FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

EXAMEN DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

BIOACCESIBILIDAD DE PROTEÍNAS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR:

GUSTAVO ANDREE GARCÍA PINEDO

ASESOR:

Ing. FERNANDO TELLO CELIS, Dr.

IQUITOS, PERÚ

2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN

UNAP

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Escuela Profesional de
Ingeniería en Industrias Alimentarias

ACTA DE SUSTENTACIÓN DEL EXAMEN DE SUFICIENCIA PROFESIONAL Nº 009-CGT-FIA-UNAP-2022

En Iquitos, en las instalaciones del laboratorio de ingeniería, ubicado en la Planta Piloto, sito Av. Freyre Nº 610, a los 05 días del mes de mayo de 2022, a horas....05:30 p.m.; se dió inicio a la sustentación pública del informe del examen de suficiencia profesional titulado: **"BIOACCESIBILIDAD DE PROTEÍNAS"** presentado por el Bachiller **GUSTAVO ANDREE GARCIA PINEDO**, de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias; para optar el Título Profesional de Ingeniero(a) en Industrias Alimentarias, que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal Nº 0152-FIA-UNAP-2022 del 28 de abril de 2022, está integrado por:

Ing. CARLOS ENRIQUE LÓPEZ PANDURO, MSc.
Ing. JUAN ALBERTO FLORES GARAZATUA, Mtro.
Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO, Mgr.

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: Satisfactoriamente

El Jurado después de las deliberaciones correspondientes, llego a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y el informe del examen de suficiencia profesional, según promedio final, ha sido:.....Aprobado..... con la calificación Muy buena

Estando el (la) bachiller apto(a) para obtener el Título Profesional de Ingeniero(a) en Industrias Alimentarias, siendo las ...06:45 p.m. se dió por terminado el acto de sustentación.

Presidente Ing. CARLOS ENRIQUE LÓPEZ PANDURO, MSc. CIP: 31070	**Miembro** Ing. JUAN ALBERTO FLORES GARAZATUA, Mtro. CIP: 31646
Miembro Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO, Mgr. CNP: 130	**Asesor** Ing. FERNANDO TELLO CELIS, Dr. CIP: 47489

MIEMBROS DEL JURADO

Exámen de suficiencia profesional aprobada en sustentación pública en la ciudad de Iquitos en las instalaciones del laboratorio de ingeniería de alimentos ubicado en la avenida Augusto Freyre N°610, Planta Piloto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, llevado a cabo el día 05 de Mayo del 2022, siendo 05:30 pm del día Jueves, siendo los miembros del jurado calificador los abajo firmantes.

Ing. CARLOS ENRIQUE LÓPEZ PANDURO MSc.

Presidente

Ing. JUAN ALBERTO FLORES GARAZATUA Mgr.

Miembro

Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO Mgr.

Miembro

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado para mi familia que de una y otra manera hacen posible el desarrollo del mismo en especial a mis tíos Edvin García Paredes, Ling Lache Arévalo y mi padre Segundo García Paredes, quienes me dieron todas las oportunidades que se le puede dar a una persona.

Gustavo Andree García Pinedo

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida, acompañarme en todo momento y permitirme concluir satisfactoriamente mis estudios obteniendo un logro más en la vida.

A mi familia, quienes nunca me abandonaron en el proceso y siempre estuvieron alentándome para alcanzar mi sueño.

A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, a la facultad de Industrias Alimentarias por abrir sus puertas para mi formación profesional.

Gustavo Andree García Pinedo

ÌNDICE GENERAL

Portada i

Acta de sustentación ii

Miembros del jurado iii

Dedicatoria iv

Agradecimiento v

Indice general vi

Indice de tablas viii

Indice de figuras ix

Abreviaturas x

Resumen xi

Abstract xiii

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO 7

1.1 Antecedentes 7

1.2. Bases teóricas 12

1.2.1 Proteína en alimentos 12

1.2.2 Hidrolizados de proteína 14

1.2.3 Péptidos bioactivos 16

1.2.4 Digestión de proteínas 18

1.2.5 Métodos para la determinación del contenido de proteínas 20

1.2.6 Bioaccesibilidad 21

1.2.7 Biodisponibilidad 22

1.2.8 Bioactividad 23

1.2.9 Importancia de la bioaccesibilidad en la nutrición. 24

1.2.10 Digestión y absorción 25

1.2.11 Digestión *in vitro* 28

1.2.12 Modelos de determinación de bioaccesibilidad 29

1.2.12.1 Modelo infogest 31

1.2.12.2 Modelo gastrointestinal tno (tim) 33

1.2.13 Estudios sobre la influencia de los métodos de cocción en la bioaccesibilidad de las proteínas 33

1.3. Definición de términos básicos 36

CAPITULO II: CONCLUSIONES 38

CAPITULO III: RECOMENDACIONES 39

CAPITULO IV: FUENTES DE INFORMACIÓN 40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes de péptidos bioactivos con sus propiedades biológicas relativas 12

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biodisponibilidad involucra los conceptos de bioaccesibilidad y bioactividad 17

Figura 2. Regiones específicas del tracto gastrointestinal humano 20

Figura 3. Resumen de los pasos básicos de la digestión y absorción de proteínas, con enzimas importantes y transportadores 22

Figura 4. Esquema de un proceso de digestión in vitro 23

Figura5. Diagrama del método Infogest 32

ABREVIATURAS

AA : Aminoácidos

CZE : Electroforesis de zona capilar

EAA/NEAA : Aminoácidos esenciales/aminoácidos no esenciales

HPLC : Cromatografía líquida de alta resolución

PUFA : Ácidos grasos poliinsaturados

PTN : Proteína

RMN : Resonancia magnética nuclear

SPI : Aislado de proteína de soya

SC : Caseína de sodio

SDS-PAGE: Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico

TGI : Tracto gastrointestinal

TIM : Modelo gastrointestinal TNO

WPI : Proteína de suero de leche

RESUMEN

Hoy en día las personas se muestran más preocupadas por su salud, y la tendencia por el consumo de alimentos saludables va en aumento. Existen diferentes alegaciones nutricionales sobre diversos alimentos, sin embargo, tan solo conocer el contenido nutricional no es suficiente, ya que la utilización y los beneficios que pueden tener estos en el organismo son pocos conocidos, pues depende de diferentes variables. Asimismo, se sabe de la importancia de las proteínas en la dieta, no obstante términos como la calidad proteica y el valor biológico de las proteínas han llamado la atención, pues el hecho de que cierto alimento tenga un contenido alto de proteínas no significa que el cuerpo es capaz de utilizarlo en su totalidad. Ante esto, términos como la bioaccesibilidad y biodisponibilidad han tomado protagonismo para la determinación de estos parámetros, la primera nos permite conocer la fracción liberada del componente bioactivo de la matriz alimentaria y la segunda es la fracción del nutriente que el cuerpo puede utilizar en sus funciones metabólicas. Conocer la bioaccesibilidad de cierto nutriente es de suma importancia, pues en ella también influyen otros compuestos de los alimentos que podrían quemar al compuesto bioactivo impidiendo su correcta liberación de la matriz. Para determinar la bioaccesibilidad de compuestos activos se han desarrollado diversas técnicas in vitro, los cuales pretender mimetizar o imitar, las condiciones gastrointestinales en lo que se refiere a pH, enzimas y movimiento. No obstante, estos métodos son más útiles para el análisis de los puntos finales de los digeridos, más no nos permiten analizar la cinética de la digestión pues son procesos más complejos, que no se pueden determinar in

vitro. Y teniendo en cuenta que los alimentos ricos en proteínas, como carnes y lácteos son consumidos diariamente por millones de personas en el mundo, se hacen necesarios más trabajos de investigación que nos permitan dar información sobre el comportamiento de sus proteínas después de ser ingeridos.

Palabras Claves: Bioaccesibilidad, proteínas, digestión in vitro, alimentos funcionales.

ABSTRACT

Nowadays, people are more concerned about their health, and the trend for the consumption of healthy foods is increasing. There are different nutritional claims about various foods, however, just knowing the nutritional content is not enough, since the use and benefits that these can have in the body are little known, since it depends on different variables. Likewise, the importance of proteins in the diet is known, however terms such as protein quality and the biological value of proteins have drawn attention, since the fact that a certain food has a high protein content does not mean that the body is able to use it fully. Given this, as much as bioaccessibility and bioavailability have taken center stage for the determination of these parameters, the first allows us to know the fraction released from the bioactive component of the food matrix and the second is the fraction of the nutrient that the body can use in its metabolic functions. Knowing the bioaccessibility of a certain nutrient is extremely important, since it is also influenced by other food compounds that could chelate the bioactive compound, preventing its correct release from the matrix. To determine the bioaccessibility of active compounds, various in vitro techniques have been developed, which aim to mimic or imitate gastrointestinal conditions in terms of pH, enzymes and movement. However, these methods are more useful for the analysis of the end points of the digests, but they do not allow us to analyze the kinetics of digestion since they are more complex processes, which cannot be determined in vitro. And taking into account that foods rich in protein, such as meat and dairy products, are consumed daily by millions of people in the world, more research is needed that allows us to provide information on the behavior of

their proteins after being ingested.

Keywords: Bioaccessibility, proteins, in vitro digestion, functional foods.

INTRODUCCIÓN

Como es sabido, las proteínas son componentes esenciales en la dieta y son necesarios para sobrevivencia de los animales y humanos. Las proteínas son polímeros lineales o ramificados formados por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y producidos como producto final del proceso de decodificación iniciado a partir de la información del material genético (O'Connor, Adams y Fairman 2011).

Todas las proteínas poseen una misma estructura química central, la cual consiste en una cadena lineal de aminoácidos. Sin embargo, la diferencia de una proteína a otra es la secuencia de aminoácidos que la conforma, se conoce como estructura primaria de la proteína. La estructura primaria de una proteína va a determinar su función. Por ejemplo, las proteínas estructurales, poseen mayor cantidad de aminoácidos rígidos capaces de establecer enlaces químicos fuertes para dar dureza a la estructura que conforman. No obstante, esta secuencia lineal de aminoácidos puede adoptar múltiples conformaciones en el espacio mediante el plegamiento del polímero lineal, dando lugar a una estructura secundaria. A su vez, las proteínas pueden adoptar distintas posiciones en el espacio, a esto se le conoce como estructura terciaria, es decir, la forma en la que se enrolla una determinada proteína. Así mismo, las proteínas suelen agrupar varias cadenas polipeptídicas (o monómeros) para formar proteínas multiméricas mayores. A esto se llama estructura cuaternaria de las proteínas, a la agrupación de varias cadenas de aminoácidos (o polipéptidos) en complejos macromoleculares mayo. Por lo tanto, las proteínas son cadenas de aminoácidos que se pliegan

adquiriendo una estructura tridimensional que les permite llevar una amplia gama de funciones (Luque 2011).

Entre sus funciones más conocidas se incluyen a que son el mayor componente estructural del músculo y otros tejidos en el cuerpo cuando es necesario pueden servir como sustrato energético. Pero, también cumplen actividades enzimáticas en el cuerpo hasta bioactividades, relacionados con la salud del corazón, la prevención de la diabetes tipo 2, el mantenimiento de la salud mental, alivio del estrés, así como otros atributos beneficiosos para la salud. A su vez, las proteínas desempeñan un papel importante en la fabricación de alimentos ya que generalmente tienen la capacidad de proporcionar atributos aglutinantes, retenedores de agua o aceite, emulsionantes, espumantes u otros atributos funcionales necesarios para garantizar beneficios sensoriales y gustativos óptimos para el consumidor (Hayes 2018).

Para que las proteínas puedan ser utilizadas por el cuerpo necesitan ser metabolizados en su forma más simple, los aminoácidos, habiéndose identificado 20 aminoácidos. Doce de estos aminoácidos se denominan no esenciales, los cuales son sintetizados en nuestro organismo, se hace necesario consumirlos en la dieta. En cambio, los aminoácidos restantes no pueden ser sintetizados en el cuerpo y se denominan aminoácidos esenciales y necesitan ser consumidos en nuestras dietas. La ausencia de cualquiera de estos aminoácidos afectará la capacidad del tejido para crecer, reparar o mantener. Las proteínas dietéticas pueden ser clasificadas de acuerdo a su origen: origen animal o vegetal. A menudo, las proteínas de fuente animal se consideran como proteínas completas, pues contienen todos los aminoácidos

esenciales, mientras que de fuentes vegetales generalmente carecen de uno o más aminoácidos esenciales (Hoffman y Falvo 2004).

La evaluación de una proteína es fundamental para determinar su idoneidad en la dieta humana, y aparte de considerar el perfil de aminoácidos para definir la calidad nutricional de la proteína, otro aspecto importante es su digestibilidad. Pues es importante conocer a las proteínas que tienen un contenido y una digestibilidad inferiores son importantes para restringir o limitar la dieta (López-Pedrouso et al. 2019). Asimismo, se ha reportado que existen factores anti nutricionales, como los inhibidores de la tripsina, las lectinas y los taninos presentes en ciertas fuentes proteicas (como la harina de soja, los guisantes y las habas) que aumentan las pérdidas de proteínas endógenas en el íleon terminal. Estos factores anti nutricionales podrían causar una reducción de hidrólisis de proteínas y alterar la absorción de aminoácidos (Salgado et al. 2002). Esto es importante, pues para evitar estos problemas de mala absorción y pérdidas nutricionales es posible aumentar el suministro de proteínas mejorando la digestibilidad como también la biodisponibilidad durante la digestión de los alimentos. A su vez, la tendencia en la preferencia de los consumidores por el consumo de alimentos que contienen compuestos bioactivos (como péptidos y aminoácidos libres) está creciendo rápidamente. La tasa de absorción de las proteínas varía según la fuente de proteínas, siendo que las proteínas animales se digieren más completamente que las proteínas vegetales. Por esta razón, definir la calidad de los alimentos basándose únicamente en una alta cantidad de proteína es insuficiente debido a la mala calidad de la proteína, la absorción deficiente de la proteína o por propiedades organolépticas no deseadas (de Jongh y

Broersen 2012) . Es por esto que, la determinación de la biodisponibilidad oral y la bioaccesibilidad de proteínas es importante para determinar si una proteína está disponible para su uso como nutriente o, si se descompone en péptidos bioactivos, tóxicos o alergénicos, los cuales pueden causar un efecto positivo o negativo para la salud del consumidor que va más allá de la nutrición humana básica (Hayes 2018).

La digestibilidad de las proteínas empieza cuando en el ambiente ácido del estómago, las proteínas se desnaturalizan, a la par, las enzimas pepsina y proteasa se activan, descomponiendo los enlaces peptídicos de la molécula de proteína en cadenas de aminoácidos más pequeñas llamadas polipéptidos. Luego, se produce una digestión adicional de los polipéptidos en el intestino delgado (ambiente alcalino) donde las enzimas, la tripsina, la quimotripsina, la elastasa y la carboxipeptidasa hidrolizan la molécula de proteína en aminoácidos. Posteriormente, los aminoácidos descompuestos pasan a través del revestimiento intestinal a través de los capilares hacia las vellosidades ubicadas en la pared intestinal. Así, el torrente sanguíneo distribuye estos aminoácidos a diferentes células y tejidos del cuerpo que ayudan en la reparación de las estructuras celulares. La acción de las enzimas depende de varios factores, como el tipo y la cantidad de proteína consumida, acidez del alimento, presencia de inhibidores (García Luna y López Gallardo 2007).

La bioaccesibilidad, se refiere a la cantidad de un compuesto dado, que se libera de la matriz alimentaria y se modifica en el tracto gastrointestinal antes de estar disponible para su absorción. Mientras que, la biodisponibilidad desde el punto de vista nutricional, puede definirse como la fracción del

nutriente el cual es almacenado o disponible para las funciones metabólicas del organismo (Galanakis 2017). La bioaccesibilidad y biodisponibilidad de nutrientes y compuestos bioactivos pueden determinarse mediante diversas metodologías in vitro (simulación digestión gastrointestinal, célula Caco-2, membranas celulares y otros), metodologías ex vivo (órganos gastrointestinales en condiciones controladas de laboratorio), in situ metodologías (perfusión intestinal en animales), y metodologías in vivo (perfusión y estudios en animales) (Carbonell-Capella et al. 2014). No obstante, es común utilizar modelos in vitro seguido de experimentos con cultivos de células Caco-2 que tienen como objetivo simular la absorción de compuestos bioactivos en el intestino delgado (Barba et al. 2017).

A pesar de que al principio la falta inicial de modelos experimentales definidos para estudiar la bioaccesibilidad, la adquisición de información importante sobre la biodisponibilidad de nutrientes esenciales y compuestos bioactivos, no ha sido impedida. Aunque, no toda la información adquirida es aplicable directamente al diseño de alimentos y fórmulas porque el criterio de control en este caso es la efectividad del parámetro de bioaccesibilidad. Pues, este parámetro está directamente influenciado por la composición de la matriz alimentaria, por las sinergias y antagonismos que puedan producirse entre los diferentes componentes, permitiendo que una sustancia potencialmente digerida esté disponible para el organismo (Fernández-garcía, Carvajal-lérida y Pérez-gálvez 2009). Este problema, aunado con la mejora de la extracción de proteínas provenientes de la matriz alimentaria y el control de las interacciones de las proteínas con otros ingredientes durante el

procesamiento de los alimentos, son desafíos importantes que afronta la industria alimentaria moderna.

Por lo tanto, el propósito del presente capítulo es explorar las diferentes técnicas utilizadas para evaluar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos bioactivos y nutrientes a través de métodos in vitro e in vivo.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

En el estudio de Menezes et al. (2018), determinaron la bioaccesibilidad de Ca, Cu, Fe, Mg, Zn y proteína cruda de la carne de res, cerdo y pollo, los cuales fueron sometidos a cinco tratamientos térmicos diferentes. Para ello, la bioaccesibilidad de la proteína cruda y los metales se simuló mediante digestión enzimática *in vitro* con solución de líquido gástrico y un enfoque de dializabilidad. Además, fue utilizada la espectrometría óptica de plasma acoplado inductivamente con el fin de cuantificar la fracción dializable y el contenido mineral total posterior a la digestión asistida por microondas. Siendo que, la espectrometría de absorción atómica en horno de grafito cuantificó Cu en la fracción dializable de pollo. Asimismo, se encontró que el aumento de la temperatura y el período de exposición al calor disminuyeron la bioaccesibilidad de la proteína. Considerando. Tomando en cuenta la fracción total y dializable, la carne vacuna es una fuente importante de Cu, Fe, Mg y Zn para la dieta humana. No obstante, los resultados obtenidos por espectroscopia infrarroja transformada de Fourier indicaron cambios físicos en las muestras tratadas ligados a la desnaturalización de las proteínas, lo que probablemente causó la disminución de la bioaccesibilidad de minerales y proteínas, principalmente a temperaturas más altas.

En otro estudio de Lima et al. (2019), se estudiaron hidrolizados proteicos de subproductos industriales de bacalao negro (*Cynoscion guatucupa*) y se evaluó su actividad antimicrobiana y antioxidante, así como la bioaccesibilidad. Los subproductos fueron hidrolizados para lograr grados

de hidrólisis de 5, 10 y 15%, respectivamente. Los hidrolizados resultantes se digirieron enzimáticamente con pepsina y pancreatina para determinar su bioaccesibilidad in vitro, y después de la digestión gastrointestinal *in vitro*, todas las muestras fueron bioaccesibles. Los péptidos desarrollados presentan un potencial para su uso como conservantes antimicrobianos y antioxidantes naturales en los alimentos.

Asimismo con el Chen et al. (2020), con el objetivo de evaluar el efecto de la proteólisis, lipolisis y sales biliares en la estabilidad de las emulsiones aceite en agua estabilizadas con proteínas y sus efectos en la bioaccesibilidad del β- caroteno en sistema de emulsión aceite en agua. Con tal fin, fueron preparados nanoemulsiones con proteína de suero (WPI), aislado de proteína de soya (SPI) y caseína de sodio (SC), estas fueron caracterizadas en cuanto a tamaño de partícula, microscopía confocal, composición interfacial, potencial zeta y sus propiedades digestivas durante la simulación gastrointestinal. Se encontró que, las emulsiones de WPI, fueron más estables en el fluido gástrico debido a la actividad emulsificante de la β-lactoglobulina, mientras que SPI y SC se agregaron ante la presencia de la pepsina. No obstante, una absorción rápida de productos de lipolisis fue observada en las emulsiones de WPI y SC. Estos resultados proveen de información acerca de la relación entre los efectos de la digestión de proteínas interfaciales y la bioaccesibilidad del contenido lipofílicos de la emulsión los cuales permiten el desarrollo de sistemas seguros de administración de moléculas bioactivas emulsionadas basadas en proteínas.

Por su parte, Souza (2020), estudiaron la hidrólisis de proteínas utilizando el protocolo estático armonizado INFOGEST de tres proteínas

aisladas (colágeno, zeína y proteína de suero) y cinco alimentos (harina de sorgo, cereales de salvado de trigo, maní, frijoles negros y gandules). Las proteínas de todos los sustratos se examinaron por SDS-PAGE y HPLC-MS/MS. La composición de aminoácidos individuales fue determinada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Las relaciones EAA/NEAA (aminoácidos esenciales/aminoácidos no esenciales) en los sustratos de bajo a alto fueron: cereales de salvado de trigo, cacahuetes, colágeno, zeína, proteína de suero, sorgo, guandú y frijoles negros. Los resultados mostraron que el sorgo, la proteína de suero y la zeína son buenas fuentes de aminoácidos ramificados. En todos los sustratos, SDS-PAGE no detectó visualmente ninguna proteína intacta después de la fase intestinal de digestión in vitro con el protocolo INFOGEST. Sin embargo, se identificaron péptidos resistentes a la digestión en todos los sustratos después de la fase de digestión intestinal. La hidrólisis de proteínas fue alta en el aislado de proteína de suero y el guandú y baja en los cereales de salvado de trigo y el colágeno bovino.

Soloman, Ladeji y Umoru (2008) determinaron la calidad de la proteína y el valor biológico de Zonocerus variegatus (saltamontes gigante) evaluada en ratas comparados con dietas que contenían soja y cangrejos de río en un ensayo de alimentación de 28 días. La ganancia de peso de las ratas, la relación de eficacia alimentaria y las relaciones de eficacia de proteínas fueron determinadas y comparadas con la misma ingesta de proteínas y base calórica. La proteína de saltamontes gigante resultó en un 80-100 % más de aumento de peso, valores de relación de eficacia alimentaria y eficacia proteica comparación con la comida de control.

En el estudio de Marcolini et al. (2015), se evaluó el efecto del pH sobre la bioaccesibilidad del dipéptido bioactivo carnosina contenidos en dos muestras comerciales de bresaola de carne de res curada italiana en dos puntos clave de la digestión: antes de la fase gástrica y después de la duodenal. El proceso de digestión se realizó aplicando un sistema estático in vitro, mientras que la electroforesis de zona capilar (CZE) y la resonancia magnética nuclear (RMN) 1H se utilizaron para el análisis cuantitativo. La diferencia entre el contenido total de carnosina, medido por CZE, y su fracción libre difusible observable por espectroscopía de RMN, fue de 11 y 19 % para dos productos de bresaola independientes, donde tales porcentajes representan la fracción de carnosina no accesible para la absorción intestinal debido a que fue adsorbida a la matriz alimentaria dispersa en el líquido de digestión.

En el estudio de Colosimo et al. (2020), se investigó la bioaccesibilidad de las proteínas de las células fúngicas mediante ensayos colorimétricos en diferentes formulaciones de microproteínas, siguiendo métodos de extracción y digestión gastrointestinal in vitro. Los efectos de los métodos se analizaron utilizando dispersión de luz láser estática, SDS-PAGE y microscopía de fluorescencia óptica. Los métodos de extracción libraron una proporción comparable de proteína (30 % en peso) independientemente de la concentración de la muestra (10 % en peso y 25 % en peso), mientras que los puntos finales de digestión simulada liberaron una mayor proporción de proteína de menor concentración (46 % en peso). Asimismo, el procesamiento mecánico/físico tuvo solo un impacto menor. Las proteasas intestinales causaron la liberación de proteínas pero sin ocasionar daño aparente a las

paredes celulares cuando se observaron al microscopio. Lo cual, sugiere que las enzimas pueden difundirse a través de las paredes celulares, debido a su porosidad/permeabilidad, y son los principales factores responsables de la hidrólisis y bioaccesibilidad de la proteína a partir de la micoproteína.

En el estudió de Wen et al. (2015) se sometió la carne de cerdo cocida a una simulación gastrointestinal tratada con pepsina sola o seguida de tratamiento con tripsina. Los productos digeridos se reconocieron utilizando análisis de espectrometría de masas por matriz y análisis de espectrometría de masas de cromatografía líquida. La cocción condujo a una reducción ($p < 0,05$) de la digestibilidad como también de las intensidades de las bandas en los geles de electroforesis en gel de poliacrilamida. También se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) en los análisis de perfiles e identificación de péptidos y el número de péptidos de los productos digeridos con pepsina entre las muestras crudas (4 °C) y muy bien cocidas (100 °C). Los péptidos secuenciados de muestras digeridas con pepsina en grados inferiores de cocción desaparecieron mientras se aumentaba la temperatura. A su vez, las divisiones de tripsina parecían más consistentes entre los diferentes grados de cocción. Por esto, se hacen necesarias más investigaciones para evaluar la biodisponibilidad de los productos digeridos bajo diferentes temperaturas de cocción.

1.2. Bases Teóricas

1.2.1 Proteína en alimentos

La carne contiene nutrientes valiosos para la salud humana (FAO, 2014). Es una fuente primaria de proteínas, vitaminas y minerales en la nutrición humana, particularmente de los minerales traza selenio, zinc y hierro hemo, de la mioglobina y la hemoglobina (Cabrera et al. 2010). La carne y los productos cárnicos son componentes esenciales de las dietas en los países desarrollados y su consumo generalmente se ha asociado con la buena salud y la prosperidad en esos países.

El cerdo es la carne más consumida en los países desarrollados, representando más del 50% del total de carne consumida. A diferencia de la carne de res, la mayor parte de la carne de cerdo se consume en forma más procesada (jamón, salchichas), y la carne de cerdo fresca normalmente se consume en cantidades mucho más pequeñas. En los países desarrollados, la cantidad promedio de carne consumida cada día, incluyendo cerdo, res, ternera y cordero, es de aproximadamente 110 g (FAO, 2009). El pollo se considera una opción dietética más saludable, ya que tiene un contenido de grasa más bajo y una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en comparación con otros tipos de carne (Riovanto et al. 2012).

Se calcula que los adultos requieren 60 g de proteína diariamente y aproximadamente el 50% de esta cantidad puede ser cubierta por 150 g de pescado. En el año 2007, el pescado suplió el 15,7 % de la proteína animal consumida y el 6,1 % de toda la proteína consumida en el mundo (FAO 2010). De las cuales, Asia representó dos tercios del consumo humano; 36,9 millones

de toneladas 33,6 millones se consumieron en China y fuera de China, respectivamente (FAO 2010). Siendo que el consumo promedio de pescado per cápita para América del Norte, América Central y el Caribe, América del Sur, Oceanía y Europa fue de 24,1, 9,5, 8,4, 20,8, 24,5 y 20,8 kg, respectivamente (Hosomi, Yoshida y Fukunaga 2012).

Los huevos son una rica fuente de proteínas de alto valor biológico y proporcionan una fuente única y equilibrada de nutrientes para personas de todas las edades. Ya que constituyen una parte básica del consumo total de proteínas en el mundo. Debido a esto, ha habido un esfuerzo de investigación considerable centrado en formas de mejorar la producción de huevos y mejorar la calidad de los huevos. Tanto que se han descubierto nuevas moléculas previamente desconocidas con actividad específica o propiedades funcionales en la albúmina como en la yema de huevo, de las cuales algunas tienen usos potenciales en aplicaciones farmacéuticas y alimenticias (Rossi et al. 2013).

Asimismo, la proteína de la leche es una fuente significativa de proteína dietética y es particularmente rica en lisina y aminoácidos de cadena ramificada. La leche representa el 10% de todo el suministro mundial de proteínas y provee el tercer suministro alimenticio más alto después de los cereales y la carne. No obstante, es más importante de las cantidades recomendadas en las guías pues posee un rico suministro de aminoácidos esenciales y de alta digestibilidad (en contraste con la proteína de los cereales). El comercio mundial de productos lácteos es aún pequeño (alrededor del 8% de la producción láctea se comercializa) pero está creciendo (Chatterjee, Sarkar y Boland 2014).

1.2.2 Hidrolizados de proteína

Gracias a los desarrollos tecnológicos de los últimos años en el procesamiento de alimentos y los avances en la tecnología de separación, han ocasionado en el uso generalizado de hidrolizados de proteínas dietéticas, sus fracciones en varios alimentos y productos ya que poseen propiedades nutricionales y funcionales deseables. De esta manera, los hidrolizados de proteínas se utilizan comúnmente como fuente principal de proteínas en suplementos, fórmulas infantiles, sustitutos de comidas, productos para deportistas y alimentos médicos, así como como productos para administración parenteral. Los hidrolizados son utilizados para mejorar la digestión y la absorción de fuentes de proteínas que no son muy digeribles, pero recientemente también se han explorado como una fuente potente de péptidos bioactivos, que exhiben propiedades antihipertensivas, antioxidantes, efectos hipocolesterolémicos, antitrombóticos, inmunomoduladores y antimicrobianos. El grado de hidrolización de una fuente de proteína es un reflejo del número de enlaces peptídicos rotos, por ende, del tamaño medio de los péptidos presentes. El número de enlaces peptídicos rotos como proporción del número total de enlaces peptídicos presentes puede ser definido como como el grado de hidrólisis (Rutherfurd 2010).

Por lo tanto, los hidrolizados de proteínas son fragmentos de proteínas producidos por hidrólisis con enzimas o ácidos o por fermentación que contienen aminoácidos y péptidos de diferentes tamaños. Algunos hidrolizados se pueden sintetizar o producir mediante bioingeniería, según su

estructura. Los hidrolizados tienen un valor nutricional mejorado en comparación con las proteínas nativas y también pueden poseer bioactividades debido a la generación de biopeptidos. Las proteínas como el colágeno pueden ser hidrolizadas por enzimas para mejorar su biodisponibilidad (Fitzgerald 2014).

De hecho, varios tipos de subproductos del procesamiento de alimentos se hidrolizan para convertir las proteínas no comestibles en péptidos comestibles (Colla et al. 2014, Aspevik et al. 2017). Asimismo, Las proteínas son también hidrolizadas por ácidos o bases para producir aminoácidos. Los hidrolizados de proteínas tienen varias estructuras y se pueden producir en grandes cantidades. Sirven como importantes nutrientes e ingredientes alimentarios, además de desempeñar otras funciones, como mejorar el transporte de hierro en la dieta (hidrolizados de proteínas quelantes de hierro). Los efectos positivos de los hidrolizados de proteínas sobre la absorción de minerales, como el hierro u otros metales, se han demostrado in vivo e in vitro. Se cree que la capacidad de quelación de los hidrolizados de proteínas es un factor clave en la promoción de la absorción de hierro. A través de la quelación de metales, los péptidos o aminoácidos aumentan la solubilidad y biodisponibilidad de los metales (Li, Jiang y Huang 2017).

1.2.3 Péptidos Bioactivos

En los últimos años se le ha atribuido a los péptidos bioactivos una serie de aplicaciones terapéuticas, que incluye su uso como agentes antimicrobianos, agentes citomoduladores e inmunomoduladores, aplicaciones dermofarmacéuticas, antioxidantes y actividades para la salud del corazón (Fitzgerald 2014). Por ejemplo se ha reportado que los péptidos derivados de productos lácteos, la soja y los materiales vegetales terrestres tienen efectos positivos contra las enfermedades asociadas con el desarrollo del síndrome metabólico; diabetes, hipertensión, accidente cerebrovascular , obesidad (Gibbs et al. 2004; Benkerroum 2010).

Los péptidos bioactivos son secuencias de aminoácidos de entre 2 y 30 aminoácidos de longitud los cuales producen una respuesta positiva en el consumidor con beneficios reales para la salud in vivo. Como parte de sus funciones, los péptidos desempeñan un papel importante en los sistemas del cuerpo ya que dirigen y coordinan las comunicaciones intracelulares e intercelulares, las funciones celulares. Es importante mencionar que los péptidos tienen mayor biodisponibilidad que las proteínas o los aminoácidos libres, debido a que los péptidos de bajo peso molecular son menos alergénicos que las proteínas nativas. Es por esto que, los hidrolizados de proteínas que contienen péptidos se utilizan a menudo en formulaciones de alimentos infantiles hipoalergénicos (Høst y Halken 2004). Los péptidos bioactivos pueden ser generados a partir de cualquier fuente de proteínas, a través del hidrólisis con enzimas disponibles en el mercado o fermentación con bacterias proteolíticas del ácido láctico. Asimismo, se sabe que estos están inactivos dentro de la secuencia de la proteína original y tienen que ser

liberados antes de activarse. A su vez, los péptidos tienen que ser resistentes y capaces de sobrevivir a las condiciones dentro del tracto gastrointestinal y alcanzar sus objetivos intactos en concentraciones suficientes para poder producir efectos beneficiosos para la salud in vivo (Hayes 2018).

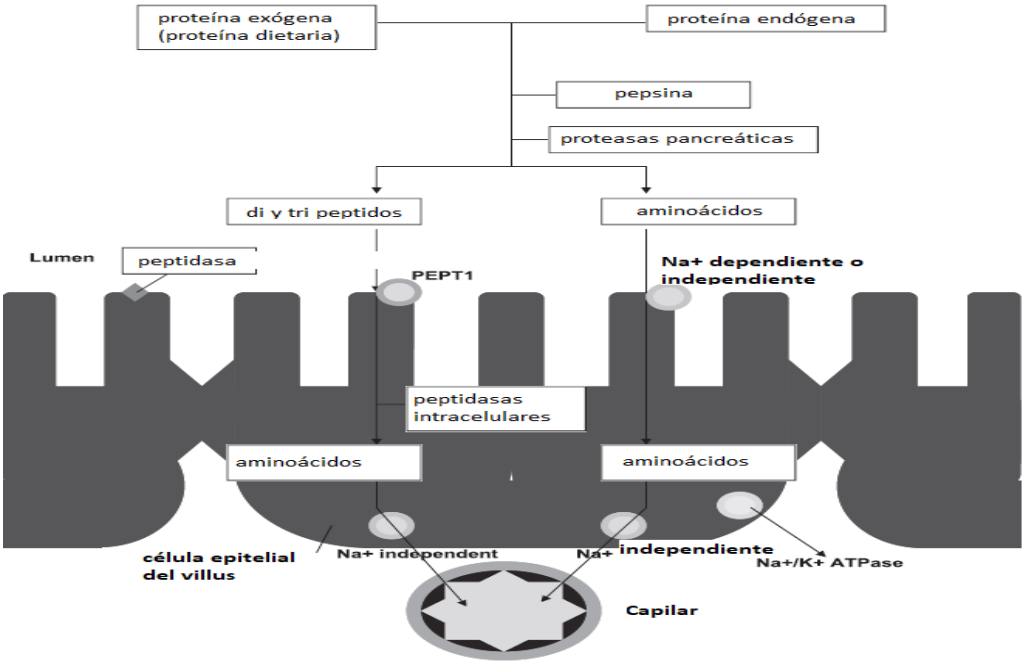
Tabla N° 01. Fuentes de péptidos bioactivos con sus propiedades biológicas relativas

Fuente	Propiedades biológicas
Papa	Antioxidante
Colza	Inhibidor de la Enzima convertidora de angiotensina y antihipertensivo
Lupines	Antiinflamatorio
Caupí	Antiinflamatorio, anticancerígeno, diabetes
Trigo	Antioxidante e inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
Amaranto	Prevención de enfermedades crónicas
Nuez	Inhibidor de la Enzima convertidora de angiotensina
Cacao	Antioxidante e inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina

Fuente: (Montesano et al. 2020)

1.2.4 Digestión de proteínas

Figura 1. Resumen de los pasos básicos de la digestión y absorción de proteínas, con enzimas importantes y transportadores.



Fuente: (Goodman 2010)

Una vez que una proteína es ingerida a través de la boca, se encuentra en el entorno del tracto gastrointestinal (TGI) y se somete a la digestión. Y de acuerdo a la estructura de la proteína y a la composición bacteriana del intestino, las enzimas intestinales y bacterianas son capaces de descomponer la proteína en oligopéptidos, péptidos y aminoácidos (AA) más pequeños para su potencial absorción y uso en los sitios de acción dentro del organismo. El entorno gastrointestinal es complejo y contiene enzimas, proteínas endógenas y péptidos conocidos como proteínas endógenas intestinales, así como ácidos biliares y estomacales. Por este motivo, estudios sobre biodisponibilidad y la bioaccesibilidad de nuevas proteínas es de suma importancia para establecer si una proteína está disponible para su uso como nutriente o, en algunos

casos, si se descompone en péptidos bioactivos, tóxicos o alergénicos y el potencial de provocar efectos positivos o negativos para la salud del consumidor (Hayes 2019).

Entonces, para descomponer las proteínas dietéticas en aminoácidos y péptidos pequeños se necesita una variedad de enzimas proteolíticas, debido a que cada enzima tiene especificidad para diferentes tipos de enlaces peptídicos. Por ejemplo, las endopeptidasas abordan ciertos enlaces internos y producen polipéptidos grandes, en cambio las exopeptidasas separan un aminoácido a la vez del extremo carboxi o amino del polipéptido o proteína. Luego las proteínas o polipéptidos consumidos comienzan a descomponerse en el estómago ante la acción de la proteasa pepsina (Boulpaep et al. 2009). La enzima pepsina es secretada por las células principales de la mucosa gástrica en forma de pepsinógeno, la forma inactiva de la enzima, también conocida como zimógeno. El ácido gástrico (HCl, secretado por las células parietales) altera la conformación del pepsinógeno para que este se convierta en pepsina activa en el estómago. Asimismo, el ácido gástrico también desnaturaliza las proteínas, desdoblándolas parcialmente con el fin de que las proteasas tengan mejor acceso a sus enlaces peptídicos. Es así que, en el estómago la pepsina comienza la hidrolización de proteínas en varios puntos de división en polipéptidos más pequeños (Devlin 2010). A pesar de que la pepsina puede digerir parcialmente entre 10 a 15 % de la proteína dietaria en el estómago, la hidrólisis de la pepsina no es necesaria para sobrevivir. Entonces, a medida que el quimo (alimento parcialmente digerido) ingresa al intestino delgado, las enzimas proteasas pancreáticas son excretadas a través del esfínter hepatopancreático junto con el bicarbonato pancreático, el

cual eleva el pH a un nivel más óptimo para la actividad de las proteasas pancreáticas.

Es importante mencionar que todas las proteasas pancreáticas son secretadas como zimógenos para que no se activen mientras están dentro del páncreas y causen pancreatitis (Boulpaep et al. 2009). Seguidamente, la tripsina cataliza la escisión de los otros zimógenos a sus formas activas y las proteasas pancreáticas (tripsina, quimotripsina, elastasa y carboxipeptidasas) escinden los polipéptidos en oligopéptidos y aminoácidos. Finalmente, los productos de degradación de la digestión de polipéptidos, proteínas con proteasas son un 30 % de aminoácidos libres y un 70 % de oligopéptidos (2 a 8 aminoácidos). Asimismo, existen proteínas de transporte específicas los cuales facilitan la captación de aminoácidos, dipéptidos y tripéptidos a través de la membrana del borde en cepillo de los enterocitos encargados de la absorción (Goodman 2010).

1.2.5 Métodos para la determinación del contenido de proteínas.

Hasta la fecha, diferentes métodos analíticos han sido desarrollados con el fin de medir el contenido de proteínas en los alimentos. No obstante, los resultados de diferentes métodos pueden variar ya que existen una variedad de factores, que incluyen al uso de procedimientos analíticos establecidos en los laboratorios, la falta de infraestructura analítica o los altos costos económicos relacionados con ciertos métodos. Los métodos analíticos tradicionalmente utilizados para determinar el contenido de proteínas incluyen

al análisis de aminoácidos, el método de Kjeldahl y el método de Bradford, con una versión modificada del método de Lowry. El método Kjeldahl se realiza según el método 981.10 de la AOAC International (Latimer Jr 2016).

1.2.6 Bioaccesibilidad

La Bioaccesibilidad es considerada como parte de la biodisponibilidad y se define como la cantidad del compuesto liberado de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal (GI) e ingresa al torrente sanguíneo quedando listo para la absorción (Picciano y Raiten 2001). Entonces en lo referente a los componentes de los alimentos que primero deben liberarse de la matriz alimentaria y digerirse antes de ser biodisponibles. La bioaccesibilidad incluye los siguientes eventos: (a) la transformación de los alimentos durante la digestión en fracciones utilizables para la asimilación; (b) absorción en las células del epitelio intestinal, (c) el metabolismo hepático, intestinal y presistémico (Galanakis 2017).

Asimismo, se debe tomar en cuenta que la bioaccesibilidad depende de la composición del compuesto bioactivo, así como de la matriz alimentaria en la que se haya incorporado. Y es posible que sucedan interacciones sinérgicas o antagónicas que modulen la eficacia de la absorción de los compuestos de interés. De igual manera, es recomendable que antes de la incorporación de algún bioactivo en una matriz alimentaria se conozca la bioactividad del compuesto, es decir los efectos producidos por la exposición a un compuesto específico en la absorción tisular, el metabolismo celular y la respuesta celular fisiológica (Fernández-garcía, Carvajal-lérida y Pérez-gálvez 2009).

Los análisis de bioaccesibilidad pueden llevarse a cabo utilizando técnicas experimentales generales, pues existen técnicas sistemáticas comunes a todo tipo de alimentos que pueden adaptarse a todo tipo de alegaciones sobre contenido nutricional de ciertos productos alimenticios (Fernández-garcía, Carvajal-lérida y Pérez-gálvez 2009).

1.2.7 Biodisponibilidad

Según el área de investigación, la biodisponibilidad puede tener diferentes significados. Por ejemplo, en el área de farmacología, la biodisponibilidad va reflejar el grado y la velocidad con que las moléculas (con propiedades terapéuticas) se absorben en el sitio activo del fármaco y quedan disponibles. En el área de los alimentos, refleja la porción de compuestos ingeridos que llegan a la circulación sistémica y son utilizados (Heaney 2018). Entonces, la biodisponibilidad de nutrientes puede definirse como la fracción del compuesto bioactivo o sustancia de interés que puede ser asimilado y utilizado por el cuerpo, por lo tanto, es capaz de definir la eficiencia del nutriente. Este término va a incluir las reacciones involucradas en la eficacia nutricional de un compuesto bioactivo en el organismo como digestión gastrointestinal, absorción, metabolismo, distribución tisular y respuesta fisiológica (Pateiro et al. 2020).

Entonces cuando distintas matrices son masticadas en la boca y están en contacto con el tracto digestivo, ocurren distintos procesos que son capaces de afectar la biodisponibilidad de los componentes bioactivos. Por

ejemplo, en caso de los antioxidantes (por ejemplo, la quercetina), la grasa puede mejorar su biodisponibilidad (Lesser, Cermak y Wolffram 2006).

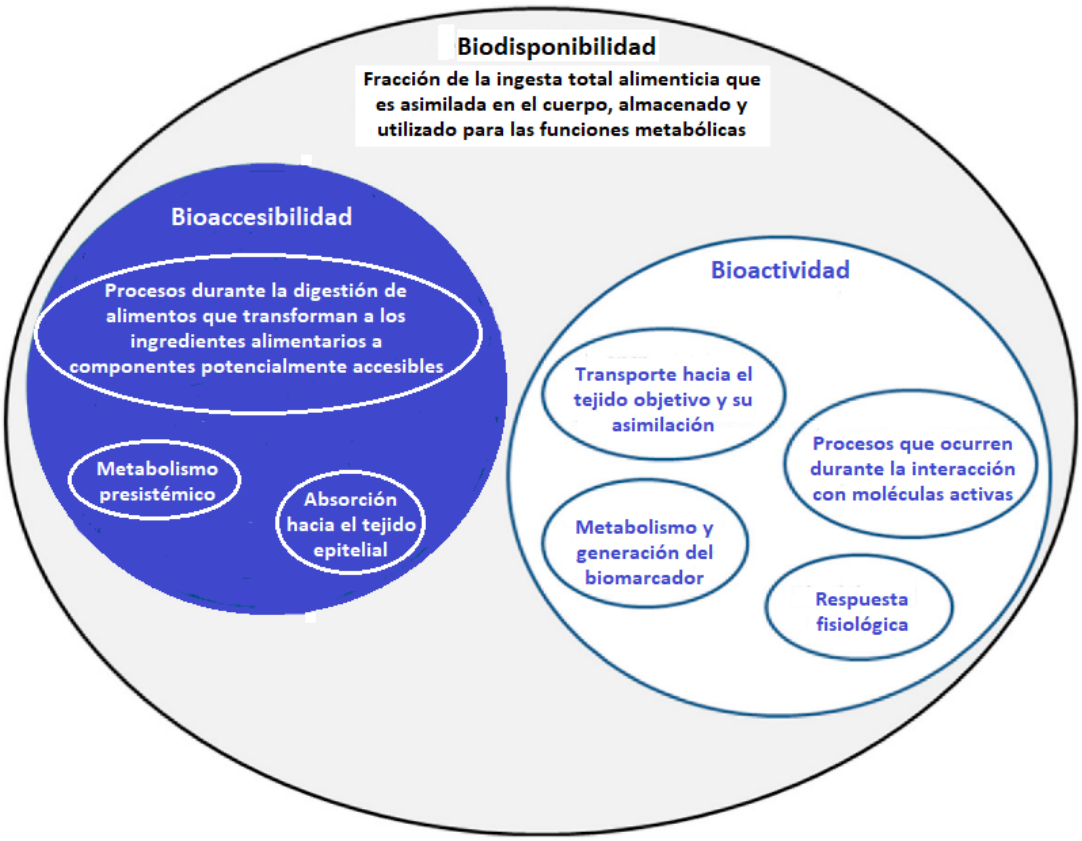
La determinación de la biodisponibilidad es realizado con métodos in vivo, es de suma importancia para las definiciones en el enfoque de alimentos funcionales, pues esta va a evidenciar y respaldar las alegaciones de propiedades saludables o nutricionales (Joseph et al. 2018). Por otro lado, La biodisponibilidad se ve afectada por diferentes factores, como las características del consumidor (p. ej., edad, género, condición y concentración de nutrientes en la sangre), la forma química de los nutrientes, la naturaleza de la matriz alimentaria, etc. Asimismo, la variación en la biodisponibilidad de los componentes alimenticios puede ser debido a la falta de homogeneidad de la matriz alimentaria, diferente procesamiento de los alimentos o la actividad de las enzimas (Galanakis 2021).

1.2.8 Bioactividad

El concepto de bioactividad involucra los eventos relacionados a cómo se transporta el compuesto bioactivo y llega al tejido diana, su interacción con las biomoléculas, el metabolismo o biotransformación que puede sufrir, la generación de un biomarcador y la respuesta fisiológica que este provoca. Asimismo, las mediciones de bioactividad están basadas principalmente en los eventos que se llevan a cabo durante el tiempo en que el componente bioactivo interactúa con las biomoléculas. Dicha interacción produce un metabolito, una señal o una respuesta que se modulará, amplificará hasta que

se produzca la respuesta fisiológica sistémica, es decir, el beneficio para la salud (Minekus 2015).

Figura 2. Biodisponibilidad involucra los conceptos de bioaccesibilidad y bioactividad



Fuente: (Galanakis 2021)

1.2.9 Importancia de la Bioaccesibilidad en la Nutrición.

A pesar de que los alimentos en su estado natural son considerados como alimentos funcionales, es común la extracción de sus compuestos bioactivos ya que de esta manera estos se hacen más puros y de mayor concentración para luego incorporarlos en una matriz alimentaria más accesible y consumible. No obstante, el diseño y aplicación de tecnología al desarrollo de

alimentos debería estar basado en el concepto de bioaccesibilidad y su medición como herramienta

para complementar su diseño y tecnología para garantizar su efectividad. Se pueden identificar 2 situaciones en las que se debería emplear el concepto de bioaccesibilidad: el diseño de alimentos, la aplicación tecnológica. Los factores críticos para el primero incluyen a la dosis y la fuente de la matriz alimentaria, mientras que el segundo incluye factores críticos relacionados con los parámetros de procesamiento (Fernández-García, Carvajal-Lérida y Pérez-Gálvez 2009).

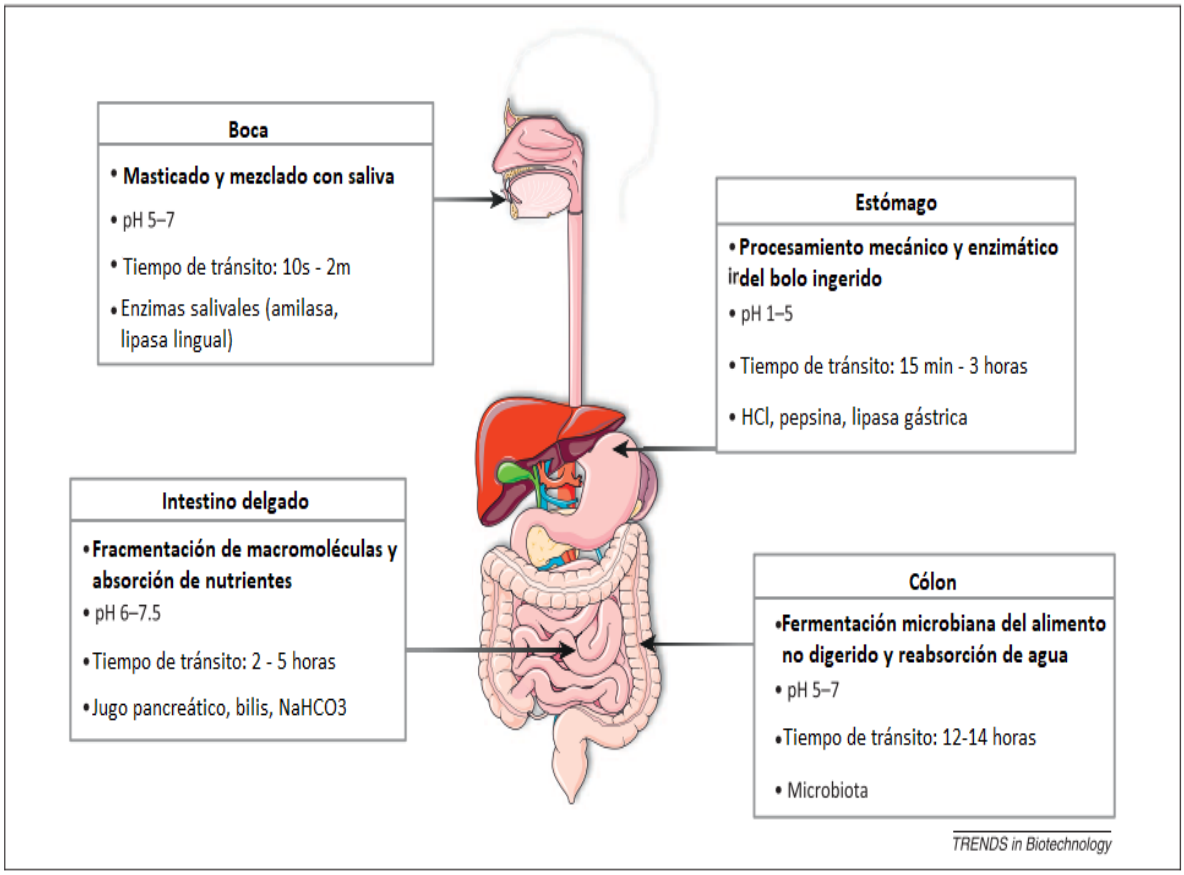
Actualmente existen diferentes bases de datos de composición de alimentos o herramientas de cálculo de valores nutricionales de componentes nutricionales de alimentos crudos y cocidos. Gracias a esto, los nutricionistas o dietistas son capaces de calcular los valores de ingesta nutricional diaria utilizando estos datos. Por ello, es fundamental calcular la ingesta nutricional diaria valores precisamente para orientar adecuadamente a los individuos (Grande y Vincent 2020). En este contexto, la determinación de bioaccesibilidad juega un papel muy importante debido a que nos permite obtener datos sobre la eficiencia nutricional de distintos alimentos.

1.2.10 Digestión y absorción

El tracto gastrointestinal es la interfaz más grande entre nuestro cuerpo y el medio ambiente, cuando funciona correctamente, es capaz de absorber nutrientes al tiempo que brinda protección contra componentes dañinos. De acuerdo con la bibliografía, el tracto gastrointestinal se extiende desde la boca

hasta el ano y puede dividirse en los tractos superior e inferior. El tracto superior inicia en la cavidad oral, el esófago, el estómago, el duodeno, el yeyuno y el íleon. Los tres últimos forman el intestino delgado. El tracto inferior comprende el intestino grueso que consiste en el ciego, el colon, el recto y el canal anal.

Figura 3. Regiones específicas del tracto gastrointestinal humano



Fuente:(Guerra et al. 2012)

Cada parte del tracto gastrointestinal tiene su propia función en el proceso metabólico de los alimentos. La boca es responsable de la acción mecánica y la mezcla de los alimentos con la saliva, la cual contiene una variedad compleja de componentes, incluida la amilasa, una enzima que cataliza la hidrólisis del almidón en azúcares. Después de la formación de un bolo alimenticio en la boca, la comida se transporta a través del esófago hasta

el estómago, se mezcla con enzimas como la proteasa y la lipasa, las cuales descomponen las proteínas y los lípidos, respectivamente. Asimismo, el estómago también segrega ácido lo cual disminuye el pH y ayuda a la hidrólisis; así el bolo alimenticio se descompone en quimo y se transporta gradualmente al intestino delgado. Luego, en el duodeno, el pH bajo del estómago es neutralizado por el bicarbonato y los jugos digestivos del páncreas (conteniendo enzimas digestivas como la tripsina y la quimotripsina) y la vesícula biliar (ácidos biliares) (Whitney y Rolfes 2011; Wickham, Faulks y Mills 2009). La etapa final de 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 estriado (Shimizu 2004). Estas enzimas, que incluyen maltasa, sacarosa-isomaltasa, lactasa y peptidasas, son proteínas integrales de membrana que se encuentran presentes en los enterocitos. Los nutrientes liberados son absorbidos principalmente por los enterocitos del yeyuno y, en menor medida, en el íleon (Whitney y Rolfes 2011).

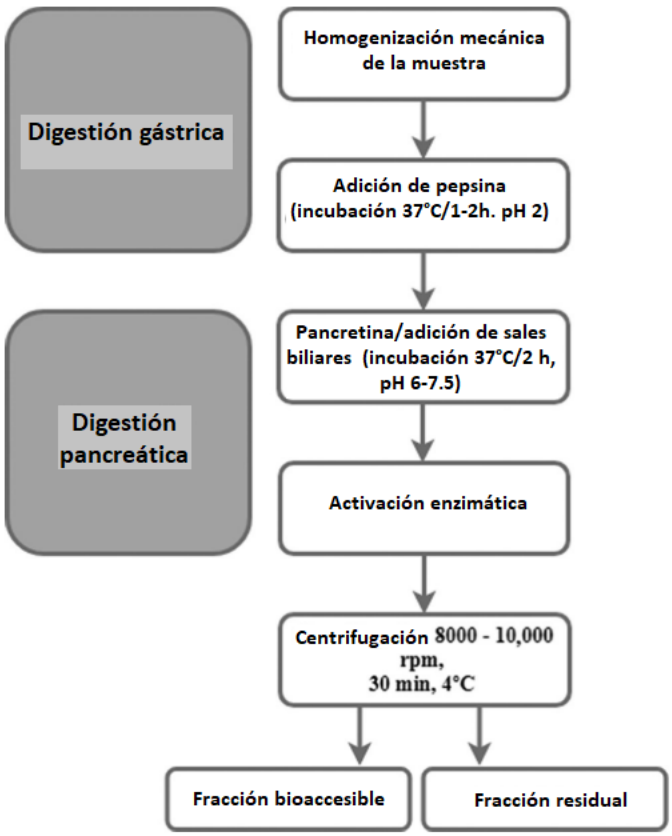
Además, aunque se sabe que el tracto gastrointestinal contiene una gran población microbiana, la concentración de esta población es mayor en el intestino grueso. Muchos de estos microorganismos contribuyen a la digestión de los componentes de los alimentos, incluidos los prebióticos como los polisacáridos complejos que no pueden ser digeridos por enzimas humanas (Venema 2015). 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. Asimismo, 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 sangre (Whitney y Rolfes 2011).

1.2.11 Digestión *in vitro*

Los ensayos de digestión in vitro son capaces de simular las condiciones fisiológicas de la digestión in vivo catalogándose como herramientas útiles para estudiar y comprender los cambios, las interacciones, así como la bioaccesibilidad de nutrientes, fármacos y compuestos no nutritivos. Debido a esto, esta técnica es ampliamente utilizada en diferentes áreas como la nutrición, la farmacología y la química de los alimentos. Y en los últimos 40 años más de 2500 artículos de investigación han sido publicados utilizando ensayos de digestión in vitro con el fin de dilucidar múltiples aspectos como la digestibilidad de las proteínas, las interacciones entre nutrientes o la viabilidad de los microorganismos encapsulados (Lucas-González et al. 2018).

Figura 4. Esquema de un proceso de digestión in vitro



Fuente: (Santos, Manuel y Saraiva 2019)

1.2.12 Modelos de determinación de bioaccesibilidad

La bioaccesibilidad está determinada por metodologías in vitro, que estiman la cantidad de compuestos disponibles para la absorción intestinal (Carbonell-Capella et al. 2014). La evaluación de la bioaccesibilidad se puede determinar por diferentes métodos in vitro que incluyen digestión gastrointestinal simulada, cortes intestinales, vesículas en cepillo y membrana baso lateral, enterocitos y líneas celulares intestinales alteradas, predominantemente las células Caco-2 humanas (Cilla et al. 2012). Y, en los últimos años se han desarrollado varios métodos in vitro para imitar la

digestión gastrointestinal humana que emplean enzimas disponibles comercialmente y diferentes estructuras físicas que imitan el peristaltismo y muestran la bioaccesibilidad de la proteína o ingrediente alimentario con cultivo celular. El cultivo celular generalmente emplea líneas de células epiteliales humanas como Cáncer coli-2 (Caco-2) que, si se cultivan correctamente, son un modelo útil de la barrera epitelial intestinal. Siendo que la combinación de estos métodos proporciona información que puede ayudar a interpretar los resultados (Verhoeckx et al. 2015).

Hoy en día existen varios métodos disponibles para la determinación de proteínas en el laboratorio, todos con ventajas y desventajas. No obstante, esto dificulta la comparación directa entre los estudios de laboratorio y, por lo tanto, la elección del método analítico debería estar justificada, dependiendo del propósito del estudio. Además, existen varios métodos disponibles para determinar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de las proteínas y sus productos de descomposición, de hecho, hay varias bioactividades potenciales que se extienden más allá de la nutrición humana básica asociada con péptidos generados a partir de proteínas en el tracto gastrointestinal o mediante hidrólisis y fermentación (Tenore et al. 2013).

Además, los métodos de evaluación in vitro e in vivo utilizados para determinar la calidad de las proteínas pueden variar, por ello los resultados obtenidos de los estudios deben interpretarse con cuidado. La FAO emitió recomendaciones con respecto a la evaluación de la calidad de la proteína y ahora recomienda el método DIAAS. Sin embargo, esto no está disponible en todos los laboratorios o entornos industriales porque es un método costoso que implica el uso de animales. Asimismo, los modelos de transcitosis in vitro

pueden proporcionar estimaciones de la biodisponibilidad y la calidad potencial de las proteínas, tienen la ventaja que no requiere el uso de animales y es relativamente económico de realizar, además estos pueden combinarse con otros métodos de digestión de proteínas como el INFOGEST y el modelo gastrointestinal TNO (Hayes 2019).

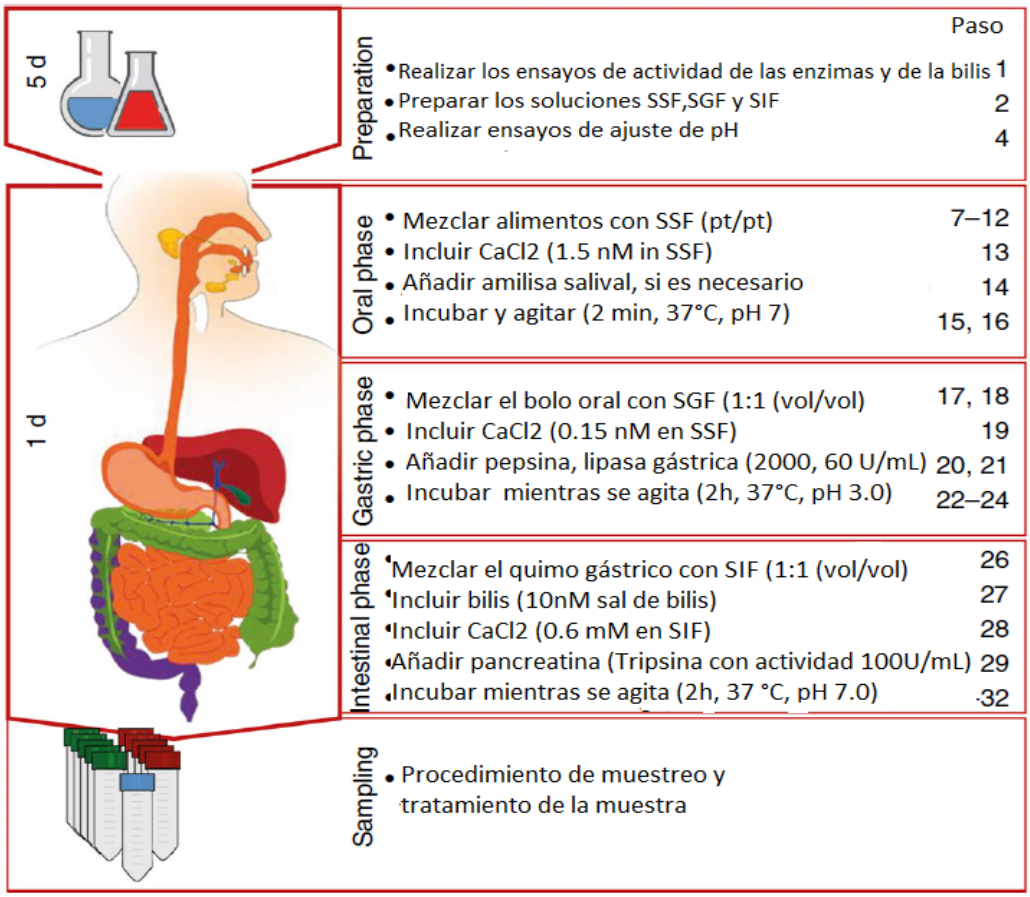
1.2.12.1 Modelo INFOGEST

El método de simulación *in vitro* que se utiliza para determinar la bioaccesibilidad de los nutrientes presentes en los alimentos, 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 (Minekus et al. 2014; Brodkorb et al. 2019). El método está diseñado para usarse con equipo de laboratorio estándar el cual requiere una experiencia mínima para implementarlo. Es un método de digestión estática el cual utiliza proporciones constantes de alimento con fluidos digestivos y un pH constante para cada paso 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.

Figura5. Diagrama del método Infogest



Fuente: (Brodkorb et al. 2019)

1.2.12.2 Modelo gastrointestinal TNO (TIM)

El modelo gastrointestinal (TIM) es un modelo multicompartimental, el cual fue diseñado para simular de manera realista las condiciones en la luz del TGI, y hasta la fecha se ha utilizado para estudiar con éxito el comportamiento de los alimentos en el tracto gastrointestinal. El TIM emplea la simulación por computadora de las condiciones digestivas en la luz del intestino durante el tránsito y la digestión de una comida in vivo. En tanto, los parámetros controlados incluyen el tránsito gástrico y del intestino delgado, las tasas de flujo, la composición de los fluidos digestivos, los valores de pH y la eliminación de agua y metabolitos. Asimismo, se han desarrollado modelos de digestión en adultos jóvenes y ancianos, así como en perros, cerdos y terneros antes del rumen. Gracias a esto, los resultados de TIM generalmente permiten al usuario descifrar la disponibilidad de un compuesto para la absorción a través de la pared intestinal: la bioaccesibilidad (Minekus 2015).

1.2.13 Estudios sobre la influencia de los métodos de cocción en la bioaccesibilidad de las proteínas

Cocinar es la forma de convertir los alimentos crudos en alimentos comestibles, sin embargo, el grado de cocción va a afectar la palatabilidad y la aceptabilidad del consumidor y estos difieren con los cortes primarios y los métodos de cocción. En el caso de la carne, se cocina antes de su consumo con el fin de aumentar su palatabilidad, digestibilidad, seguridad. El método de cocción varía en cada país, las personas en los países occidentales prefieren asar a la parrilla con un punto de cocción medio, pero los asiáticos

eligen guisar y saltear con un punto bien cocinado. Sin embargo, el asar la carne a la parrilla ha asociado con la producción de heterocíclicos, aminas aromáticas y el riesgo de cáncer colorrectal. No obstante, la carne desempeña un papel fundamental en el suministro de proteínas, vitaminas y minerales de alta calidad. Particularmente, se debe prestar más atención a cómo afecta la cocción la biodisponibilidad de los nutrientes en la carne, especialmente las proteínas (Wen et al. 2015)

Los métodos de cocción tienen efectos significativos en la digestibilidad de los nutrientes y la bioaccesibilidad de los alimentos, según lo informado por varios estudios recientes. En estudio de Yin et al. (2020), reportaron que la carne cocida al vacío mostró mejor digestibilidad que la cocinada hervida y asada. Entonces el procesamiento térmico no solo contribuye a los sabores y texturas, sino que también tiene efectos sobre los valores nutricionales de la carne. En otro estudio reciente encontraron que la digestibilidad in vitro y la bioaccesibilidad mineral de las ostras (Crassostrea gigas) se redujeron después de haber sido cocidos (al vapor, hornear y freír). Las ostras al vapor mostraron la mayor digestibilidad y mineral bioaccesibilidad entre todos los métodos de cocción. Además, la bioaccesibilidad de Zn y Fe tuvo una correlación positiva con la digestibilidad. En base a estos resultados, la cocción al vapor podría ser un método de cocción recomendado en nuestra dieta diaria para preservar la digestibilidad y bioaccesibilidad mineral de las ostras (Jiang et al. 2021).

Por su parte, Manditsera et al. (2019), investigaron los efectos del procesamiento doméstico sobre la digestibilidad de proteínas y bioaccesibilidad mineral de dos especies de insectos silvestres, donde las

muestras de ambos insectos se sometieron a ebullición, asado o combinados de ebullición y asado. Los ensayos fueron realizados in vitro de acuerdo con el protocolo INFOGEST. Y se encontró que la ebullición de ambos insectos resultó en la pérdida de proteína a medida que se filtraba al agua hirviendo. Los insectos crudos mostraron mayor digestibilidad de proteínas in vitro que los insectos hervidos y asados. La disminución de la digestibilidad de las proteínas fue de aproximadamente del 25 % para los escarabajos cocidos dos veces y para los escarabajos hervidos y asados. Para ambos tipos de insectos, la ebullición provocó una pérdida no significativa de hierro y zinc. Por otro lado, la ebullición resultó en una disminución de alrededor del 50% en la bioaccesibilidad del hierro y el zinc en ambas especies, mientras que el asado no presentó efectos en la bioaccesibilidad. En este sentido, la digestibilidad reducida de las proteínas y la accesibilidad de los minerales sometidos a procesamiento pueden ser debido a la modificación de proteínas e interacciones de los minerales con otros componentes de los alimentos, como la quitina y los fitoquímicos.

Por otro lado, las proteínas durante el procesamiento térmico, como asar, hornear, freír, y secado también pueden interactuar con otros componentes presentes en los alimentos. La reacción de Maillard, conocida también como pardeamiento no enzimático, es la reacción entre los grupos amino de una proteína o aminoácido y un compuesto carbonilo comúnmente un azúcar reductor como la glucosa al calentar. Las reacciones de Maillard también son influenciadas por la temperatura, el pH, la actividad del agua y los iones metálicos. (Jaeger, Janositz y Knorr 2010).

1.3. Definición de Términos Básicos

1.3.1 Biodisponibilidad

El concepto de biodisponibilidad se define como la fracción de un bioactivo compuesto que es asimilado y utilizado por el cuerpo, y por lo tanto determina su eficiencia nutritiva. La biodisponibilidad incluye todas las reacciones que definen la efectividad nutricional de un compuesto bioactivo en el organismo (digestión gastrointestinal, absorción, metabolismo, distribución tisular y respuesta fisiológica) (Mcclements y Xiao 2014).

1.3.2 Bioaccesibilidad

Cantidad del compuesto bioactivo o nutriente que se libera de la matriz alimentaria en el tracto gastrointestinal (GI), ingresa al torrente sanguíneo y queda listo para la absorción (Heaney 2018).

1.3.3 Bioactividad

La bioactividad refleja lo que sucede después de la asimilación a través del epitelio (Carbonell-Capella et al. 2014). Es un efecto objetivo sobre la exposición a una sustancia. Incluye el transporte de componentes bioactivos hasta un tejido específico, generando biomarcadores y respuestas fisiológicas correspondientes (p. ej., antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, etc.), características de biotransformación, interacción con biomoléculas y metabolismo.

1.3.4 Proteína

Las proteínas son sustancias que contienen nitrógeno que están formadas por aminoácidos. Funcionan como el principal componente estructural del músculo y otros tejidos en el cuerpo. Además, forman parte de las hormonas, enzimas y hemoglobina. (Hoffman y Falvo 2004).

1.3.5 Solubilidad de proteínas

La solubilidad de las proteínas es determinada por varias interacciones, incluyendo proteína-proteína, proteína-agua, proteína-ion y las interacciones ion-agua y la solubilidad de las proteínas pueden varían desde una insolubilidad casi completa hasta varios cientos de miligramos por mililitro. Varios factores determinan la solubilidad de las proteínas incluyen fuerza iónica, composición de la solución, pH y temperatura

Capitulo II: CONCLUSIONES

Las proteínas son macronutrientes que juegan un papel fundamental en el organismo, ya que son parte de la dieta de millones de personas en el mundo. Sin embargo, simplemente conocer el contenido de proteínas de cierto alimento no es suficiente. Ante esto la bioaccesibilidad de proteínas es uno de los puntos clave para la determinación de la calidad proteica. Pues esta puede estar afectada por otros factores como interacción con otros nutrientes, esto es de suma importancia, pues para que un compuesto sea biodisponible primero tiene que ser bioaccesible. Por lo tanto, la identificación de factores que puedan impedir que dichos nutrientes tengan baja bioaccesibilidad, es vital, pues con estos datos se podrían buscar alternativas para evitar estos problemas. Para la determinación de la bioaccesibilidad, los métodos in vitro representan la mejor alternativa, pues son relativamente replicables y accesibles económicamente, además solo emplea equipos básicos de laboratorios.

Capitulo III: RECOMENDACIONES

Si bien es cierto, hasta ahora ha habido distintos estudios analizando la bioaccesibilidad de las fuentes de proteínas más comunes tanto de origen animal y vegetal. Sin embargo, en nuestro país, los estudios de bioaccesibilidad de proteínas son limitados, y esto es algo que se necesita abordar. Pues contamos con una diversidad de alimentos que todos los días son consumidos por todos los peruanos, además los métodos de cocción varían en cada país. Por lo tanto, esto puede hacer que resultados obtenidos en otros países no se ajusten a nuestra realidad, y puede que los nutrientes contenidos en los alimentos que las personas consumen no están siendo liberados en el cuerpo para su absorción, es decir, no estén siendo bioaccesibles. Es por esto, que se anima a la comunidad científica peruana a seguir realizando más investigaciones en el área.

Se recomienda utilizar el método de digestión in vitro INFOGEST para determinar la Bioaccesibilidad de diferentes alimentos por ser el método más accesible y económico, y así mejorar el alimento con compuestos bioactivos cuando este lo requiera.

Capitulo IV: FUENTES DE INFORMACIÓN

ASPEVIK, T., OTERHALS, Å., RØNNING, S.B., ALTINTZOGLOU, T., WUBSHET, S.G., GILDBERG, A., AFSETH, N.K., WHITAKER, R.D. y LINDBERG, D., 2017. Valorization of Proteins from Co- and By-Products from the Fish and Meat Industry. *Topics in Current Chemistry*, vol. 375, no. 3. ISSN 03401022. DOI 10.1007/s41061-017-0143-6.

BARBA, F.J., MARIUTTI, L.R.B., BRAGAGNOLO, N., MERCADANTE, A.Z., BARBOSA-CÁNOVAS, G. V y ORLIEN, V., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, vol. 67, pp. 195-206. DOI 10.1016/j.tifs.2017.07.006.This.

BENKERROUM, N., 2010. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: A survey and prospects for application in the food industry. A review. *International Journal of Dairy Technology*, vol. 63, no. 3, pp. 320-338. ISSN 1364727X. DOI 10.1111/j.1471-0307.2010.00584.x.

BOULPAEP, E., BORON, W., CAPLAN, M., CANTLEY, L., IGARASHI, P., ARONSON, P. y MOCZYDLOWSKI, E., 2009. Medical Physiology a Cellular and Molecular Approach. [en línea], vol. 48, pp. 27. [Consulta: 15 abril 2022]. Disponible en: https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/3060690.

BRODKORB, A., EGGER, L., ALMINGER, M., ALVITO, P., ASSUNÇÃO, R., BALLANCE, S., BOHN, T., BOURLIEU-LACANAL, C., BOUTROU, R., CARRIÈRE, F., CLEMENTE, A., CORREDIG, M., DUPONT, D.,

DUFOUR, C., EDWARDS, C., GOLDING, M., KARAKAYA, S., KIRKHUS, B., LE FEUNTEUN, S., LESMES, U., MACIERZANKA, A., MACKIE, A.R., MARTINS, C., MARZE, S., MCCLEMENTS, D.J., MÉNARD, O., MINEKUS, M., PORTMANN, R., SANTOS, C.N., SOUCHON, I., SINGH, R.P., VEGARUD, G.E., WICKHAM, M.S.J., WEITSCHIES, W. y RECIO, I., 2019. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, vol. 14, no. 4, pp. 991-1014. ISSN 17502799. DOI 10.1038/s41596-018-0119-1.

CABRERA, M.C., RAMOS, A., SAADOUN, A. y BRITO, G., 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, vol. 84, no. 3, pp. 518-528. ISSN 03091740. DOI 10.1016/j.meatsci.2009.10.007.

CARBONELL-CAPELLA, J.M., BUNIOWSKA, M., BARBA, F.J., ESTEVE, M. y FRÍGOLA, A., 2014. Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables : A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 13, pp. 155-171. DOI 10.1111/1541-4337.12049.

CHATTERJEE, S., SARKAR, A. y BOLAND, M.J., 2014. The World Supply of Food and the Role of Dairy Protein. *Milk Proteins*, pp. 1-18. DOI 10.1016/B978-0-12-405171-3.00001-5.

CHEN, L., YOKOYAMA, W., LIANG, R. y ZHONG, F., 2020. Enzymatic degradation and bioaccessibility of protein encapsulated β-carotene nano-emulsions during in vitro gastro-intestinal digestion. *Food*

Hydrocolloids, vol. 100, no. June 2019. ISSN 0268005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2019.105177.

CILLA, A., ALEGRÍA, A., DE ANCOS, B., SÁNCHEZ-MORENO, C., CANO, M.P., PLAZA, L., CLEMENTE, G., LAGARDA, M. y BARBERÁ, R., 2012. Bioaccessibility of Tocopherols, Carotenoids, and Ascorbic Acid from Milk- and Soy-Based Fruit Beverages: Influence of Food Matrix and Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 60, pp. 7282-7290.

COLLA, G., ROUPHAEL, Y., CANAGUIER, R., SVECOVA, E. y CARDARELLI, M., 2014. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, no. SEP, pp. 1-7. ISSN 1664462X. DOI 10.3389/fpls.2014.00448.

COLOSIMO, R., WARREN, F.J., FINNIGAN, T.J.A. y WILDE, P.J., 2020. Protein bioaccessibility from mycoprotein hyphal structure: In vitro investigation of underlying mechanisms. *Food Chemistry*, vol. 330, no. June. ISSN 18737072. DOI 10.1016/j.foodchem.2020.127252.

DE JONGH, H.H.J. y BROERSEN, K., 2012. Advances in chemical engineering. . S.l.: s.n., ISBN 9789535103929.

DEVLIN, T.M., 2010. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. *John Wiley & Sons* [en línea]. S.l.: s.n., [Consulta: 15 abril 2022]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=7z1NEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR27&dq=Devlin+TM.+Textbook+of+Biochemistry+with+Clinical+Correlations.+Hobo-+ken,+NJ:+Wiley-

Liss,+2006&ots=VKf0M7F9e8&sig=JQ0YaaMYK5ax6Qglmwi3aKUuakA#v=onepage&q&f=false.

FAO, 2010. *FAO Fisheries and Aquaculture Report No . 978 Report of the JOINT FAO / WHO EXPERT CONSULTATION ON THE RISKS AND BENEFITS OF FISH CONSUMPTION*. S.l.: s.n. ISBN 9789251069998.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I. y PÉREZ-GÁLVEZ, A., 2009. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, vol. 29, pp. 751-760. DOI 10.1016/j.nutres.2009.09.016.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E., CARVAJAL-LÉRIDA, I. y PÉREZ-GÁLVEZ, A., 2009. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition Research*, vol. 29, pp. 751-760. DOI 10.1016/j.nutres.2009.09.016.

FITZGERALD, C., 2014. *Development of bioactive bread enriched with a seaweed peptide fraction with potential heart-health effects* [en línea]. S.l.: s.n. Disponible en: https://www.proquest.com/dissertations-theses/development-bioactive-bread-enriched-with-seaweed/docview/1782843139/se-2?accountid=12063%0Ahttp://fg2fy8yh7d.search.serialssolutions.com/directLink?&atitle=Development+of+bioactive+bread+enriched+with+a+seawe.

GALANAKIS, C.M., 2017. Bioavailability, Bioaccesibility, and Bioactivity. *Nutraceutical and Functional Food Components*. S.l.: s.n., pp. 1-14.

GALANAKIS, C.M., 2021. Functionality of Food Components and Emerging

Technologies. *Foods*, vol. 10, no. 128, pp. 1-26.

GARCÍA LUNA, P.P. y LÓPEZ GALLARDO, G., 2007. Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutricion Hospitalaria*, vol. 22, no. SUPPL. 2, pp. 5-13. ISSN 02121611.

GIBBS, B.F., ZOUGMAN, A., MASSE, R. y MULLIGAN, C., 2004. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food Research International*, vol. 37, no. 2, pp. 123-131. ISSN 09639969. DOI 10.1016/j.foodres.2003.09.010.

GOODMAN, B.E., 2010. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education*, vol. 34, no. 2, pp. 44-53. ISSN 15221229. DOI 10.1152/advan.00094.2009.

GRANDE, F. y VINCENT, A., 2020. The Importance of Food Composition Data for Estimating Micronutrient Intake: What Do We Know Now and into the Future? *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, vol. 93, pp. 39-49. ISSN 16642155. DOI 10.1159/000503355.

GUERRA, A., ETIENNE-MESMIN, L., LIVRELLI, V., DENIS, S., BLANQUET-DIOT, S. y ALRIC, M., 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology*, vol. 30, no. 11, pp. 591-600. ISSN 01677799. DOI 10.1016/j.tibtech.2012.08.001.

HAYES, M., 2018. Food proteins and bioactive peptides: New and novel sources, characterisation strategies and applications. *Foods*, vol. 7, no. 3, pp. 11-13. ISSN 23048158. DOI 10.3390/foods7030038.

HAYES, M., 2019. Bioavailability, Bioaccessibility, and Nutritional Measurement of Proteins. *Novel Proteins for Food, Pharmaceuticals, and Agriculture: Sources, Applications, and Advances*. S.l.: s.n., pp. 183-195.

HEANEY, R.P., 2018. Factors Influencing the Measurement of Bioavailability, Taking Calcium as a Model. *American Society for Nutritional Sciences*, no. February, pp. 1344-1348.

HOFFMAN, J.R. y FALVO, M.J., 2004. PROTEIN – WHICH IS BEST? *Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 3, no. 2004, pp. 118-130.

HOSOMI, R., YOSHIDA, M. y FUKUNAGA, K., 2012. Seafood consumption and components for health. *Global journal of health science*, vol. 4, no. 3, pp. 72-86. ISSN 19169736. DOI 10.5539/gjhs.v4n3p72.

HØST, A. y HALKEN, S., 2004. Hypoallergenic formulas - When, to whom and how long: After more than 15 years we know the right indication! *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology, Supplement*, vol. 59, no. 78, pp. 45-52. ISSN 01081675. DOI 10.1111/j.1398-9995.2004.00574.x.

JAEGER, H., JANOSITZ, A. y KNORR, D., 2010. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential fo emerging technologies. *Pathologie Biologie*, vol. 58, no. 3, pp. 207-213. ISSN 03698114. DOI 10.1016/j.patbio.2009.09.016.

JOSEPH, M., ALAVI, S., JOHNSON, Q., WALTON, S. y WEBB, P., 2018. Food Matrices : A Review of Critical Factors Impacting Nutritional Bioavailability A Report from the Food Aid Quality Review. , pp. 9-14.

LATIMER JR, G.W., 2016. Official methods of analysis of AOAC

INTERNATIONAL 20th edition, Appendix D, Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. , DOI 10.1016/b978-0-12-404568-2.00018-2.

LESSER, S., CERMAK, R. y WOLFFRAM, S., 2006. The fatty acid pattern of dietary fat influences the oral bioavailability of the flavonol quercetin in pigs. *British Journal of Nutrition*, vol. 96, no. 6, pp. 1047-1052. ISSN 00071145. DOI 10.1017/BJN20061953.

LI, Y., JIANG, H. y HUANG, G., 2017. Protein hydrolysates as promoters of non-haem iron absorption. *Nutrients*, vol. 9, no. 6, pp. 1-18. ISSN 20726643. DOI 10.3390/nu9060609.

LIMA, K., DE QUADROS, C., DA ROCHA, M., DE LACERDA, J., JULIANO, M., DIAS, M., MENDES, M. y PRENTICE, C., 2019. Bioactivity and bioaccessibility of protein hydrolyzates from industrial byproducts of Stripped weakfish (Cynoscion guatucupa). *LWT - Food Science and Technology*, vol. 111, no. May, pp. 408-413.

LÓPEZ-PEDROUSO, M., LORENZO, J.M., ZAPATA, C. y FRANCO, D., 2019. Proteins and amino acids. *Innovative Thermal and Non-Thermal Processing*. S.l.: s.n., pp. 139-169. ISBN 9780128141748.

LUCAS-GONZÁLEZ, R., VIUDA-MARTOS, M., PÉREZ-ALVAREZ, J.A. y FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., 2018. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International* [en línea], vol. 107, no. 2017, pp. 423-436. ISSN 18737145. DOI 10.1016/j.foodres.2018.02.055. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.055.

LUQUE, V., 2011. Estructura Y Propiedades de las Proteínas. *Bioquímica Médica* [en línea], vol. 5, no. 3, pp. 1-162. Disponible en: http://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf.

MARCOLINI, E., BABINI, E., BORDONI, A., DI NUNZIO, M., LAGHI, L., MACZÓ, A., PICONE, G., SZERDAHELYI, E., VALLI, V. y CAPOZZI, F., 2015. Bioaccessibility of the Bioactive Peptide Carnosine during in Vitro Digestion of Cured Beef Meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 63, no. 20, pp. 4973-4978. ISSN 15205118. DOI 10.1021/acs.jafc.5b01157.

MCCLEMENTS, D.J. y XIAO, H., 2014. Excipient foods: designing food matrices that improve the oral bioavailability of pharmaceuticals and nutraceuticals. , vol. 5, no. 7. DOI 10.1039/c4fo00100a.

MENEZES, E.A., OLIVEIRA, A.F., FRANÇA, C.J., SOUZA, G.B., NOGUEIRA, R.A., FEDERAL, U., CARLOS, D.S. y LUIZ, R.W., 2018. Bioaccessibility of Ca, Cu, Fe, Mg, Zn, and crude protein in beef, pork and chicken after thermal processing. *Food Chemistry* [en línea], vol. 240, pp. 75-83. ISSN 0308-8146. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.090.

MINEKUS, M., 2015. The TNO Gastro-Intestinal Model (TIM). *The Impact of Food Bioactives on Health: In Vitro and Ex Vivo Models*. S.l.: s.n., ISBN 0121828190.

MINEKUS, M., ALMINGER, M., ALVITO, P., BALLANCE, S., BOHN, T., BOURLIEU, C., CARRIÈRE, F., BOUTROU, R., CORREDIG, M., DUPONT, D., DUFOUR, C., EGGER, L., GOLDING, M., KARAKAYA, S.,

KIRKHUS, B., LE FEUNTEUN, S., LESMES, U., MACIERZANKA, A., MACKIE, A., MARZE, S., MCCLEMENTS, D.J., MÉNARD, O., RECIO, I., SANTOS, C.N., SINGH, R.P., VEGARUD, G.E., WICKHAM, M.S.J., WEITSCHIES, W. y BRODKORB, A., 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food-an international consensus. *Food and Function*, vol. 5, no. 6, pp. 1113-1124. ISSN 2042650X. DOI 10.1039/c3fo60702j.

MONTESANO, D., GALLO, M., BLASI, F. y COSSIGNANI, L., 2020. Biopeptides from vegetable proteins: new scientific evidences. *Current Opinion in Food Science* [en línea], vol. 31, pp. 31-37. ISSN 22147993. DOI 10.1016/j.cofs.2019.10.008. Disponible en: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.008.

O'CONNOR, C., ADAMS, J. y FAIRMAN, J., 2011. Essentials of Cell Biology.

PATEIRO, M., MUNEKATA, P.E.S., TSATSANIS, C., DOMÍNGUEZ, R., ZHANG, W., BARBA, F.J. y LORENZO, J.M., 2020. Evaluation of the protein and bioactive compound bioaccessibility/bioavailability and cytotoxicity of the extracts obtained from aquaculture and fisheries by-products. *Advances in Food and Nutrition Research*, vol. 92, pp. 97-125. ISSN 10434526. DOI 10.1016/bs.afnr.2019.12.002.

PICCIANO, M.F. y RAITEN, D.J., 2001. Bioavailability of nutrients and other bioactive components from dietary supplements. *Journal of Nutrition*, vol. 131, no. 4 SUPPL., pp. 1344-1348. ISSN 00223166.

RIOVANTO, R., DE MARCHI, M., CASSANDRO, M. y PENASA, M., 2012. Use of near infrared transmittance spectroscopy to predict fatty acid

composition of chicken meat. *Food Chemistry*, vol. 134, no. 4, pp. 2459-2464. ISSN 03088146. DOI 10.1016/j.foodchem.2012.04.038.

ROSSI, M., NYS, Y., ANTON, M., BAIN, M., DE KETELAERE, B., DE REU, K., DUNN, I., GAUTRON, J., HAMMERSHOJ, M., HIDALGO, A., MELUZZI, A., MERTENS, K., NAU, F. y SIRRI, F., 2013. Developments in understanding and assessment of egg and egg product quality over the last century. *World's Poultry Science Journal*, vol. 69, no. 2, pp. 414-429. ISSN 00439339. DOI 10.1017/S0043933913000408.

RUTHERFURD, S.M., 2010. Methodology for Determining Degree of Hydrolysis of Proteins in Hydrolysates: A Review. *Journal of AOAC International*, vol. 93, no. 5, pp. 1515-1522.

SALGADO, P., MONTAGNE, L., FREIRE, J.P.B., FERREIRA, R.B., TEIXEIRA, A., BENTO, O.B., C., A.M., TOULLEC, R. y LALLÉS, J.-P., 2002. Legume grains enhance ileal losses of endogenoues serine protease proteins in weaned pigs. ,

SANTOS, D.Im. for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients, MANUEL, J. y SARAIVA, A., 2019. Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients. *Innovative Thermal and Non-Thermal Processing, Bioaccessibility and Bioavailability of Nutrients and Bioactive Compounds*. S.l.: s.n., pp. 23-54. ISBN 9780128141748.

SHIMIZU, M., 2004. Food-derived peptides and intestinal functions. *BioFactors*, vol. 21, no. 1-4, pp. 43-47. ISSN 09516433. DOI 10.1002/biof.552210109.

SOLOMAN, M., LADEJI, O. y UMORU, H., 2008. Nutritional evaluation of the giant grassropper (Zonocerus variegatus) protein and the possible effects of its high dietary fibre on amino acids and mineral bioavailability. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, vol. 8, no. 2, pp. 238-251. DOI 10.4314/ajfand.v8i2.19191.

SOUSA, R., PORTMANN, R., DUBOIS, S., RECIO, I. y EGGER, L., 2020. Protein digestion of different protein sources using the INFOGEST static digestion model. *Food Research International*, vol. 130, no. September 2019. ISSN 18737145. DOI 10.1016/j.foodres.2020.108996.

TENORE, G.C., CAMPIGLIA, P., RITIENI, A. y NOVELLINO, E., 2013. In vitro bioaccessibility, bioavailability and plasma protein interaction of polyphenols from Annurca apple (M. pumila Miller cv Annurca). *Food Chemistry*, vol. 141, no. 4, pp. 3519-3524. ISSN 18737072. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.06.051.

VENEMA, K., 2015. *The Impact of Food Bioactives on Health* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 978-3-319-15791-7. Disponible en: http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84945157886&partnerID=tZOtx3y1.

VERHOECKX, K., COTTER, P., LÓPEZ-EXPÓSITO, I., KLEIVELAND, C., LEA, T., MACKIE, A., REQUENA, T., SWIATECKA, D. y WICHERS, H., 2015. *The impact of food bioactives on health: In vitro and Ex Vivo models*. S.l.: s.n. ISBN 9783319161044.

WEN, S., ZHOU, G., LI, L., XU, X., YU, X., BAI, Y. y LI, C., 2015. Effect of cooking on in vitro digestion of pork proteins: A peptidomic perspective.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 63, no. 1, pp. 250-261. ISSN 15205118. DOI 10.1021/jf505323g.

WHITNEY, E. y ROLFES, S.R., 2011. *Understandin Nutrition*. S.l.: s.n. ISBN 9781469816593.

WICKHAM, M., FAULKS, R. y MILLS, C., 2009. In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Molecular Nutrition and Food Research*, vol. 53, pp. 952-958. DOI 10.1002/mnfr.200800193.