

**UNIDAD IZTAPALAPA**

**DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGIA**

**TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN  
BIOTECNOLOGÍA UTILIZACION DE LA CASCARA DE NARANJA COMO  
FUENTE DE FIBRA, PREBIOTICO Y ANTIOXIDANTE EN PRODUCTOS  
CARNICOS COCIDOS.**

**Por**

**I.A. JUANA CHAPARRO HERNÁNDEZ**

**Asesores:**

**Dra. Ma. De Lourdes Pérez Chabela**

**Dr. Alfonso Totosaus Sánchez**

México, D.F., 15 de Marzo, 2013



Se agradece al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyTDF) por el apoyo de la Beca No. PICS011-21 “Aprovechamiento de subproductos agroindustriales como fuente de fibra y su posible utilización como prebióticos en productos cárnicos.

México, D. F. 2013.

El jurado designado por la  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa

Aprobó la comunicación de resultados que presento:

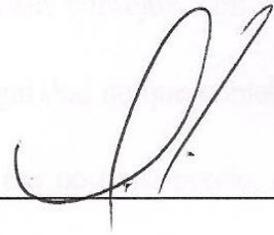
**I.A. Juana Chaparro Hernández**

El día 15 de Marzo del 2013

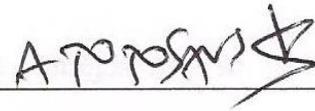
**Comité Tutorial:**

**Directores:**

**Dra. Ma. De Lourdes Pérez Chabela**  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa



**Dr. Alfonso Totosaus Sánchez**  
Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec



**Lector de Tesis**  
**Dra. Alma E. Cruz Guerrero**  
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa



---

## Agradecimientos

Primeramente a la Dra. Ma. De Lourdes Pérez Chabela por haber creído en mí y por haberme brindado la oportunidad de continuar con mi formación académica en esta institución. Le agradezco por todo el aprendizaje brindado, por cada uno de sus consejos y regaños, porque fue eso lo que me hizo crecer durante este tiempo.

Al Dr. Alfonso por su apoyo, por sus asesorías y por el tiempo brindado para la realización de este proyecto, sobre todo con la parte estadística.

A la Dra. Alma Elizabeth Cruz por su apoyo para la revisión de este trabajo.

A Juan Díaz Vela por que desde que entre al laboratorio conté con sus consejos, con sus experiencias y atenciones. Cada duda que me surgía podía tener la seguridad de que contaba con él para una asesoría. Juanito te convertiste en mi mejor amigo y eso no tiene precio, es algo que jamás se olvida y siempre te llevaré conmigo.

A la Dra. Isabel Guerrero Legarreta por cada uno de sus consejos, por su apoyo y por enseñarme que hay más opciones en la vida.

A Berenice Castillejos porque creo que este último año nos ha unido más que nunca, hemos vivido cosas inolvidables, te considero como mi hermana, sabes que te quiero mucho y que cuentas conmigo para lo que necesites.

A mis amigas del S-130, Rosy, Viole y Arisaí, mejor equipo no pude haber encontrado, las quiero mucho chicas, gracias por sus palabras y consejos.

---

## **Dedicatorias**

A Dios por haberme permitido haber conseguido estas satisfacciones en mi vida, por haberme brindado las fuerzas para poder levantarme día a día, por darme la paciencia y la sabiduría para haber elegido los caminos correctos a lo largo de este tiempo.

A mis padres porque sin su apoyo y su infinita paciencia no habría conseguido este gran logro en mi carrera. Por haberme regalado el privilegio de vivir y de motivarme día a día para ser siempre alguien mejor. Por haber hecho de mí una persona de bien por su educación y por los principios inculcados.

A mis hermanos Rosy y David, por sus consejos y su incondicional apoyo, creo que la vida no pudo regalarme mejores hermanos que ustedes.

A mi familia que siempre me ha acompañado a donde he ido, con sus palabras, con sus consejos y con sus regaños; a todos siempre los llevare en mi corazón: Yiyin, Liz, Estefania, Axel y Paty. A todos ustedes los amo.

A Geovana Fuentes Aguilar porque en esta última etapa de nuestro crecimiento académico continuamos aprendiendo juntas, fueron miles de experiencias las que nos llevamos a lo largo de este tiempo que trabajamos juntas. Sabes que siempre podrás contar con mi apoyo incondicional, te quiero muchísimo amiga. Recuerda siempre que si el destino nos señala caminos diferentes, adelante que yo no pienso cambiar el rumbo.

A ti porque el destino sin pensarlo te puso en mi camino...

**Juany**

---

## Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo estudiar el efecto de la utilización de la harina de cáscara de naranja como fuente de fibra, prebiótico sobre las características fisicoquímicas de un producto cárnico cocido, utilizando un diseño de mezclas. A la harina de cáscara de naranja se le realizaron los siguientes análisis bromatológicos: humedad total, cenizas, grasa, proteína y fibra. Se diseñaron y se elaboraron diez formulaciones de salchichas variando entre ellas las cantidades de fuente de: fibra, almidón y carragenina. A estos batidos cárnicos se le realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos: Textura, humedad total, humedad expresable, estabilidad a la cocción, estabilidad a la grasa, pérdida de grasa, rendimiento a la cocción, color, pH, rancidez oxidativa. Dentro de los resultados obtenidos se pudo observar que la incorporación al batido cárnico de la harina de cáscara de naranja mostró una disminución de la rancidez oxidativa a lo largo del tiempo de muestreo. Al incorporar harina de cáscara de naranja a las formulaciones, se observó que los batidos eran capaces de retener una mayor cantidad de agua. Hubo una menor pérdida de grasa al someter a los batidos cárnicos a cocción en aquellas formulaciones que se les incorporo fécula de papa. Por último se utilizó la harina de cáscara de naranja como fuente de carbono a concentraciones de 0.5 y 1.0%, utilizando las cepas de bacterias lácticas reportadas como probióticas: *L. rhamnosus* y *P. pentosaceus*. Se obtuvieron valores mayores de la tasa de crecimiento ( $k$ ) para *P. pentosaceus* al adicionar harina de cáscara de naranja con respecto a la control en concentraciones de 0.5%; de igual modo se obtuvieron valores mayores de  $k$  para *L. rhamnosus* al adicionar harina de cáscara de naranja con respecto a la control a concentraciones de 1.0%. Lo que nos quiere decir que esta fuente de carbono es aprovechada por las BALT.

---

## Abstract

This work aimed to study the effect of using orange peel as a source of fiber, prebiotic and antioxidant on physicochemical and sensory characteristics of a cooked meat product. First, proximal analysis of orange peel was performed determining total moisture, ash, fat, protein and fiber. Ten different formulations were formulated employing a mixture design approach in base to orange peel as fiber, starch and carrageenan. Physicochemical analysis (total moisture, expressible moisture, cooking stability, fat stability, fat loss, cooking yield, color, pH, and oxidative rancidity) and textural profile analysis were performed to formulated sausages. Orange peel flour addition retained a greater amount of water within the matrix. Lower fat loss were obtained as well when potato starch flour was present in sausage formulation. Finally, orange peel flour lactic fermentation processes at concentrations of 0.5 and 1.0% resulted in greater growth rate  $k$  for *P. pentosaceus* at 0.5% as compared to glucose as carbon source.

---

Resumen .....	6
Abstract .....	7
INTRODUCCION .....	12
ANTECEDENTES .....	13
Embutidos .....	13
Salchicha.....	13
Clasificación de las salchichas .....	13
Bacterias Acido Lácticas .....	14
Termotolerancia de las bacterias ácido lácticas .....	15
Aplicación de bacterias lácticas termotolerantes en productos cárnicos.....	16
Alimentos Funcionales .....	17
Prebióticos .....	18
Clasificación .....	19
Antioxidantes .....	20
Compuestos Fenólicos.....	21
Flavonoides .....	21
Fibra Dietética.....	23
Tipos de Fibra .....	24
Subproductos agroindustriales.....	25
Naranja.....	25
OBJETIVOS .....	27
General .....	27
Particulares .....	27
JUSTIFICACION .....	28
METODOLOGIA .....	29
Primera parte.....	29
Obtención de la harina de cáscara de naranja.....	29
Análisis bromatológicos .....	31
Humedad Total.....	31
Determinación de cenizas .....	31

Determinación de grasa .....	32
Determinación de proteína total.....	32
Determinación de Fibra Total.....	33
Elaboración de las salchichas .....	34
Análisis Fisicoquímicos .....	36
Determinación de humedad total .....	36
Determinación de humedad expresable.....	36
Estabilidad a la cocción .....	36
Estabilidad de la grasa.....	37
Determinación de pérdida de grasa .....	37
Rendimiento a la cocción .....	37
Determinación de color .....	38
Determinación del pH .....	38
Determinación de la rancidez oxidativa (TBA).....	38
Análisis de Textura.....	39
Diseño de Mezclas .....	40
Segunda parte.....	41
Cuantificación de azúcares totales .....	41
Activación de cepas .....	41
Fermentaciones .....	41
Crecimiento bacteriano.....	42
Actividad prebiótica .....	43
Determinación de pH.....	44
Diseño experimental y análisis estadístico .....	44
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	45
Primera parte.....	45
Resultados de los análisis bromatológicos .....	45
Resultados de los análisis fisicoquímicos .....	47
Textura.....	47
Humedad Total.....	49

---

Rancidez oxidativa .....	50
Pérdida de grasa .....	51
Estabilidad a la grasa.....	52
Estabilidad a la cocción .....	53
Humedad expresable. ....	54
pH.....	55
Color.....	56
Resultados del diseño de mezclas .....	57
Resultados de las curvas de crecimiento .....	61
Parámetros cinéticos.....	64
Conclusiones.....	67
BIBLIOGRAFIA .....	68

---

## Índice de Tablas

Tabla 1. Contenido fenólico total de las verduras (Charanjit y Harrish, 2001).....	22
Tabla 2. Contenido de fibra dietética de algunos cereales, oleaginosas, hortalizas y procesamiento de frutas (% de materia seca).....	26
Tabla 3. Porcentaje de los ingredientes en las formulaciones de las salchichas. ....	35
Tabla 4. Resultados de los análisis bromatológicos.....	46
Tabla 5. Resultados del perfil de Textura .....	47
Tabla 6. Resultados de Humedad Total (%) .....	49
Tabla 7. Rancidez oxidativa (mg de MAD/g de muestra).....	50
Tabla 8. Pérdida de grasa (%) en las formulaciones.....	51
Tabla 9. Estabilidad a la grasa (%) de las formulaciones.....	52
Tabla 10. Estabilidad a la cocción (%) de las formulaciones.....	53
Tabla 11. Humedad expresable de las distintas formulaciones.....	54
Tabla 12. Resultados de pH de las formulaciones.....	55
Tabla 13. Resultados de color a las formulaciones.....	56
Tabla 14. Análisis de Varianza para los resultados de humedad total y humedad exprimible de las salchichas. ....	57
Tabla 15. Análisis de Varianza para las formulaciones con diferentes ingredientes para el perfil de textura.....	60
Tabla 16. Tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación para <i>P. pentosaceus</i> y <i>L. rhamnosus</i> , a diferentes concentraciones de harina de cáscara de naranja y de glucosa.....	65

## Índice de Figuras

Figura 1. Proceso de fermentación .....	30
Figura 2. Figuras de isorespuesta para Humedad total (%), para los días 1 y 20 de muestreo. ....	58
Figura 3. Figuras de isorespuesta para Humedad Exprimible (%), para los días 1 y 20 de muestreo.....	59
Figura 4. Cinéticas de crecimiento para <i>Pediococcus pentosaceus</i> con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.....	62
Figura 5. Comportamiento del pH para <i>Pediococcus pentosaceus</i> con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.....	63
Figura 6. Cinéticas de crecimiento para <i>Lactobacillus rhamnosus</i> con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.....	63
Figura 7. Comportamiento del pH para <i>Lactobacillus rhamnosus</i> con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.....	64

---

## INTRODUCCION

Estudios recientes han demostrado que las cáscaras de los cítricos son excelentes fuentes de antioxidantes naturales, además los subproductos de cítricos como albedo, flavedo y harina de cáscara, contienen fibra, proteínas flavonoides y antioxidantes, con ello, la presencia de fibra dietética y antioxidantes funcionales de los cítricos permiten su aplicación en el procesamiento de alimentos para obtener productos saludables.

El consumo anual promedio de productos cárnicos en México se estima en siete millones de toneladas métricas, ocupando así el sexto lugar a nivel mundial. En cuanto al consumo per cápita, fue de 17.6, 15.9 y 29.4 Kg/persona en los casos de carne de vacuno, de cerdo y de pollo, respectivamente, según la información de la Asociación Nacional de Empacadoras Tipo Inspección Federal (ANETIF).

La fibra dietética juega un papel importante en la salud humana, las dietas altas en fibra dietética se asocian con la prevención, reducción y tratamiento de algunas enfermedades, como enfermedades cardíacas y coronarias. En México, el aumento en el consumo de embutidos y productos de carne procesada ha sido el principal componente del aumento en el consumo de carne en general de la población. La salchicha es el principal embutido consumido por los mexicanos, debido a su bajo costo y a su fácil preparación y consumo. Es una necesidad en la actualidad el desarrollar nuevos productos que tengan aportes benéficos para la población y que sean de fácil acceso.

---

Los prebióticos son definidos como ingredientes no digeribles dietéticos que afectan beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de un número limitado de bacterias en el colón, lo que mejora la salud del huésped.

## **ANTECEDENTES**

### **Embutidos**

Como lo define la Norma Oficial de productos cárnicos curados emulsionados y cocidos (NOM-213-SSA1-2002) los embutidos son elaborados con carne de una o más especies, vísceras y otros subproductos comestibles de los animales autorizados, los que además pueden ser sazonados, ahumados o no. Los productos correspondientes son: pasteles, mortadelas, salchichas, etc.

### **Salchicha**

La salchicha es definida por la NOM-213-SSA1-2002 como un producto alimenticio compuesto por no menos de 60% de carne de res y de cerdo; mezclado con grasa de cerdo y agentes emulsivos sometidos a curación pudiendo ser ahumados o no, sometidos a cocción y enfriamiento, empacados en material adecuado para su distribución y conservados en refrigeración.

### ***Clasificación de las salchichas***

Las salchichas son clasificadas por la NOM-213-SSA1-2002 de acuerdo a su presentación en tres tipos y un sólo grado de calidad:

TIPO I. Salchicha de Viena

---

TIPO II. Salchicha de Frankfurt

TIPO III. Salchicha cocktail

## **Bacterias Acido Lácticas**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos Gram positivos, normalmente inmóviles y no esporuladas, producen ácido láctico y algunos otros metabolitos (Perés y Juárez, 1997). Todas las BAL crecen aeróbicamente, no obstante a diferencia de muchos anaerobios, la mayoría no son sensibles al O<sub>2</sub> y por lo tanto pueden crecer tanto en presencia como en ausencia del mismo, siendo así anaerobios aerotolerantes. Son microorganismos con una limitada capacidad biosintética. Como carecen de porfirinas y citocromos, no realizan fosforilación por transporte de electrones por ende reciben energía por fosforilación a nivel sustrato, obteniendo así la energía por fermentación (Ingram, 1975).

Normalmente son benignas e incluso necesarias, habitan en el cuerpo humano y en el de otros animales (Prescott y col., 2004). Requieren de un ambiente rico en nutrientes para reproducirse, basado en carbohidratos, aminoácidos, péptidos, sales y vitaminas (Carr y col., 2002).

Las BAL actúan inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas dando lugar a productos estables y relativamente seguros (Reyes-Menéndez, 2005). La estabilidad de estos productos ha sido atribuida a la conversión de azúcares en ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetilo, reuterina o bacteriocinas dependiendo del patrón fermentativo (homofermentativo o heterofermentativo), lo cual ha sido importante para desarrollar una acción antimicrobiana por el efecto de estos metabolitos en combinación con un descenso del

---

pH y al consumo de carbohidratos (Hugas, 1998). En conjunto con los metabolitos ya mencionados, existen otros en menor proporción pero no menos importantes,

ya que tienen un espectro de inhibición que abarca microorganismos fúngicos que son inhibidos tanto por ácidos grasos, péptidos cíclicos y ácidos como el fenil-láctico (Schnurer y Magnusson, 2005).

### **Termotolerancia de las bacterias ácido lácticas**

Cuando se elaboran los embutidos se someten a temperaturas de pasteurización (72°C) que son necesarias para eliminar un gran porcentaje de microorganismos patógenos. Las bacterias ácido lácticas que son incorporadas en batidos cárnicos para su conservación, deben mantener resistencia a la temperatura a la cual se somete el sistema donde residen. Por otro lado durante el crecimiento de los microorganismos se generan diversos metabolitos que podrían disminuir el pH del entorno afectando su capacidad de resistir temperaturas elevadas como la pasteurización (O'Bryan y col., 2006).

El efecto de la temperatura sobre la estructura superficial de los microorganismos suele ser irreversible causando la muerte instantánea de éstos, debido a la desnaturalización de enzimas y proteínas transportadoras de la membrana celular, particularmente la membrana plasmática (Weitzel y col., 1987), en conjunto con la desintegración de la capa lipídica de la membrana externa celular. Cuando la temperatura excede el rango de estabilidad fisiológico de la célula, la membrana plasmática se vuelve más fluida provocando la fuga de iones de la célula, afectando su integridad. Además, el agua que se encuentra en contacto con las proteínas de la célula puede ser un factor para la inactivación de la célula a temperaturas

---

elevadas, debido a que el calor provoca vibración de las moléculas de agua lo que ocasiona rompimiento de enlaces disulfuro y puentes de hidrógeno dentro de la célula dañando la estructura tridimensional de las proteínas (Earnshaw y col., 1995).

Adams y Marteau (1995), mencionan que la disminución de la actividad de agua ( $a_w$ ) por medio de la desecación o de la adición de solutos como la sacarosa aumenta la termorresistencia.

### **Aplicación de bacterias lácticas termotolerantes en productos cárnicos**

Zhang y Holley (1999), estudiaron el efecto de ciertas bacterias lácticas en productos cárnicos curados, encontrando que el pH inicial y la temperatura tienen un efecto significativo en el crecimiento de bacterias lácticas, pero el cloruro de sodio y los nitritos no muestran una reducción significativa del número de bacterias: concluyendo que las bacterias lácticas pueden crecer en productos cárnicos curados.

Se ha estudiado el efecto de bacterias lácticas en carne molida durante el almacenamiento bajo condiciones de vacío y se ha encontrado que el tratamiento de cultivos lácticos en carne fresca es benéfico para reducir las poblaciones microbianas de psicrótrofos coliformes y estafilococos durante el almacenamiento en condiciones de vacío, sin embargo la inoculación de bacterias lácticas puede afectar el color (Babji y Murth, 2000).

Nieto-Lozano y col. (2002), estudiaron 39 cepas obtenidas de cultivos iniciadores comerciales comúnmente usados en la industria cárnica en España. Estas cepas fueron identificadas como *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus pentosus* y

---

*Lactobacillus plantarum*, todas las cepas mostraron una acción inhibitoria contra bacterias del tipo Gram positivo atribuyéndose a la producción de bacteriocinas.

Pérez-Chabela y col. (2008) aislaron e identificaron bacterias lácticas termotolerantes y las inocularon en un embutido cocido para ver su efecto sobre color, textura y conteo de enterobacterias. Cuatro cepas mostraron resistencia al calor a 70°C durante 30 minutos, las cepas identificadas fueron: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* y *Pediococcus acidilacti*, ninguna de las cepas mostró cambios respecto a color, en textura *Lactobacillus curvatus* mostró una salchicha más blanda lo cual fue percibido también en la evaluación, por lo que tuvo resultados desfavorables, sin embargo las 4 cepas mostraron reducción de enterobacterias después de 12 días de almacenamiento.

Ramirez-Chavarín y col. (2010) aislaron 69 bacterias lácticas de productos cárnicos cocidos, de éstas, 10 cepas mostraron ser termotolerantes a 70°C durante 30 minutos, los 4 géneros que se identificaron fueron *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus* y *Enterococcus*.

## **Alimentos Funcionales**

De acuerdo a Roberfroid (2000) los alimentos funcionales deben "contener un componente con un efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos se puede justificar como funcional (fisiológico) o incluso saludable". Los tres requisitos básicos para ser considerado como un alimento funcional son: 1) deben ser elaborados con ingredientes provenientes de fuentes naturales, 2) consumirse como parte de la dieta diaria, y 3) participación en la regulación de procesos específicos para el proceso del organismo humano, incluidos el envejecimiento, la prevención del riesgo de la enfermedad y

---

mejorar la capacidad inmunológica. Entre los principales se encuentran los prebióticos, la fibra, los antioxidantes, los flavonoides, etc.

### **Prebióticos**

El concepto de prebióticos fue introducido por primera vez en 1995 por Gibson y Roberfroid como un enfoque alternativo para la modulación de la microbiota intestinal. Uno de los aspectos era que iba a superar los problemas de supervivencia de los probióticos durante el almacenamiento y el tránsito gastrointestinal y permitir cambios beneficiosos en las ciertas poblaciones. Los prebióticos se definieron "como ingredientes no digeribles dietéticos que afectan benéficamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon, lo que mejora la salud del huésped.

Entre los ingredientes alimentarios, se encuentran los carbohidratos (oligosacáridos y polisacáridos), algunos péptidos y proteínas, y ciertos lípidos (tanto ésteres y éteres) estos son los candidatos a prebióticos. Debido a su estructura química, estos compuestos no son absorbidos en la parte superior del tracto gastrointestinal o hidrolizados por las enzimas digestivas humanas. Estos ingredientes podrían ser llamados "alimentos colonia," es decir, los alimentos que son los dos puntos y que sirven como sustrato para las bacterias endógenas, así, indirectamente, proporcionan al anfitrión con la energía, sustratos metabólicos y micronutrientes esenciales (Gibson y Roberfroid., 1995).

---

Existen diversos compuestos obtenidos de manera natural provenientes de frutos y cereales, obtenidos después de su procesamiento que pueden ser utilizados como fuentes de fibra dietética a los cuales se les han atribuido propiedades prebióticas.

### **Clasificación**

Existen tres criterios de clasificación de un ingrediente alimenticio como prebiótico considerados como los más importantes (Gibson y Roberfroid., 1995):

- Resistencia a los procesos digestivos en la parte superior del tracto gastrointestinal.
- Ser fermentables por la microbiota intestinal, específicamente la que reside en el colon.
- Estimulación selectiva de crecimiento y/o actividad de un número limitado de las bacterias promotoras de la salud.

La resistencia a los procesos enzimáticos a través del tracto gastrointestinal es parte esencial de aquellos alimentos llamados nutrientes del colon, ya que deben ser no digeribles, pueden ser monómeros, oligómeros o polímeros adsorbidos hasta ser hidrolizados por la microbiota que habita el colon y por consiguiente ser precursores de células procariotas.

Los prebióticos deberán ser fermentados únicamente por bacterias del colon, lo cual puede ser demostrado por fermentaciones *in vitro* en reactores simuladores de alguna parte del intestino en condiciones controladas. La fermentación de los prebióticos puede promover algunas funciones fisiológicas específicas a través de la liberación de metabolitos por las bacterias, en especial los ácidos grasos de cadena corta al lumen intestinal (Cummings y col., 2001).

---

## Antioxidantes

Existen muchas sustancias que se encuentran naturalmente en los alimentos, o que se producen durante su procesamiento, que tienen la capacidad de evitar o reducir la intensidad de las reacciones de oxidación. El grupo de los tocoferoles, o vitamina E, presentan esta propiedad, con la peculiaridad de que su poder antioxidante es inverso al de su función biológica; estos junto con la lecitina, integran los antioxidantes naturales más importantes que se encuentran en los lípidos, pero que se pierden durante la refinación de los aceites comestibles. Por su parte los compuestos fenólicos como las isoflavonas: genisteína, daidzeína y gliciteína presentan estas propiedades. Los compuestos mencionados generalmente se encuentran en concentraciones bajas y su efectividad como antioxidante es muy pobre; por esta razón, en muchos casos es preciso recurrir a sustancias sintéticas más potentes (Badui, 2003).

Los antioxidantes deben trabajar en baja concentración como 200 a 500 ppm por kilogramo de producto cárnico, deberán demostrar una buena solubilidad en grasa o de material graso, debe ser no tóxico y no deben cambiar o alterar el sabor de los productos cárnicos en sí. Los antioxidantes en los productos cárnicos tienen la tarea primordial de la desactivación o neutralización de los radicales libres para retrasar el desarrollo de la rancidez. Más específicamente, los antioxidantes amplían el tiempo de formación de sustancias relacionadas con la oxidación y la rancidez (Feiner, 2006).

---

## ***Compuestos Fenólicos***

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, siendo parte importante tanto de la dieta humana como de la animal. Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerando metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad. Estos compuestos tradicionalmente han sido considerados como anti nutrientes (Belitz y Grosch, 1988). Sin embargo actualmente se ha despertado un reciente interés por estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de cáncer inflamatorio (Tsimidou, 1998).

## ***Flavonoides***

Los flavonoides son compuestos fenólicos que abundan en la naturaleza; dado que tienen una estructura química muy parecida a la de las antocianinas normalmente se encuentran en diversos frutos junto con ellos ya que ambos grupos de pigmentos siguen un proceso biosintético común. Los cítricos contienen varios flavonoides, sobre todo en el albedo y en menor grado en el flavedo, la pulpa y el jugo; en este último se encuentra aproximadamente 15% del total y su concentración de 0.05% puede aumentar cuando se le incorpora parte del albedo (Badui, 2003).

Los flavonoides han mostrado ser potentes antioxidantes, secuestradores de radicales libres o agentes que contribuyen a la acción anti cancerígena y cardioprotectora, entre otras. Estos son compuestos que tienen aplicación en la estabilización de los alimentos debido a su habilidad de protegerlos contra la peroxidación (degradación oxidativa de los lípidos). Dadas

---

estas propiedades que pueden aportar estos compuestos, se plantea la alternativa de utilizarlos como antioxidantes naturales de grasas y aceites (Moreno-Álvarez y col., 2004).

En la Tabla 1 se muestran la cantidad de fenoles totales reportada en diferentes vegetales.

**Tabla 1. Contenido fenólico total de las verduras (Charanjit y Harrish, 2001).**

<b>Vegetales</b>	<b>Fenoles totales [mg (100 g)<sup>1</sup>]</b>
<b>Papas</b>	149.8 ± 6.3
<b>Ajo</b>	145.0 ± 5.9
<b>Nabo</b>	127 ± 1.28
<b>Hojas de zanahorias</b>	115.8 ± 2.8
<b>Chiles verdes</b>	115 ± 1.2
<b>Frijol</b>	97.0 ± 1.1
<b>Coliflor</b>	96.0 ± 0.9

Polifenoles / equivalente a mg de catecol.

---

## **Fibra Dietética**

La fibra dietética es una clase de compuesto que incluye una mezcla de oligosacáridos y polisacáridos, por ejemplo, celulosa, hemicelulosa, sustancias pépticas, almidón resistente, inulina, que pueden estar asociados con la lignina y otros carbohidratos que no son componentes (por ejemplo, los polifenoles, ceras, saponinas, cutina, los fitatos, proteínas resistentes). No sólo ayuda a la fibra dietética evadir la hidrólisis, la digestión y absorción en el intestino delgado del ser humano, si no que alcanza al menos una de las siguientes funciones: aumenta el volumen fecal, estimula la fermentación en el colon, reduce la glucosa en sangre postprandial (reduciendo la respuesta a la insulina) y reduce los niveles de colesterol (Fuentes-Zaragoza y col., 2010).

La fibra dietética también puede impartir algunas propiedades funcionales a los alimentos, por ejemplo, se puede aumentar la capacidad de retención de agua, la capacidad de retención de aceite, emulsión y/o formación de gel. De hecho, la fibra dietética incorporada en los productos alimenticios (productos de panadería, lácteos, mermeladas, carnes, sopas) puede modificar las propiedades de textura, evitar sinéresis (la separación de líquido de un gel causadas por la contracción), estabilizar los alimentos altos en grasa y emulsiones, y aumentar la vida útil (Abdul-Hamid y Luan, 2000).

Los residuos de la extracción de jugo de naranja son potencialmente una fuente excelente de fibra dietética, debido a que este material es rico en pectina y puede estar disponible en grandes cantidades (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998). Fibras provenientes de cáscaras de cítricos y de cáscaras de manzanas tienen mejor calidad que otras

---

fibras de la dieta debido a la presencia de compuestos bioactivos asociados, tales como los flavonoides, polifenoles y carotenoides (Fernández-López y col., 2003).

Figuerola y col. (2005) estudiaron la composición de fibra dietética de concentrados de pulpa de manzana y de cáscara de cítricos, ellos reportaron valores de fibra dietética total de cáscara de naranja de 61 a 69%, un contenido de proteína de 8.1 hasta 10.1 g / 100 g; contenido de lípidos de 0.89 g / 100 g.

### ***Tipos de Fibra***

La fibra cruda es la que se consigna generalmente en las tablas de composición de los alimentos y que se determina analíticamente sometiendo los productos a un tratamiento en caliente con ácido clorhídrico y posteriormente con hidróxido de sodio; en estas condiciones se pierde una fracción importante de polisacáridos que sí se incluyen en la fibra dietética; es decir, la fibra cruda normalmente es menor que la dietética, ya que esta última representa el contenido total de los polímeros antes indicados (Badui, 2003).

Algunos autores definen las fibras dietéticas en forma de carbohidratos no digeribles y lignina, que son intrínsecos e intactos en las plantas, junto con carbohidratos no digeribles aislados que tienen efectos fisiológicos beneficiosos en los seres humanos, mientras que otros proponen que son polímeros de hidratos de carbono no digeribles que tienen tres o más monómeros, y otros más sostienen que fibras de la dieta son carbohidratos no digeribles y lignina que se encuentran en fuentes vegetales, junto con otros hidratos de carbono no digeribles sintéticos, que es la materia no digerible que no se digiere ni se absorbe en el intestino delgado del ser humano (Elleuch- Mohamed y col., 2011).

---

Las fibras dietéticas son clasificadas como solubles o insolubles, sobre la base de si forman o no una solución cuando se mezclan con agua (soluble), o no (insoluble). Las fibras dietéticas solubles incluyen pectinas, las gomas, mucílagos y algunas hemicelulosas, mientras que la celulosa, otros tipos de hemicelulosa y lignina se incluyen en la fracción insoluble (Elleuch-Mohamed y col., 2007).

### **Subproductos agroindustriales**

Los residuos agroindustriales se refieren a los residuos generados por las plantas y los animales, tales como fibras vegetales, hojas, cáscaras, y los abonos. A pesar de que no se clasifican como residuos peligrosos, los residuos producidos a partir de cultivos de cereales constituyen un gran volumen de materiales de desecho. Tradicionalmente, estos materiales de desecho se utilizan como cama para los animales y la alimentación del ganado, o añadido en el suelo como abono verde. Estudios recientes han documentado otros usos de estos residuos agroindustriales tales como acondicionadores de suelo o fertilizantes, los biocombustibles, los termoplásticos, carbón activado, y los componentes de otros materiales. Sin embargo, el potencial de estos residuos como una fuente de fibra dietética de alimentos no ha sido plenamente examinado (Yau-Hoong y Min-Tze, 2008).

### ***Naranja***

La naranja, es considerada como una de las frutas de mayor importancia en el país, tanto por la superficie destinada para su cultivo, como por la producción y el consumo per cápita, que es cercano a 40 Kg. Sus características nutricionales ayudan al fortalecimiento de las defensas del organismo, debido a su contenido de vitaminas C, B1, B2, B3, B5, B6 y E; sales minerales, ácidos orgánicos, pectina, componentes que fortalecen a la circulación y

propiedades anti cancerígenas del estómago. Los estados con una superficie sembrada mayor de naranja a nivel nacional son, en orden de importancia, Veracruz con el 44.3% seguido de San Luis Potosí con el 12.6% y en tercer lugar Tamaulipas con el 9.9%. A excepción de Yucatán los demás estados presentan crecimiento en la superficie destinada a este cultivo. Los principales estados productores de naranja en cuanto al volumen son en orden de importancia: Veracruz con un volumen promedio durante el período de 1.9 millones de toneladas que representa una participación del casi el 50% de la producción nacional, Tamaulipas con 11.5% y San Luis Potosí con 8.5% (SAGARPA, 2010).

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de varios estudios realizados a diferentes subproductos en cuanto al contenido de fibra se refiere.

**Tabla 2. Contenido de fibra dietética de algunos cereales, oleaginosas, hortalizas y procesamiento de frutas (% de materia seca).**

<b>Fuentes de fibra</b>	<b>Contenido total de fibra dietaría</b>	<b>Referencia</b>
<b>Cáscara de naranja</b>	64.3	Figuerola y col., 2005
<b>Cáscara de limón</b>	60.1	Figuerola y col., 2005
<b>Salvado de trigo</b>	44.46	Prosky y col., 1988
<b>Cascarilla de ajonjolí</b>	42	Elleuch y col., 2007
<b>Concentrado de durazno</b>	30.7	Grigelmo-Miguel y col., 1998
<b>Salvado de arroz</b>	27.04	Abdul-Hamid y Luan, 2000

---

## OBJETIVOS

### General

- Estudiar el efecto de la utilización de la cáscara de naranja como fuente de fibra, de carbono y antioxidante sobre las características fisicoquímicas de un producto cárnico cocido.

### Particulares

- Caracterizar bromatológicamente a la harina de cáscara de naranja.
- Conocer el efecto de la harina de cáscara de naranja sobre las características fisicoquímicas de un batido cárnico.
- Evaluar el efecto de la harina de cáscara de naranja como fuente de carbono de bacterias lácticas termotolerantes.

---

## JUSTIFICACION

Hoy en día la necesidad de consumir productos que aporten a nuestra salud beneficios y que cubran nuestras necesidades y expectativas es cada vez más demandante. El desarrollar y perfeccionar una formulación de un batido cárnico (salchicha) que es el producto cárnico que más se consume en la actualidad en nuestro país, ha sido objeto de muy pocos o de escasos estudios desarrollados, es por ello que en el siguiente trabajo se pretende seleccionar una formulación de una salchicha que se apegue lo más posible a la tipo comercial y que además contenga beneficios para la salud debido a la incorporación de la harina de la cáscara de naranja, como lo son la fuente de fibra y su capacidad antioxidante. La cáscara de naranja considerada como un subproducto agroindustrial ha demostrado a través de recientes investigaciones contener una composición química rica en sustancias como fibra, vitaminas, minerales y antioxidantes, permitiendo ubicarla como potencial fuente natural de sustancias bioactivas. El incorporar harina de cáscara de naranja a un producto cárnico favorecerá el crecimiento de las bacterias ácido lácticas debido a que estas requieren de un ambiente rico en nutrientes para reproducirse basado en carbohidratos, aminoácidos, péptidos, sales y minerales.

---

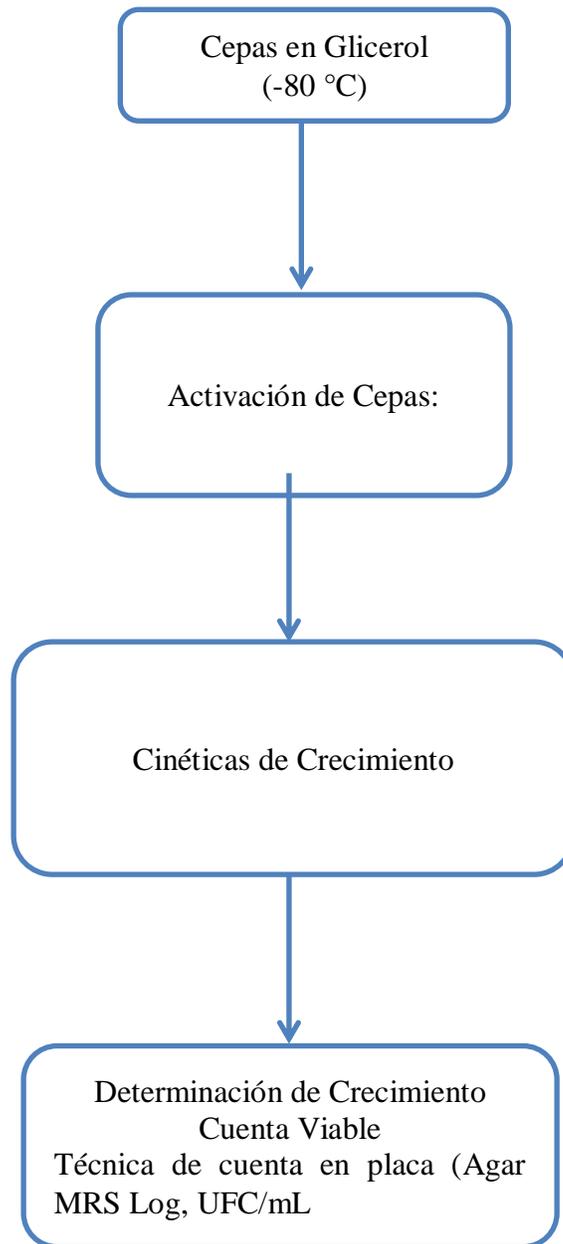
## **METODOLOGIA**

Este trabajo se dividió en dos etapas: en la primera se obtuvo la harina de la cáscara de la naranja, posteriormente se realizaron los análisis bromatológicos (humedad, cenizas, grasa, proteína, fibra total). Posteriormente esta harina de cáscara de naranja fue incorporada a un batido cárnico. En la segunda etapa se determinó la utilización de la harina de cáscara de naranja como fuente de carbono de bacterias ácido lácticas. Las cepas que fueron utilizadas son: *Pediococcus pentosaceus* (UAM 22) y *L. rhamnosus*.

### **Primera parte**

#### **Obtención de la harina de cáscara de naranja**

La harina de cáscara de naranja fue obtenida de naranjas recolectadas en la zona de Iztapalapa, se sometieron a un lavado cortándose en trozos más pequeños y posteriormente a una deshidratación a 70 °C hasta su total deshidratación. Se procedió a realizar una molienda y un tamizado para obtener harina con un tamaño de partícula homogéneo (Chávez-Zepeda y col., 2009).



**Figura 1. Proceso de fermentación**

---

## **Análisis bromatológicos**

### **Humedad Total**

Se realizó la determinación de la humedad total de la muestra de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-F-83-1986-2/3. Se pesaron de 2-3 g de muestra y se colocaron en charolas de aluminio previamente estandarizado a peso constante, se colocaron las charolas en la estufa a 100 °C durante 24 horas. Después las charolas se colocaron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, posteriormente se pesaron las charolas con las muestras secas. La determinación se realizó por diferencias de peso.

### **Determinación de cenizas**

Se determinó el porcentaje de cenizas de acuerdo a la AOAC 1996 940.26. Se pesaron 2 gramos de muestra, la cual se colocó en un crisol previamente acondicionado a peso constante y se pre-incineraron con ayuda de un mechero Bunsen, después de haber eliminado la mayor cantidad de materia orgánica posible, se colocaron en una mufla durante 3 horas a una temperatura de 550°C. Pasando el tiempo de incineración se colocaron los crisoles con la muestra en un desecador hasta que alcanzaron temperatura ambiente. Por último se pesaron los crisoles y se determinó el porcentaje de cenizas por diferencia de peso.

---

### **Determinación de grasa**

Para la determinación del porcentaje de grasa se pesaron 2 gramos de muestra y se colocan en un papel filtro a peso constante, dentro de un cartucho de celulosa con un tapón de algodón, se adiciono a un matraz bola 130 ml de éter de petróleo, se procedió a la extracción en el Soxhlet. Se realizaron cinco ciclos de lavados continuos. Posteriormente se metieron los cartuchos a la estufa durante 24 horas. Los cálculos se obtuvieron por diferencia de peso (AOAC 1996 991.36).

### **Determinación de proteína total**

Para la determinación de este parámetro se pesó 1 gramo de muestra y se colocó en el fondo de un matraz Kjeldalh, a este se le agregaron 2.5 gramos de mezcla digestora (sulfato de potasio 96% y sulfato de cobre 4%) y 10 mL de ácido sulfúrico. El matraz se colocó en un digestor durante 2 horas aproximadamente hasta que la muestra se tornó color verde, posteriormente los matraces se dejaron enfriar a temperatura ambiente para después agregar 15 mL de hidróxido de sodio (40%) a la muestra digerida. Se continuó con la destilación de la muestra digerida junto con el hidróxido de sodio hasta recuperar 50 mL del destilado, el cual fue recuperado en un matraz con solución de ácido bórico (4%) e indicador rojo de metilo (2 gotas). Por último el destilado se tituló con una solución de ácido clorhídrico (0.1N) (AOAC 1996 920.53). El cálculo de proteína total se determinó multiplicando el porcentaje de nitrógeno total por el factor 6.25, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = (\text{Volumen gastado} \times \text{Normalidad} \times 0.014 \times 100) / \text{peso muestra}$$

---

### **Determinación de Fibra Total**

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

---

## Elaboración de las salchichas

Se diseñaron y se elaboraron diez formulaciones distintas de salchichas variando entre ellas las cantidades de: fuente de fibra, almidón y carragenina, tal como se observa en la Tabla 3. La pasta de ave fue molida y mezclada con la sal, los fosfatos de sodio Hamine y la mitad de la cantidad requerida de hielo en una mini cutter. Posteriormente se le adiciono el lardo, la harina de cáscara de naranja, así como en cada caso el almidón y/o carragenina, el restante del hielo y los fosfatos, homogenizando hasta la obtención del batido cárnico. La pasta fue embutida en tripas de celulosa y posteriormente cocidas hasta alcanzar una temperatura interna de 70 °C. Las salchichas fueron empacadas al vacío y almacenadas a 4 °C hasta su posterior análisis (Guerrero y col., 2002). A los días 1, 8, 15 y 21 se les realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos:

- Textura
- Rancidez oxidativa (TBA)
- pH
- Humedad Total
- Humedad exprimible
- Color
- Estabilidad de la grasa
- Pérdida de grasa
- Estabilidad a la cocción

**Tabla 3. Porcentaje de los ingredientes en las formulaciones de las salchichas.**

<b>Ingredientes en %</b>	<b>Pasta de ave 56</b>	<b>Sal cura 0.3</b>	<b>Sal 2.1</b>	<b>Fosfatos 0.5</b>	<b>Grasa 1.0</b>
<b>Formulación</b>	<b>Ingredientes %</b>				
	Fuente de fibra		Almidón	Carragenina	
1	0		0	1	
2	0		2.5	0.5	
3	0.43		3.3	0.17	
4	0		5	0	
5	0.43		0.85	0.66	
6	0.83		0.67	0.34	
7	1.25		0	0.5	
8	1.65		0.85	0.17	
9	1.25		2.5	0	
10	2.5		0	0	

---

## **Análisis Fisicoquímicos**

### **Determinación de humedad total**

La determinación de humedad se realizó de acuerdo al método oficial de prueba No. 950.46 de la A.O.A.C. (1996). Fueron colocados de 2-3 g de muestra en charolas de aluminio a pesos constantes y colocados en una estufa a 110 ° C durante 24 h. Después fueron retiradas y colocadas en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, posteriormente se pesaron las charolas con la muestra seca. Se calculó el porcentaje de humedad por diferencia de peso.

### **Determinación de humedad expresable**

La determinación de humedad expresable se llevó a cabo mediante el procedimiento reportado por Jáuregui y col. (1981). Se pesaron muestras de 100 g y fueron envueltas en papel filtro Whatman No. 1, se llevaron a centrifugación a 2000 rpm durante 15 min. en una centrifuga modelo J3000. Se determinó el porcentaje de agua extraída por centrifugación, obteniendo la diferencia del peso inicial de la muestra menos el peso de la muestra después del centrifugado, dividido por el peso inicial y multiplicado por 100, reportando el porcentaje de agua liberada o humedad expresable después de la prueba.

### **Estabilidad a la cocción**

Esta determinación se llevó a cabo utilizando la metodología propuesta por Ramos y Farías (2001). Fueron colocadas muestras de 30 g en vasos precipitados de 250 mL. con 300 mL. de agua, se dejó calentando la muestra hasta 70 °C durante 30 min. Se determinó el porcentaje de estabilidad a la cocción, obteniendo la diferencia del peso inicial de la muestra

---

menos el peso de la muestra después de la cocción, dividiendo por el peso inicial y multiplicando por 100.

### **Estabilidad de la grasa**

La estabilidad de la grasa en las salchichas se llevó a cabo mediante la metodología reportada por Ramos y Farías (2001). Después de realizar la prueba de estabilidad a la cocción, las muestras de salchichas fueron retiradas de los vasos con agua, los cuales se dejaron hasta la evaporación total del agua obteniendo así solamente la grasa liberada en el fondo del vaso. Se reportó la estabilidad de la grasa, como el porcentaje en peso de grasa liberada durante la cocción.

### **Determinación de pérdida de grasa**

La pérdida de grasa en las muestras se determinó mediante la metodología propuesta por Anderson y col (2000). Las muestras de salchicha se cortaron en trozos de 10 cm de largo registrando el peso exacto, después fueron freídas a 160 °C por 2 min. de cada lado, controlando una temperatura interna de 70 °C mediante el uso de termopares, posteriormente fueron escurridas en papel absorbente hasta que no se observó grasa libre para finalmente ser pesadas. La pérdida de grasa fue expresada como el porcentaje en peso de grasa liberada durante el freimiento.

### **Rendimiento a la cocción**

Se determinó el rendimiento de las salchichas control y de las salchichas adicionadas con harina de cáscara de naranja de acuerdo a la metodología reportada por Shand (2000). Los

---

batidos se pesaron antes de ser cocidos y después de ser cocidas. Se reportó el rendimiento como el peso obtenido del producto, en porcentaje, después de la cocción.

### **Determinación de color**

La luminosidad (L), componente roja (a) y componente amarilla (b) de color en coordenadas CIE-Lab se determinó en las salchichas elaboradas con harina de cáscara de naranja y en las salchichas control. Las muestras se colocaron en vasos de precipitados para capturar la imagen en un colorímetro HunterLab. Utilizando el programa Universal v.3.73, del cual se obtuvieron parámetros de luminosidad, componente roja y componente amarilla (Mancini y Hunt, 2005).

### **Determinación del pH**

Se tomaron muestras de salchicha de 10 g y se homogenizaron con 90 mL de una solución salina al 5%, posteriormente se tomó la lectura del pH en un potenciómetro Beckman 50 pH Meter (Landvogt, 1991).

### **Determinación de la rancidez oxidativa (TBA)**

Se determinó por la metodología reportada por Zipser y Watts (1962) con ligeras modificaciones. Se agregó 10 g de muestra a 49 mL de agua destilada a 50°C y 1 mL de sulfanilamida 0.5% en HCl al 20% (v/v) y se homogenizó. Posteriormente se colocó la mezcla a un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenía 48 mL de agua destilada a 50°C y 2 mL de solución de HCl 1:2 (v/v), así como 2 gotas de antiespumante a base de silicón. El matraz se colocó a destilar en una parrilla eléctrica hasta obtener 25 mL de destilado, del cual se tomaron por triplicado alícuotas de 5 mL y se colocaron en un tubo de ensaye con tapa, se

---

adiciono 5 mL de la solución de TBA (0.02M en ácido acético glacial al 90%). Los tubos se colocaron en un baño maría a ebullición durante 35 minutos, posteriormente se enfriaron y midió la absorbancia a 538 nm. Para la curva estándar, se prepararon alícuotas de 0 a 5 mL en incrementos de 0.02 mL de la solución (1, 3,3-Tetraepoxipropano) TEP  $3 \times 10^{-5}$  M a 5 mL de volumen total. De esta solución se colocaron 5 mL en tubo de ensayo de 5 mL de reactivo de TBA y se les dio el mismo tratamiento que las muestras.

### **Análisis de Textura**

Se utilizó un analizador de textura TAXT2i (Texture Technologies Corporation, Scarsdale, NY, USA.; Stable Micro Systems, Godalming, UK), equipado con una celda de carga de 5 kg. Se cortaron muestras de 20 mm de alto y se comprimieron 25% de su altura original con una celda de acrílico de una pulgada de diámetro a una velocidad constante de 1 mm/s. De las curvas fuerza-deformación obtenidas del análisis, se calcularon la dureza (fuerza máxima detectada durante la compresión (Bourne, 1978); la resilencia (energía acumulada en la muestra que le permite recobrar, hasta cierto punto, su forma original), la cohesividad (La fuerza que los enlaces internos hacen sobre el alimento), y la gomosidad (la energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser tragado).

---

## Diseño de Mezclas

Se realizó un diseño de mezclas variando la concentración de los siguientes componentes:

- Harina de cáscara de naranja (X1)
- Almidón de papa (X2)
- Carragenina (X3)

Las proporciones de los componentes se expresaron como fracciones de la mezcla que al sumar dieran uno ( $X1+X2+X3=1$ ). Los diez puntos fueron diez tratamientos con un solo ingrediente, tres mezclas de dos ingredientes y cuatro mezclas con tres ingredientes.

---

## Segunda parte

### Cuantificación de azúcares totales

La cuantificación de azúcares totales fue realizada mediante la metodología descrita por Dubois y col. (1956). Realizando una curva patrón de glucosa (0-100 mg/L); 1 mL de cada muestra fue tratada con 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 1 mL de solución de fenol al 5 % p/v, después de 15 min de incubación, la absorbancia de las muestras fue medida en el espectrofotómetro a 490 nm. Posteriormente se realizó lo mismo con la harina de cáscara de naranja para determinar el contenido de azúcares totales presentes en 1 g de muestra.

### Activación de cepas

Para evaluar la actividad prebiótica de la harina de cáscara de naranja fueron empleadas dos cepas de bacterias lácticas termotolerantes (BALT): *Pediococcus pentosaceus* UAM-22 y *Lactobacillus rhamnosus*. Las cepas fueron almacenadas hasta su uso en una mezcla glicerol-caldo Man Rogose Sharpe (MRS) (De Man y col., 1960) en una proporción 50:50 a -80°C.

### Fermentaciones

Las fermentaciones se realizaron en medio con peptona de caseína, extracto de levadura y suplementando con 0.5 y 1.0 % (p/v) harina de cáscara de naranja ó glucosa como control, inoculando con 3 log<sub>10</sub> UFC/mL del cultivo de adaptación se incubaron a 37°C y 200 rpm, se tomaron 3 mL de muestra para la determinación del crecimiento bacteriano y para determinar la producción de ácidos orgánicos, lo cual se realizó a partir del tiempo cero hasta completar 10h de fermentación con intervalos de una hora (Bustamante y col., 2006)

---

## Crecimiento bacteriano

El crecimiento de las bacterias fue realizada cada hora durante el periodo de fermentación, diluciones seriadas de alícuotas fueron llevadas a cabo en solución isotónica (0.9% NaCl) para realizar la siembra en placa con agar MRS; las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 horas. Los valores de cuenta viable (UFC/mL) se determinaron con base a curvas estándar previamente elaboradas para cada cepa. Con los datos obtenidos fueron calculadas las tasas específicas de crecimiento ( $k$ ) y los tiempos de duplicación ( $g$ ) para cada cinética empleando las siguientes ecuaciones (Willey y col., 2009):

$$1) \quad k = \frac{[\text{Log}_{\frac{\text{UFC}}{\text{ml}}}(N_t) - \text{Log}_{\frac{\text{UFC}}{\text{ml}}}(N_0)]}{\log 2 (t)}$$

$$2) \quad g = 1/k$$

Donde:

$k$  = tasa específica de crecimiento ( $\text{h}^{-1}$ )

$g$  = tiempo de duplicación (h)

UFC/mL ( $N_0$ ) = unidades formadoras de colonia por mililitro al inicio de la fase exponencial

UFC/mL ( $N_t$ ) = unidades formadoras de colonia por mililitro al final de la fase exponencial

$t$  = tiempo correspondiente al inicio de la fase exponencial (h)

Todas las fermentaciones fueron realizadas por duplicado.

---

### Actividad prebiótica

La actividad prebiótica, refleja la capacidad de un sustrato para apoyar el crecimiento de un microorganismo en relación con otros microorganismos. La actividad prebiótica se determinó utilizando la siguiente ecuación (Huebner y col., 2007):

$$PAS = \left\{ \frac{A - B}{C - D} \right\} - \left\{ \frac{E - F}{G - H} \right\}$$

Dónde:

A: Log UFC/mL Probiótico (10h) Prebiótico

B: Log UFC/mL Probiótico (0h) Prebiótico

C: Log UFC/mL Probiótico (10h) Glucosa

D: Log UFC/mL Probiótico (0h) Glucosa

E: Log UFC/mL Enterica (10h) Prebiótico

F: Log UFC/mL Enterica (0h) Prebiótico

G: Log UFC/mL Enterica (10h) Glucosa

H: Log UFC/mL Enterica (0h) Glucosa

---

## Determinación de pH

El pH del medio fue ajustado a 6.5, alícuotas de 1.5 mL fueron tomadas por duplicado cada hora durante el periodo de fermentación para obtener el perfil de acidificación del medio con el uso de un potenciómetro 50 pH meter (Beckman Instrument)

## Diseño experimental y análisis estadístico

El desarrollo experimental se llevó a cabo mediante un diseño factorial de tres factores (tipo de cepa, tipo y porcentaje de inóculo), el modelo a utilizar según Montgomery (2006), fue:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

- $Y_{ijk}$  = es la variable respuesta al i-ésimo nivel de tipo de cepa para el j-ésimo nivel de tipo de prebiótico y al k-ésimo nivel de porcentaje de inóculo.
- $\mu$  = es la media global del modelo
- $\alpha_i, \beta_j, \gamma_k$  = son el efecto por los factores principales para el tipo de cepa, tipo de fuente de carbono y porcentaje de fuente de carbono, respectivamente; y,
- $\epsilon_{ijk}$  = es el error experimental

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa SAS para Windows Versión 8.0.

---

## RESULTADOS Y DISCUSIONES

### Primera parte

#### Resultados de los análisis bromatológicos

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos de la harina de cáscara de naranja en cuanto a los análisis bromatológicos se refiere. En comparación con los resultados obtenidos por Pérez-Cruz (2008), se observan que los valores que resultan similares son los de proteína (2.93%) y cenizas (4.8%). El contenido de humedad total (7.7) resulto menor en comparación con lo reportado por Pérez-Cruz (2008).

Comparando los resultados con los obtenidos por Rincón y col. (2005), donde de igual manera analizaron residuos de naranja, mandarina y toronja. Obtuvieron los siguientes resultados para los residuos de naranja: Humedad 3.31%, ceniza 4.86%, grasa 1.64%, y proteína 5.07%. El contenido de grasa está relacionado con los aceites esenciales presentes en la cáscara de la naranja que aportan sabores y aromas característicos. Se observó que los valores reportados en este trabajo en cuanto a cantidad de grasa se refieren, fueron más altos que los reportados por Rincón y col. (2005), esto debido probablemente a las diferencias entre la variedad o el estado de madurez de las muestras analizadas, así como el método utilizado para la determinación de grasas.

---

**Tabla 4. Resultados de los análisis bromatológicos**

	Humedad total %	Grasa %	Proteína %	Cenizas %	Fibra Total %
Harina de cáscara de naranja	<b>3.08</b>	<b>5.04</b>	<b>3.53</b>	<b>6.15</b>	<b>38.11</b>

Ha sido reportado que la mayoría de los compuestos bio-activos (incluyendo la fibra) se encuentran primordialmente en la cáscara de los frutos, con valores por encima de las concentraciones reportadas en pulpa y/o semillas, esto debido a la composición química de la pared celular en este tipo de tejidos cuya función principal es la de protección (Leontowickz y col., 2003).

---

## Resultados de los análisis fisicoquímicos

### Textura

En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos en el perfil de textura para las diez formulaciones realizadas.

**Tabla 5. Resultados del perfil de Textura**

Formulación	PARAMETROS				
	Dureza	Resilencia	Cohesividad	Resorteo	Gomosidad
1	6.97 ± 0.27	0.24 ± 0.01	0.51 ± 0.01	0.99 ± 0.007	3.61 ± 0.27
2	8.20 ± 0.27	0.33 ± 0.03	0.60 ± 0.05	0.99 ± 0.00	4.93 ± 0.34
3	4.65 ± 0.76	0.30 ± 0.02	0.62 ± 0.08	1.00 ± 0.01	2.87 ± 0.09
4	8.35 ± 0.59	0.41 ± 0.05	0.68 ± 0.01	1.00 ± 0.01	5.75 ± 0.31
5	2.86 ± 0.39	0.64 ± 0.50	1.89 ± 0.05	7.01 ± 1.12	4.68 ± 0.14
6	3.00 ± 0.50	1.99 ± 0.23	0.09 ± 0.00	3.86 ± 0.46	0.27 ± 0.03
7	6.83 ± 0.20	1.15 ± 0.07	0.20 ± 0.01	1.89 ± 0.05	1.41 ± 0.07
8	6.19 ± 0.41	1.25 ± 0.23	0.15 ± 0.02	2.17 ± 0.22	0.98 ± 0.16
9	6.70 ± 0.89	0.37 ± 0.02	0.64 ± 0.07	0.99 ± 0.00	4.39 ± 1.24
10	5.10 ± 0.11	0.37 ± 0.15	0.52 ± 0.04	1.05 ± 0.11	2.68 ± 0.26

Como lo muestran los resultados, las formulaciones que presentaron un valor mayor en el parámetro de dureza (2, 4) fueron aquellas formulaciones a las cuales no se les incorporó la fuente de fibra (harina de cáscara de naranja). Los valores de dureza menores obtenidos en las formulaciones (5, 6, 3) fueron aquellas a las cuales se les incorporó dentro de su formulación la fuente de fibra, esto quiere decir que la fibra presente dentro de la harina de cáscara de naranja es capaz de absorber y retener agua dentro de la matriz del batido cárnico

---

proporcionándole así una textura más suave a la salchicha. Thebaudin y col. (1997) reportaron que debido a la capacidad de retención de agua de la fibra y sus propiedades de hinchazón, las fibras insolubles pueden influir en la textura de alimentos. La fibra insoluble puede aumentar la consistencia de los productos cárnicos a través de la formación de una red insoluble en tres dimensiones que es capaz de modificar las propiedades reológicas de la fase continua de las emulsiones (Backers y Noli, 1997).

## Humedad Total

La Tabla 6 muestra los resultados obtenidos en cuanto a la prueba de humedad total se refiere.

**Tabla 6. Resultados de Humedad Total (%)**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	63.90 ± 0.85	67.19 ± 0.50	70.21 ± 0.00	62.22 ± 0.59
2	72.18 ± 0.87	64.19 ± 1.23	68.11 ± 0.45	67.36 ± 1.25
3	64.39 ± 0.69	68.53 ± 0.53	65.40 ± 1.14	66.99 ± 0.76
4	70.27 ± 0.65	65.55 ± 0.33	66.39 ± 2.04	66.38 ± 0.65
5	72.80 ± 0.41	75.08 ± 0.70	71.14 ± 0.72	70.14 ± 0.45
6	66.92 ± 0.01	70.54 ± 0.27	71.71 ± 0.82	68.22 ± 1.06
7	69.26 ± 0.57	66.29 ± 0.62	69.63 ± 1.08	71.94 ± 0.89
8	68.29 ± 0.26	63.38 ± 0.32	69.31 ± 0.79	67.56 ± 0.28
9	66.80 ± 0.12	67.63 ± 0.63	65.90 ± 0.06	66.50 ± 0.61
10	66.99 ± 0.52	67.40 ± 1.07	66.69 ± 0.75	67.22 ± 0.75

Se observa que los valores mayores de humedad total en las formulaciones se dan en aquellas a las cuales se les adiciono la mayor cantidad de almidón de papa. García-García y Totosaus (2007) reportaron similares resultados, los valores de humedad fueron mayores en aquellas formulaciones a las cuales se les agrego fécula de papa.

---

## Rancidez oxidativa

En la tabla 7 se muestran los resultados obtenidos de la rancidez oxidativa.

**Tabla 7. Rancidez oxidativa (mg de MAD/g de muestra)**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
<b>1</b>	0.268 ± 0.01	1.165 ± 0.00	0.704 ± 0.04	0.616 ± 0.00
<b>2</b>	0.504 ± 0.00	0.999 ± 0.00	0.514 ± 0.00	0.539 ± 0.02
<b>3</b>	0.405 ± 0.04	0.462 ± 0.00	0.451 ± 0.00	0.368 ± 0.00
<b>4</b>	0.817 ± 0.01	0.970 ± 0.00	1.100 ± 0.01	0.577 ± 0.01
<b>5</b>	0.440 ± 0.00	0.498 ± 0.01	0.761 ± 0.00	0.265 ± 0.00
<b>6</b>	0.458 ± 0.00	0.427 ± 0.03	0.479 ± 0.00	0.233 ± 0.00
<b>7</b>	0.309 ± 0.00	0.463 ± 0.01	0.301 ± 0.01	0.215 ± 0.00
<b>8</b>	0.294 ± 0.00	0.347 ± 0.00	0.238 ± 0.00	0.211 ± 0.01
<b>9</b>	0.741 ± 0.05	0.745 ± 0.04	0.205 ± 0.00	0.121 ± 0.00
<b>10</b>	0.201 ± 0.02	0.368 ± 0.02	0.156 ± 0.02	0.187 ± 0.00

Los valores más pequeños de mg de MAD/g de muestra los tienen las formulaciones a las cuales se les agrego la mayor cantidad de la fuente de fibra (harina de cáscara de naranja), lo cual nos indica que el proceso de rancidez oxidativa es menor en estas formulaciones. Fernández-López y col. (2003) al adicionar fibra de cítricos a salchichas, reportan que los valores obtenidos de TBA fueron menores en estas salchichas adicionadas con esta fuente de fibra en comparación con las salchichas control. Este comportamiento se atribuye principalmente al contenido de polifenoles presentes en los cítricos que ayudan a retardar la oxidación de lípidos.

## Pérdida de grasa

En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de pérdida de grasa.

**Tabla 8. Pérdida de grasa (%) en las formulaciones.**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	48.37 ± 1.30	44.04 ± 4.45	53.83 ± 2.72	25.09 ± 1.06
2	42.72 ± 0.00	44.54 ± 0.00	44.93 ± 0.00	41.33 ± 0.02
3	52.64 ± 0.04	57.44 ± 0.00	35.82 ± 0.00	46.38 ± 0.00
4	43.48 ± 0.01	44.41 ± 0.00	50.72 ± 0.01	50.72 ± 0.01
5	50.01 ± 0.00	51.80 ± 0.01	47.03 ± 0.00	55.78 ± 0.00
6	48.23 ± 0.00	41.73 ± 0.03	38.76 ± 0.00	42.53 ± 0.00
7	64.85 ± 0.00	41.94 ± 0.01	52.70 ± 0.01	57.30 ± 0.00
8	44.71 ± 0.00	49.15 ± 0.00	50.59 ± 0.00	35.75 ± 0.00
9	40.92 ± 0.05	45.63 ± 0.04	31.15 ± 0.00	50.61 ± 0.00
10	52.60 ± 0.02	53.45 ± 0.02	47.71 ± 0.02	60.12 ± 0.00

Se observa que los valores menores de pérdida de grasa se obtienen en aquellas formulaciones a las cuales se les ha adicionado fécula de papa, esta permite una mayor estabilidad de la grasa durante la cocción debido probablemente a sus propiedades funcionales como su capacidad de retención de aceite, siendo una alternativa para adicionar componentes de fibra en formulaciones de tipo cárnico.

---

## Estabilidad a la grasa

En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de estabilidad a la grasa.

**Tabla 9. Estabilidad a la grasa (%) de las diferentes formulaciones.**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	2.86 ± 0.20	2.82 ± 1.26	2.66 ± 0.76	3.79 ± 0.56
2	2.42 ± 0.18	3.26 ± 0.41	3.20 ± 0.19	3.37 ± 1.09
3	2.18 ± 0.64	3.00 ± 1.74	1.97 ± 0.21	2.69 ± 0.29
4	2.22 ± 0.16	2.98 ± 0.28	2.45 ± 0.10	1.82 ± 2.16
5	2.66 ± 0.37	2.92 ± 0.67	2.68 ± 0.64	3.85 ± 0.27
6	2.61 ± 0.44	2.38 ± 0.42	4.94 ± 0.77	3.39 ± 0.71
7	3.10 ± 0.36	2.42 ± 0.47	3.28 ± 0.56	1.80 ± 0.28
8	2.04 ± 0.63	1.55 ± 0.02	1.95 ± 0.24	2.19 ± 0.04
9	1.74 ± 0.43	3.52 ± 0.55	2.50 ± 0.34	1.74 ± 0.23
10	2.70 ± 0.53	4.04 ± 0.31	3.44 ± 0.00	2.95 ± 0.66

La grasa adicionada a la formulación se mantiene estable durante el almacenamiento, sin embargo, al someter las muestras a altas temperaturas (dorado) la grasa se libera con mayor facilidad aunque se mantienen las características texturales estables.

---

## Estabilidad a la cocción

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de estabilidad a la cocción.

**Tabla 10. Estabilidad a la cocción (%) en las formulaciones.**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	72.52 ± 4.79	64.93 ± 2.95	67.08 ± 4.22	60.36 ± 2.80
2	79.37 ± 0.53	76.20 ± 0.80	79.47 ± 0.26	65.51 ± 5.72
3	93.01 ± 0.33	88.89 ± 4.63	88.63 ± 0.62	89.67 ± 0.43
4	85.73 ± 0.54	98.67 ± 0.79	90.56 ± 0.18	92.47 ± 0.30
5	65.27 ± 2.04	65.33 ± 2.12	63.51 ± 0.59	62.83 ± 0.16
6	69.65 ± 0.66	62.63 ± 2.68	62.59 ± 1.91	69.46 ± 3.38
7	68.38 ± 0.64	71.24 ± 1.24	70.00 ± 0.06	69.25 ± 1.66
8	75.02 ± 0.80	71.68 ± 2.42	75.45 ± 0.12	74.79 ± 3.29
9	81.83 ± 2.09	75.44 ± 2.80	78.74 ± 3.22	90.16 ± 4.31
10	61.92 ± 1.52	67.17 ± 4.55	66.80 ± 0.39	66.61 ± 1.97

En la tabla 10 se observa que las formulaciones que presentaron un porcentaje mayor con respecto a la estabilidad a la cocción fueron aquellas a las cuales se les adicionó la mayor cantidad de almidón. La adición de almidón se conoce por disminuir significativamente las pérdidas por cocinado, aumentar la estabilidad de la emulsión y alterar la grasa (Hughes, y col., 1998).

## Humedad expresable.

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de humedad expresable.

**Tabla 11. Humedad expresable de las distintas formulaciones.**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	31.48 ± 2.92	23.90 ± 2.38	33.58 ± 0.67	48.76 ± 5.11
2	24.18 ± 1.96	24.35 ± 1.09	28.52 ± 2.29	25.73 ± 1.72
3	21.10 ± 0.34	18.05 ± 1.45	20.45 ± 1.96	24.58 ± 4.46
4	19.98 ± 1.22	17.67 ± 1.85	20.54 ± 1.43	22.98 ± 1.01
5	29.98 ± 0.60	34.25 ± 0.88	24.45 ± 1.16	29.60 ± 2.17
6	24.73 ± 1.42	26.77 ± 1.64	26.46 ± 1.29	22.30 ± 0.91
7	24.19 ± 1.19	26.39 ± 0.84	30.84 ± 2.29	27.12 ± 1.11
8	26.22 ± 1.77	24.16 ± 1.23	25.56 ± 0.89	20.76 ± 0.05
9	22.18 ± 1.28	24.48 ± 3.36	26.29 ± 2.21	24.96 ± 3.23
10	27.11 ± 1.21	29.38 ± 2.08	28.32 ± 0.56	26.57 ± 2.94

Se puede observar que los valores menores de humedad expresable los reportan aquellas formulaciones a las cuales se les añadió la mayor cantidad de almidón, lo que significa que la capacidad de retención de agua dentro de la matriz del batido cárnico fue mejor en estas formulaciones. Fernández-Ginés y col. (2004) reportaron que la adición de albedo de limón a la salchicha en concentraciones de 2.5% y 5%, mostró un mayor contenido de humedad con respecto a la control, atribuyendo este aumento en la humedad al agua proveniente de la matriz de la carne absorbida durante la cocción por el albedo de limón, que tiene una capacidad de retención de agua debido a sus componentes solubles, principalmente pectina, que puede constituir hasta un 25% del albedo de limón.

## pH

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de pH realizadas a las distintas formulaciones.

**Tabla 12. Resultados de pH de las formulaciones**

Formulación	Días de muestreo			
	1	8	15	21
1	6.6 ± 0.01	6.4 ± 0.01	5.8 ± 0.05	6.1 ± 0.03
2	6.7 ± 0.04	6.6 ± 0.03	5.9 ± 0.03	5.8 ± 0.01
3	6.6 ± 0.03	6.6 ± 0.02	6.2 ± 0.01	5.9 ± 0.03
4	6.7 ± 0.01	6.6 ± 0.01	6.5 ± 0.02	6.3 ± 0.04
5	6.6 ± 0.01	6.1 ± 0.04	5.9 ± 0.01	5.9 ± 0.02
6	6.5 ± 0.02	6.3 ± 0.01	6.2 ± 0.01	6.2 ± 0.02
7	6.3 ± 0.02	6.3 ± 0.02	6.3 ± 0.04	5.7 ± 0.01
8	6.3 ± 0.02	6.3 ± 0.04	6.3 ± 0.00	5.8 ± 0.11
9	6.1 ± 0.02	6.2 ± 0.10	6.3 ± 0.03	6.0 ± 0.01
10	6.2 ± 0.05	6.2 ± 0.04	6.1 ± 0.03	5.9 ± 0.02

El pH va disminuyendo gradualmente a lo largo del tiempo de muestreo, sin embargo no se presentan diferencias entre los tratamientos. Fernández-Ginés y col. 2003 y 2004, reportaron valores constantes de pH y sin diferencia significativa entre las salchichas Bologna y las salchichas adicionadas con fibra de cítricos, lo cual significa que la adición de cítricos a un producto cárnico no tiene efectos positivos o negativos en cuanto a pH se refiere.

---

## Color

En la tabla 13 se muestran los resultados obtenidos en la prueba realizada de color a las diez formulaciones.

**Tabla 13. Resultados de color a las formulaciones**

Formulación	Luminosidad	a	b
1	54.83 ± 0.16	3.95 ± 0.06	13.37 ± 0.05
2	55.64 ± 0.10	4.03 ± 0.03	12.89 ± 0.04
3	56.96 ± 0.04	5.06 ± 0.03	12.32 ± 0.02
4	54.18 ± 0.07	4.24 ± 0.03	13.16 ± 0.02
5	54.9 ± 0.03	3.62 ± 0.05	13.29 ± 0.03
6	54.65 ± 0.04	4.37 ± 0.02	13.59 ± 0.03
7	51.97 ± 0.03	4.38 ± 0.03	13.62 ± 0.02
8	56.02 ± 0.22	4.96 ± 0.04	13.72 ± 0.02
9	54.08 ± 0.04	5.09 ± 0.03	13.72 ± 0.02
10	54.00 ± 0.16	5.09 ± 0.02	13.72 ± 0.01

El parámetro de luminosidad no varía significativamente entre tratamientos, la componente b presentó valores mayores en aquellas salchichas a las cuales se les adicionó cáscara de naranja, esto se puede deber a la presencia de polifenoles en la harina de cáscara de naranja (175.78 mg) que le transfieren una coloración amarilla. Fernández-López y col. (2003) reportaron que en las salchichas adicionadas con albedo de limón los valores de luminosidad disminuyeron, este comportamiento está relacionado con los cambios de pH, en cuanto al parámetro del componente roja (a), disminuyó en las salchichas cocidas.

---

## Resultados del diseño de mezclas

Se utilizó un diseño de mezclas para determinar el efecto de la harina de la cáscara de naranja sobre las propiedades fisicoquímicas de los batidos cárnicos. Los componentes de estas formulaciones fueron los siguientes:

- Harina de cáscara de naranja  $X_1$
- Almidón de papa  $X_2$
- Carragenina  $X_3$

Estos componentes se expresan como fracciones de la mezcla como una suma  $X_1 + X_2 + X_3 = 1$ . Para los diez puntos se usaron tres ingredientes, tres mezclas con dos ingredientes y cuatro mezclas con tres ingredientes.

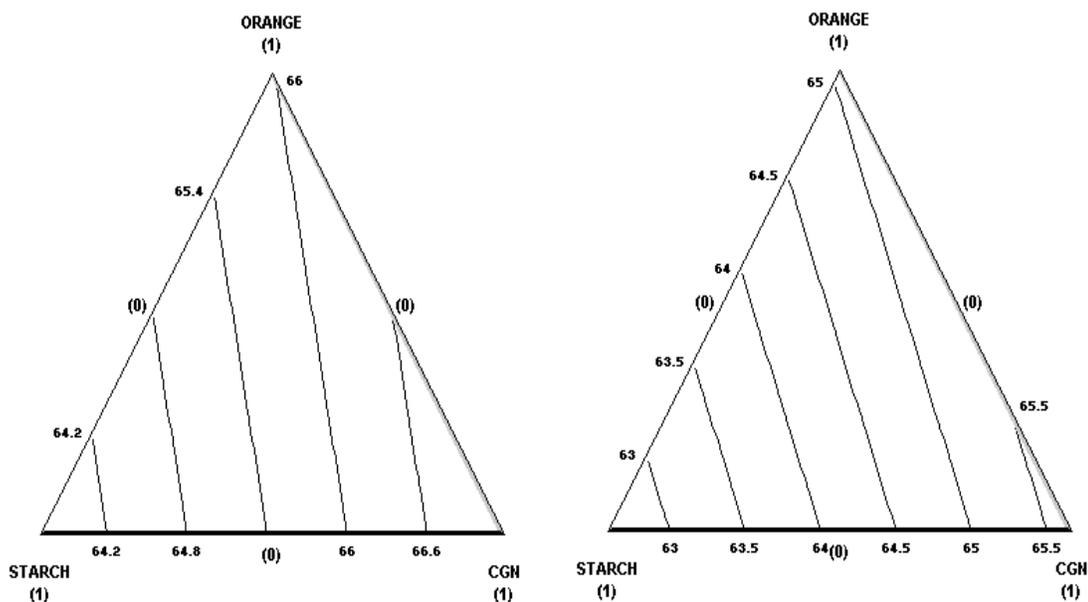
En la Tabla 14 se muestran los resultados del análisis de varianza para las propiedades de humedad total y humedad exprimible. Se puede observar que tanto para la humedad total como para la humedad exprimible, un hubo un efecto significativo ( $P > 0.05$ ) de los ingredientes que se utilizaron, lo que nos quiere decir que la retención de agua es similar entre la harina de cáscara de naranja, el almidón y la carragenina, al ser sometidas a este proceso.

**Tabla 14. Análisis de Varianza para los resultados de humedad total y humedad exprimible de las salchichas.**

Ingrediente	Humedad Total	Humedad exprimible
	Pr>F	Pr>F
Naranja	0.0001	0.0001
Almidón	0.0001	0.0001
Carragenina	0.0001	0.0001

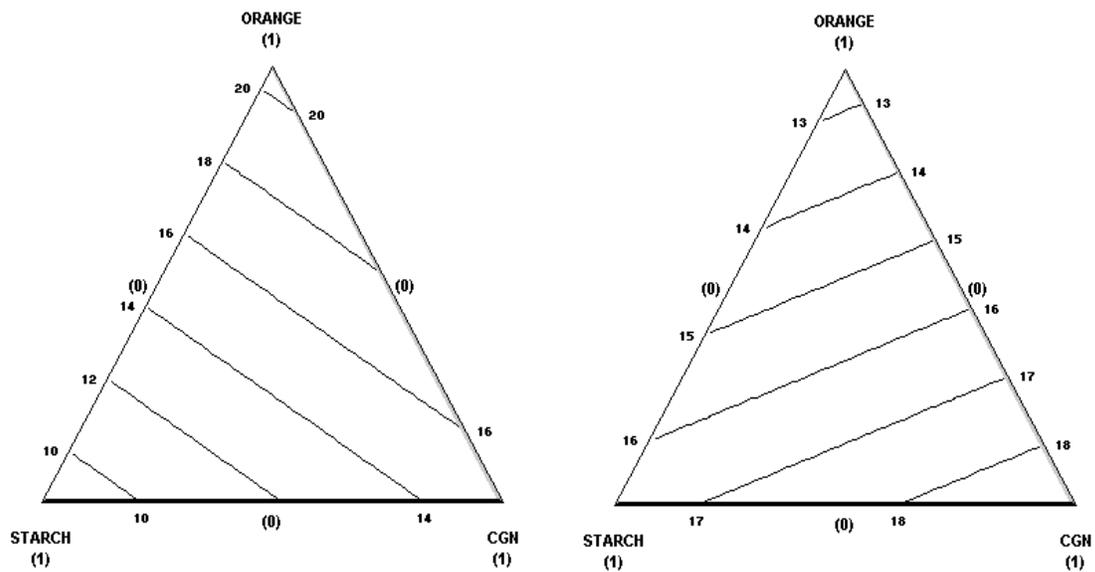
La figura 2 nos muestra las curvas de isorespuesta de los resultados obtenidos en las salchichas elaboradas con diferentes formulaciones en cuanto a la humedad total se refiere. Se puede observar que el almidón tiene un efecto sobre la retención del agua en el día uno, pero para el día 20 esta misma retención de agua se ve más inclinada hacia la carragenina.

**Figura 2. Figuras de isorespuesta para Humedad total (%), para los días 1 y 20 de muestreo.**



En la Figura 3 se muestran las figuras de isorespuesta para la humedad exprimible, podemos apreciar que a menores concentraciones de harina de cáscara de naranja los valores de humedad exprimible también disminuyen, esto debido a la fibra presente en esta harina que es capaz de absorber el agua contenida dentro de la salchicha.

**Figura 3. Figuras de isorespuesta para Humedad Exprimible (%), para los días 1 y 20 de muestreo.**



En la Tabla 15 se muestran los resultados del análisis de varianza para el perfil de textura para las formulaciones adicionadas con diferentes ingredientes. Podemos observar que el almidón tuvo un efecto significativo ( $P < 0.05$ ) sobre la resiliencia, dando como resultado una salchicha con mayor dureza a mayores concentraciones de almidón.

**Tabla 15. Análisis de Varianza para las formulaciones con diferentes ingredientes para el perfil de textura.**

Ingrediente	Dureza	Resiliencia	Cohesividad
	Pr>F	Pr>F	Pr>F
Naranja	0.0172	0.0047	0.1057
Almidón	0.0015	0.0664	0.0057
Carragenina	0.0092	0.0179	0.0369

---

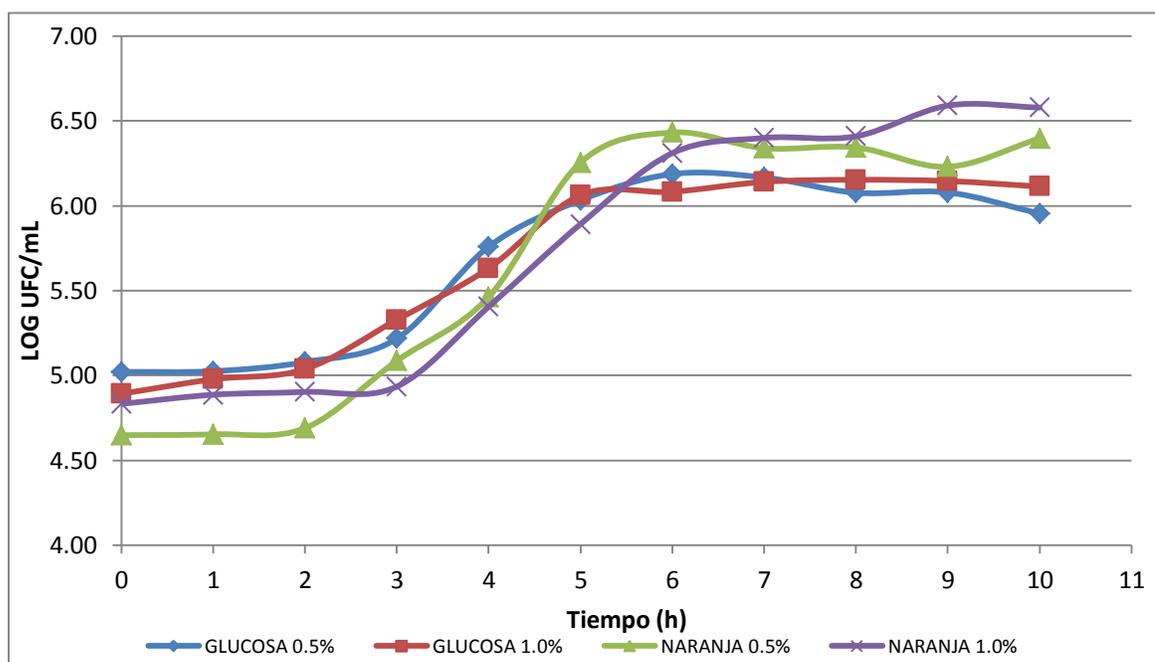
## Resultados de las curvas de crecimiento

En la figura 4 se muestran las curvas de crecimiento de *Pediococcus pentosaceus* en medio MRS, a diferentes concentraciones utilizando como fuente de carbono harina de cáscara de naranja (0.5 y 1.0% p/v) con respecto a glucosa, observándose valores máximos de crecimiento para harina de cáscara de naranja a 0.5% de 6.4 log UFC/mL, y para una concentración de 1.0% de 6.59 log UFC/mL. La fase exponencial para la concentración de 0.5% inicia en la segunda hora y para la concentración de 1.0% hasta la tercer hora. El comportamiento del pH (Figura 5) para ambas concentraciones de harina de cáscara de naranja fue similar, se observa que a partir de la segunda hora se muestra un descenso en este, a partir de la hora diez el comportamiento es constante para ambas concentraciones.

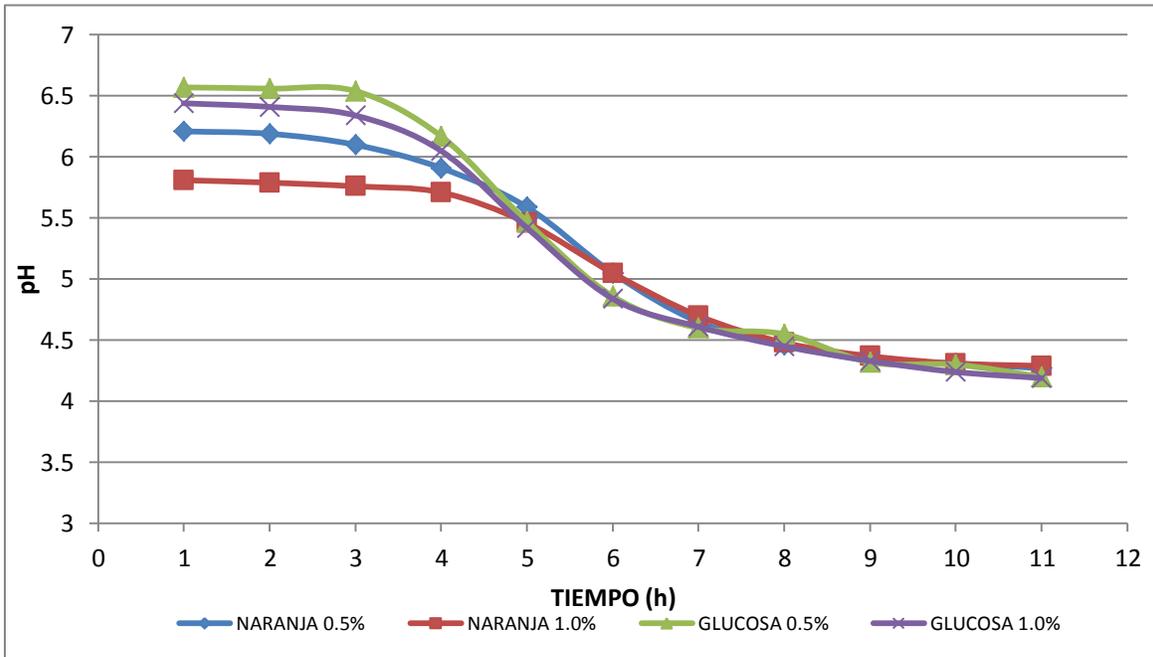
En la figura 6 se muestran las curvas de crecimiento para *Lactobacillus rhamnosus* en medio MRS con harina de cáscara de naranja a concentraciones de 0.5 y 1.0% con respecto a glucosa, observándose valores máximos de crecimiento en la concentración de 0.5% de 5.80 log UFC/mL y para 1.0% de 5.94 log UFC/mL. La fase exponencial para ambas concentraciones empieza en la hora uno, y la fase estacionaria se puede observar que comienza a partir de la hora nueve en ambos casos. Se observa que el pH (Figura 7) inicia su descenso a partir de la hora uno para ambas concentraciones, y el comportamiento constante comienza a partir de la hora diez.

Para ambas concentraciones y para el caso de ambas cepas el crecimiento microbiano con harina de cáscara de naranja muestra valores por encima de los que presenta la glucosa como fuente de carbono.

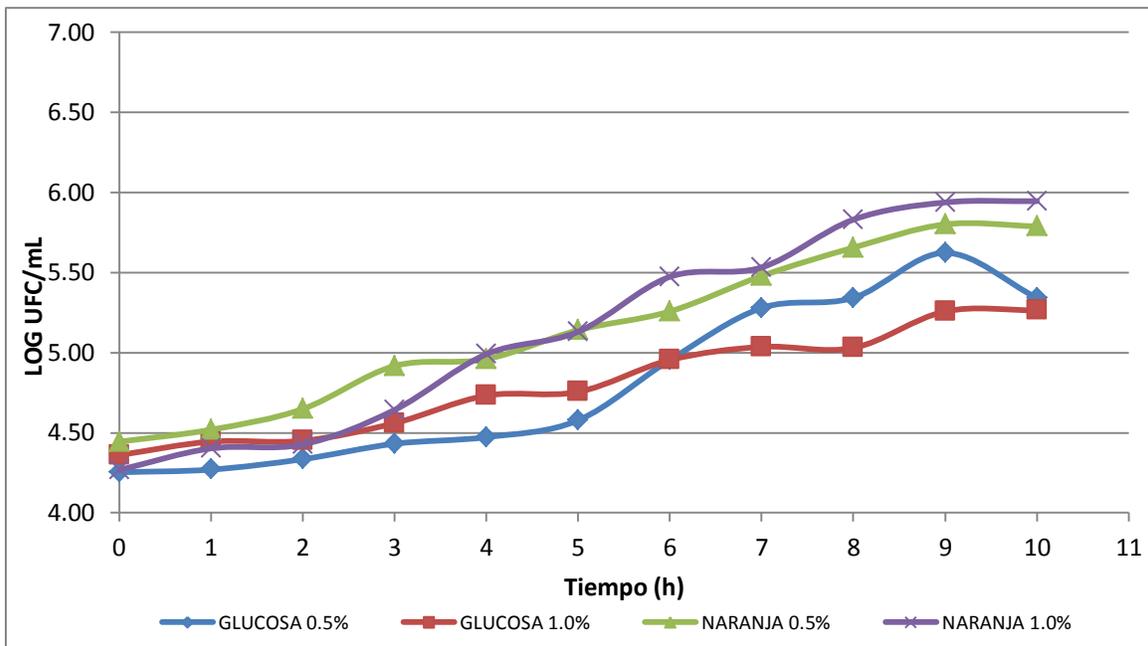
En un estudio realizado sobre la eficacia prebiótica de la inulina (Li y col., 2008), se concluyó que al utilizar inulina y fructooligosacáridos como fuente de carbono para cultivos de Bifidobacterias y Lactobacilos, hubo un incremento en el conteo celular en ambos tipos de microorganismos, sugiriendo la capacidad de estos microorganismos para metabolizar compuestos más complejos que la glucosa.



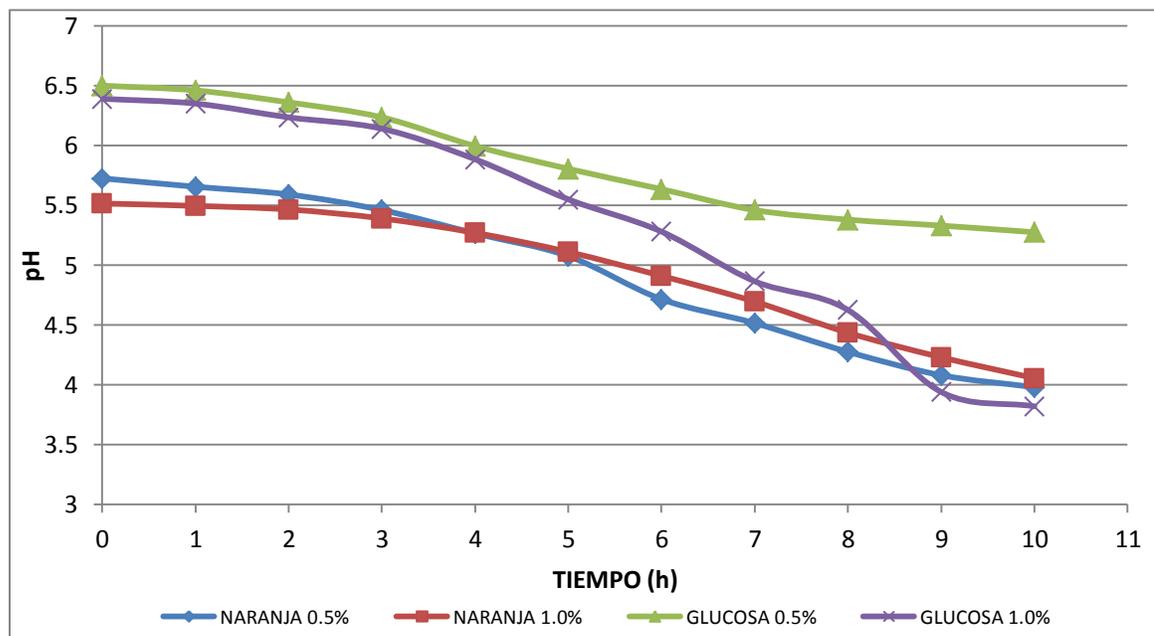
**Figura 4. Cinéticas de crecimiento para *Pediococcus pentosaceus* con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.**



**Figura 5. Comportamiento del pH para *Pediococcus pentosaceus* con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.**



**Figura 6. Cinéticas de crecimiento para *Lactobacillus rhamnosus* con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.**



**Figura 7. Comportamiento del pH para *Lactobacillus rhamnosus* con harina de cáscara de naranja como fuente de carbono.**

### Parámetros cinéticos

A partir de las gráficas de crecimiento se calcularon las tasas específicas de crecimiento ( $k$ ), calculada a partir de la diferencia del logaritmo de las UFC/mL entre la diferencia de tiempo, tomando únicamente la fase exponencial del crecimiento bacteriano. Además del tiempo de duplicación ( $g$ ).

La tabla 16 nos muestra los valores de  $k$  ( $\text{h}^{-1}$ ) y  $g$  (h) obtenidos para *P. pentosaceus* utilizando harina de cáscara de naranja como fuente de carbono. Para el caso de *Pediococcus pentosaceus*, se observan valores de  $k$  ( $1.50 \text{ h}^{-1}$ ) significativamente mayores ( $P < 0.05$ ) utilizando la harina de cáscara de naranja con respecto a la control, destacando un mayor valor

para la concentración de 0.5%. Siendo estos valores mayores a los reportados por Díaz-Vela (2010), en donde utilizó albedo de naranja, inulina de agave e inulina de achicoria. En el caso de *L. rhamnosus*, los valores de  $k$  ( $0.58 \text{ h}^{-1}$ ) fueron mayores en comparación con la control solamente en la concentración de 1.0%, con un valor de tiempo de duplicación igual a 2.52 h

**Tabla 16. Tasa específica de crecimiento, tiempo de duplicación para *P. pentosaceus* (UAM 22) y *L. rhamnosus*, a diferentes concentraciones de harina de cáscara de naranja y de glucosa.**

TRATAMIENTO	%	$k$ ( $\text{h}^{-1}$ )	$g$ (h)
<i>P. Pentosaceus</i> - Glucosa	1	$0.92 \pm 0.20$ A,B,a	$0.86 \pm 0.20$ A,B,a
	0.5	$0.73 \pm 0.20$ A,B,a	$1.03 \pm 0.20$ A,B,a
<i>P. Pentosaceus</i> - Naranja	1	$1.29 \pm 0.20$ A,A,a	$0.65 \pm 0.20$ A,A,a
	0.5	$1.50 \pm 0.20$ A,A,a	$0.57 \pm 0.20$ A,A,a
<i>L. rhamnosus</i> - Glucosa	1	$0.39 \pm 0.10$ B,B,a	$2.52 \pm 0.41$ B,B,a
	0.5	$0.62 \pm 0.10$ B,B,a	$1.59 \pm 0.41$ B,B,a
<i>L. rhamnosus</i> - Naranja	1	$0.58 \pm 0.10$ B,A,a	$1.71 \pm 0.41$ B,A,a
	0.5	$0.51 \pm 0.10$ B,A,a	$1.93 \pm 0.41$ B,A,a

a,b Medias con las mismas letras en la misma columna no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

A, B, C, D, E Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes ( $P > 0.05$ ).

---

**Tabla 17. Actividad prebiótica de *P. pentosaceus* (UAM 22) y *L. rhamnosus***

TRATAMIENTO	%	PAS
<i>P. pentosaceus</i> (UAM 22)	1	0.412764132
	0.5	0.873808995
<i>L. rhamnosus</i>	1	0.838612092
	0.5	1.233401837

Como podemos ver en los resultados obtenidos para la actividad prebiótica de *P. pentosaceus* (UAM 22) y *L. rhamnosus* y en comparación con los resultados obtenidos por Huebner (2007), la cepa que mostro mayor actividad prebiótica fue *L. rhamnosus* a una concentración de 0.5%; lo cual nos quiere decir que la fuente proporcionada (harina de cáscara de naranja) a estas cepas es aprovechada por las mismas. La eficacia de un prebiótico depende, de su capacidad para ser selectivamente fermentada por y para apoyar el crecimiento de determinados microorganismos (Huebner y col., 2007).

---

## Conclusiones

Los subproductos agroindustriales como la harina de cáscara de naranja son una excelente fuente de fibra por lo que favorecería su incorporación en productos cárnicos. A concentraciones de 1.0%, la harina de cáscara de naranja, favoreció el crecimiento de las bacterias lácticas probióticas, lo que nos quiere decir que estas bacterias (*P. pentosaceus* y *L. rhamnosus*) son capaces de metabolizar este tipo de subproductos agroindustriales. Por lo tanto la harina de cáscara de naranja es una buena fuente de fibra y puede servir como prebiótico para las bacterias lácticas termotolerantes probióticas.

---

## BIBLIOGRAFIA

- Abdul-Hamid, A., Luan, Y.S. 2000. Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry*, 68, 15–19.
- Adams, M., Marteau, P. 1995. On the safety of lactic acid bacteria from food. *International Journal of Food Microbiological*. (27) 263-264.
- Andersson, A., Andersson, K., Tornberg, E., 2000. A comparison of fat-holding between beef burgers and emulsions sausage. *Journal of the Food Science and Agriculture*. 80:555-560.
- AOAC, 1996: Official Method of Analysis of AOAC International, 16<sup>th</sup> edition. Washington, DC: AOAC International.
- Babji, Y. y Murth, T. R. K. 2000. Effect of inoculation of mesophilic lactic acid bacteria on microbial and sensory changes of minced goat meat during storage under vacuum and subsequent aerobic storage. *Meat Science*. 54:197-202.
- Backers, T., Noli, B. 1997. Dietary fibers meat processing. *Int. Food Mark. Technology*. 4-48.
- Badui, D.S. 2003. *Química de los Alimentos*. Editorial Pearson Educación. México. pp 394-396.
- Belitz y Grosch. 1988. *Química de los Alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- Bourne, M.C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technology* 32(7): 62-66, 72.
- Bustamante, C.P., Mayorga, R. L., Ramírez, S. H., Martínez, c. P., Barranco, F. E. y Azaola, E. A. 2006. Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista Mexicana de Ciencia Farmacéuticas*. 37(2): 5-9.

- 
- Carr, F. J., Chill, D. y Maida, N. 2002. The Lactic Acid Bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4): 281-370.
  - Chávez-Zepeda, L.P., Cruz-Méndez, G., García de Caza., Díaz-Vela, J. y Pérez-Chabela, M.L. 2009. Utilización de subproductos agroindustriales como fuente de fibra para productos cárnicos. *Nacameh*. 3: 71-82.
  - Charanjit, K., Harrish, C.K. 2001. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*. 37:153-161.
  - Cummings, J. I., Macfarlane, G. T. y Englyst, I. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73(2): 415-420.
  - De Man, J. V., Rogosa, M., Sharpe, E. 1960. A Medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. 1:130-135
  - Díaz-Vela, J. 2010. Evaluación de la actividad prebiótica de la inulina de agave, inulina de achicoria y albedo de naranja sobre bacterias lácticas termotolerantes prebióticas. Tesis Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
  - Dubois, M., Giles, K. A., Hamilton, J. K., P. A. y Smith F. 1956. Colorimetric Method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350-356.
  - Earnshaw, R. G., Appleyard, J., Hurst, R. M. 1995. Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *International Journal of Food Microbiology*. 28:1997-219.

- 
- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Attia, H. 2007. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food Chemistry*, 103, 641–650.
  - Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, H.A. 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterization, technological
  - Feiner, G. 2006. Meat produce handbook. Practical Science and Technology. Editorial Woodheap Publishing Limited. Cambricambridge, England. 6:123-125.
  - Fernández-López J., Fernández-Gines, J.M., Aleson-Carbonell, L., Sendra E., Sayas-Barbera, E., Pérez-Álvarez, J.A. 2003. Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in food Science and Technology* 15:176-185.
  - Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., Pérez-Álvarez, J.A. 2004. Lemon albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages. *Meat Science*. 67:7-13.
  - Figuerola, F., Hurtado, M.L., Estevéz, A.M., Chiffelle, I., Asenjo, F. 2005. Fibre Concentrates from apple pomace and citrus peel potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*. 91:395-401.
  - Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme.Navarrete, M.J., Sánchez-Zapata, E., Pérez-Álvarez, J.A. 2010. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*. 43:931-942.
  - García-García, E.,y Totosaus, A. 2007. Low-fat sodium-reduced sausages: effect of the interaction between locust vean gum, potato starch and  $\kappa$ -carrageenan by a mixture desing approach. *Meat Science*. (78) 406-413.

- 
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125: 1401-1412.
  - Grigelmo-Miguel, N., Martín-Belloso, O. 1998. Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. *Food Research International*. 31(5), 355-361.
  - Guerrero, I., Ponce, E., Pérez-Chabela, M.L. 2002. *Curso Práctico de Tecnología de Carnes y Pescados*. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.
  - Huebner, J., Wehling, R. L., Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal* 17:770-775.
  - Hugas, M. 1998. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49(Suppl.1):S139-S150.
  - Hughes, Mullen, A.M., Troy, D.J. 1998. Effect of fat level, tapioca starch and whey protein on frankfurters formulated with 5% and 12% fat. *Meat Science* (48) 169-180.
  - Ingram, M. 1975. The Lactic Acid Bacteria: A Broad View. En *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*, Fourth Long Ashton Symposium. Carr, J.G., Cutting C. V. y Writhing, G. C. (Editors), Academic Press. pp:1-17
  - Jauregui, C.A., Regenstein, J.M., Baker, R.C., 1981. A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. *Journal of Food Science* 46: 1271-1273.
  - Landvogt, A. 1991. Errors in pH measurement of meat and meat products by dilution effects. *Proceedings of the 37 the International Congress on Meat Science and Technology*, ICoMST, Kulmbach, Germany, pp. 1159-1162.

- 
- Leontowickz, M., Gorinstein, S., Leontowickz, H., Krzeminski, R., Lojek, A., Katrich, E., Ciz, M. Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Haruenkit, R. y Trakhtenberg, S. 2003. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 5780-5785.
  - Li, D., Kim, J. M., Jin, Z. y Zhou, J. 2008. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe*. 14: 29-34.
  - Mancini, R.A., Hunt, M.C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71: 100-121.
  - Montgomery, D. 2006. *Diseño y análisis de experimentos*. 2ª Edición. México, D.F. pp: 170-211.
  - Moreno- Álvarez, M., Camacho, J.B., Sánchez, D.F., Vilorio-Matos, M.P., García, M. 2004. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de flavonoides de cáscara de naranja en el aceite de soja desodorizado. *Interciencia* 29(9): 532-538.
  - Nieto-Lozano, J. C., Reguera-Useros, J. I., Peláez-Martínez, M. C. y Hardisson de la Torre, A. 2002. Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in Spanish meat industry. *Meat Science*. 62:237-243.
  - NOM-F-83-1986-2/3. Alimentos. Determinación de Humedad en Productos Alimenticios, Secretaria de Comercio y Fomento Industrial, México D.F. 1986.
  - NOM-213-SSA1-2002, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

- 
- O'Bryan, C. A., Crandall, P. G., Martín, E. M., Griffis, C. L. y Johnson, M. G. 2006. Heat resistance of *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* 0157:117, and *Listeria innocua* M1, a potencial surrogate for *Listeria Monocytogenes*, in meat and poultry. *Journal of Food Science* 71:23-30.
  - Perés, F. R. y Juárez, G. A. 1997. *Bioquímica de los Microorganismos*. 1ª edición. Editorial Reverté. Barcelona, España. p.p: 73-87.
  - Pérez-Chabela, M.L., A. Totosaus, I. Guerrero. 2008. Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages. *Ciencia e Tecnología de Alimentos* 28(1):132-138.
  - Pérez-Cruz, F. 2008. Caracterización fisicoquímica de harina de cáscara de naranja como extensor funcional en productos cárnicos. *Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec*.
  - Prosky, L., Asp, N.-G., Schweizer, T. F., DeVries, J. W., Furda, I. 1988. Determination of insoluble and soluble, and total dietary fibre in foods and food products: Interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71, 1017–1023.
  - Ramírez-Chavarín, N. L., Wachter-Rodarte, M. C. y Pérez-Chabela, M. L. 2010. Characterization and identification of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked sausage as bioprotective cultures. *Journal of Muscle Food*.
  - Ramos, N.A.G., Farías, M.E. 2001. Stability of meat emulsion with non-meat proteins. *Proceedings of the Eighth International Congress on Engineering and Foods –ICEF 8-*

---

volume II, Welti – Chanes, d., Barbosa – Cánovas, G.V. and Aguilera J.M. (editors) Technomic Publishing Company, Lancaster, p.p. 643-647.

- Reyes-Menéndez, C.V. 2005. Efecto de las Bacterias Lácticas Termorresistentes sobre el color y la textura de batidos cárnicos bajos en grasa y sal. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México.
- Rincón, A., M., Vázquez, A., Padilla-Fanny, C. 2005. Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 55 (3):1-13.
- Roberfroid, M.B. 2000. A European consensus of scientific concepts of functional foods. Nutrition, 16, 689–691.
- SAGARPA. 2010. (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y alimentación).
- Schnurer, J, y Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. Trends in Food Science and Technology. 16(1-3):70-78.
- Shand, P.J. 2000. Textural, Water holding, and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley. Journal of Food Science. 65(1):1001-107.
- Thebaudin, J.Y., Lefebvre, A.C., Harrington, M., Bourgeois, C.M. 1997. Dietary fibres: Nutritional and technological interest. 8:41-48.
- Tsimidou, M. 1998. Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Journal of Food Science. 10:99-116.

- 
- Weitzel, G., Pilatus, U. y Rensing, L. 1987. The cytoplasmic pH, ATP content and total protein synthesis rate during heat shock protein inducing treatments in yeast. *Experimental Cell Research*. 70:64-79.
  - Willey, J.M., Sherwood, L.M., Woolberton, C.J. 2009. *Microbiología de Prescott, Harley y Klein*. Séptima edición. Mc Gran Gill-Interamericana de España, Madrid. 126, 127.
  - Yau-Hoong, K., Min-Tze. L. 2008. Chemical and Physicochemical Characterization of Agrowaste Fibrous Materials and Residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56:9252-9257.
  - Zhang, G. y Holley, R. A. 1999. Development and PFGE monitoring of dominance among spoilage lactic acid bacteria from cured meats. *Food Microbiology*. 16:633-644.
  - Zipser, M.W., Watts, B.M. 1962 A modified 2-thiobarbituric acid (TBA) method for the determination of malonaldehyde in cured meats. *Food Technology* 16:102-107.