscigranjas de la región Loreto y otras regiones, y puedan ser consideradas como un producto saludable para ser consumidos como parte de los programas sociales de alimentación.

3.1. Tipo y diseño de la investigación.

El presente trabajo de investigación ha sido desarrollado bajo el enfoque cuantitativo, es de tipo experimental, transversal, prospectivo de nivel descriptivo.

Para controlar las amenazas o sesgos durante el proceso de investigación se trabajó en ambientes de laboratorio de modo que se pudo controlar todas las variables que intervienen el proceso de determinación de la bioaccesibilidad de los ácidos grasos DHA, EPA y ALA de las diferentes muestras objeto del presente estudio. Se aplicó procedimientos y pruebas estándar debidamente validados.

3.2. Población y muestra.

3.2.1. Población.

Se trabajó con una población conceptual conformada por todas las matrices alimenticias del tipo que se analizó en el presente estudio procesadas bajo las mismas condiciones experimentales desarrolladas en el presente trabajo de investigación.

3.2.2. Muestra.

Para desarrollar el experimento se trabajó con una muestra de cada matriz alimenticia por triplicado.

3.3. Técnicas e instrumentos.

3.3.1. Preparación de las muestras.

Las muestras que se estudian en la presente investigación son:

- a) 20 g de aceite virgen de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).
- b) 20 g de aceite crudo de menhaden (*Brevoortia tyrannus*).
- c) 20 g de hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado por el método de coacervación compleja.
- d) 20 g de hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado por el método de coacervación compleja.
- e) 20 g de hamburguesa cocida de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado por el método de coacervación compleja.
- f) 20 g de hamburguesa cocida de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado por el método de coacervación compleja.

3.3.2. Obtención de la materia prima.

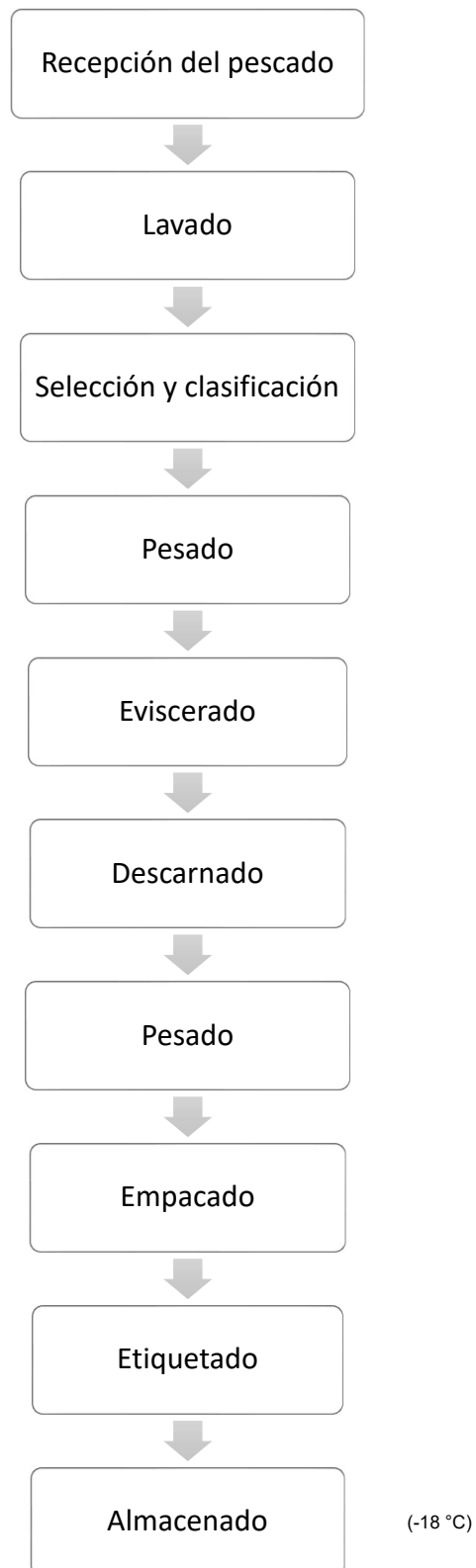
La materia prima para la elaboración de las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) para el proyecto se adquirieron de piscigranjas instaladas a lo largo de la carretera Iquitos – Nauta. Los pescados extraídos de la piscigranja se colocaron en cajas de poliestireno con hielo picado y fueron trasladados al Taller de Productos Cárnicos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) ubicada en la Av. Augusto Freyre Nº 610 en la ciudad de Iquitos para su posterior procesamiento.

3.3.3. Procesamiento de la materia prima.

Para elaborar las hamburguesas de pescado se aplicó la metodología propuesta por Rios-Mera et al.¹⁹⁹ En su trabajo de investigación indica la composición que deben tener las hamburguesas: filete (70%), grasa porcina (20%), para el presente estudio se sustituyó la grasa porcina en un 15% por aceite microencapsulado de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y por aceite microencapsulado de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) respectivamente para obtener los tipos de hamburguesa del estudio, además, se agregó agua (7.5%), sal (0.75%, cloruro de sodio 0.375% y cloruro de calcio 0.375%), glutamato monosódico (0.28%) y biosinplus (0.01%). Los ingredientes se mezclan empezando por el filete y la grasa (85% grasa porcina y 15% de aceite microencapsulado), luego se agrega la sal y finalmente los demás ingredientes procediendo a mezclar durante 5 minutos, luego de los cuales se moldea la mezcla homogénea, se empaca al vacío y almacena a -18 °C. En la Figura Nº 5 presenta el diagrama seguido en el proceso y las etapas se detallan a continuación:

- a) **Recepción de la materia prima.** En esta etapa los pescados se acopian en la planta de procesamiento y se colocan en bandejas para su posterior lavado, selección y clasificación.
- b) **Lavado.** El lavado, desinfectado y enjuagado de los pescados se hizo con agua potable a una temperatura de 2 – 5 °C, se agregó hipoclorito de sodio para conseguir una concentración entre 0.5 y 1.0 ppm.
- c) **Selección y clasificación.** Para llevar a cabo la selección y clasificación de los pescados se observan los parámetros de calidad en cuanto a su apariencia general (piel, manchas de sangre, dureza, vientre, olor), ojos (claridad y forma) y branquias (color y olor).
- d) **Pesado.** El pesado de los pescados se hace en una balanza digital con la finalidad de calcular el rendimiento de la materia prima posteriormente.

Figura Nº 5. Procesamiento de la materia prima.



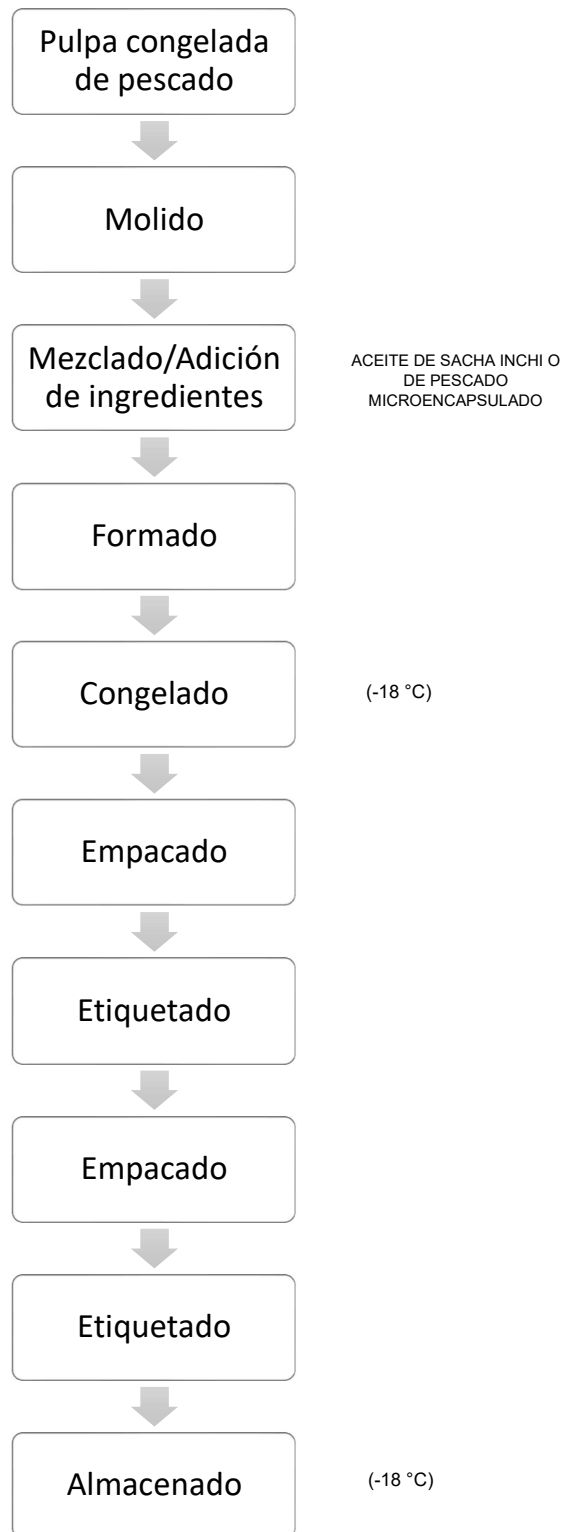
- a) **Eviscerado.** El eviscerado se lleva a cabo sobre una mesa de acero inoxidable con ayuda de una cuchara y cuchillos debidamente afilados. La cuchara y los cuchillos se utilizan para retirar las escamas y sólo cuchillos para retirar las vísceras.
- b) **Descarnado.** La extracción de la pulpa o carne del pescado se hace con ayuda de cuchillos bien afilados separando el espinazo, la piel y las espinas.
- c) **Pesado.** Seguidamente se procede a pesar la pulpa del pescado y determinar su rendimiento.
- d) **Empacado.** La pulpa se empaca en bolsas de polietileno de alta densidad al vacío. Cada paquete debe contener un peso de 1 kg de pulpa de pescado.
- e) **Etiquetado.** Los paquetes con la pulpa de pescado se etiquetan con la información correspondiente (fecha, especie, peso, procedencia, procesador, etc.).
- f) **Almacenado.** Los filetes debidamente empacados se almacenaron en cámara de una congelación a -18 °C para su posterior uso en la elaboración de las hamburguesas.

3.3.4. Elaboración de la hamburguesa de pescado

Los filetes de pescado empacados al vacío y almacenados a una temperatura de -18 °C, son utilizados para elaborar las hamburguesas, el diagrama de flujo se presenta en la Figura № 6 y las etapas se describen a continuación:

- a) **Pulpa congelada de pescado.** Los filetes de pescado se proceden a descongelar hasta que estén en condiciones de proceder al molido.

Figura No 6. Proceso de elaboración de hamburguesas de pescado.



- b) **Molido.** La pulpa del pescado se debe trozar en trozos pequeños y proceder a la molienda. Esto permite que la pulpa esté en condiciones de mezclarse con los demás insumos que componen la hamburguesa de pescado.
- c) **Mezclado y adición de ingredientes.** En esta etapa se coloca la pulpa molida en el cúter y se procede a adicionar y mezclar con el aceite de sachá inchi o de pescado microencapsulado hasta obtener una mezcla homogénea.
- d) **Formado.** Se pesan 100 g de mezcla y con ayuda de un equipo moldeador de hamburguesas se logra la forma deseada del producto.
- e) **Congelado.** Las hamburguesas ya preparadas se proceden a congelar a una temperatura de -18 °C.
- f) **Empacado.** Las hamburguesas congeladas se empacan en bolsas de polietileno de alta densidad al vacío.
- g) **Etiquetado.** En el etiquetado de los paquetes con las hamburguesas de pescado se consigna la información respectiva (fecha, especie, peso, procedencia, procesador, etc.).
- h) **Almacenado.** Las hamburguesas empacadas al vacío y debidamente etiquetadas se almacenan a una temperatura de -18 °C.

3.3.5. Obtención de las micropartículas de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y de aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*).

Para la elaboración de las hamburguesas de pescado se utilizó un 20% de materia lipídica cuya composición es de 85% de grasa porcina y 15% de aceite microencapsulado. El aceite microencapsulado se obtuvo aplicando el método de coacervación compleja, procedimiento descrito por Tello et al.²⁰⁰ La finalidad de incorporar aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) o de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) en las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) es el de enriquecer

el valor nutricional de las hamburguesas con ácidos grasos EPA, DHA y ALA respectivamente para luego medir el porcentaje que se libera de estos ácidos grasos en proceso digestivo.

Para obtener el aceite microencapsulado se debe aplicar el siguiente procedimiento:

- a) Preparar una solución de gelatina (2.5%, m/m), para lo cual pesar 10 g de gelatina y disolver en 400 ml de agua destilada a una temperatura de 50 °C por 1 hora en baño maría.
- b) Preparar una solución de goma arábica (2.5%, m/m), para lo cual pesar 10 g de goma arábica y disolver en 400 ml de agua destilada a una temperatura de 50 °C por 1 hora en baño maría.
- c) Agregar 10 g de aceite (menhaden o sachá inchi) a la solución de gelatina y proceder a su emulsificación utilizando un equipo homogeneizador Ultra Turrax (ISOLAB, Alemania) a 10000 rpm por 3 minutos.
- d) Agregar la solución de goma arábica y mantener a 50 °C con agitación lenta.
- e) Agregar 1600 ml de agua destilada a 50 °C y mantener a la agitación lenta.
- f) Ajustar el pH a 3.5, utilizando soluciones de HCl 0.5N y/o 0.1N.
- g) Enfriar de 50 °C a 40 °C de forma natural y agitación suave.
- h) Enfriar de 40 °C a 10 °C con ayuda de baño de hielo y agitación suave.
- i) Cuando la solución se encuentre a 10 °C dejar reposar y observar la sedimentación de las micropartículas.
- j) Separar las partículas del líquido sobrenadante utilizando un tamiz con malla de 0.53 μm , utilizar 2 litros de agua destilada a pH 3.5 para lavar las micropartículas.

- k) Pesar las micropartículas, calcular el rendimiento y almacenar en refrigeración.

3.3.6. Reticulación de micropartículas con enzima transglutaminasa.

El proceso de reticulación se desarrolló según el método descrito por Tello et al.²⁰⁰ El proceso consiste en los siguientes pasos:

- a) Para 128 g de micropartículas, se debe pesar 5.9076 g de enzima transglutaminasa.
- b) Colocar la enzima en un vaso de 100 ml y agregar 60 ml de agua destilada con pH 4.0 y agitar por 10 minutos.
- c) Colocar los 128 g de micropartículas en un vaso con 940 ml de agua destilada a pH 4.0 e incorporar la solución con la enzima preparada en el paso anterior.
- d) Agitar suavemente por 6 horas a temperatura ambiente.
- e) Luego de las 6 horas se elimina el líquido sobrenadante.
- f) Lavar 3 veces las micropartículas con agua destilada a pH 4.0.
- g) Eliminar el agua restante utilizando un tamiz con malla 0.53 μm .
- h) Congelar las micropartículas y luego liofilizar.

3.3.7. Caracterización de las micropartículas

- a) **Secado.** El secado de las micropartículas húmedas se realizó en un liofilizador (LABCONCO Free Zone 12 plus, modelo 7934042). Las condiciones de trabajo fueron:

- Temperatura inicial: $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Temperatura final: $25\text{ }^{\circ}\text{C}/2$ horas
- Tiempo total del ciclo de secado: 72 horas

- Presión: 0.200 milibar.

b) **Determinación de lípidos.** La determinación del contenido de lípidos se realizó iniciado con la digestión previa de la proteína que recubre a la micropartícula. El procedimiento para seguir es:

- Pesar 5 g de micropartículas liofilizadas y colocar en un tubo de ensayo que tenga tapa rosca.
- Preparar una solución de pancreatina (0.3 mg/ml) utilizando agua destilada a pH 7.0.
- Agregar 2.5 ml de solución de pancreatina a los 5 g de micropartículas liofilizadas y colocar en baño maría a 37 °C por 12 horas.
- Luego de transcurrida las 12 horas, observar si se rompieron las micropartículas, caso contrario agregar 2 ml de solución de citrato de sodio al 3% (m/m) por 2 horas, esto con la finalidad de disolver la goma arábica.
- Finalmente, la cuantificación de los lípidos es determinado según indica el método de Bligh y Dyer²⁰¹.
- Agregar 10 ml de cloroformo, 20 ml de metanol y 8 ml de agua destilada (corregir el agua en relación con la humedad de la muestra) luego agitar por 30 minutos.
- Transcurrido los 30 minutos, agregar 10 ml de cloroformo y 10 ml solución de sulfato de sodio al 1.5%, luego de agitar vigorosamente por 2 minutos, el tubo se deja en reposo hasta que se formen dos fases.
- Succionar la fase metanólica y desechar.
- Filtrar la fase inferior (se puede adicionar 1 g de Na₂SO₄) en papel filtro cualitativo (la solución debe ser clara) usar un tubo de 30 ml.

- Medir exactamente 5 ml del filtrado y transferir a un vaso de 50 ml previamente tarado.
- Evaporar el solvente en la estufa a 100 °C, luego dejar enfriar en el desecador y finalmente pesar.

c) **Eficiencia de encapsulación.** La eficiencia de encapsulación se determina mediante la siguiente fórmula:

$$EE\% = \frac{\text{aceite total en las micropartículas (g) / sólidos totales (g)}}{\text{aceite inicial (g) / sólidos totales (g)}} \times 100$$

d) **Microscopía óptica y microscopia electrónica de barradura.**

Para determinar la morfología de las micropartículas húmedas y calcular su tamaño medio, las observaciones se hicieron por medio de microscopía óptica (MO), con el uso de un microscopio óptico (marca ZEISS – Primo Start) con toma de imágenes por intermedio de una cámara digital y el uso del programa ZEN versión 2.3 (blue edition) (zen Imaging Software, Germany).

3.3.8. Caracterización de la hamburguesa de pescado

a) **Análisis de humedad.** Para llevar a cabo este análisis se aplicó el método descrito por la AOAC²⁰². Se pesan de 2 – 5 g de muestra utilizando una placa Petri, se coloca en una estufa a una temperatura de 105 °C por 5 horas. Luego se extrae la placa Petri de la estufa y se enfría colocando en un desecador para luego proceder al pesado y cálculo de la humedad.

La fórmula para calcular el porcentaje de humedad es la siguiente:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(\text{peso placa} + \text{muestra}) - (\text{peso placa} + \text{materia seca})}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

- b) **Análisis de cenizas.** Para determinar el contenido de cenizas se aplicó el método descrito por la AOAC²⁰² que se basa en la destrucción de la materia orgánica por calcinación en una mufla de laboratorio y se determina por gravimetría.

El procedimiento consiste en pesar 5 g de muestra utilizando crisoles de porcelana previamente tarados, luego se coloca en la mufla a 550 °C durante 5 horas. Al finalizar, los crisoles se colocan en una campana de desecación para esperar su enfriamiento, pesado y cálculo de los resultados.

La fórmula para calcular el porcentaje de ceniza es la siguiente:

$$\% \text{ ceniza} = \frac{(\text{peso crisol} + \text{muestra}) - (\text{peso crisol} + \text{ceniza})}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

- c) **Análisis de proteínas.** Para determinar el contenido de proteínas se aplicó el método descrito por la AOAC²⁰². Se pesó 0.5 g de muestra seca, en un balón de digestión se agregó 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, 0.1 g de sulfato de cobre y 1.5 g de sulfato de potasio. Luego, el balón se colocó en el digestor (Behrotest K8-SR3) hasta que el color de la mezcla tomó un color azul verdoso transparente. El balón se dejó enfriar a temperatura ambiente y se añadió 30 ml de agua destilada e NaOH al 33% con el fin de alcalinizar la solución. A continuación, el balón se colocó en el destilador para extraer el amoníaco, el mismo que se recogió en un matraz que contenía 5 ml de ácido sulfúrico al 0.25 N y 4 gotas de rojo de metilo como indicador. Luego de haber destilado 5 ml de líquido, se procedió a titular con solución de hidróxido de sodio 0.25 N y determinó el gasto. Para el cálculo del contenido de proteínas se usó las fórmulas siguientes:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{volumen ácido sulfúrico} - \text{gasto}) \times 0.25 \times 0.014}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

$$\% \text{ proteina} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6.25$$

- d) **Análisis de grasas.** Para determinar el contenido de grasas en las hamburguesas se aplicó el método descrito en la AOAC 991.36²⁰². Para este análisis se utilizó el equipo Soxhlet (Fisatom 22-6, Brasil), procediendo a pesar 5 g de muestra seca, envolviéndola seguidamente en papel filtro y colocarlo en el equipo Soxhlet.
- e) **Productos secundarios de oxidación (TBARS).** El método TBARS nos permite examinar la estabilidad oxidativa de los aceite libres o encapsulados con o sin recubrimiento de proteínas a través de la determinación del índice de peróxidos medidos durante cuatro semanas, a 45 °C. Esta temperatura es utilizada con la finalidad de acelerar el proceso de oxidación. Los pasos seguidos para llevar a cabo esta prueba son:
- Triturar la muestra y colocar 5 g en un tubo Falcon y agregar 15 ml de TCA.
 - Agitar en el homogeneizador Ultra Turrax a 3500 rpm durante 45 segundos.
 - Filtrar la muestra homogeneizada utilizando un embudo de vástago largo, papel filtro y un Erlenmeyer de 250 ml.
 - Extraer 5 ml del filtrado con ayuda de una pipeta y colocar en un tubo de ensayo con tapa rosca.
 - Agregar 5 ml de TBA y agitar la mezcla en el agitador de tubos.
 - En otro tubo de ensayo colocar 5 ml de TCA y 5 ml de TBA (control).
 - Colocar los tubos en baño maría a 100 °C por 40 minutos.
 - Exponer a los tubos a ultrasonido para remover las burbujas de aire formadas.
 - Registrar la absorbancia de las muestras utilizando un espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo Genesys 150, USA) a una longitud de onda de 532nm.

- Colocar en cero el espectrofotómetro utilizando agua destilada para luego hacer la lectura de la absorbancia de las muestras y del control en longitud de onda de 600nm.

3.3.9. Determinación del perfil de ácidos grasos.

El perfil de ácidos grasos se determinó iniciando con la extracción de los lípidos de las muestras aplicando el método de Folch²⁰³. Se pesaron 200 mg para el caso de muestras sólidas y se mezcló con 10 mL de cloroformo/metanol 2:1. Un homogeneizador Heidolph SilentCrusher M (Alemania), fue usado para mejorar la extracción de lípidos, la fase de cloroformo/lípidos fue separada con cloruro de potasio 0.88% (p/v) y evaporada con nitrógeno gas para obtener los lípidos secos. Para el caso de muestras líquidas, se mezcló 2 mL de muestra con 8 mL de cloroformo/metanol 2:1 y se evaporó la fase cloroformo/lípidos con nitrógeno gas para obtener los lípidos secos.

La determinación de ácidos grasos se realizó mediante el método de Ichihara y Fukubayashi²⁰⁴, el cual consiste en añadir tolueno, metanol y ácido clorhídrico a 1 mg de los lípidos y 0.1 mg de tricosanoato de metilo (C23:0, estándar interno) e incubar la mezcla a 45 °C durante 14 horas para la derivatización. Los metilesteres producidos se extrajeron con hexano para ser analizados por cromatografía gaseosa en el equipo Varian CP-3800 (Alemania), bajo los parámetros indicados en la Tabla № 8.

3.3.10. Preparación del stock de fluidos simulados de la digestión.

Para la preparación del stock de fluidos (Tabla № 9) para llevar a cabo la digestión *in vitro*, se necesitaron las siguientes sustancias químicas: pepsina de la mucosa gástrica porcina (≥ 2500 U/g proteína), extracto biliar bovino, KCl, KH_2PO_4 , NaHCO_3 , NaCl, $\text{MgCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6$, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ y CaCl_2 . Además, NaOH (1N) y HCl (1N).

Tabla № 8. Condiciones de trabajo para el análisis por cromatografía gaseosa.

Parámetros Instrumentales	Valores
Volumen de inyección	1µL
Modo de inyección	splitless
Tiempo de inyección	0.5 min
Temperatura del inyector	250 °C
Columna capilar	SUPELCO, SUPELLOWAX® 10 fused silica 30mx0,25mmx0,25µm
Gas de arrastre	Helio
Flujo de gas	1 mL/min
Programa de temperatura	120 °C por 1min, 30 °C/min hasta 160 °C, 160 °C por 1 min, 4 °C/min hasta 240 °C, 240 °C por 7min.
Tiempo total del programa de temperatura	35 min
Temperatura programada del detector	260 °C

3.3.11. Proceso de digestión *in vitro*.

El proceso de digestión se realizó aplicando el método de simulación gastrointestinal estática *in vitro* (Figura № 7) la misma que se divide en tres fases: oral, gástrica e intestinal, de acuerdo con el protocolo INFOGEST 2.0⁶⁹. Los resultados de bioaccesibilidad de nutrientes son expresados en porcentaje del nutriente liberado en relación con la cantidad inicial contenida en la muestra. Las determinaciones fisicoquímicas^{205,206} fueron realizadas según metodología de la AOAC²⁰².

Tabla No 9. Volúmenes de soluciones stock de electrolitos de fluidos simulados de digestión para un volumen de 400 ml diluidos con agua (concentraciones de 1.25x).

Solución salina añadida	Concentración stock		SSF (pH7) (mL)	SGF (pH 3) (mL)	SIF (pH 7) (mL)
	(g/L)	(mol/L)			
KCl	37.3	0.5	15.1	6.9	6.8
KH ₂ PO ₄	68	0.5	3.7	0.9	0.8
NaHCO ₃ ^a	84	1	13.6	12.5	42.5
NaCl	117	2	-	11.8	9.6
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.15	0.15	0.4	1.1
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0.5	0.06	0.5	-
HCl		6	0.09	1.3	0.7
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ ^b	44.1	0.3	0.025	0.005	0.04

^a El uso de sales de carbonato en las soluciones electrolíticas requiere el uso de contenedores sellados con espacio de cabeza limitado. ^b CaCl₂(H₂O)₂ debe agregarse inmediatamente antes de su uso.

Fuente: Brodkorb A. et al⁶⁹

Separación de la fase micelar. Para obtener la muestra a analizar se debe tomar el digerido de la fase intestinal y centrifugar a 3500 rpm a 4 °C por 10 minutos. Recoger el sobrenadante, pasarlo a otro tubo Falcon de 50 mL y congelar hasta su posterior análisis.

3.3.12. Determinación de la bioaccesibilidad.

La bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA es expresada en porcentaje del nutriente liberado en función de la cantidad inicial presente en cada muestra:

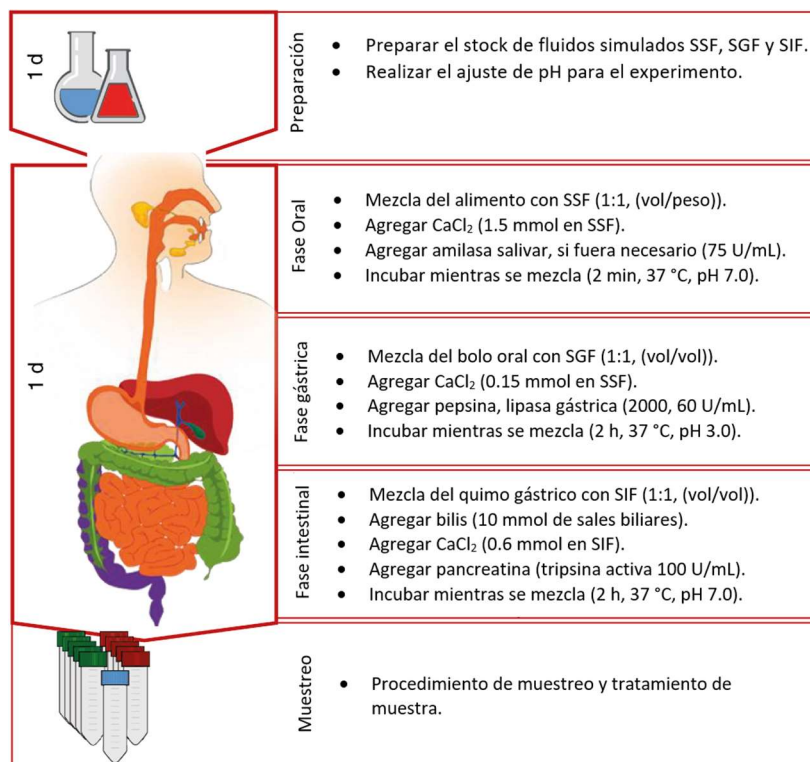
$$\text{Bioaccesibilidad} = \left(\frac{D}{I} \right) \times 100$$

donde:

D = contenido de nutriente liberado (g/100 g de muestra seca)

I = contenido del nutriente inicial (g/100 g de muestra seca)

Figura No 7. Diagrama de tiempo y flujo de la simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* (INFOGEST 2.0). Tiempo esperado (izquierda) y las etapas correspondientes del proceso (derecha).



SSF, líquido salival simulado; SGF, fluido gástrico simulado; SIF, fluido intestinal simulado.

Fuente: Brodkorb A. et al.⁶⁹

3.4. Procesamiento y análisis de la información.

Todos los ensayos se desarrollaron por triplicado y se evaluaron mediante un análisis de varianza con el programa R versión 4.2.0 con un nivel de significancia del 5% (p -valor < 0.05), en los casos en que se encontró diferencias estadísticas significativas se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, utilizando el paquete agricolae²⁰⁷.

3.5. Aspectos éticos.

El autor del presente trabajo de investigación declara que se realizó sin ningún propósito de beneficio de tipo comercial o financiero que pueda establecer algún posible conflicto de intereses. Se ha respetado los derechos de autoría y propiedad intelectual. El uso de productos químicos

fiscalizados por las instituciones gubernamentales, utilizados en los experimentos en las cantidades requeridas. Toda información recolectada y acopiada durante la presente investigación se obtuvo estrictamente de fuentes confiables científicas. El procesamiento de la información se hizo de forma responsable, seria y honesta con el objeto de salvaguardar la integridad de la misma. Del mismo modo, los análisis realizados durante la investigación se hicieron mediante métodos confiables y validados. La investigación no se hizo con seres humanos ya que se evaluó la bioaccesibilidad mediante un proceso de digestión *in vitro* por lo tanto no se requirió ningún consentimiento informado.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Para llevar a cabo el estudio de bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA se elaboraron dos tipos de hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*), en el primer tipo de hamburguesa se utilizó aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y en segundo tipo de hamburguesa se utilizó aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) ambos aceites previamente fueron microencapsulados aplicando el método de coacervación compleja utilizando gelatina y goma arábiga como encapsulantes para luego ser sometidas al proceso de reticulación utilizando la enzima transglutaminasa²⁰⁰, estos procesos permiten obtener micropartículas estables, esféricas, multinucleadas que contiene la mayor cantidad de aceite microencapsulado.

4.1. Caracterización de la materia prima.

4.1.1. Análisis de frescura.

El pescado utilizado para la elaboración de las hamburguesas (materia prima) se adquirió de piscigranjas (Figura № 8) ubicadas en la carretera Iquitos – Nauta.

Figura № 8. Cosecha de boquichicos (*Prochilodus nigricans*).



Luego los pescados extraídos de las piscigranjas se colocaron en cajas de poliestireno con hielo picado para mantener su frescura, procediendo seguidamente a trasladarlos hasta el Taller de Productos Cárnicos de la Facultad de Industrias Alimentaria (UNAP) ubicado en la Av. Augusto Freyre Nº 600 de la ciudad de Iquitos donde se llevó a cabo su procesamiento.

Para evaluar la calidad del pescado fresco, se aplicó el Método de Índice de Calidad (MIC) basado en deméritos²⁰⁸. Los resultados de la evaluación indican que el pescado es de excelente calidad y se muestran en la Tabla Nº 10.

Tabla Nº 10. Evaluación de la calidad del boquichico (*Prochilodus nigricans*) fresco. Método del Índice de la Calidad.

Parámetro de calidad	Característica	Puntuación	Evaluación
Apariencia general	Piel	0 Brillante, resplandeciente	0
		1 Brillante	
		2 Opaca	
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Ninguna	0
		1 Pequeños, 10 – 30%	
		2 Grandes, 30 – 50%	
	Dureza	3 Muy grandes, 50 – 100%	0
		0 Duro, en <i>rigor mortis</i>	
		1 Elástico	
	Vientre	2 Firme	0
		1 Suave	
		2 Estallido de vientre	
	Olor	0 Fresco	0
		1 Neutral	
		2 A humedad, mohoso, ácido	
Ojos	Claridad	3 Carne pasada/rancia	0
		0 Claros	
		1 Pálidos, descoloridos	
	Forma	0 Normal	0
		1 Planos	
		2 Hundidos	
Branquias	Color	0 Rojo característico	0
		1 Pálidas, descoloridas	
		0 Fresco	
Olor	1 Neutral		
	2 Ligeramente rancio		
	3 Hedor agrio/pasado, rancio		
Total puntuación			0

4.1.2. Rendimiento de la materia prima.

La Tabla № 11, muestra la cantidad de pulpa boquichico (*Prochilodus nigricans*), desechos (cabeza, cola, aletas, espinazo, espinas, piel, vísceras) y rendimiento de los filetes obtenidos según la procedencia de la materia prima. Se observa que el rendimiento promedio de la pulpa en porcentaje fue de 29.101% con una desviación estándar de ± 0.8482 .

Tabla № 11. Rendimiento de los filetes de boquichico (*Prochilodus nigricans*) según su procedencia.

Procedencia	Peso bruto (kg)	Pulpa (kg)	Desechos (kg)	Rendimiento (%)
Piscigranja Mariliquiz Silva Torres Carretera Iquitos – Nauta km 15.0	2.6	0.75	1.85	28.846%
Piscigranja Comercial Hnos. García Carretera Iquitos – Nauta km 19.5	17.6	5.0	12.6	28.409%
Piscigranja Edwin Agurto García Carretera Iquitos – Nauta km 48.0	21.4	6.43	15.2	30.047%
Rendimiento promedio: 29.101%		DE: ± 0.8482		

4.1.3. Análisis proximal de los filetes de pescado.

Los filetes de pescado fueron caracterizados respecto de las proteínas, humedad, y ceniza según el método descrito por la AOAC²⁰². Los resultados se presentan en la Tabla № 12.

Tabla № 12. Composición centesimal de los filetes de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

Filete	Composición centesimal (%)			
	Humedad	Lípidos	Ceniza	Proteína
Boquichico	74.00 \pm 0.11	4.75 \pm 0.04	1.21 \pm 0.01	17.84 \pm 0.06
Promedio \pm desviación estándar (n = 3)				

4.1.4. Perfil de ácidos grasos de la pulpa de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

Los resultados obtenidos en el análisis del perfil de ácidos grasos de la pulpa boquichico (*Prochilodus nigricans*) se muestra en la Tabla № 13. Se puede observar que en la pulpa la presencia de los ácidos grasos en estudio EPA (0.063 g/100 g de pulpa), DHA (0.121 g/100 g de pulpa) y ALA (0.151 g/100 g de pulpa).

Tabla № 13. Perfil de ácidos grasos de la pulpa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) en g/100 g de muestra.

Ácido graso	Cn:m	Promedio	Desviación estándar
Araquidónico	20:4	0.097	±0.0154
Eicosatrienoico n-3	20:3	0.039	±0.0006
Eicosadienoico	20:2	0.029	±0.0015
Eicosenoico	20:1	0.054	±0.0021
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	0.121	±0.0249
Eicosapentaenoico (EPA)	20:5	0.063	±0.0068
Eicosatrienoico n-6	20:3	0.032	±0.0015
Erucico	22:1	0.051	±0.0006
Mirístico	14:0	0.051	±0.0015
Miristoleico	14:1	0.020	±0.0006
Palmitico	16:0	0.683	±0.0086
Palmitoleico	16:1	0.102	±0.0035
Esteárico	18:0	0.218	±0.0112
Oleico	18:1	0.246	±0.0607
Linoleico	18:2	0.154	±0.0040
α-Linolénico (ALA)	18:3	0.151	±0.0038
Margárico	17:0	0.061	±0.0023
Pentadecanoico	15:0	0.034	±0.0012

4.2. Perfil de ácidos grasos de los aceites.

4.2.1. Perfil de ácidos grasos del aceite crudo de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*).

Los resultados obtenidos en el análisis del perfil de ácidos grasos del aceite crudo de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) se muestra en la Tabla № 14. Se puede observar que el EPA y DHA tienen concentraciones altas, 17.015 % y 14.318 % respectivamente. En cambio, la concentración de ALA es mínima 1.889 %.

Tabla № 14. Perfil de ácidos grasos del aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) crudo (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Promedio	Desviación estándar
Araquídico	20:0	0.260	±0.0046
Araquidónico	20:4	1.440	±0.0517
Behénico	22:0	0.300	±0.0021
Eicosatrienoico n-3	20:3	0.252	±0.0070
Eicosadienoico	20:2	0.243	±0.0060
Eicosenoico	20:1	1.182	±0.0123
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	14.318	±0.8936
Eicosapentaenoico (EPA)	20:5	17.015	±0.6049
Eicosatrienoico n-6	20:3	0.326	±0.0229
Mirístico	14:0	9.857	±0.4374
Palmitico	16:0	19.486	±0.4516
Palmitoleico	16:1	14.488	±0.2126
Esteárico	18:0	3.664	±0.0352
Oleico	18:1	6.822	±1.1061
Linoleico	18:2	1.902	±0.0140
α-Linolénico (ALA)	18:3	1.889	±0.0361
Elaídico (trans)	18:1	0.179	±0.0316
Erucico	22:1	1.685	±0.0625
Heneicosanoico	21:0	0.089	±0.0270
Láurico	12:0	0.136	±0.0072
Margárico	17:0	0.793	±0.0589
Pentadecanoico	15:0	0.783	±0.0206
Nervónico	24:1	0.400	±0.0271

4.2.2. Perfil de ácidos grasos del aceite virgen de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

Los resultados obtenidos en el análisis del perfil de ácidos grasos del aceite virgen de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) se muestra en la Tabla Nº 15. Se puede observar que el EPA y DHA no están presentes en su composición. En cambio, la concentración de ALA es de 49.28 %.

Tabla Nº 15. Perfil de ácidos grasos del aceite virgen de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Promedio	Desviación estándar
Araquídico	20:0	0.159	±0.0028
Eicosadienoico	20:2	0.037	±0.0000
Eicosenoico	20:1	0.219	±0.0191
Palmitico	16:0	3.923	±0.1137
Palmitoleico	16:1	0.049	±0.0021
Esteárico	18:0	2.950	±0.0028
Oleico	18:1	8.866	±0.2586
Linoleico	18:2	34.263	±0.4400
α-Linolénico (ALA)	18:3	49.280	±0.7556
Margárico	17:0	0.1000	±0.0070

4.2.3. Producción de aceite microencapsulado por el método de coacervación compleja reticuladas.

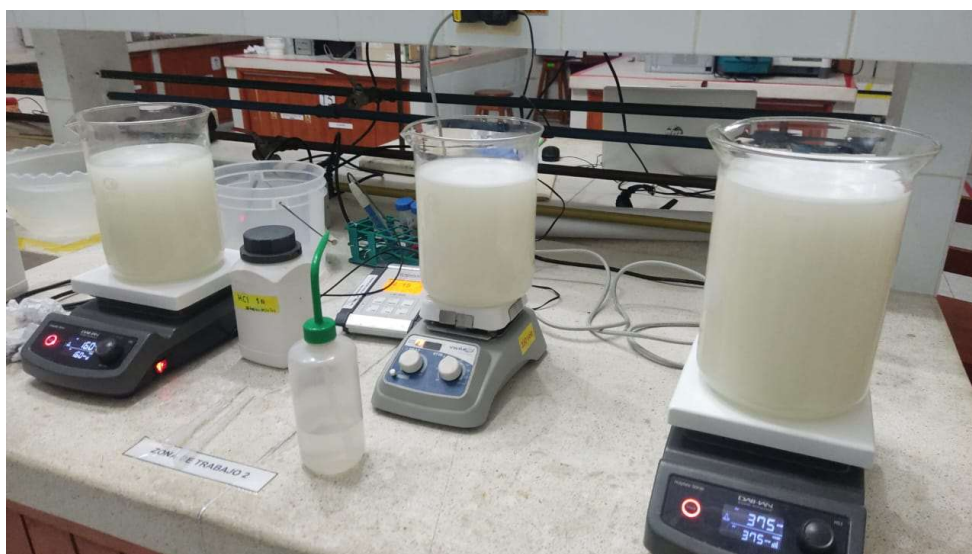
El proceso de producción de aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados por el método de coacervación compleja (Figura Nº 9) se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Control de Calidad en el Centro de Investigación de Recursos Naturales (LICC – CIRNA) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).

Las condiciones para la reticulación de las micropartículas de aceite se muestran en la Tabla Nº 16.

Tabla Nº 16. Condiciones para la reticulación de las micropartículas coacervadas.

Parámetros	Valores
Concentración	30 U/g.proteína
pH	4.0
Tiempo de reacción	6 horas
Temperatura	25-27 °C

Figura Nº 9. Proceso de obtención del aceite microencapsulado por el método de coacervación compleja.



4.2.4. Caracterización de los materiales encapsulantes.

La caracterización de los materiales encapsulantes se desarrolló en función de la cuantificación del contenido de proteína, humedad, cenizas y lípidos según los métodos descritos por la AOAC²⁰². Los resultados se muestran en la Tabla Nº 17.

Tabla № 17. Composición centesimal de los materiales encapsulantes.

Encapsulante	Composición centesimal (%)			
	Humedad	Proteína	Lípidos	Carbohidratos
Goma arábica	10.31 ±0.18	2.09 ±0.06	0.35 ±0.09	87.02 ±0.33
Gelatina	11.30 ±0.15	88.97 ±0.17	0.13 ±0.04	-

Promedio ± desviación estándar (n = 3)

4.2.5. Morfología y microestructura de las micropartículas reticuladas.

Figura № 10. Micropartículas de aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*).

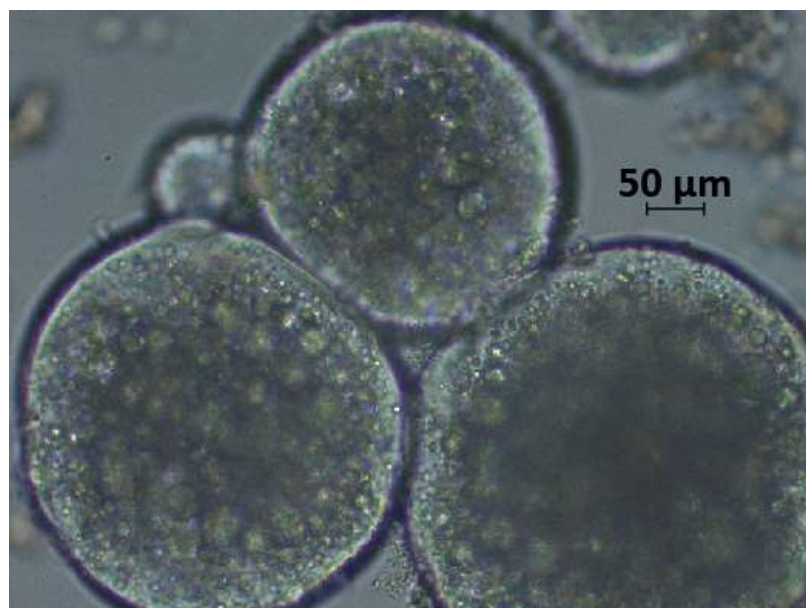
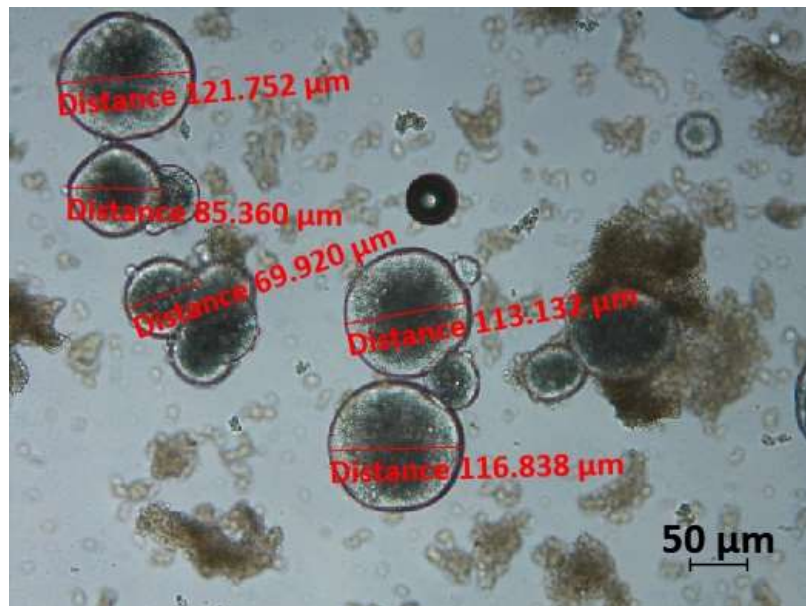
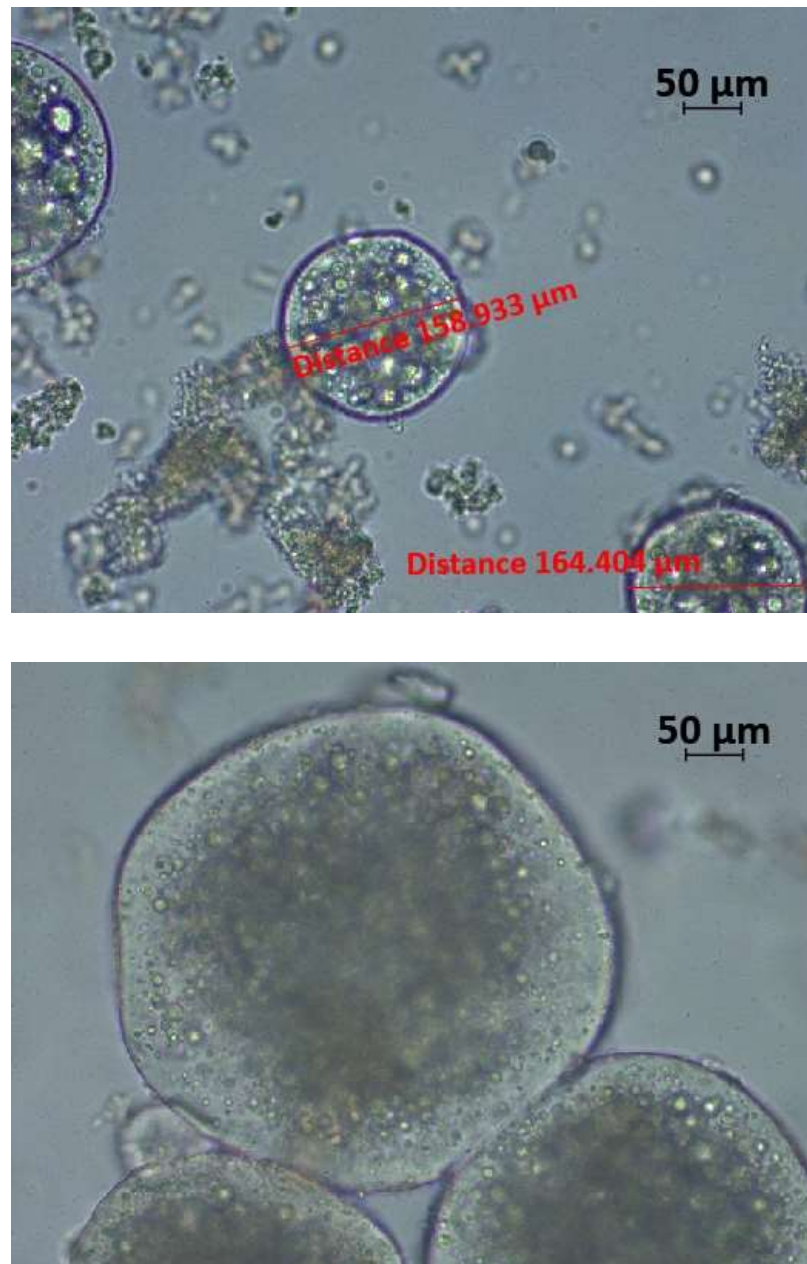


Figura № 11. Micropartículas de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.).



4.3. Eficiencia de encapsulación de micropartículas producidas por coacervación compleja.

Para determinar la eficiencia de encapsulación (EE) primero se determinó el contenido de lípidos en las micropartículas y luego se procedió a su cuantificación aplicando el método de Bligh y Dyer²⁰¹ obteniendo una eficiencia de encapsulación de 89.17 ± 0.63 %.

4.4. Análisis proximal de las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

En la Tabla Nº 18 se pueden observar los resultados del análisis proximal de las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados por el método de coacervación compleja.

Tabla Nº 18. Composición centesimal hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaborada con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados.

Hamburguesa	Composición centesimal (%)			
	Humedad	Lípidos	Ceniza	Proteína
Con aceite de sachá inchi	64.48 ± 0.22	19.20 ± 0.67	0.99 ± 0.06	17.05 ± 0.54
Con aceite de menhaden	65.94 ± 0.34	19.24 ± 0.88	1.11 ± 0.17	18.08 ± 0.62

Promedio ± desviación estándar ($n = 3$)

4.4.1. Estabilidad oxidativa de las hamburguesas (TBARS).

La estabilidad oxidativa de las hamburguesas se determina a través del estudio de los productos secundarios generados aplicando el método TBARS. Los resultados obtenidos del cálculo del índice de peróxidos para las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaboradas con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y con aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) se muestra en la Tabla Nº 19.

El Codex Alimentarius establece un límite máximo de 2 mg/kg de malondialdehído (MDA) en carne y productos cárnicos tratados térmicamente, por lo tanto, la estabilidad oxidativa de la hamburguesa cocida se mantiene en un nivel aceptable luego de las 8 semanas al utilizar ambos tipos de aceite.

Tabla № 19. Estabilidad oxidativa de hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

Tiempo	Índice de peróxidos de hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>)			
	Hamburguesa cruda		Hamburguesa cocida	
	Aceite de menhaden	Aceite de sachá inchi	Aceite de menhaden	Aceite de sachá inchi
Tiempo 0	0.2353 ±0.0127	0.0667 ±0.0207	0.2740 ±0.0331	0.0977 ±0.0326
Semana 1	0.2865 ±0.0241	0.2397 ±0.0339	0.5065 ±0.0248	0.3302 ±0.0215
Semana 2	0.5424 ±0.0278	0.4207 ±0.0168	0.6583 ±0.0153	0.4820 ±0.0294
Semana 3	0.6959 ±0.0133	0.6142 ±0.0155	0.8793 ±0.0162	0.7030 ±0.0195
Semana 4	0.8147 ±0.0183	0.7330 ±0.0288	1.0803 ±0.0245	0.8040 ±0.0114
Semana 5	0.9481 ±0.0302	0.8264 ±0.0305	1.1318 ±0.0324	0.8753 ±0.0217
Semana 6	1.1953 ±0.0214	1.0536 ±0.0223	1.3363 ±0.0162	1.1498 ±0.0238
Semana 7	1.1571 ±0.0128	1.2038 ±0.0141	1.3707 ±0.0223	1.2242 ±0.0278
Semana 8	1.4305 ±0.0246	1.2352 ±0.0219	1.6106 ±0.328	1.4551 ±0.0212

Promedio ±desviación estándar (n=3)

Figura № 12. Índice de peróxido de hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) crudas elaboradas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados.

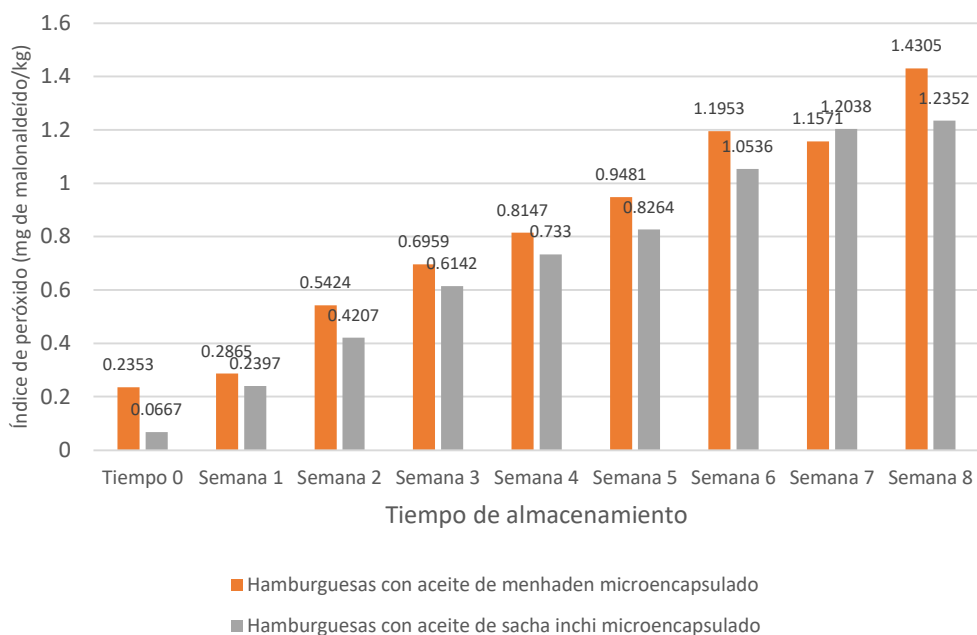
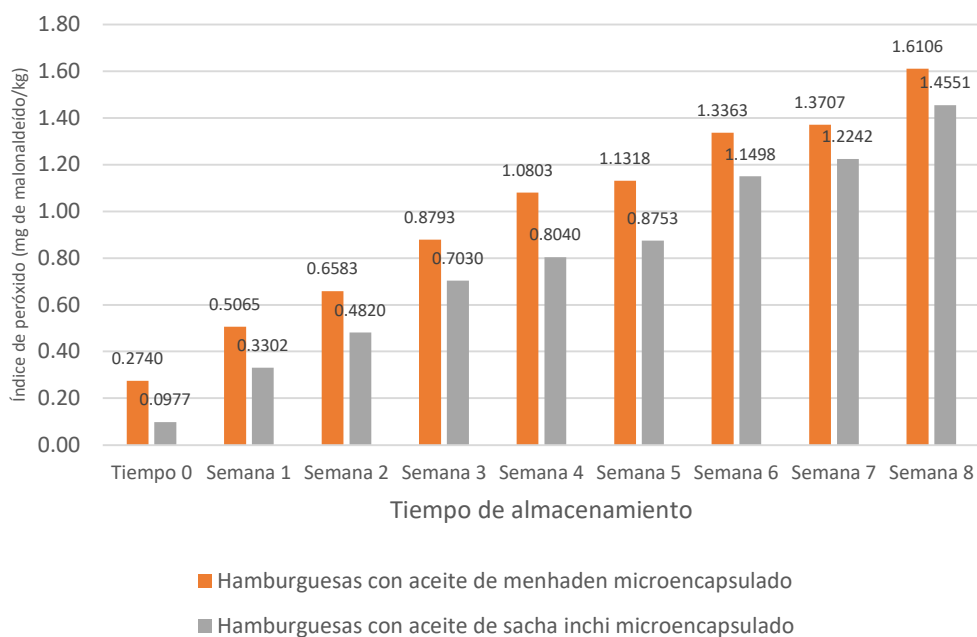


Figura No 13. Índice de peróxido de hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) cocidas elaboradas con aceite de menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados.

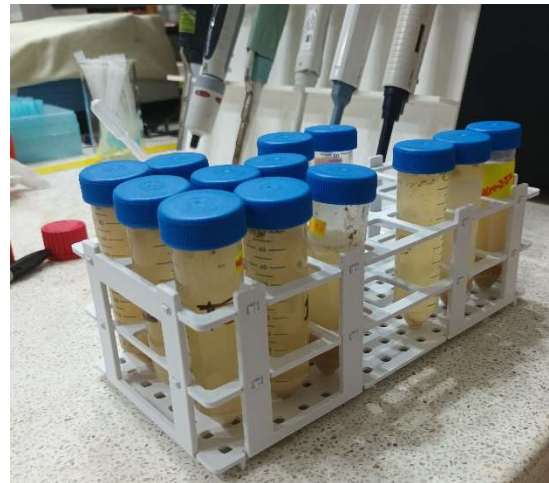
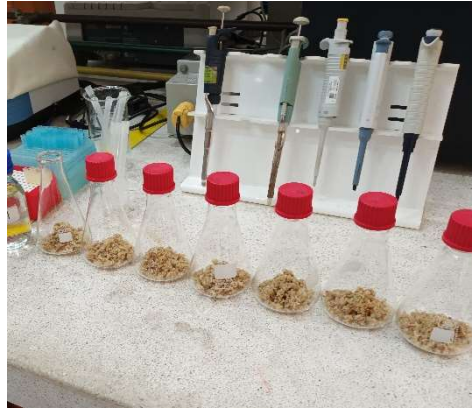


4.5. Bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA.

Para determinar el porcentaje bioaccesible de EPA, DHA y ALA que se libera en el proceso digestivo, se aplicó el protocolo INFOGES 2.0 que permite simular la digestión *in vitro* en sus tres etapas (bucal, gástrico e intestinal). Seguidamente se analizó las muestras digeridas con el método de cromatografía gaseosa.







4.5.1. Análisis de los ácidos grasos en las hamburguesas crudas.

La Tabla № 20 muestra los ácidos grasos presentes en hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*)

microencapsulado por coacervación compleja (HAP). Se observa que el contenido inicial de EPA, DHA y ALA antes de la cocción de la hamburguesa es 0.347 ± 0.035 , 0.287 ± 0.021 y 0.107 ± 0.010 g/100 g de muestra, respectivamente. Estos ácidos grasos provienen tanto del aceite de pescado que se utilizó para enriquecer la hamburguesa (Tabla Nº 14) como de la pulpa de boquichico (Tabla Nº 13).

Tabla Nº 20. Ácidos grasos en hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (HAP) (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Resultado*	
Araquidónico n-6	20:4	0.069	± 0.005
Eicosatetraenoico n-3	20:4	0.025	± 0.003
Docosapentaenoico n-3	22:5	0.046	± 0.020
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	0.287	± 0.021
Eicosapentaenoico n-3 (EPA)	20:5	0.347	± 0.035
Mirístico	14:0	0.253	± 0.076
Palmítico	16:0	2.693	± 1.144
Palmitoleico n-7	16:1	0.485	± 0.196
Esteárico	18:0	1.084	± 0.474
Oleico n-9	18:1	4.661	± 2.743
Vaccénico n-7	18:1	0.421	± 0.265
Linoleico n-6	18:2	0.921	± 0.586
γ -Linolénico n-6	18:3	0.010	± 0.003
α -Linolénico n-3 (ALA)	18:3	0.107	± 0.010
Estearidónico n-3	18:4	N.D.	N.D.

* Promedio \pm Desviación estándar. (n = 3) N.D.: no se detectó.

La Tabla Nº 21 muestra los ácidos grasos presentes en la hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado por coacervación compleja (HASI). Se observa que el contenido inicial antes de la cocción de la hamburguesa el contenido de EPA, DHA y ALA es 0.048 ± 0.025 , 0.101 ± 0.048 y 0.511 ± 0.155 g/100 g de muestra,

respectivamente. Los ácidos grasos EPA y DHA provienen de la pulpa de boquichico y el ALA del aceite microencapsulado con que se enriqueció la hamburguesa.

Tabla Nº 21. Ácidos grasos en hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Resultado*	
Araquidónico n-6	20:4	0.057	±0.006
Eicosatetraenoico n-3	20:4	0.023	±0.009
Docosapentaenoico n-3	22:5	0.019	±0.007
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	0.101	±0.048
Eicosapentaenoico n-3 (EPA)	20:5	0.048	±0.025
Mirístico	14:0	0.185	±0.010
Palmitico	16:0	2.444	±0.239
Palmitoleico n-7	16:1	0.334	±0.035
Estearico	18:0	0.939	±0.166
Oleico n-9	18:1	2.836	±0.578
Vaccénico n-7	18:1	0.235	±0.017
Linoleico n-6	18:2	1.158	±0.345
γ-Linolénico n-6	18:3	N.D.	N.D.
α-Linolénico n-3 (ALA)	18:3	0.511	±0.155
Estearidónico n-3	18:4	N.D.	N.D.

* Promedio ± Desviación estándar. (n = 3)

N.D.: no se detectó.

La Tabla Nº 22 muestra los contenidos de EPA, DHA y ALA en las hamburguesas (Figura Nº 14) y se verifica que existen diferencias significativas entre los promedios de los contenidos de estos ácidos grasos al comparar las hamburguesas enriquecidas con aceite de pescado (HAP) y las enriquecidas con aceite de sachá inchi (HASI). Esto sucede debido a que el aceite de pescado microencapsulado utilizado para enriquecer las hamburguesas HAP posee un alto contenido de EPA y DHA, pero no de ALA (Tabla Nº 14), en cambio el aceite de sachá inchi

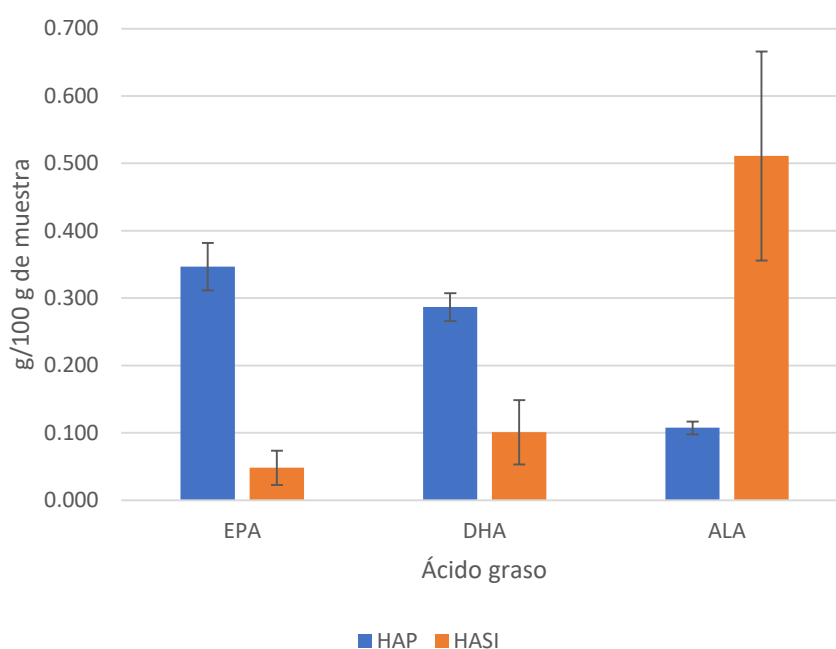
utilizado para enriquecer las hamburguesas HASI posee un alto contenido de ALA, pero no contiene EPA ni DHA (Tabla № 15).

Tabla № 22. Contenido de EPA, DHA y ALA en hamburguesa cruda de boquichico (*Prochilodus nigricans*) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Hamburguesas crudas		<i>p</i>
	HAP	HASI	
EPA	0.347 ± 0.035	0.048 ± 0.025	0.0003 ***
DHA	0.287 ± 0.021	0.101 ± 0.048	0.0035 **
ALA	0.107 ± 0.010	0.511 ± 0.155	0.0108 *

p* < 0.05, *p* < 0.01, ****p* < 0.001 (n = 3)

Figura № 14. Contenido de EPA, DHA y ALA en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) (HAP) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (HASI) microencapsulados. B: bucal, G: gástrica, I: intestinal.



4.5.2. Análisis de los ácidos grasos en las muestras digeridas de las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

La Tabla Nº 23 muestra los ácidos grasos liberados durante el proceso de digestión *in vitro* en la etapa bucal, gástrica e intestinal de la hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) elaborada con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado por coacervación compleja (HAP).

Tabla Nº 23. Ácidos grasos en muestras digeridas de hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (HAP) (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Fase bucal		Fase gástrica		Fase intestinal	
		Resultado*	Resultado*	Resultado*	Resultado*	Resultado*	Resultado*
Araquidónico n-6	20:4	0.0108	±0.0007	0.0020	±0.0002	N.D.	N.D.
Eicosatetraenoico n-3	20:4	0.0042	±0.0001	0.0006	±0.0002	N.D.	N.D.
Docosapentaenoico n-3	22:5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	0.0186	±0.0026	0.1270	±0.0252	0.2401	±0.0284
Eicosapentaenoico n-3 (EPA)	20:5	0.0399	±0.0164	0.1751	±0.0162	0.4100	±0.0193
Mirístico	14:0	0.0304	±0.0012	0.0046	±0.0015	0.0074	±0.0015
Palmítico	16:0	0.3174	±0.0029	0.0478	±0.0112	0.0736	±0.0096
Palmitoleico n-7	16:1	0.0470	±0.0008	0.0066	±0.0024	0.0097	±0.0012
Esteárico	18:0	0.1409	±0.0008	0.0220	±0.0042	0.0300	±0.0031
Oleico n-9	18:1	0.2661	±0.0208	0.0406	±0.0158	0.0880	±0.0127
Vaccénico n-7	18:1	0.0265	±0.0008	0.0040	±0.0014	0.0069	±0.0008
Linoleico n-6	18:2	0.0946	±0.0097	0.0145	±0.0057	0.0343	±0.0066
γ-Linolénico n-6	18:3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
α-Linolénico n-3 (ALA)	18:3	0.0109	±0.0003	0.0360	±0.0021	0.0327	±0.0014
Estearidónico n-3	18:4	0.0047	±0.0005	0.0007	±0.0002	N.D.	N.D.

* Promedio ± Desviación estándar. (n = 3)

N.D.: no se detectó.

Se observa que la cantidad de EPA y DHA liberadas son mayores en la etapa intestinal (Figura Nº 14 y Figura Nº 15). Este comportamiento

se debería a que el aceite de pescado con el que se ha enriquecido la hamburguesa HAP tiene una gran cantidad de EPA y DHA en su composición (Tabla Nº 14), además este hallazgo es de esperar puesto que las enzimas digestivas que hidrolizan los compuestos lipídicos se segregan a nivel intestinal. En cuanto a la liberación de ALA (Figura Nº 14 y Figura Nº 15) se observa que es baja tanto en las etapas bucal, gástrica e intestinal puesto que el aceite con el que se ha enriquecido las hamburguesas HAP (Tabla Nº 14) y la pulpa de boquichico con la que se ha elaborado la hamburguesa, contienen una baja concentración de ácido graso ALA en su composición (Tabla Nº 13). Para determinar el porcentaje bioaccesible de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA en la hamburguesa HAP, se observó las cantidades liberadas durante la digestión *in vitro* en la etapa intestinal (I) las cuales son 0.4100 ± 0.0193 , 0.2401 ± 0.0284 y 0.0327 ± 0.0014 , respectivamente.

La Tabla Nº 24 muestra los ácidos grasos liberados durante la digestión *in vitro* en la etapa bucal, gástrica e intestinal de las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado por coacervación compleja (HASI). Se observa que las cantidades de EPA y DHA liberadas son cantidades bajas en las etapas bucal, gástrica e intestinal (Figura Nº 14 y Figura Nº 15) y las cantidades de ALA liberadas son altas en la etapa gástrica e intestinal. Este comportamiento se debería a que el aceite de sacha inchi con el que se ha enriquecido la hamburguesa HASI no posee EPA ni DHA en su composición, pero si una cantidad muy elevada de ALA (Tabla Nº 15), además como ya se indicó la mayor cantidad de ácido grasos liberados en la etapa intestinal se debería a que las enzimas digestivas que hidrolizan los compuestos lipídicos se segregan a este nivel. Para determinar el porcentaje bioaccesible de los ácidos grasos se ha observado que durante la digestión *in vitro* las cantidades de EPA, DHA y ALA liberadas en la etapa intestinal (I) son 0.0845 ± 0.0205 , 0.0349 ± 0.0143 y 0.1758 ± 0.0356 g/100 g de muestra, respectivamente (Figura Nº 14, Figura Nº 15 y Figura Nº 16).

Tabla No 24. Ácidos grasos en muestras digeridas de hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (HASI) (g/100 g de muestra).

Ácido graso	Cn:m	Fase bucal		Fase gástrica		Fase intestinal	
		Resultado*		Resultado*		Resultado*	
Araquidónico n-6	20:4	0.0027	±0.0006	0.0012	±0.0003	N.D.	N.D.
Eicosatetraenoico n-3	20:4	0.0005	±0.0002	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Docosapentaenoico n-3	22:5	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Docosahexaenoico (DHA)	22:6	0.0178	±0.0039	0.0289	±0.0083	0.0349	±0.0143
Eicosapentaenoico n-3 (EPA)	20:5	0.0226	±0.0064	0.0152	±0.0039	0.0845	±0.0205
Mirístico	14:0	0.0062	±0.0023	0.0023	±0.0000	0.0018	±0.0003
Palmítico	16:0	0.0639	±0.0449	0.0388	±0.0015	0.0162	±0.0070
Palmitoleico n-7	16:1	0.0049	±0.0022	0.0038	±0.0001	0.0030	±0.0002
Esteárico	18:0	0.0564	±0.0100	0.0183	±0.0002	0.0065	±0.0038
Oleico n-9	18:1	0.0974	±0.0514	0.0444	±0.0086	0.0193	±0.0087
Vaccénico n-7	18:1	0.0082	±0.0035	0.0037	±0.0005	0.0017	±0.0005
Linoleico n-6	18:2	0.0221	±0.0093	0.0558	±0.0237	0.0077	±0.0034
γ-Linolénico n-6	18:3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
α-Linolénico n-3 (ALA)	18:3	0.0286	±0.0042	0.1513	±0.0031	0.1758	±0.0356
Estearidónico n-3	18:4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

* Promedio ± Desviación estándar. (n = 3)

N.D.: no se detectó.

La Tabla No 25 muestra la cantidad de ácido graso EPA liberado durante las etapas bucal, gástrica e intestinal de la digestión *in vitro* de las hamburguesas HAP y HASI. En la etapa bucal de la digestión se observa la presencia de EPA en cantidades similares en ambas hamburguesas no encontrándose diferencias significativas en los promedios ($p > 0.05$) estas cantidades de EPA en la etapa bucal corresponderían al grupo de ácidos grasos que se encuentran libres en la matriz alimenticia luego de la cocción de las hamburguesas (Figura No 15). En la etapa gástrica e intestinal se observa una mayor liberación de EPA en la digestión de la hamburguesa HAP que en la hamburguesa HASI revelando diferencias significativas al comparar los promedios ($p < 0.05$). En ambas

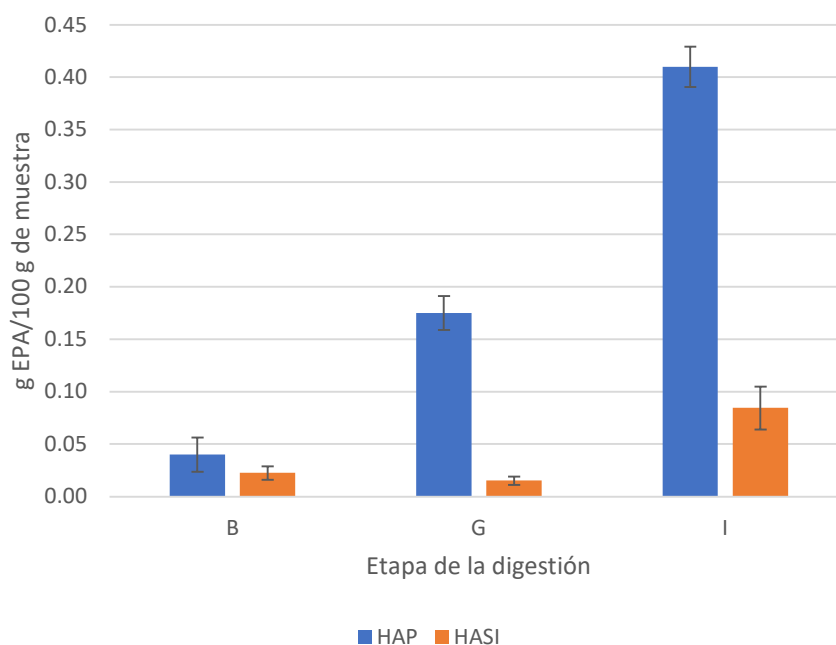
hamburguesas se observa la misma tendencia en la que se reporta mayor liberación de los ácidos grasos en la etapa intestinal.

Tabla № 25. EPA liberado durante la digestión *in vitro* en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).

Etapa	Hamburguesas		<i>p</i>	
	HAP	HASI		
Bucal (B)	0.0399 ± 0.0164	0.0226 ± 0.0064	0.1630	N.S.
Gástrica (G)	0.1751 ± 0.0162	0.0152 ± 0.0039	0.0001	***
Intestinal (I)	0.4100 ± 0.0193	0.0845 ± 0.0205	0.0000	***

N.S.: no significativo, **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001

Figura № 15. Liberación de EPA en la digestión *in vitro* de hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) (HAP) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (HASI) microencapsulados.



B: bucal, G: gástrica, I: intestinal.

La Tabla № 26 muestra la cantidad de ácido graso DHA liberado durante las etapas bucal, gástrica e intestinal de la digestión *in vitro* de las

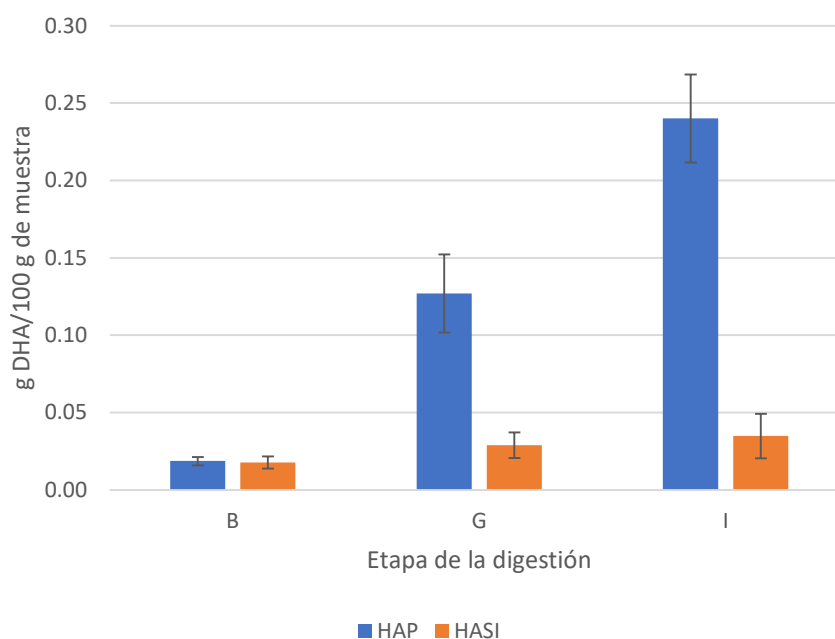
hamburguesas HAP y HASI. En la etapa bucal de la digestión se observa la presencia de DHA en cantidades similares en ambas hamburguesas no encontrándose diferencias significativas en los promedios ($p > 0.05$) estas cantidades de DHA en la etapa bucal corresponderían al grupo de ácidos grasos que se encuentran libres en la matriz alimenticia luego de la cocción de las hamburguesas (Figura Nº 16).

Tabla Nº 26. DHA liberado durante la digestión *in vitro* en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).

Etapa	Hamburguesas		p	
	HAP	HASI		
Bucal (B)	0.0186 ± 0.0026	0.0178 ± 0.0039	0.7657	N.S.
Gástrica (G)	0.1270 ± 0.0252	0.0289 ± 0.0083	0.0031	**
Intestinal (I)	0.2401 ± 0.0284	0.0349 ± 0.0143	0.0004	***

N.S.: no significativo, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Figura Nº 16. Liberación de DHA en la digestión *in vitro* de hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) (HAP) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (HASI) microencapsulados.



B: bucal, G: gástrica, I: intestinal.

En la etapa gástrica e intestinal también se observa una mayor liberación de DHA en la digestión de la hamburguesa HAP en comparación con la digestión de la hamburguesa HASI revelando diferencias significativas al comparar los promedios ($p < 0.05$). En ambas hamburguesas se observa la misma tendencia en la que se reporta mayor liberación de los ácidos grasos en la etapa intestinal (Figura Nº 16).

La Tabla Nº 27 muestra la cantidad de ácido graso ALA liberado durante las etapas bucal, gástrica e intestinal de la digestión *in vitro* de las hamburguesas HAP y HASI. En la etapa bucal de la digestión se observa la presencia de ALA en mayor proporción en la hamburguesa HASI que en la hamburguesa HAP, encontrándose diferencias significativas en los promedios ($p < 0.05$), éstas cantidades de ALA en la etapa bucal corresponderían al grupo de ácidos grasos que se encuentran libres en la matriz alimenticia luego de la cocción de las hamburguesas (Figura Nº 16).

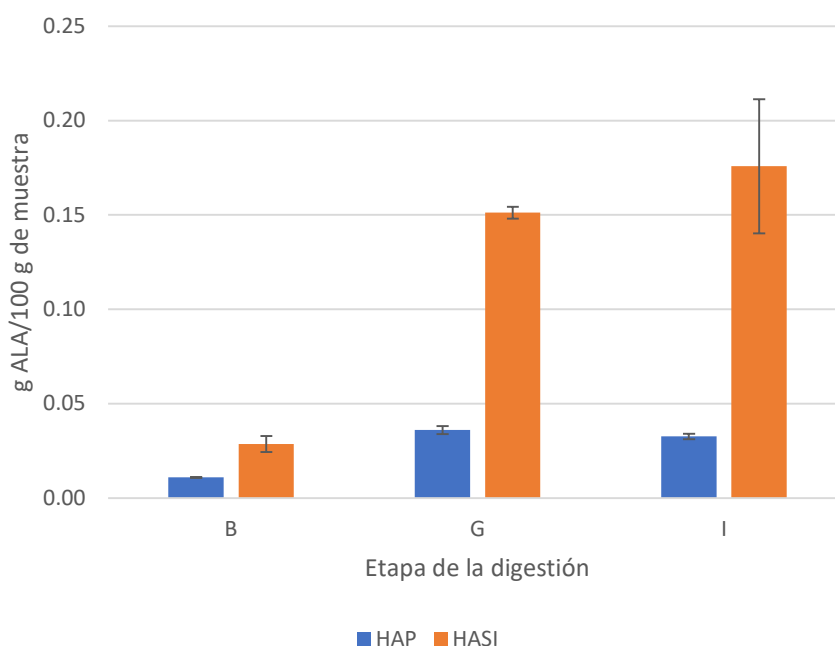
Tabla Nº 27. ALA liberado durante la digestión *in vitro* en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulados (g/100 g de muestra).

Etapa	Hamburguesas		<i>p</i>
	HAP	HASI	
Bucal (B)	0.0109 ± 0.0003	0.0286 ± 0.0042	0.0020 **
Gástrica (G)	0.0360 ± 0.0021	0.1513 ± 0.0031	0.0000 ***
Intestinal (I)	0.0327 ± 0.0014	0.1758 ± 0.0356	0.0022 **

N.S.: no significativo, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

En la etapa gástrica e intestinal se observa una mayor liberación de ALA en la digestión de la hamburguesa HASI en comparación con la digestión de la hamburguesa HAP revelando diferencias significativas al comparar los promedios ($p < 0.05$). En este caso, sólo en la hamburguesa HASI se observa la tendencia en la que se reporta mayor liberación de los ácidos grasos en la etapa intestinal (Figura Nº 17).

Figura № 17. Liberación de ALA en la digestión *in vitro* de hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) (HAP) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (HASI) microencapsulados.



B: bucal, G: gástrica, I: intestinal.

4.5.3. Bioaccesibilidad de EPA, DHA y ALA en las hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*).

La Tabla № 28 muestra el porcentaje bioaccesible de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado (HAP) y de sachá inchi (HASI) microencapsulado por coacervación compleja. Se observa que los porcentajes bioaccesibles de EPA, DHA y ALA en hamburguesas enriquecidas con aceite de pescado (HAP) fueron 50.54 ± 0.94 %, 44.04 ± 5.58 % y 30.56 ± 2.57 %, respectivamente (Figura № 18). También se observa que los porcentajes bioaccesibles de EPA, DHA y ALA en hamburguesas de pescado enriquecidas con aceite de sachá inchi (HASI) fueron 41.64 ± 5.79 %, 31.01 ± 10.16 % y 35.40 ± 7.24 %, respectivamente (Figura № 17). No existe diferencias significativas entre los porcentajes de bioaccesibilidad de los ácidos grasos EPA, DHA y ALA en las hamburguesas HAP y HASI. Es posible

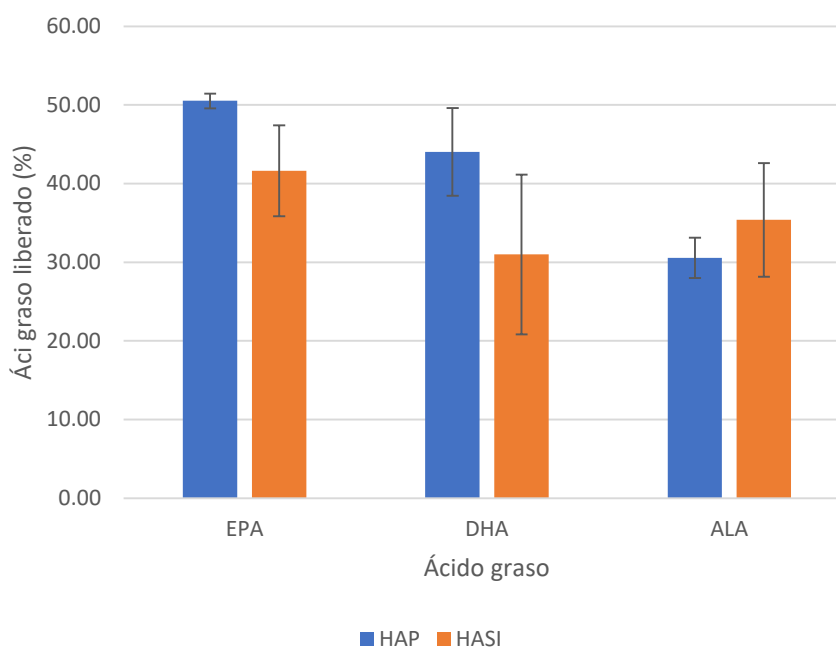
que este comportamiento se deba a que se está utilizando la misma técnica de microencapsulación para producir las micropartículas de aceite de pescado y de sachá inchi.

Tabla No 28. Porcentaje bioaccesible de EPA, DHA y ALA en hamburguesa de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia Tyrannus*) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulados.

Ácido graso	HAP		HASI		p	
	Resultado*		Resultado*			
Eicosapentaenoico n-3 (EPA)	50.54	±0.94	41.64	±5.79	0.0582	N.S.
Docosahexaenoico (DHA)	44.04	±5.58	31.01	±10.16	0.1232	N.S.
α-Linolénico n-3 (ALA)	30.56	±2.57	35.40	±7.24	0.3358	N.S.

* Promedio ± Desviación estándar. (n = 3) N.S.: no significativo
HAP: Hamburguesa de boquichico con aceite de pescado microencapsulado.
HASI: Hamburguesa de boquichico con aceite de sachá inchi microencapsulado.

Figura No 18. Porcentaje bioaccesible de EPA, DHA y ALA en hamburguesas de boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite microencapsulado de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) (HAP) y de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) (HASI).



Al analizar la composición de EPA y DHA en las hamburguesas HAP (Tabla Nº 20) observamos que la contribución de estos ácidos grasos es de 0.347 y 0.287 g/100 g de muestra, respectivamente y el porcentaje bioaccesible correspondiente es 50.54 % y 44.04 % (Tabla Nº 28) lo que nos da como resultado un aporte de EPA + DHA de 0.301 g/100 g de muestra lo que indica que con 100 g de hamburguesa HAP alcanzamos la cantidad de EPA + DHA recomendada para ingerir por día (0.250 g/persona/día)^{7,13-18,209,210} y también se puede considerar a esta hamburguesa como “fuente de omega-3” de acuerdo con la regulación europea²¹⁰. En cuanto al ácido graso ALA, las hamburguesas HAP contienen 0.107 g/100 g de muestra en promedio (Tabla Nº 20) y su porcentaje bioaccesible es 30.56 % (Tabla Nº 28) lo que nos da como resultado un aporte de 0.033 g/100 g de muestra lo que indica que con 100 g de hamburguesa HAP no se podrá alcanzar a cubrir la cantidad de ALA que se recomienda ingerir por día¹⁹.

Al analizar la composición de EPA y DHA en las hamburguesas HASI (Tabla Nº 21) observamos que la contribución de estos ácidos grasos es de 0.048 y 0.101 g/100 g de muestra, respectivamente y el porcentaje bioaccesible correspondiente es 41.64 % y 31.01 % (Tabla Nº 28) lo que nos da como resultado un aporte de EPA + DHA de 0.051 g/100 g de muestra lo que indica que con 100 g de hamburguesa HASI no alcanzaría la cantidad de EPA + DHA recomendada que se debe ingerir por día (0.250 g/persona/día)^{7,13-18,209,210}, sin embargo si se puede considerar a esta hamburguesa como “fuente de omega-3” de acuerdo con la regulación europea²¹⁰. En cuanto al ácido graso ALA, las hamburguesas HASI contienen 0.511 g/100 g de muestra (Tabla Nº 21) y el porcentaje bioaccesible es 35.40 % (Tabla Nº 28) lo que nos da como resultado un aporte de 0.181 g/100 g de muestra lo que indica que con 100 g de hamburguesa HAP no se alcanzaría la cantidad de ALA que se recomienda ingerir por día¹⁹.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La liberación de DHA, EPA y ALA en la digestión de las hamburguesas HAP y HASI mostraron un comportamiento similar, existiendo escasas diferencias significativas entre ambas. Se ha observado que el mayor porcentaje liberado de DHA, EPA y ALA se lleva a cabo en la etapa intestinal, seguido de las etapas gástrica y bucal. Estos hallazgos concuerdan con el trabajo de Solomando, Antequera y Pérez Palacios⁵³ que trabajaron con micropartículas de aceite de pescado para enriquecer dos sistemas modelo de carne diferentes, cocido (CK) y curado en seco (DC).

Los porcentajes bioaccesibles de ALA en la hamburguesa enriquecida con aceite de pescado (HAP) y en la hamburguesa enriquecida con aceite de sachá inchi (HASI) fueron de $30.56 \pm 2.57 \%$ y $35.40 \pm 7.24 \%$, respectivamente. Estos resultados son consistentes con los porcentajes de bioaccesibilidad de ALA reportados por Bolger et al.⁷⁵ en su estudio con salchichas de pollo enriquecidas con aceite de linaza, donde se aplicaron diferentes métodos de incorporación este ácido graso, encontrándose valores de bioaccesibilidad entre 19.2 % y 33.2 %.

La importante cantidad de los ácidos grasos DHA, EPA y ALA liberados en el proceso de digestión de las hamburguesas HAP y HASI, respectivamente, sugieren que el microencapsulado del aceite ejerce un efecto protector sobre estos ácidos grasos durante la cocción, lo cual concuerda con los hallazgos explicados en el trabajo de Aquilani et al.⁵⁰ Esto corrobora la idoneidad de los materiales de pared de las micropartículas (gelatina y goma arábiga) para proteger no solo de la cocción sino contra la acidez del ambiente gástrico lo que también concuerda con estudios previos sobre diferentes materiales de pared en la producción de microcápsulas por coacervación compleja⁵⁴.

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

El presente trabajo de investigación contribuye a demostrar que las micropartículas de aceite de pescado, ricas en ácidos grasos DHA y EPA, microencapsulado por coacervación compleja, permiten enriquecer las hamburguesas HAP de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*), de tal manera que, con la ingestión de 100 g de este producto se logra alcanzar a cubrir las necesidades de ingesta diaria por persona de DHA y EPA, además que este alimento puede considerarse como “fuente de omega-3”. También se demuestra que el ALA presente en el aceite de pescado y la pulpa de boquichico no aporta la suficiente cantidad de este ácido graso a la composición de la hamburguesa HAP como para que con 100 g de este alimento se alcance a cubrir la ingesta diaria recomendada por persona.

Se demostró que las micropartículas de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.), rico en ácido graso ALA, microencapsulado por coacervación compleja, permiten enriquecer las hamburguesas HASI de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) pero no al nivel de poder alcanzar la cantidad recomendada que se debe ingerir por persona por día. Además, se ha podido comprobar que el aceite de sachá inchi no aporta DHA ni EPA a la hamburguesa HASI y el DHA, EPA y ALA que aporta la pulpa de boquichico no es suficiente para alcanzar la cantidad recomendada de ingestión de estos ácidos grasos por persona por día al consumir 100 g de este alimento.

Otra contribución de este estudio consiste en que se ha podido verificar que, con el uso de la microencapsulación por el método de coacervación compleja, utilizando gelatina y goma arábiga, es posible enriquecer diferentes matrices alimenticias con la cantidad necesaria de un bioactivo de interés, además que se puede controlar el momento y lugar de su liberación en el tracto gastro intestinal.

Las hamburguesas de boquichico enriquecidas con ácidos grasos omega-3 presentan una valiosa oportunidad de negocio tanto para piscicultores como para empresas interesadas en la producción y

comercialización de estos productos. Instituciones estatales como el Gobierno Regional y la Dirección Regional de Industria de Loreto podrían aprovechar esta iniciativa para impulsar el desarrollo industrial. A través de un programa de formación de empresas semilla, que eventualmente podrían transferirse al sector privado, se fomentaría el crecimiento económico y la innovación en la región.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

- La adición de micropartículas coacervadas, reticuladas con enzima transglutaminasa conteniendo aceite de pescado o aceite de sachá inchi logró el enriquecimiento de DHA, EPA y ALA en las hamburguesas sin afectar las principales características de calidad.
- Se ha comprobado que el aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) tiene un alto contenido de ácidos grasos DHA y EPA y un bajo contenido de ALA. Las concentraciones expresadas en g/100 g de muestra son: 14.318 ± 0.8936 (DHA), 17.015 ± 0.6049 (EPA) y 1.889 ± 0.0361 (ALA).
- Se ha verificado que el aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) posee alto contenido de ácido graso ALA en su composición y no se ha detectado la presencia de DHA o EPA. La concentración de ALA es 49.28 ± 0.7556 g/100 g de muestra.
- Se ha comprobado que la composición promedio de ácidos grasos en los filetes de boquichico (*Prochilodus nigricans*), expresada en g/100 g de muestra, es: 0.121 ± 0.0249 (DHA), 0.063 ± 0.0068 (EPA) y 0.151 ± 0.0038 (ALA).
- La microencapsulación del aceite de pescado y de sachá inchi por coacervación compleja utilizando el par polimérico gelatina y goma arábica confiere un efecto protector al aceite frente a la acción de las enzimas digestivas permitiendo liberar los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en la etapa intestinal.
- El porcentaje bioaccesible de EPA y DHA que se obtiene de la hamburguesa de boquichico enriquecida con aceite de pescado microencapsulado, alcanza la cantidad recomendada de ingestión por persona por día y es considerado un alimento “fuente de omega-3”.

- El porcentaje bioaccesible de ALA que se obtiene de la hamburguesa de boquichico enriquecida con aceite de sachá inchi microencapsulado no alcanza la cantidad recomendada de ingestión por día.
- El porcentaje bioaccesible de EPA y DHA que se obtiene de la hamburguesa de boquichico enriquecida con aceite de sachá inchi microencapsulado no alcanza la cantidad recomendada de ingestión por día, pero si se puede considerar a este producto como “fuente de omega-3”.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

Continuar con los estudios de biodisponibilidad de los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en hamburguesas de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecidas con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado por coacervación compleja a fin de poder determinar qué proporción de estos ácidos grasos llegan al torrente sanguíneo.

Desarrollar estudios sobre microencapsulación de aceites con alto contenido de omega-3 utilizando otros materiales de pared especialmente vegetales ya que la gelatina es relativamente cara y no puede ser consumida por la población vegetariana y vegana⁵⁴.

Desarrollar mayor investigación sobre microencapsulación basada en la técnica de coacervación compleja utilizando compuestos bioactivos extraídos de especies vegetales de la flora amazónica que permitan enriquecer diferentes matrices alimenticias no sólo con aceites ricos en omega-3 sino con compuestos antioxidantes, probióticos, prebióticos, vitaminas, minerales, medicinales, entre otros.

Desarrollar estudios sobre bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos que se incorporen en las matrices alimenticias, puesto que no es suficiente que estas sustancias formen parte de su composición, sino que es necesario saber si realmente se liberan en el proceso digestivo y se encuentran en la posibilidad de llegar al torrente sanguíneo para cumplir con su efecto beneficioso para la salud.

Incrementar la crianza de boquichico (*Prochilodus nigricans*) en Loreto pues a pesar de que es una especie que goza de una importante demanda, sólo algunos piscicultores se dedican a su crianza.

El Gobierno Regional de Loreto debe promover un programa de formación empresarial enfocado en procesar las especies producidas por los piscicultores de la región. Este programa tendría como objetivo elaborar hamburguesas, snacks, conservas y otros productos derivados, destinados inicialmente a abastecer los programas sociales, y a su vez, fomentar el desarrollo de un mercado para estos nuevos productos.

CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tocher DR, Betancor MB, Sprague M, Olsen RE, Napier JA. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: Bridging the gap between supply and demand. *Nutrients*. el 1 de enero de 2019;11(1).
2. Solomando JC, Antequera T, Perez-Palacios T. Lipid digestion products in meat derivatives enriched with fish oil microcapsules. *J Funct Foods* [Internet]. 2020;68(December 2019):103916. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103916>
3. Bakry AM, Abbas S, Ali B, Majeed H, Abouelwafa MY, Mousa A, et al. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2016;15(1):143–82.
4. Comunian TA, Favaro-Trindade CS. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2016;61:442–57. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.003>
5. Botella-Martínez C, Gea-Quesada A, Sayas-Barberá E, Pérez-Álvarez JÁ, Fernández-López J, Viuda-Martos M. Improving the lipid profile of beef burgers added with chia oil (*Salvia hispanica* L.) or hemp oil (*Cannabis sativa* L.) gelled emulsions as partial animal fat replacers. *Lwt*. 2022;161(March).
6. Castro-González MI. Acidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Interciencia* [Internet]. 2002 [citado el 18 de julio de 2022];27(3):128–36. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442002000300005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
7. Hegde M V., Zanwar AA, Adekar SP, editores. *Omega-3 Fatty Acids: Keys to Nutritional Health*. 2016. 611 p.
8. Swanson D, Block R, Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Advances in Nutrition*. 2012;3(1):1–7.
9. Zhang TT, Xu J, Wang YM, Xue CH. Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids. *Prog Lipid Res* [Internet]. 2019;75:100997. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100997>

10. Pan A, Chen M, Chowdhury R, Sun Q, Campos H, Mozaffarian D, et al. α -Linolenic acid and risk of cardiovascular disease : a systematic. *Am J Clin Nutr.* 2012;96(6):1262–73.
11. Zhang TT, Xu J, Wang YM, Xue CH. Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids. Vol. 75, *Progress in Lipid Research.* Elsevier Ltd; 2019. p. 100997.
12. Micha R, Khatibzadeh S, Shi P, Fahimi S, Lim S, Andrews KG, et al. Global, regional, and national consumption levels of dietary fats and oils in 1990 and 2010: A systematic analysis including 266 country-specific nutrition surveys. *The BMJ [Internet].* 2014;348. Disponible en: <http://www.who.int/nmh/events/>
13. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal.* 2016;8(3):1–107.
14. EPA & DHA Intake Recommendations | GOED Omega-3 [Internet]. [citado el 18 de julio de 2022]. Disponible en: <https://goedomega3.com/intake-recommendations>
15. Los expertos recomiendan la ingesta diaria de 250mg de ácidos grasos Omega-3 al día, para una buena salud cardiovascular - Fundación Española del Corazón [Internet]. [citado el 18 de julio de 2022]. Disponible en: <https://fundaciondelcorazon.com/prensa/notas-de-prensa/1649-expertos-recomiendan-ingesta-diaria-250mg-acidos-grasos-omega-3.html>
16. Slavin J. Dietary guidelines: Are we on the right path? *Nutr Today.* 2012;47(5):245–51.
17. Cardiovascular CH para la S. A la pesca de un corazón fuerte. 2018. 1–33 p.
18. FAO. Grasas y ácidos grasos en nutrición humana Consulta de expertos 91. FAO, editor. Roma; 2012.
19. National Institutes of Health: Office of Dietary Supplements. Ácidos grasos omega-3 - Datos en español [Internet]. [citado el 18 de julio de 2022]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Omega3FattyAcids-DatosEnEspañol/>
20. Santos C, Hoz L, Cambero MI, Cabeza MC, Ordóñez JA. Enrichment of dry-cured ham with α -linolenic acid and α -tocopherol by the use of

- linseed oil and α -tocopheryl acetate in pig diets. *Meat Sci.* 2008;80(3):668–74.
21. Nuernberg K, Fischer K, Nuernberg G, Kuechenmeister U, Klosowska D, Eliminowska-Wenda G, et al. Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. *Meat Sci.* 2005;70(1):63–74.
 22. Leikus R, Juskiene V, Juska R, Juodka R, Stankeviciene D, Nainiene R, et al. Effect of linseed oil sediment in the diet of pigs on the growth performance and fatty acid profile of meat. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2018;47.
 23. Gómez I, Sarriés MV, Ibañez FC, Beriain MJ. Quality Characteristics of a Low-Fat Beef Patty Enriched by Polyunsaturated Fatty Acids and Vitamin D3. *J Food Sci.* 2018;83(2):454–63.
 24. Lowder AC, Osburn WN. Inclusion of blended lipid solutions as functional ingredients to alter the fatty acid profile of beef patties. *J Food Sci.* 2010;75(7).
 25. Alejandro M, Passarini D, Astiasarán I, Ansorena D. The effect of low-fat beef patties formulated with a low-energy fat analogue enriched in long-chain polyunsaturated fatty acids on lipid oxidation and sensory attributes. *Meat Sci.* el 1 de diciembre de 2017;134:7–13.
 26. Paglarini C de S, Vidal VAS, Martini S, Cunha RL, Pollonio MAR. Protein-based hydrogelled emulsions and their application as fat replacers in meat products: A review. Vol. 62, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* Taylor and Francis Ltd.; 2022. p. 640–55.
 27. Dias MF, Guimarães AS, Benevenuto Júnior AA, Silva VRO, Fontes PR, Ramos A de LS, et al. Canola and olive oil gelled emulsions as pork fat replacers in beef burgers. *British Food Journal.* 2021;124(1):50–60.
 28. Heck RT, Santos BA Dos, Lorenzo JM, Ruiz-Capillas C, Cichoski AJ, de Menezes CR, et al. Replacement of saturated fat by healthy oils to improve nutritional quality of meat products. En: *Food Lipids.* Elsevier; 2022. p. 461–87.
 29. Jacobsen C. Enrichment of foods with omega-3 fatty acids: A multidisciplinary challenge. En: *Annals of the New York Academy of Sciences.* Blackwell Publishing Inc.; 2010. p. 141–50.
 30. Fetterman JW, Zdanowicz MM. Therapeutic potential of n-3 polyunsaturated fatty acids in disease. Vol. 66, *American Journal of*

Health-System Pharmacy. American Society of Health-Systems Pharmacy; 2009. p. 1169–79.

31. Fereidoon S, Ying Z. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chem Soc Rev.* el 19 de octubre de 2010;39(11):4067–79.
32. Bolger Z, Brunton NP, Monahan FJ. Effect of mode of addition of flaxseed oil on the quality characteristics of chicken sausage containing Vitamin E and omega 3 fatty acids at levels to support a health claim. *Food Funct.* 2017;8(10):3563–75.
33. Lee S, Hernandez P, Djordjevic D, Faraji H, Hollender R, Faustman C, et al. Effect of antioxidants and cooking on stability of n-3 fatty acids in fortified meat products. *J Food Sci.* 2006;71(3).
34. Valencia I, Ansorena D, Astiasarán I. Development of dry fermented sausages rich in docosahexaenoic acid with oil from the microalgae *Schizochytrium* sp.: Influence on nutritional properties, sensorial quality and oxidation stability. *Food Chem.* 2007;104(3):1087–96.
35. Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Estévez M. Partial Replacement of Pork Back-Fat by Vegetable Oils in Burger Patties: Effect on Oxidative Stability and Texture and Color Changes during Cooking and Chilled Storage. *J Food Sci.* septiembre de 2011;76(7).
36. Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Estévez M. Avocado, sunflower and olive oils as replacers of pork back-fat in burger patties: Effect on lipid composition, oxidative stability and quality traits. *Meat Sci.* enero de 2012;90(1):106–15.
37. Miyashita K. Prevention of fish oil oxidation. Vol. 68, *Journal of Oleo Science.* Japan Oil Chemists Society; 2019. p. 1–11.
38. Miyashita K, Uemura M, Hosokawa M. Effective Prevention of Oxidative Deterioration of Fish Oil: Focus on Flavor Deterioration. Vol. 9, *Annual Review of Food Science and Technology.* Annual Reviews Inc.; 2018. p. 209–26.
39. Chatterjee S, Technology ZJLFS and, 2016 undefined. Impact of encapsulation on the physicochemical properties and gastrointestinal stability of fish oil. Elsevier [Internet]. [citado el 22 de julio de 2022]; Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815301043>
40. Pérez-Palacios T, Ruiz-Carrascal J, Solomando JC, Antequera T. Strategies for Enrichment in ω -3 Fatty Acids Aiming for Healthier Meat

Products. Vol. 35, Food Reviews International. Taylor and Francis Inc.; 2019. p. 485–503.

41. Solomando JC, Antequera T, Perez-Palacios T. Evaluating the use of fish oil microcapsules as omega-3 vehicle in cooked and dry-cured sausages as affected by their processing, storage and cooking. *Meat Sci.* 2020;162(December 2019).
42. Di Giorgio L, Salgado PR, Mauri AN. Encapsulation of fish oil in soybean protein particles by emulsification and spray drying. *Food Hydrocoll.* el 1 de febrero de 2019;87:891–901.
43. Pourashouri P, Shabanpour B, Heydari S, Raeisi S. Encapsulation of fish oil by carrageenan and gum tragacanth as wall materials and its application to the enrichment of chicken nuggets. *LWT.* el 1 de febrero de 2021;137:110334.
44. Otálora MC, Camelo R, Wilches-Torres A, Cárdenas-Chaparro A, Gómez Castaño JA. Encapsulation effect on the in vitro bioaccessibility of sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) by soft capsules composed of gelatin and cactus mucilage biopolymers. *Polymers (Basel).* 2020;12(9):1–10.
45. Onwulata CI. Microencapsulation and functional bioactive foods. *J Food Process Preserv.* octubre de 2013;37(5):510–32.
46. Ding J, Xu Z, Qi B, Cui S, Wang T, Jiang L, et al. Fabrication and characterization of soybean oil bodies encapsulated in maltodextrin and chitosan-EGCG conjugates: An in vitro digestibility study. *Food Hydrocoll [Internet].* 2019;94(September 2018):519–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.001>
47. Josquin NM, Linssen JPH, Houben JH. Quality characteristics of Dutch-style fermented sausages manufactured with partial replacement of pork back-fat with pure, pre-emulsified or encapsulated fish oil. *Meat Sci.* el 1 de enero de 2012;90(1):81–6.
48. Pelsler WM, Linssen JPH, Legger A, Houben JH. Lipid oxidation in n - 3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Sci.* enero de 2007;75(1):1–11.
49. Lorenzo JM, Munekata PES, Pateiro M, Campagnol PCB, Domínguez R. Healthy Spanish salchichón enriched with encapsulated n - 3 long chain fatty acids in konjac glucomannan matrix. *Food Research International.* el 1 de noviembre de 2016;89(Pt 1):289–95.

50. Aquilani C, Pérez-Palacios T, Sirtori F, Jiménez-Martín E, Antequera T, Franci O, et al. Enrichment of Cinta Senese burgers with omega-3 fatty acids. Effect of type of addition and storage conditions on quality characteristics. *Grasas y Aceites*. el 1 de enero de 2018;69(1).
51. Jiménez-Martín E, Gharsallaoui A, Pérez-Palacios T, Carrascal JR, Rojas TA. Suitability of Using Monolayered and Multilayered Emulsions for Microencapsulation of ω -3 Fatty Acids by Spray Drying: Effect of Storage at Different Temperatures. *Food Bioproc Tech*. el 1 de enero de 2015;8(1):100–11.
52. Perez-palacios T, Solomando JC, Antequera T. EPA and DHA in fish oil microcapsules and enriched meat model systems : quantification and release during in vitro digestion. 2019;(February 2021).
53. Solomando JC, Antequera T, Pérez-Palacios T. Study on fish oil microcapsules as neat and added to meat model systems: Enrichment and bioaccessibility of EPA and DHA. *Lwt [Internet]*. 2020;120(December 2019):108946. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108946>
54. Timilsena YP, Wang B, Adhikari R, Adhikari B. Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review. Vol. 69, *Food Hydrocolloids*. Elsevier B.V.; 2017. p. 369–81.
55. Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc [Internet]*. 2019;14(4):991–1014. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
56. Martin D, Nieto-Fuentes JA, Señoráns FJ, Reglero G, Soler-Rivas C. Intestinal digestion of fish oils and ω -3 concentrates under in vitro conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2010;112(12):1315–22.
57. Jacobsen C. Enrichment of foods with omega-3 fatty acids: A multidisciplinary challenge. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1190:141–50.
58. Taneja A, Singh H. Challenges for the Delivery of Long-Chain n-3 Fatty Acids in Functional Foods. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2012;3(1):105–23.
59. Pérez-Palacios T, Ruiz-Carrascal J, Solomando JC, Antequera T. Strategies for Enrichment in ω -3 Fatty Acids Aiming for Healthier Meat Products. *Food Reviews International*. 2019;35(5):485–503.

60. Joyce P, Gustafsson H, Prestidge CA. Enhancing the lipase-mediated bioaccessibility of omega-3 fatty acids by microencapsulation of fish oil droplets within porous silica particles. *J Funct Foods*. 2018;47(May):491–502.
61. Pavez DAC. Design of microparticles of walnut oil using biopolymers along with antioxidants through spray drying technology. *J Food Process Technol*. 2018;09:7110.
62. Vasile FE, Alicia M. Physicochemical, Nutritional, and Stability Aspects of a Meat Product (*gluteus medius*) Enriched with Encapsulated Fish Oil in Polyelectrolyte Beads. Springer [Internet]. el 15 de abril de 2019 [citado el 22 de julio de 2022];12(4):654–64. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11947-019-2240-8>
63. Yang J, Ciftci ON. In vitro bioaccessibility of fish oil-loaded hollow solid lipid micro- A nd nanoparticles. *Food Funct*. 2020;11(10):8637–47.
64. Solomando JC, Antequera T, Pérez-Palacios T. Study on fish oil microcapsules as neat and added to meat model systems: Enrichment and bioaccessibility of EPA and DHA. *LWT*. 2020;120:108946.
65. Garcia T, Cardoso C, Afonso C, Gomes A, Mesquita C, Tanni S, et al. A Study of Lipid Bioaccessibility in Canned Sardine (*Sardina pilchardus*) and Chub Mackerel (*Scomber japonicus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 2019;28(4):402–12.
66. Gomes R, Martins S, Afonso C, Bandarra NM, Cardoso C. Comparison of fish and oil supplements for a better understanding of the role of fat level and other food constituents in determining bioaccessibility. *Food Sci Nutr*. 2019;7(4):1179–89.
67. Domoto N, Koenen ME, Havenaar R, Mikajiri A, Chu BS. The bioaccessibility of eicosapentaenoic acid was higher from phospholipid food products than from mono- and triacylglycerol food products in a dynamic gastrointestinal model. *Food Sci Nutr*. 2013;1(6):409–15.
68. Marques MC, Perina NP, Mosquera EMB, Tomé TM, Lazarini T, Mariutti LRB. DHA bioaccessibility in infant formulas and preschool children milks. *Food Research International*. el 1 de noviembre de 2021;149:110698.
69. Brodkorb A, Egger L, Alming M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc*. 2019;14(4):991–1014.

70. Ménard O, Bourlieu C, De Oliveira SC, Dellarosa N, Laghi L, Carrière F, et al. A first step towards a consensus static in vitro model for simulating full-term infant digestion. *Food Chem.* el 1 de febrero de 2018;240:338–45.
71. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food Funct.* 2014;5(6):1113–24.
72. Ubeyitogullari A, Moreau R, Rose DJ, Zhang J, Ciftci ON. Enhancing the Bioaccessibility of Phytosterols Using Nanoporous Corn and Wheat Starch Bioaerogels. *European Journal of Lipid Science and Technology* [Internet]. el 1 de enero de 2019 [citado el 3 de mayo de 2023];121(1):1700229. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ejlt.201700229>
73. Yang J, Ciftci ON. In vitro bioaccessibility of fish oil-loaded hollow solid lipid micro- A nd nanoparticles. *Food Funct.* el 1 de octubre de 2020;11(10):8637–47.
74. Afonso C, Costa S, Cardoso C, Bandarra NM, Batista I, Coelho I, et al. Evaluation of the risk/benefit associated to the consumption of raw and cooked farmed meagre based on the bioaccessibility of selenium, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, total mercury, and methylmercury determined by an in vitro digestion mo. *Food Chem.* 2015;170:249–56.
75. Bolger Z, Grasso S, Brunton N, Moloney AP, Hamill R, Monahan FJ. In vitro bioaccessibility of alpha-linolenic acid in chicken sausages as affected by flaxseed oil incorporation method. *LWT.* el 15 de septiembre de 2022;167.
76. Tobin BD, O’Sullivan MG, Hamill R, Kerry JP. Effect of cooking and in vitro digestion on the stability of co-enzyme Q10 in processed meat products. *Food Chem.* 2014;150:187–92.
77. Grasso S, Harrison SM, Monahan FJ, Brayden D, Brunton NP. The effect of plant sterol-enriched turkey meat on cholesterol bio-accessibility during in vitro digestion and Caco-2 cell uptake. <https://doi.org/10.1080/0963748620171348493> [Internet]. el 17 de febrero de 2017 [citado el 6 de mayo de 2023];69(2):176–82. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09637486.2017.1348493>
78. Brodkorb A, Egger L, Alminger M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nat Protoc.* 2019;14(4):991–1014.

79. Verhoeckx K, Cotter P, López-Expósito I, Kleiveland C, Lea T, Mackie A, et al. The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models. *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. New York: Springer; 2015. 1–327 p.
80. Whitney E, Rolfes SR. *Understanding Nutrition*. MWadsworth Cengage Learning. 2011. 1480–1489 p.
81. Wickham M, Faulks R, Mills C. In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Mol Nutr Food Res*. 2009;53(8):952–8.
82. Shimizu M. Food-derived peptides and intestinal functions. *BioFactors*. 2004;21(1–4):43–7.
83. Whitney E, Rolfes SR. *Understanding Nutrition*. MWadsworth Cengage Learning. 2011. 1480–1489 p.
84. Venema K. The impact of food bioactives on health. *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. 2015. 293–304 p.
85. Tagliazucchi D, Verzelloni E, Bertolini D, Conte A. In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chem*. 2010;120(2):599–606.
86. Manuel T, Martos V, Pérez Á. Bioaccesibilidad , cambios en potencial antioxidante y estabilidad de los compuestos bioactivos presentes en dos extractos ricos en fibra sometidos a un proceso de digestión In vitro. *RediUMH*. 2016;38.
87. Minekus M, Alming M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food Funct*. 2014;5(6):1113–24.
88. Jones OG, McClements DJ. Recent progress in biopolymer nanoparticle and microparticle formation by heat-treating electrostatic protein-polysaccharide complexes. *Adv Colloid Interface Sci*. 2011;167(1–2):49–62.
89. McClements DJ. Designing biopolymer microgels to encapsulate, protect and deliver bioactive components: Physicochemical aspects. *Adv Colloid Interface Sci*. 2017;240:31–59.
90. Sarkar A, Murray B, Holmes M, Ettelaie R, Abdalla A, Yang X. In vitro digestion of Pickering emulsions stabilized by soft whey protein microgel particles: Influence of thermal treatment. *Soft Matter*. 2016;12(15):3558–69.

91. Liu C, Jiang S, Han Z, Xiong L, Sun Q. In vitro digestion of nanoscale starch particles and evolution of thermal, morphological, and structural characteristics. *Food Hydrocoll.* 2016;61:344–50.
92. Zhang Z, Zhang R, Zou L, McClements DJ. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release. *Food Hydrocoll.* 2016;58(June):308–15.
93. Čujić N, Trifković K, Bugarski B, Ibrić S, Pljevljakušić D, Šavikin K. Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) extract loaded in alginate and alginate/inulin system. *Ind Crops Prod.* 2016;86:120–31.
94. Adolfo R, Huertas P. Revisión: Microencapsulación De Alimentos Food Microencapsulation: a Review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía.* 2010;63(2):5669–84.
95. Shahidi F, Han XQ. Encapsulation of Food Ingredients. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1993;33(6):501–47.
96. Desai KGH, Park HJ. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. Vol. 23, *Drying Technology.* 2005. 1361–1394 p.
97. Doherty SB, Gee VL, Ross RP, Stanton C, Fitzgerald GF, Brodkorb A. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocoll.* 2011;25(6):1604–17.
98. McClements DJ. Designing biopolymer microgels to encapsulate, protect and deliver bioactive components: Physicochemical aspects. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;240:31–59.
99. Adolfo R, Huertas P. Revisión: Microencapsulación De Alimentos Food Microencapsulation: a Review. *Revista Facultad Nacional de Agronomía.* 2010;63(2):5669–84.
100. Mishra M, editor. *Handbook of Encapsulation and Controlled Release.* Boca Raton: CRC Press; 2016. 1536 p.
101. Zuidam N, Nedovic V, editores. *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing.* New York: Springer New York, NY; 2010. 400 p.
102. Shimokawa KI, Saegusa K, Wada Y, Ishii F. Physicochemical properties and controlled drug release of microcapsules prepared by simple coacervation. *Colloids Surf B Biointerfaces [Internet].* 2013;104:1–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.11.036>

103. Ocak B, Gülümser G, Baloğlu E. Microencapsulation of melaleuca alternifolia (tea tree) oil by using simple coacervation Method). *Journal of Essential Oil Research*. 2011;23(4):58–65.
104. Gu XL, Zhu X, Kong XZ, Tan Y. Comparisons of simple and complex coacervations for preparation of sprayable insect sex pheromone microcapsules and release control of the encapsulated pheromone molecule. *J Microencapsul*. 2010;27(4):355–64.
105. Liang HC, Chang WH, Liang HF, Lee MH, Sung HW. Crosslinking structures of gelatin hydrogels crosslinked with genipin or a water-soluble carbodiimide. *J Appl Polym Sci*. 2004;91(6):4017–26.
106. Feeney RE. In *Food Proteins*; Feeney, R., et al.; *Advances in Chemistry*; American Chemical Society: Washington, DC, 1977. 1977;3–36.
107. Song F, Zhang LM, Yang C, Yan L. Genipin-crosslinked casein hydrogels for controlled drug delivery. *Int J Pharm*. 2009;373(1–2):41–7.
108. Sung HW, Huang DM, Chang WH, Huang RN, Hsu JC. Evaluation of gelatin hydrogel crosslinked with various crosslinking agents as bioadhesives: In vitro study. *J Biomed Mater Res*. 1999;46(4):520–30.
109. Miwa N. Innovation in the food industry using microbial transglutaminase: Keys to success and future prospects. *Anal Biochem* [Internet]. 2020;597:113638. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113638>
110. Ali NA, Ahmed SH, Mohamed EA, Ahmed IAM, Babiker EE. Effect of transglutaminase cross linking on the functional properties as a function of nacl concentration of legumes protein isolate. *World Acad Sci Eng Technol*. 2011;37(July 2014):1074–9.
111. Ruiz-Carrascal J, Regenstein J. Emulsion stability and water uptake ability of chicken breast muscle proteins as affected by microbial transglutaminase. *J Food Sci*. 2002;67(2):734–9.
112. Puri R, Bot F, Singh U, O'mahony JA. Influence of transglutaminase crosslinking on casein protein fractionation during low temperature microfiltration. *Foods*. 2021;10(12).
113. Fuchsbauer HL, Gerber U, Engelmann J, Seeger T, Sinks C, Hecht T. Influence of gelatin matrices crosslinked with transglutaminase on the properties of an enclosed bioactive material using β -galactosidase as model system. *Biomaterials*. 1996;17(15):1481–8.

114. Sarika PR, Cinthya K, Jayakrishnan A, Anilkumar PR, James NR. Modified gum arabic cross-linked gelatin scaffold for biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*. 2014;43:272–9.
115. Scherieber R, Gareis H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, editor. 2007.
116. Patel S, Goyal A. Applications of natural polymer gum Arabic: A review. *Int J Food Prop*. 2015;18(5):986–98.
117. Dave PN, Gor A. Natural polysaccharide-based hydrogels and nanomaterials: Recent trends and their applications [Internet]. *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*. Elsevier Inc.; 2018. 36–66 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00003-1>
118. Shaddel R, Hesari J, Azadmard-Damirchi S, Hamishehkar H, Fathi-Achachlouei B, Huang Q. Use of gelatin and gum Arabic for encapsulation of black raspberry anthocyanins by complex coacervation. *Int J Biol Macromol*. 2018;107(October):1800–10.
119. Mendanha D V., Molina Ortiz SE, Favaro-Trindade CS, Mauri A, Monterrey-Quintero ES, Thomazini M. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. *Food Research International*. 2009;42(8):1099–104.
120. Prakash A, Joseph M, Mangino ME. The effects of added proteins on the functionality of gum arabic in soft drink emulsion systems. *Top Catal*. 1990;4(3):177–84.
121. Scherieber R, Gareis H. *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*. Wiley-VCH, editor. 2007.
122. Johnston-Banks FA. Gelatine. En: Harris P, editor. *Food Gels*, Elsevier Applied Food Science Series. Springer Dordrecht; 1990. p. 233–89.
123. Montero P, Gómez-Guillén MC. Extracting conditions for megrim (*Lepidorhombus boscii*) skin collagen affect functional properties of the resulting gelatin. *J Food Sci*. 2000;65(3):434–8.
124. Shoulders MD, Raines RT. Collagen Structure and Stability. *Annu Rev Biochem*. 2009;78(1):929–58.
125. Johnston-Banks FA. Gelatine. En: Harris P, editor. *Food Gels*, Elsevier Applied Food Science Series. Springer Dordrecht; 1990. p. 233–89.

126. Noris-Suárez K, Lira-Olivares J, Ferreira AM, Graterol A, Feijoo JL, Lee SW. Electrochemical influence of collagen piezoelectric effect in bone healing. *Materials Science Forum*. 2007;544–545(January):981–4.
127. Poppe J. Gelatin. En: Springer, editor. *Thickening and Gelling Agents for Food*. Boston: Springer; 1997. p. 144–68.
128. Ward AG, Courts A. *The Science and technology of gelatin*. Academic Press, editor. New York; 1977. 564 p.
129. Serna-Cock, Liliana; Pineda-Cuervo, Darío; Ayala-Aponte D. Application of alkaline endopeptidase in bovine hide to improve the quality of the gelatine. *Revista Colombiana de Química*. 2007;36(2):169–81.
130. Boran G, Lawless HT, Regenstein JM. Effects of Extraction Conditions on the Sensory and Instrumental Characteristics of Fish Gelatin Gels. *J Food Sci*. 2010;75(9).
131. Giménez B, Turnay J, Lizarbe MA, Montero P, Gómez-Guillén MC. Use of lactic acid for extraction of fish skin gelatin. *Food Hydrocoll*. 2005;19(6):941–50.
132. Arnesen JA, Gildberg A. Extraction and characterisation of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin. *Bioresour Technol*. 2007;98(1):53–7.
133. Jamilah B, Harvinder KG. Properties of gelatins from skins of fish - Black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chem*. 2002;77(1):81–4.
134. Bravo A, Murayari H. Obtención y caracterización de gelatina de piel de doncella (*Pseudoplatystoma fasciatum*) y aplicación como encapsulante de compuestos bioactivos. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2018.
135. Duan R, Zhang J, Liu L, Cui W, Regenstein JM. The functional properties and application of gelatin derived from the skin of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Food Chem*. 2018;239:464–9.
136. Reyes Ortega F, Rodríguez G, Rosa Aguilar M, García-Sanmartín J, Martínez A, San Román J. Comportamiento Relógico de Geles Biodegradables para Aplicaciones en Medicina Regenerativa. *Biomecánica*. 2012;20:7–19.
137. Mori TA. Reprint of: Marine OMEGA-3 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease. *Fitoterapia*. el 1 de abril de 2018;126:8–15.

138. Panduro G, Rengifo GC, Barreto JL, Arbaiza-Peña ÁK, Iannacone J, Alvaríño L, et al. Bioaccumulation of mercury in fish and risk of ingestion in an indigenous community in the Peruvian Amazonia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*. 2020;31(3).
139. Ninaja Sarmiento PN, Ortiz Faucheux R. Niveles de mercurio en los pescados de mayor consumo en los mercados de Tacna exceden límites permitidos por entidades regulatorias. *Revista Médica Basadrina*. el 29 de junio de 2020;14(1):27–32.
140. Bell JG, McGhee F, Dick JR, Tocher DR. Dioxin and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Scottish farmed salmon (*Salmo salar*): Effects of replacement of dietary marine fish oil with vegetable oils. *Aquaculture*. el 3 de enero de 2005;243(1–4):305–14.
141. Taneja A, Singh H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. *Annu Rev Food Sci Technol*. abril de 2012;3(1):105–23.
142. Chen B, McClements DJ, Decker EA. Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annu Rev Food Sci Technol*. febrero de 2013;4(1):35–56.
143. A J. Microencapsulation of Bioactive Food Ingredients and Controlled Release - A Review. *MOJ Food Processing & Technology*. 2016;2(6):214–24.
144. Echeverría F, Valenzuela R, Catalina Hernandez-Rodas M, Valenzuela A. Docosahexaenoic acid (DHA), a fundamental fatty acid for the brain: New dietary sources. Vol. 124, *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Churchill Livingstone; 2017. p. 1–10.
145. Das UN. Essential Fatty Acids—Biochemistry, Physiology and Clinical Significance. En: *Molecular Basis of Health and Disease*. Springer Netherlands; 2011. p. 101–51.
146. Bandarra NM, Marçalo A, Cordeiro AR, Pousão-Ferreira P. Sardine (*Sardina pilchardus*) lipid composition: Does it change after one year in captivity? *Food Chem*. el 1 de abril de 2018;244:408–13.
147. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. Vol. 2, *Food Science and Nutrition*. Wiley-Blackwell; 2014. p. 443–63.
148. Jessica Morales P, Rodrigo Valenzuela B, Daniel González M, Marcela González E, Gladys Tapia O, Julio Sanhueza C, et al. Nuevas fuentes

- dietarias de ácido alfa-linolénico: Una visión crítica. *Revista Chilena de Nutrición*. septiembre de 2012;39(3):79–87.
149. Guil JL, Torija ME, Giménez JJ, Rodríguez I. Identification of fatty acids in edible wild plants by gas chromatography. En: *Journal of Chromatography A*. Elsevier B.V.; 1996. p. 229–35.
 150. Alayón AN, Echeverri J. I. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo): ¿Una experiencia ancestral desaprovechada? Evidencias clínicas asociadas a su consumo. *Revista Chilena de Nutrición*. 2016;43(2):167–71.
 151. Adarme-Vega TC, Lim DKY, Timmins M, Vernen F, Li Y, Schenk PM. Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production. Vol. 11, *Microbial Cell Factories*. 2012.
 152. Caporgno MP, Mathys A. Trends in Microalgae Incorporation Into Innovative Food Products With Potential Health Benefits. Vol. 5, *Frontiers in Nutrition*. Frontiers Media S.A.; 2018.
 153. Chew KW, Yap JY, Show PL, Suan NH, Juan JC, Ling TC, et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresour Technol*. el 1 de abril de 2017;229:53–62.
 154. Koyande AK, Chew KW, Rambabu K, Tao Y, Chu DT, Show PL. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. Vol. 8, *Food Science and Human Wellness*. Elsevier B.V.; 2019. p. 16–24.
 155. Chen CY, Chou HN. Screening of red algae filaments as a potential alternative source of eicosapentaenoic acid. *Marine Biotechnology*. 2002;4(2):189–92.
 156. Mendes A, Instituto Nacional de Engenharia T e ID de BU de B e BE do P do L 22, P 1649 038 L, Lopes da Silva T, Instituto Nacional de Engenharia T e ID de BU de B e BE do P do L 22, P 1649 038 L, teresa.lopesilva@ineti.pt, Reis A, et al. DHA Concentration and Purification from the Marine Heterotrophic Microalga *Cryptocodinium cohnii* CCMP 316 by Winterization and Urea Complexation. Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb; imacan@pbf.hr; 2007.
 157. Batista AP, Gouveia L, Bandarra NM, Franco JM, Raymundo A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Res*. el 1 de marzo de 2013;2(2):164–73.

158. Belarbi EH, Molina E, Chisti Y. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Enzyme Microb Technol.* abril de 2000;26(7):516–29.
159. Dostert N, Roque J, Brokamp G, Cano A, La Torre MI, Weigend M, et al. Factsheet: Datos botánicos de Sacha Inchi. *Plukenetia volubilis* L. 2009;(May 2014).
160. Alayón AN, Echeverri J. I. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* linneo): ¿Una experiencia ancestral desaprovechada? Evidencias clínicas asociadas a su consumo. *Revista Chilena de Nutricion.* 2016;43(2):167–71.
161. Fanali C, Dugo L, Cacciola F, Beccaria M, Grasso S, Dachà M, et al. Chemical characterization of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. *J Agric Food Chem.* 2011;59(24):13043–9.
162. Chirinos R, Zuloeta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, Campos D. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chem.* 2013;141(3):1732–9.
163. Jáuregui AM, Escudero FR, Ortiz-ureta CA, Castañeda BC, Mendoza EB, Farfán JY, et al. EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE FITOESTEROLES, COMPUESTOS FENÓLICOS Y MÉTODOS QUÍMICOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN SEMILLA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú.* 2010;76(3):234–41.
164. Castellanos L, Rodríguez M, La Correspondencia D, Rodríguez Dorantes M. El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Rev Chil Nutr.* 2015;42:1–6.
165. SEDAR 69 Atlantic Menhaden Benchmark Stock Assessment Report | SEDAR [Internet]. [citado el 8 de agosto de 2022]. Disponible en: <http://sedarweb.org/sedar-69-atlantic-menhaden-benchmark-stock-assessment-report>
166. Salcedo-Sandoval L, Ruiz-Capillas C, Cofrades S, Triki M, Jiménez-Colmenero F. Shelf-life of n-3 PUFA enriched frankfurters formulated with a konjac-based oil bulking agent. *Lwt.* 2015;62(1):711–7.
167. Serfert Y, Drusch S, Schwarz K. Sensory odour profiling and lipid oxidation status of fish oil and microencapsulated fish oil. *Food Chem* [Internet]. 2010;123(4):968–75. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.047>

168. Kamal-Eldin A, Yanishlieva N V. N-3 fatty acids for human nutrition: Stability considerations. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2002;104(12):825–36.
169. Noël JM, Lemineur JF. Optical microscopy to study single nanoparticles electrochemistry: From reaction to motion. *Curr Opin Electrochem* [Internet]. 2021;25:100647. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2020.100647>
170. Schwyzer L, Marbacher S, Fandino J, Dumont AS. Scanning electron microscopy analysis of incidence and growth pattern of experimentally induced intracranial aneurysms in rat model. *Brain Hemorrhages* [Internet]. 2021;2(1):1–5. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heest.2020.07.001>
171. Drago Serrano ME, López López M, Saínz Espuñes TDR. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*. 2006;37(4):58–68.
172. Yépez RF. *Bioquímica médica*. Quito: Arco Iris Producción Gráfica; 2004. 503 p.
173. Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler D, Ryhänen EL. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Int Dairy J*. 2006;16(11):1347–61.
174. Jumpsen J, Clandinin MT. *Brain Development : Relationship to Dietary Lipid and Lipid Metabolism* Jacqueline Jumpsen and Michael T . Clandinin Department of Agricultural , Food and Nutritional Science University of Alberta Edmonton , Canada. 1995.
175. Ziller S. *Grasas y aceites alimentarios*. Editiral Acribia; 1996. 84 p.
176. Soto D, Atalah S. E, Araya L. H, Ruz O. M. *Nutrición y salud*. Chile U de, editor. Santiago, Chile; 1996.
177. Carrillo F. L, Dalmau S. J, Martínez Álvarez JR, Sola A. R, Pérez J. F. *Grasas de la dieta y salud cardiovascular*. *An Pediatr (Engl Ed)*. 2011;74(1696–4608):192.e1-192.e16.
178. Wit N De, Derrien M, Keshtkar S. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *American Journal Phisiol Gastrointestinal and Liver Physiology* publishes. 2014;(August).

179. Mason Salahué L, Mella Rojas MA. *Materias Grasas de Consumo Habitual y Potencial en Chile: Composición en ácidos grasos*. Santiago, Chile: Universidad de Chile; 1985.
180. Rojo Martínez G, García Escobar E, Morcillo S, Soriguer S. La proporción de oleico en la dieta correlacionada con la actividad lipolítica de los adipocitos en cultivo y con la concentración de grasa de los tejidos. *Nutr Hosp*. 2005;20(1699–5198):197–211.
181. Jumpsen J, Clandinin MT. *Brain Development : Relationship to Dietary Lipid and Lipid Metabolism* Jacqueline Jumpsen and Michael T . Clandinin Department of Agricultural , Food and Nutritional Science University of Alberta Edmonton , Canada. 1995.
182. Mendonça LFA, Silva MC, Filho MCJ, Amaral VM, Filho SAM, Elias J, et al. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 : importância no Alzheimer. *Revista Educação em Saúde*. 2017;2017.
183. Vonshak A. Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotechnol Adv*. 1990;8(4):709–27.
184. Glaser C, Heinrich J, Koletzko B. Role of FADS1 and FADS2 polymorphisms in polyunsaturated fatty acid metabolism. *Metabolism*. 2010;59(7):993–9.
185. Mendonça LFA, Silva MC, Filho MCJ, Amaral VM, Filho SAM, Elias J, et al. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 : importância no Alzheimer. *Revista Educação em Saúde*. 2017;2017.
186. Sprecher H, Chen Q. Polyunsaturated fatty acid biosynthesis: a microsomal- peroxisomal process. *Prostaglandins, L eukotrienes and Essential Fatty Acids*. 1999;60:317–21.
187. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Essential fatty acids and the brain : possible health implications. *International Journal of Developmental Neurociencia*. 2000;18:382–99.
188. Teitelbaum JE, Walker WA. Review : the role of omega 3 fatty acids in intestinal inflammation. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2001;12:21–32.
189. Pérez G. CE, Guerrero F. CA. Comunicaciones breves. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*. 2006;54:134–42.
190. Grundy M, Bilheimer D, Brown WV, Kwiterovjch PO, Mattson F, Schonfaw G, et al. Special Report Rationale of the Diet-Heart Statement of the American Heart Association. *Nutr Today*. 1982;

191. Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. *Neurobiol Aging*. 2002;23:843–53.
192. Pérez G. CE, Guerrero F. CA. Comunicaciones breves. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*. 2006;54:134–42.
193. Augustin MA, Scientific TC, Sanguansri L, Scientific TC. Encapsulación de ingredientes alimenticios. *Food Australia*. 2001;53:220–3.
194. Lakkis JM. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems: Second Edition. Second edi. Lakkis JM, editor. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems: Second Edition*. John Wiley & Sons Ltd; 2016. 1–384 p.
195. Lakkis JM. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems: Second Edition. Second edi. Lakkis JM, editor. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems: Second Edition*. John Wiley & Sons Ltd; 2016. 1–384 p.
196. Fang Z, Bhandari B. Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends Food Sci Technol*. 2010;21(10):510–23.
197. Rollot JM, Couvreur P, Roblot-Treupel L, Puisieux F. Physicochemical and morphological characterization of polyisobutyl cyanoacrylate nanocapsules. *J Pharm Sci*. 1986;75(4):361–4.
198. Zuidam NJ, Nedović VA. Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*. 2010;(January 1970):1–400.
199. Rios-Mera JD, Saldaña E, Cruzado-Bravo MLM, Patinho I, Selani MM, Valentin D, et al. Reducing the sodium content without modifying the quality of beef burgers by adding micronized salt. *Food Research International* [Internet]. 2019;121:288–95. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.044>
200. Tello F, Prata AS, Rodrigues RAF, Sartoratto A, Grosso CRF. Improving the performance of transglutaminase-crosslinked microparticles for enteric delivery. *Food Research International* [Internet]. 2016;88:153–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.020>
201. Bligh, E.G. and Dyer WJ. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 1959;37(8).

202. AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 20th ed. W. Latimer Jr. G, editor. Vol. 242. Washington, DC: AOAC; 2016. 3172 p.
203. FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem.* el 1 de mayo de 1957;226(1):497–509.
204. Ichihara K, Fukubayashi Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J Lipid Res.* el 1 de marzo de 2010;51(3):635–40.
205. Asensio-Grau A, Calvo-Lerma J, Heredia A, Andrés A. Fat digestibility in meat products: influence of food structure and gastrointestinal conditions. *Int J Food Sci Nutr.* 2018;0(0):1–10.
206. Asensio-Grau A, Peinado I, Heredia A, Andrés A. Effect of cooking methods and intestinal conditions on lipolysis, proteolysis and xanthophylls bioaccessibility of eggs. *J Funct Foods.* 2018;46(March):579–86.
207. Mendiburu F de. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research.* <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. 2019;
208. FAO. *El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad* [Internet]. Huss HH, editor. Dinamarca; 1998. Disponible en: <https://www.fao.org/3/v7180s/v7180s00.htm#Contents>
209. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal.* el 23 de mayo de 2016;8(3).
210. Paper F and AO of the ... and N, 2010 undefined. *Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation.* FAO Rome, Italy.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.

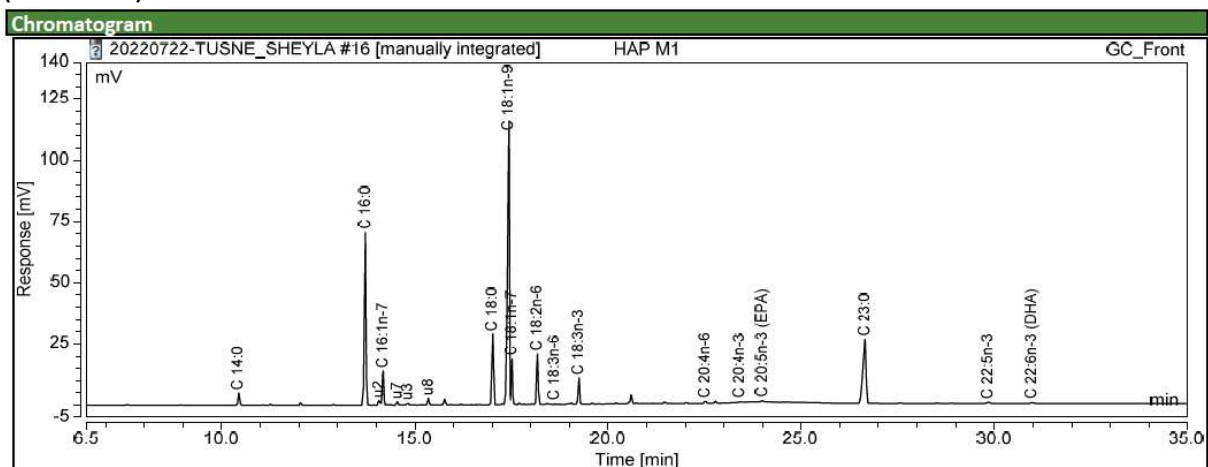
Título de la Investigación	Problema de Investigación	Objetivos de la Investigación	Hipótesis	Tipo y diseño del estudio	Población de estudio y procesamiento	Instrumento de recolección
Bioaccesibilidad de DHA, EPA y ALA hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) bajas en sodio enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.	<u>Problema general</u> ¿Cuál es el porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados?	<u>Objetivo General:</u> Determinar el porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesas de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.	<u>Hipótesis general:</u> Existe un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesas de <i>Prochilodus nigricans</i> enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados.	<p><u>Tipo de estudio:</u></p> <p>Investigación cuantitativa</p> <p><u>Nivel:</u></p> <p>Descriptivo</p> <p><u>Diseño:</u></p> <p>Experimental, transversal, prospectivo.</p>	<p>Para cada muestra (matriz alimenticia) se tiene una población conceptual que está conformada por todas las matrices alimenticias que sean procesadas bajo las mismas condiciones del presente estudio.</p> <p>Las muestras se procesarán determinando inicialmente el contenido de DHA, EPA y ALA en el aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>), el aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) y la pulpa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>).</p> <p>Seguidamente se someterá a la simulación de la digestión <i>in vitro</i> a cada una de las muestras.</p> <p>Finalmente se calculará el porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA, respectivamente en cada una de las muestras (matrices alimenticias) del estudio.</p>	<p>Determinación del perfil de ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa de alta resolución.</p> <p>Medición del porcentaje bioaccesible de los nutrientes mediante simulación gastrointestinal estática <i>in vitro</i>.</p>
	<u>Problemas específicos:</u> ¿Cuál es la composición de DHA, EPA y ALA en aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>)?	<u>Objetivos específicos:</u> Determinar la composición de DHA, EPA y ALA en aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>).	<u>Hipótesis específicas:</u> El aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) contiene los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en su composición.			
	¿Cuál es la composición de DHA, EPA y ALA en aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)?	Determinar la composición de DHA, EPA y ALA en aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.).	El aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) contiene cantidades significativas de DHA, EPA y ALA en su composición.			
	¿Cuál es la composición de DHA, EPA y ALA en pulpa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>)?	Determinar la composición de DHA, EPA y ALA en pulpa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>).	La pulpa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) contiene los ácidos grasos DHA, EPA y ALA en su composición.			
	¿Cuál es el porcentaje bioaccesible DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>)?	Calcular el porcentaje bioaccesible DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>).	La hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de pescado menhaden (<i>Brevoortia tyrannus</i>) posee un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA.			
¿Cuál es el porcentaje bioaccesible DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.)?	Calcular el porcentaje bioaccesible DHA, EPA y ALA contenidos en hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.).	La hamburguesa de boquichico (<i>Prochilodus nigricans</i>) enriquecida con aceite de aceite de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> L.) posee un porcentaje bioaccesible de DHA, EPA y ALA.				

Anexo 2. Tabla de operacionalización de variables.

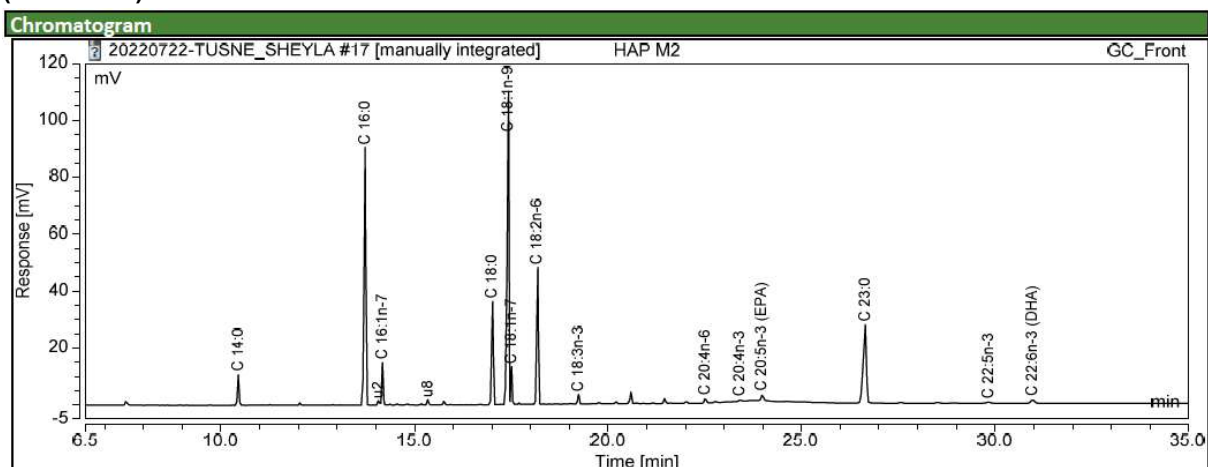
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Instrumento
Variables independientes				
Contenido de ácido graso inicial	Es la cantidad de ácido graso estudiado (EPA, DHA o ALA) en relación con la cantidad de materia seca antes de someter al proceso de digestión <i>in vitro</i> a la muestra de lap matriz alimenticia.	Peso del ácido graso estudiado (EPA, DHA o ALA) en relación con la cantidad de materia seca antes de ser sometido al proceso de digestión <i>in vitro</i> a la muestra de la matriz alimenticia. ($\mu\text{g. g}^{-1}$ materia seca o mg. g^{-1} materia seca)	Peso	Cromatógrafo de gases
Cantidad de ácido graso liberado	Es la cantidad de ácido graso estudiado (EPA, DHA o ALA) en relación con la cantidad de materia seca después de someter al proceso de digestión <i>in vitro</i> a la muestra de la matriz alimenticia.	Peso del ácido graso estudiado (EPA, DHA o ALA) en relación con el peso de la materia seca después de ser sometido al proceso de digestión <i>in vitro</i> a la muestra de la matriz alimenticia. ($\mu\text{g. g}^{-1}$ materia seca o mg. g^{-1} materia seca)	Peso	Cromatógrafo de gases
Variables dependientes				
Bioaccesibilidad del ácido graso (%) (DHA, EPA, ALA)	Es la cantidad relativa del ácido graso dializado en relación con la cantidad inicial del nutriente contenido en cada muestra de la matriz alimenticia.	Es el porcentaje de ácido graso dializado en relación con la cantidad inicial del nutriente contenido en cada muestra (matriz alimenticia).	Porcentaje	Cromatógrafo de gases

Anexo 3. Cromatogramas.

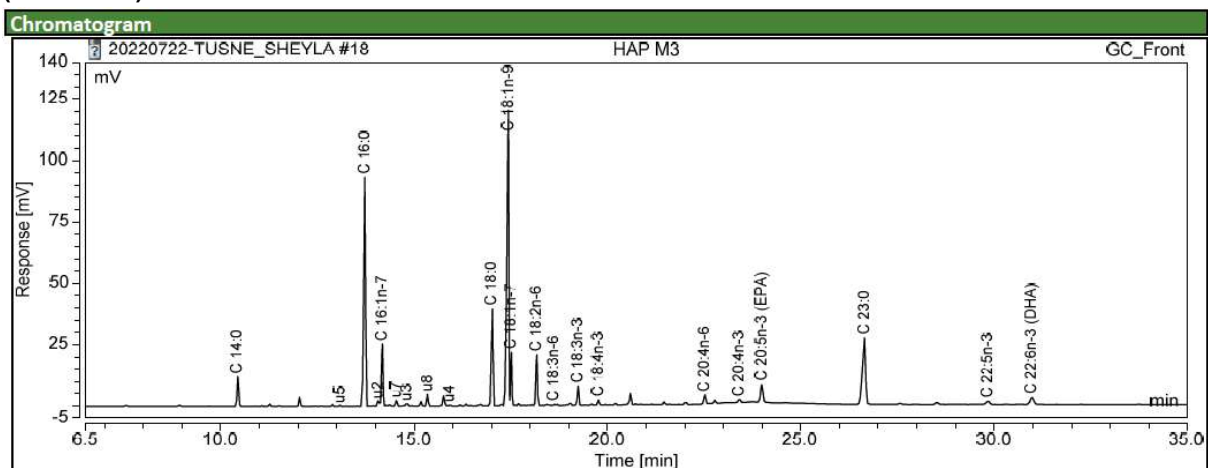
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra 1).



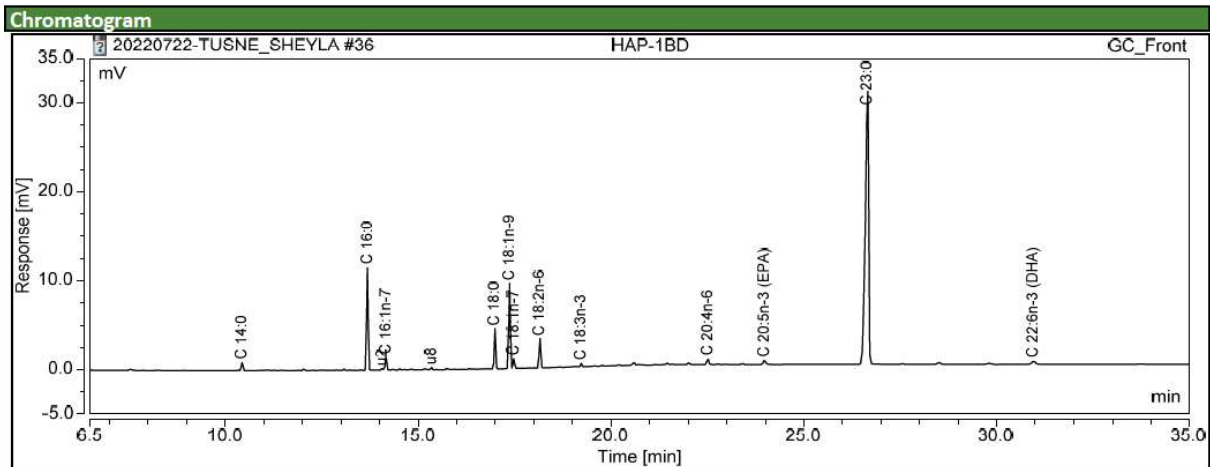
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra 2).



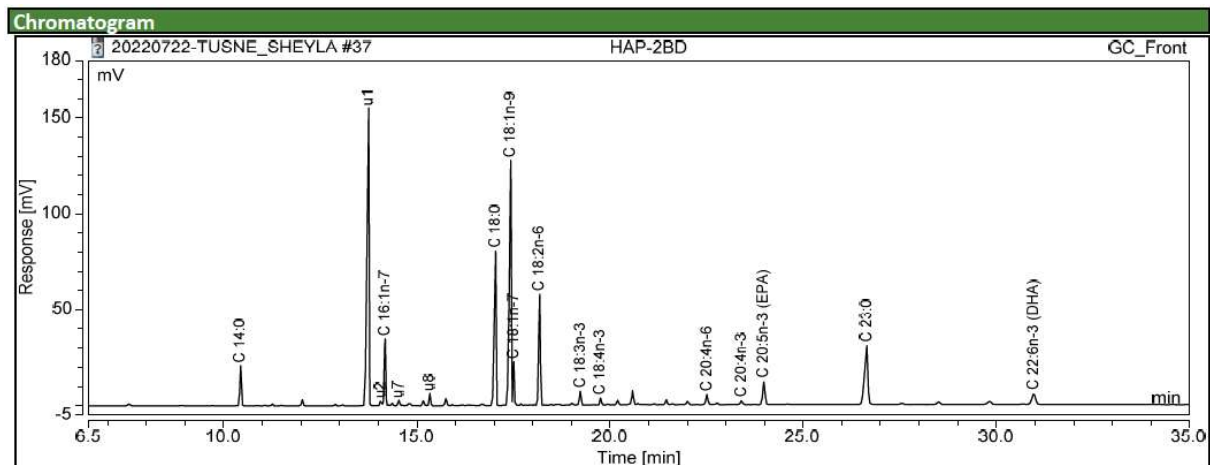
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra 3).



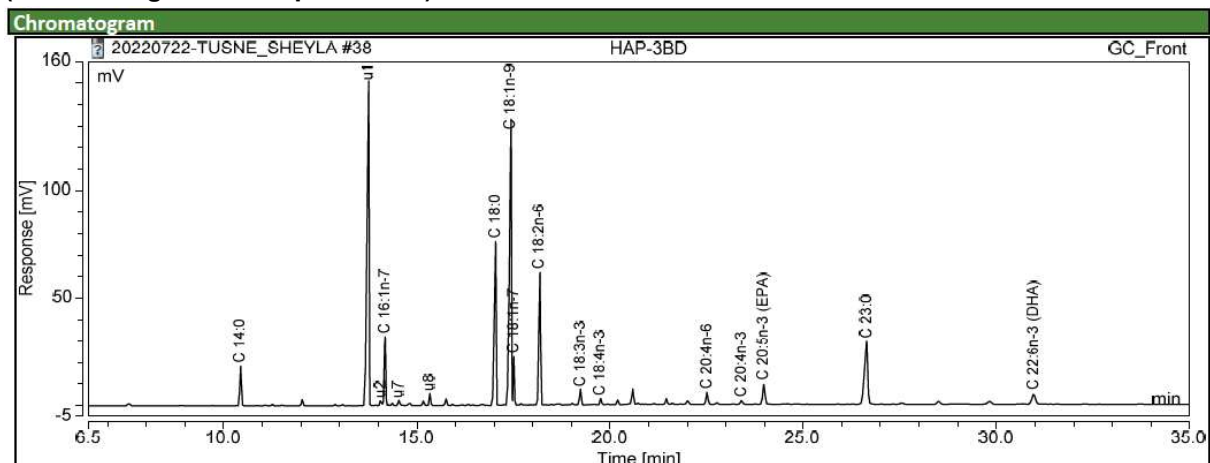
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 1).



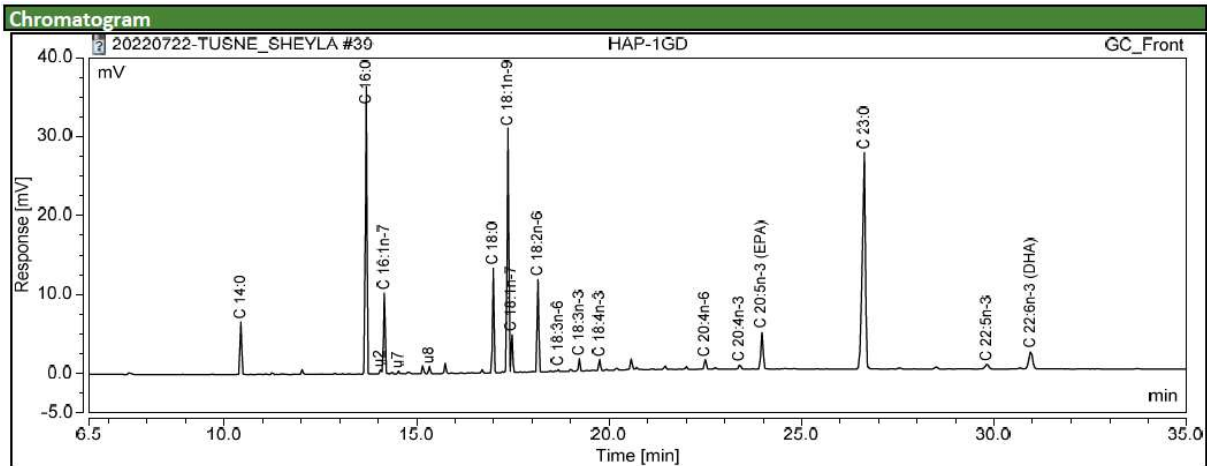
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 2).



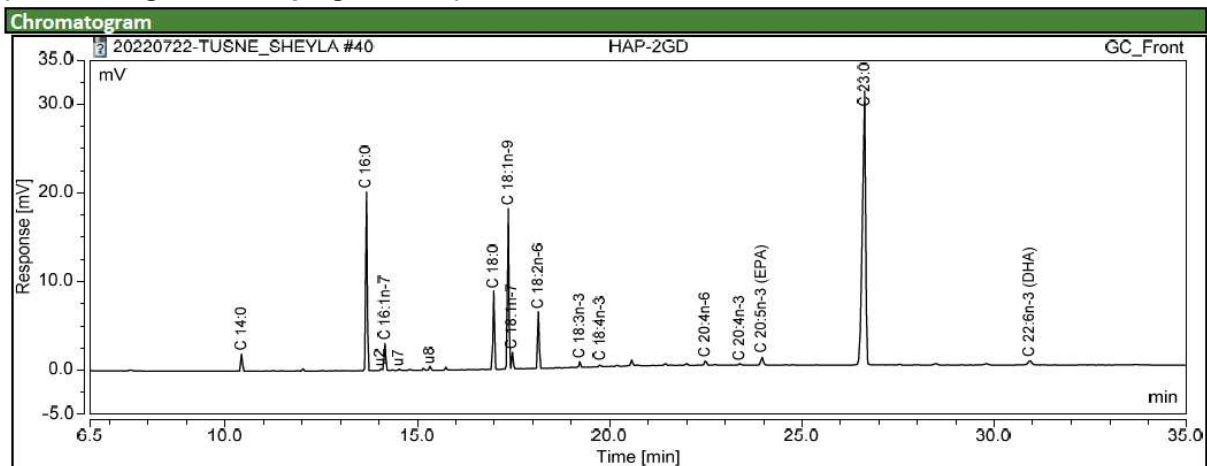
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 3).



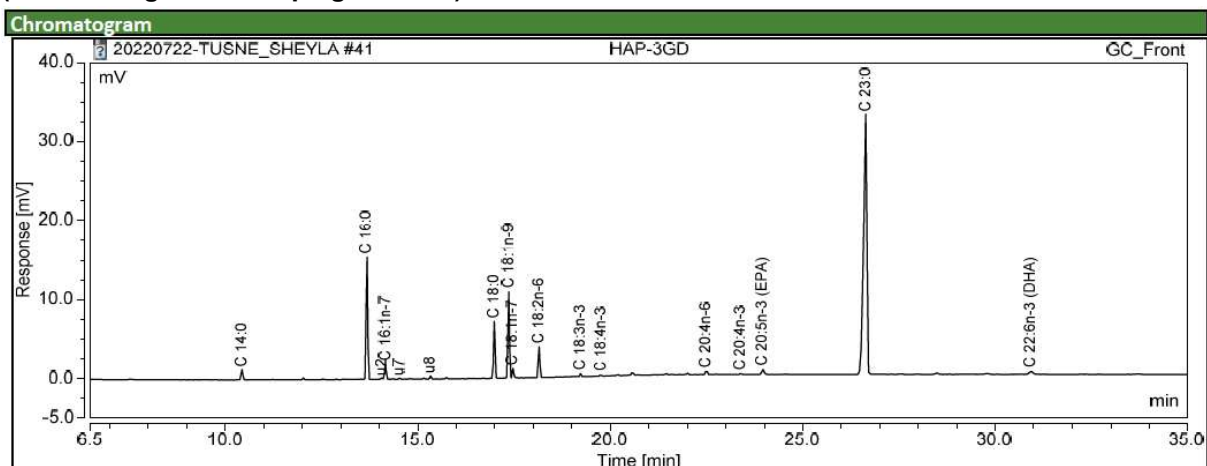
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 1).



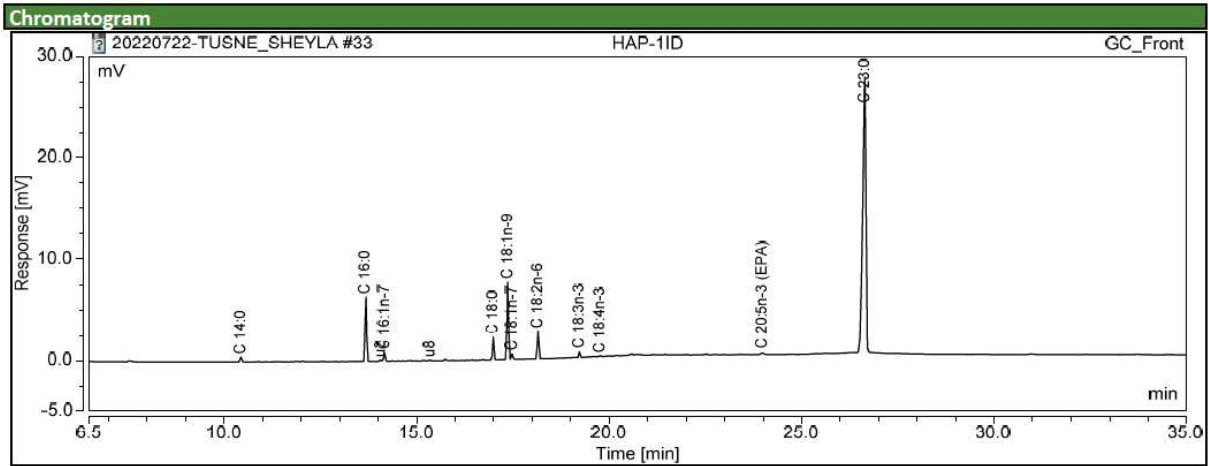
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 2).



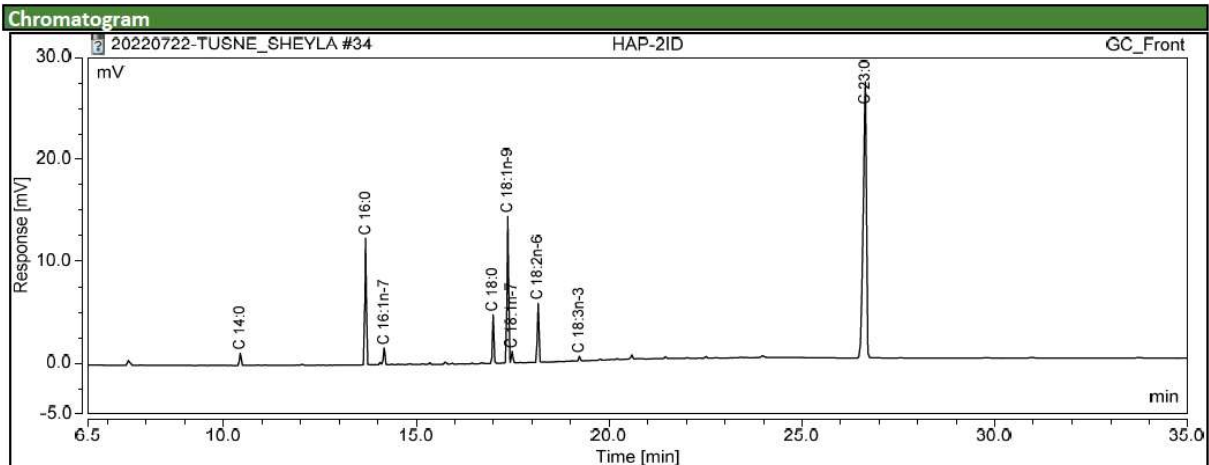
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 3).



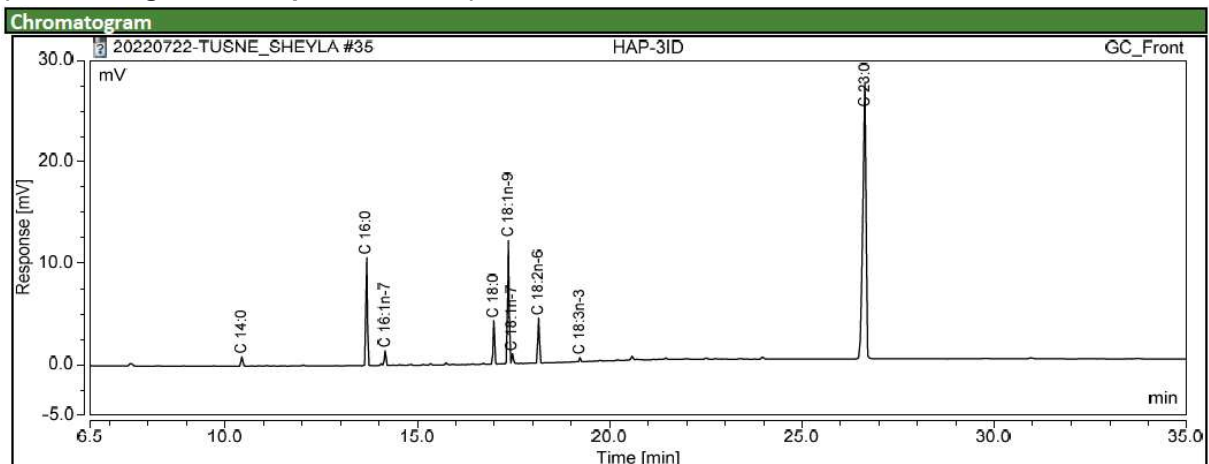
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 1).



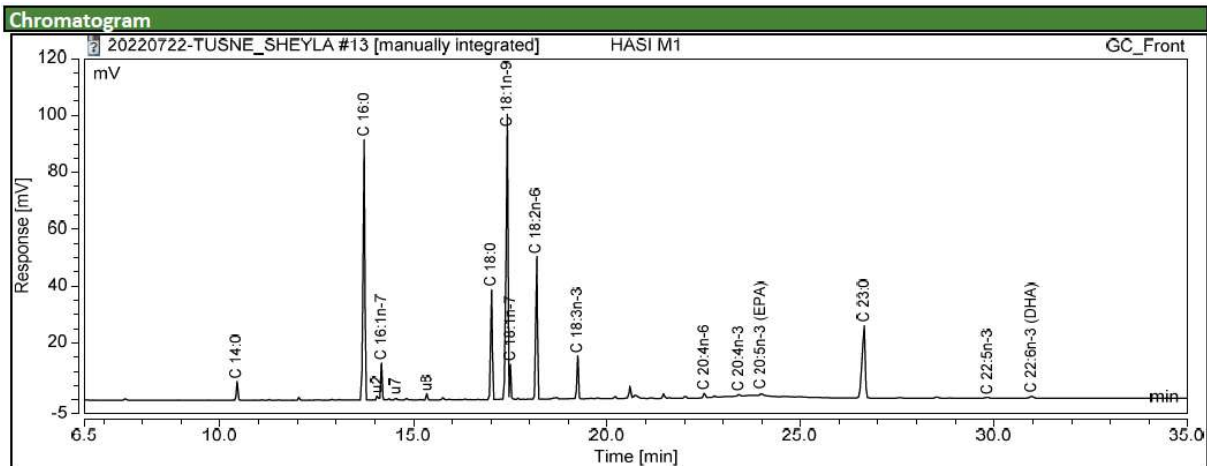
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 2).



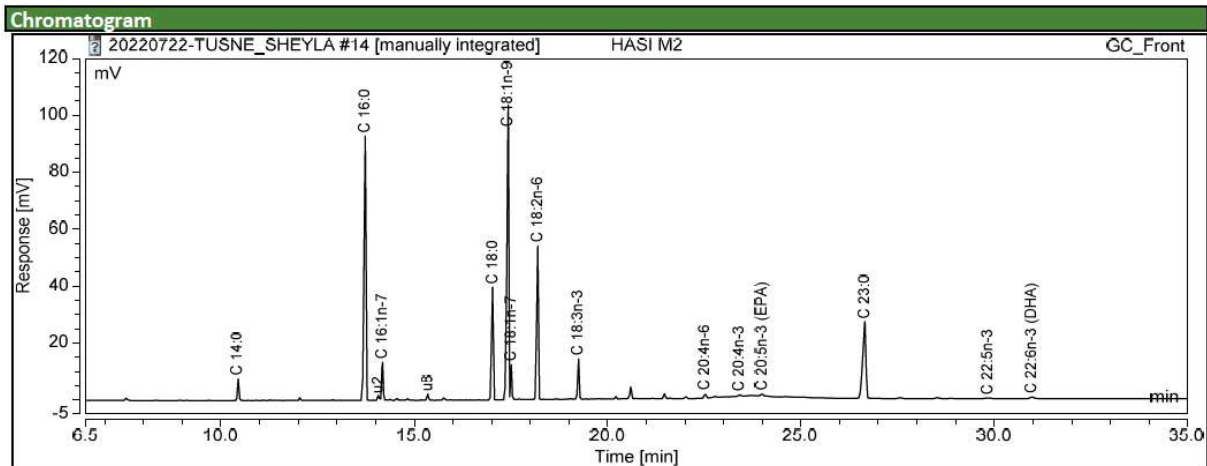
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de pescado menhaden (*Brevoortia tyrannus*) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 3).



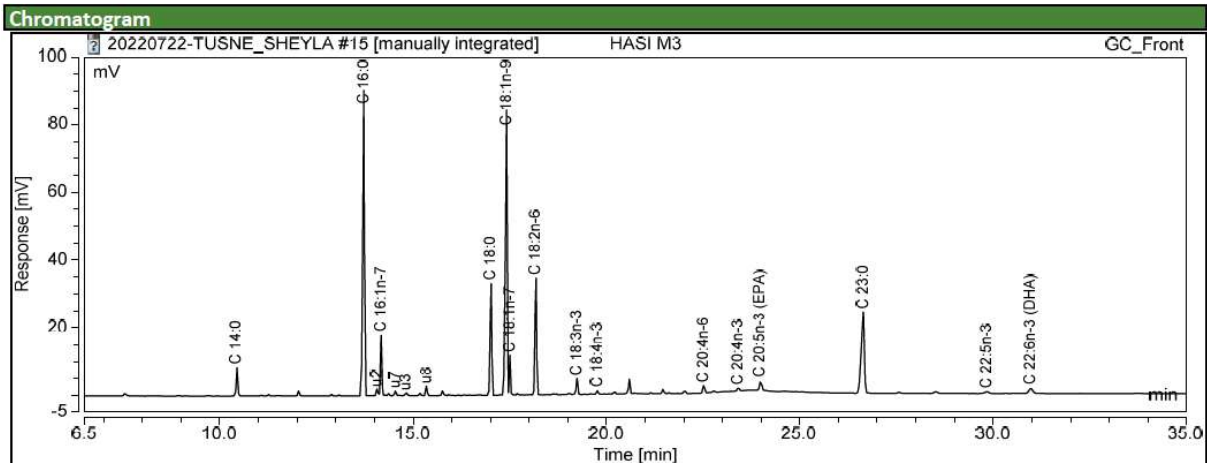
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra 1).



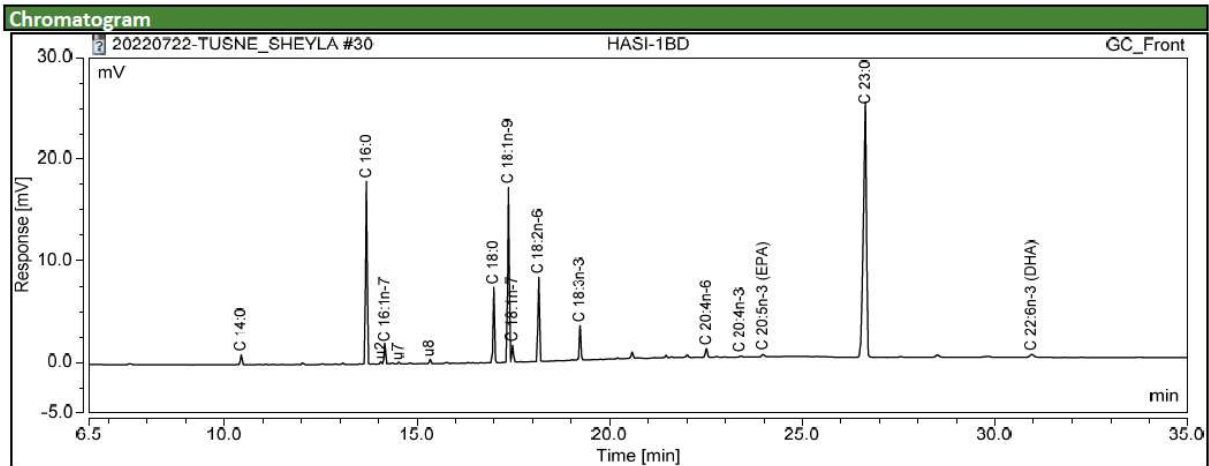
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra 2).



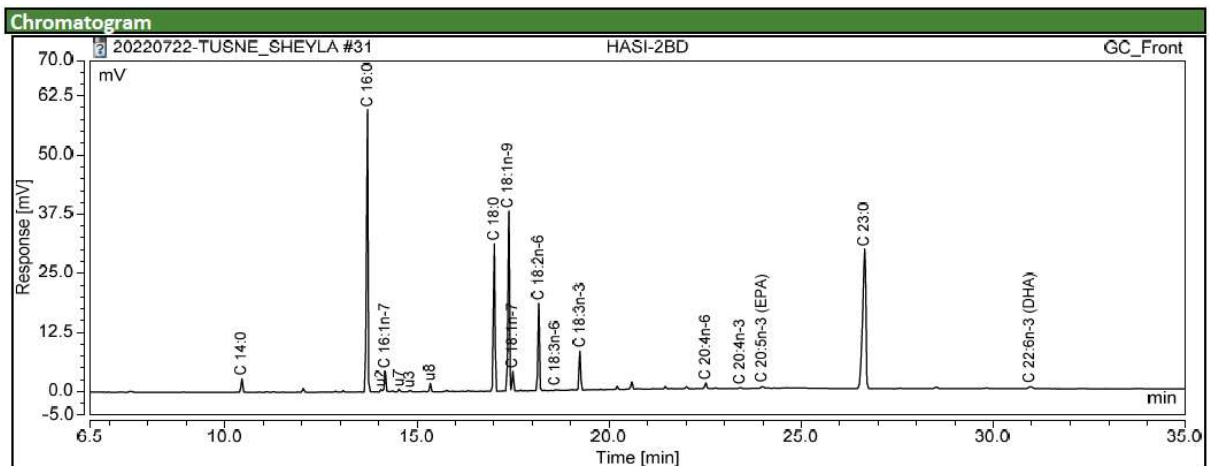
Cromatograma de hamburguesa cruda de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra 3).



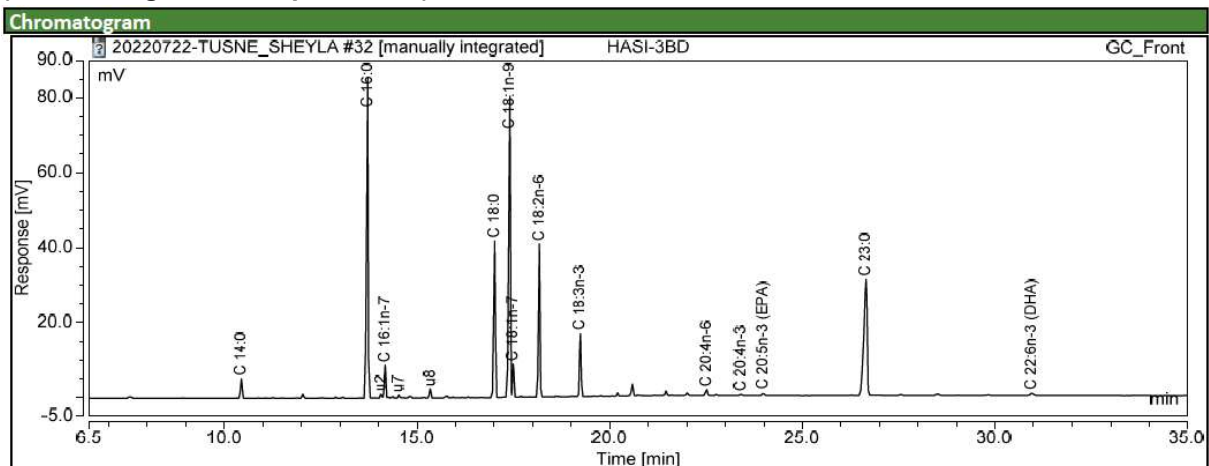
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 1).



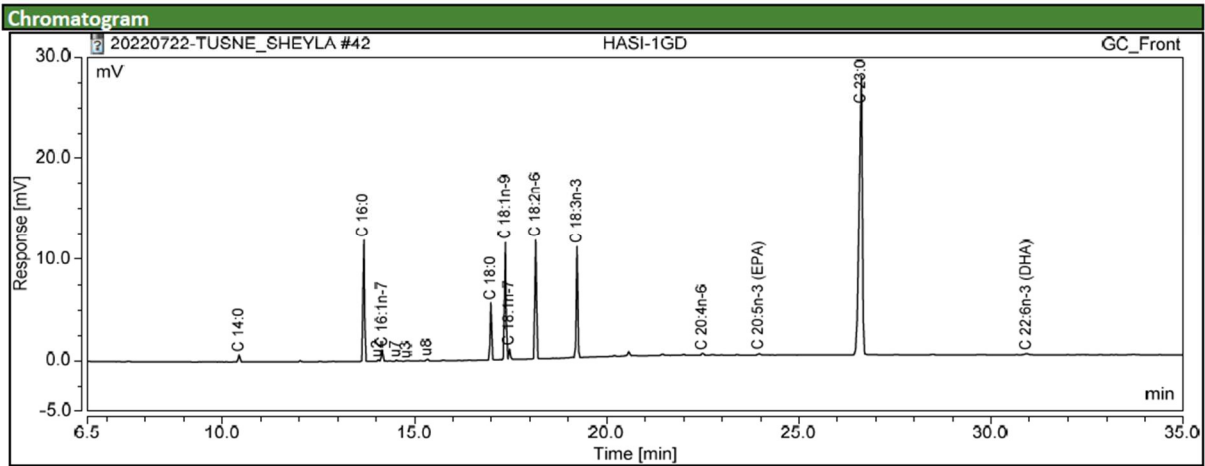
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 2).



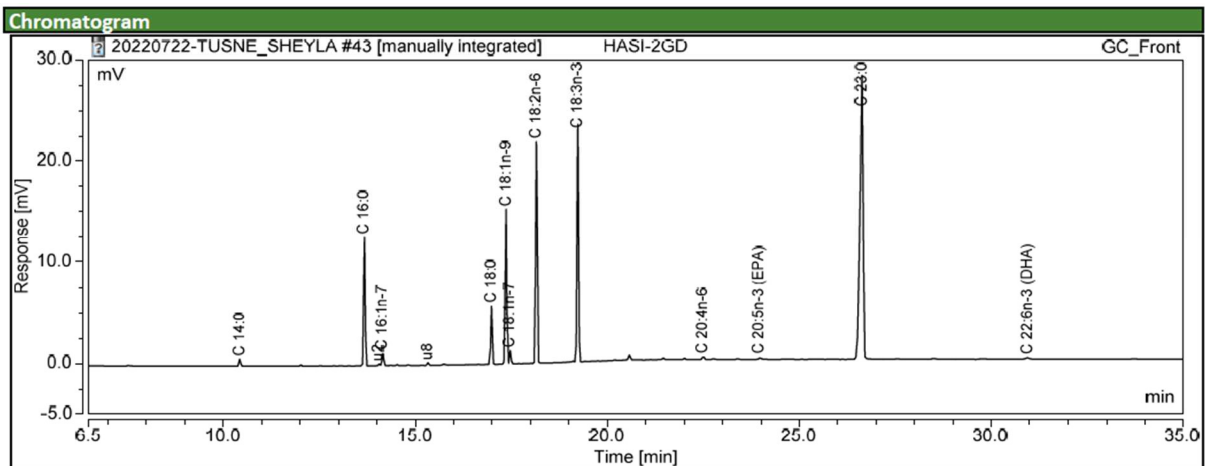
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa bucal 3).



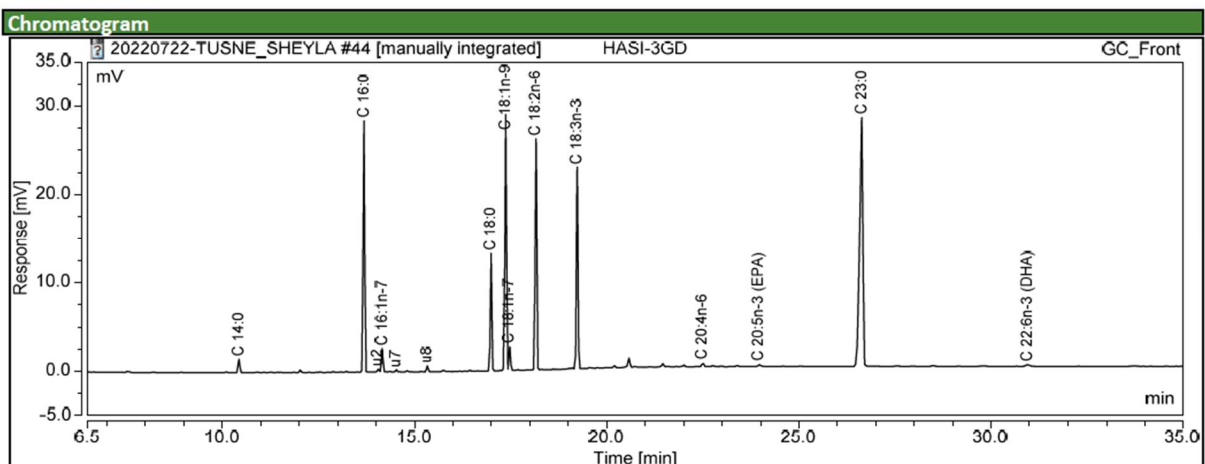
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 1).



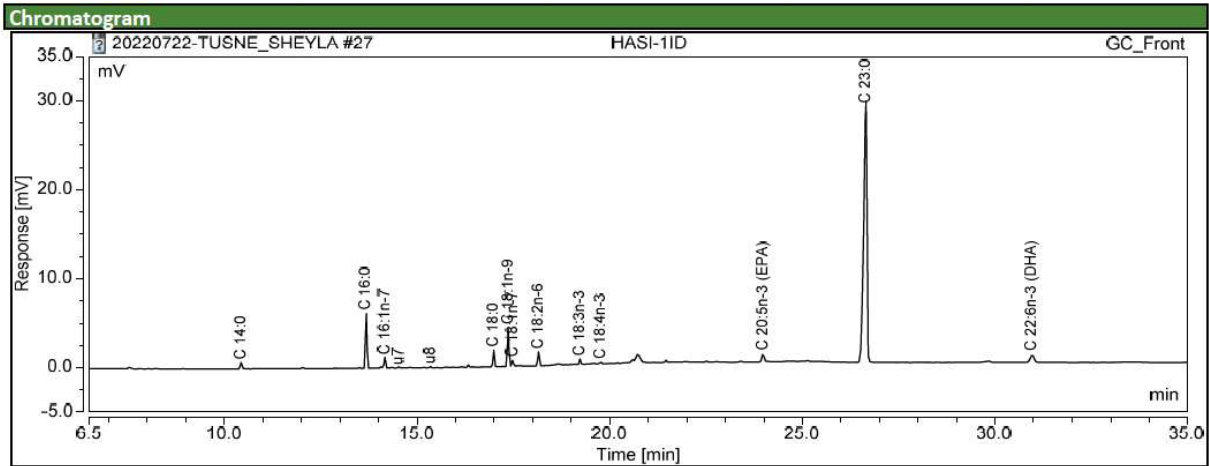
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 2).



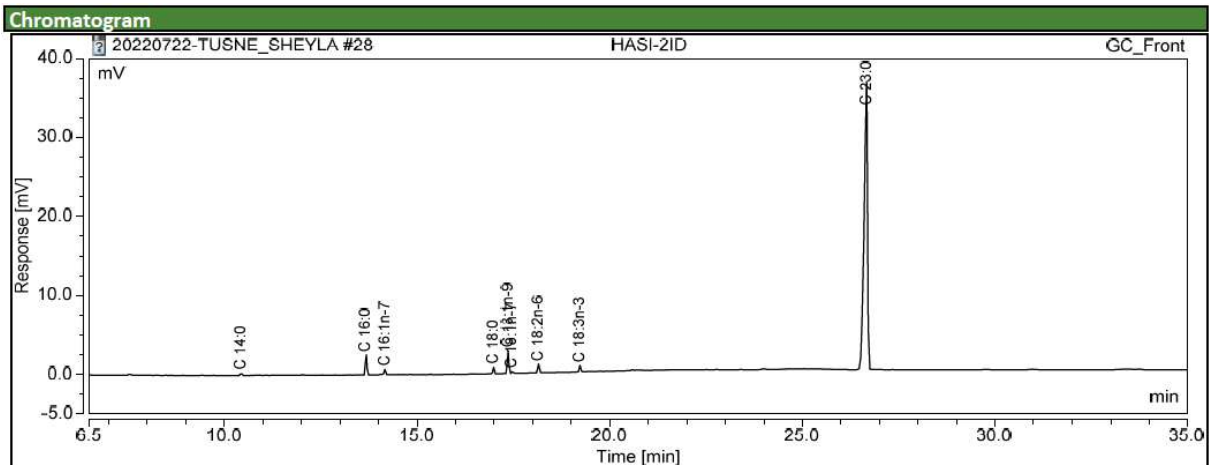
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa gástrica 3).



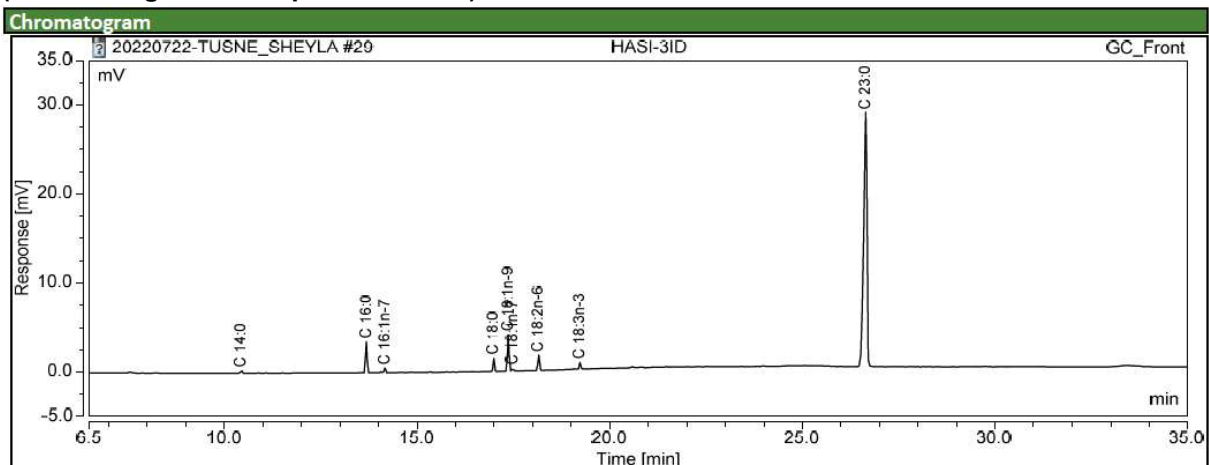
Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 1).



Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 2).



Cromatograma de hamburguesa cocida de pescado boquichico (*Prochilodus nigricans*) enriquecida con aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) microencapsulado (Muestra digerida – etapa intestinal 3).



Anexo 4. Abreviaturas.

ALA	Ácido α -linolénico
AG	Ácidos Grasos
AGS	Ácidos Grasos Saturados
AGPI	Ácidos Grasos Poliinsaturados
EE	Eficiencia de encapsulación
EEM	Error estándar de la media
DHA	Ácido Docosaheptaenoico
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
EPA-MAG	EPA-Monoacilglicerol
EPA-TAG	EPA-Triacilglicerol
EPA-FL	EPA-Fosfolípidos
HAP:	Hamburguesa de boquichico con aceite de pescado microencapsulado.
HASI:	Hamburguesa de boquichico con aceite de sachá inchi microencapsulado.
LM	Lecitina – Maltodextrina (MO)
LQM	Lecitina + Quitosano – Maltodextrina (MU)
MEB	Microscopia Electrónica de Barrido
MGD	Modelo Gastrointestinal Dinámico (TIM)
MD	Maltodextrina
QS	Quitosano
QSEG	Quitosano - Epigallocatequina-3-galato
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
OMS	Organización Mundial de la Salud
SSF	Fluido Salival Simulado
SGF	Fluido Gástrico Simulado
SIF	Fluido Intestinal Simulado