

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Industrias

Extracción asistida por ultrasonidos y modificación del mucílago de chía para el diseño de bebidas funcionales con beneficios para la salud

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área de Química Industrial

Lic. Karen Saporittis

Directora de tesis: Dra. María Julia Martinez
Directora adjunta: Dra. Rocío Morales
Consejera de Estudios: Dra. María Fernanda Gliemmo
Lugar de trabajo: ITAPROQ
Buenos Aires, 15 de julio de 2025

Extracción asistida por ultrasonidos y modificación del mucílago de chía para el diseño de bebidas funcionales con beneficios para la salud

El mucílago de chía (MC), que es exudado de la semilla de chía cuando se pone en contacto con agua, tiene un gran potencial como espesante en la industria alimentaria, además de un alto contenido en fibra. Sin embargo, su aplicación permanece restringida debido a la fuerte adhesión del mucílago a la semilla lo que dificulta su separación. El objetivo de esta tesis fue optimizar la extracción del MC mediante el uso de ultrasonidos de alta intensidad (USAI), modificar su estructura mediante homogeneización a alta presión (HPH) y evaluar posibles beneficios para la salud con el fin de aplicarlo en el diseño de bebidas funcionales.

Como resultado de la optimización, se obtuvo un mayor rendimiento de extracción a tiempos y temperaturas más bajas que los utilizados por otros autores, lo que podría atribuirse al uso de USAI que permitió una extracción más eficiente, y se demostró que es posible modular la viscosidad del MC a partir de las condiciones de extracción utilizadas.

En una segunda etapa del trabajo, se seleccionaron dos MC con viscosidades diferentes y se realizó su caracterización físico-química y tecnofuncional. Posteriormente, se aplicó un tratamiento de HPH con el objetivo de modificar su estructura y también se realizó la caracterización de los MC modificados. El proceso de homogeneización provocó una reducción significativa de la viscosidad respecto a los MC sin tratamiento HPH, lo cual se relacionó con la reducción del tamaño de partícula y peso molecular ocasionado por dicho tratamiento. Por otro lado, el MC mostró buena capacidad para formar y estabilizar emulsiones; sin embargo, no mostró buena capacidad para formar espumas, pero sí para estabilizar espumas proteicas, sobre todo a pH bajos donde se verificó la existencia de interacción proteína-MC.

Finalmente, se evaluó la capacidad del MC de aportar beneficios para la salud. Se demostró una alta capacidad del MC para unir hierro, y mediante FTIR se evidenció que dicho mineral se une a los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos presentes en el MC. Por otro lado, se realizaron las digestiones gastroduodenales *in vitro* de emulsiones aceite/agua y se observó una liberación de ácidos grasos significativamente menor en una emulsión estabilizada por MC comparada con una emulsión control estabilizada por proteína. Posteriormente, mediante la determinación de tamaño de partícula y turbidez, se comprobó que el MC interacciona con las sales biliares, lo que impediría o limitaría la migración de éstas a la interfase, reduciendo así su eficiencia en el proceso de lipólisis. Por último, se utilizó el MC unido a hierro para fortificar una bebida, y se evaluó la estabilidad físico-química de la misma y su aceptabilidad sensorial.

Los resultados de este trabajo revelan que, además de utilizar al MC por sus propiedades tecnofuncionales, también podría emplearse para aplicaciones innovadoras como el diseño de alimentos funcionales con beneficios para la salud. Al explorar estos aspectos, se espera que el MC se consolide como un ingrediente clave en la formulación de alimentos saludables y funcionales, respondiendo a la creciente demanda de los consumidores por opciones más naturales, sustentables y beneficiosas para la salud.

Palabras claves: mucílago de chía, ultrasonido de alta intensidad, homogenización a alta presión, estabilidad de emulsiones y espumas, interacciones, lipólisis, capacidad de ligar hierro, alimentos funcionales.

Ultrasound-assisted extraction and modification of chia mucilage for the design of functional beverages with health benefits

Chia mucilage (CM), which is exuded from chia seeds when immersed in water, has great potential as a thickener in the food industry, and a high fiber content. However, its application remains limited due to its strong adhesion to the seed makes it difficult to separate. The objective of this thesis was to optimize the extraction of CM using high intensity ultrasound (HIUS), modify its structure by high pressure homogenization (HPH), and evaluate potential health benefits for use in functional beverage design.

As a result of the optimization, a higher extraction yield was obtained at lower times and temperatures than those used by other authors. It could be attributed to the use of HIUS, which allowed a more efficient extraction, and it was demonstrated that it is possible to modulate CM viscosity based on the extraction conditions used, since varying the seed:water ratio allowed obtaining different volume ratios of translucent phase/opaque phase.

In a second stage of the work, two CMs with different viscosities were selected and their physical-chemical, and technofunctional characterization was performed. Subsequently, an HPH treatment was applied to modify their structure, and the modified CMs were also characterized. The homogenization process resulted in a significant reduction in viscosity compared to the CMs without HPH treatment, which was related to the reduction in particle size and molecular weight caused by this treatment. On the other hand, CM showed good emulsion-forming and stabilizing properties; however, it did not exhibit good foam-forming properties, but it did stabilize protein foams, especially at low pH levels, where protein-CM interaction was observed.

Finally, the health benefits of MC were assessed. In particular, its ability to bind iron and alter fatty acid release during gastroduodenal lipid digestion was evaluated. CM demonstrated a high iron-binding capacity, verified by the alteration of FTIR profile, which evidenced iron binding to the carboxylic groups of the uronic acids present in CM. Furthermore, *in vitro* gastroduodenal digestions of oil-in-water emulsions were performed, and CM-stabilized emulsions released significantly fewer fatty acids than a protein-stabilized control emulsion. After that, by determining particle size and turbidity, it was found that CM interacts with bile salts (BS), which would prevent or limit the migration of BS to the interface, thus reducing their efficiency in the lipolysis process. Finally, iron-bound CM was used to fortify a beverage, and its physical-chemical stability and sensory acceptability were evaluated.

The results of this work reveal that, in addition to utilizing CM for its technofunctional properties, it could also be used for innovative applications such as the design of functional foods with health

benefits. By exploring these aspects, it is hoped that CM will consolidate its position as a key ingredient in the formulation of healthy and functional foods, responding to the growing consumer demand for more natural, sustainable, and health-promoting options.

Keywords: chia mucilage, high-intensity ultrasound, high-pressure homogenization, emulsions and foams stability, interactions, lipolysis, iron binding, functional foods.

Agradecimientos

A la Dra. María Julia Martínez y a la Dra. Rocío Morales, mis directoras, por su acompañamiento incondicional a lo largo de toda esta etapa. Por haberme guiado con compromiso y generosidad en cada instancia del trabajo experimental, en la escritura, en la preparación de congresos y en cada desafío que se presentó en este camino. Gracias por compartir no solo sus conocimientos, sino también por brindarme su apoyo y confianza, tanto en lo profesional como en lo personal. Su presencia constante fue clave para que esto fuera posible y profundamente enriquecedor.

A la Dra. Ana Pilosof, por aceptarme en su grupo de trabajo y, fundamentalmente, por ser parte de la etapa inicial de esta tesis. Gracias por compartir siempre sus conocimientos con tanta dedicación.

A la Dra. Natalia Sosa, por los valiosos aportes durante mi estancia en el ICTAER y, especialmente, por abrirme nuevamente las puertas de su grupo de trabajo.

A mis compañeros del ITAPROQ y del ICTAER, por su colaboración en distintas etapas de este trabajo. Con ustedes compartí no solo tareas científicas, sino también muchos momentos que atesoro profundamente: cumpleaños, cenas, almuerzos, salidas y charlas que me dejan un sinfín de frases y palabras que llevo grabadas: “nosotros y los otros”, “basurín”, “media tarde”, “sola”, “budín de naranja”, “los del interior somos importados”, “arepas”, “rey del once”, “farináceos”, entre tantas otras. Gracias por tanto cariño y aguante. Team Chía en mi corazón.

A mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional desde siempre. A mis suegros y cuñada, por estar presentes en este camino.

A Javi, en especial, por estar a mi lado en cada etapa de esta tesis, por su amor, paciencia y por saber sostenerme con una palabra justa, un abrazo o simplemente con su compañía. Gracias por escucharme cuando necesitaba desahogarme, por celebrar

conmigo cada logro y por bancar mis tiempos. Esta tesis también es un poco tuya. Anny y Bunny, mis compañeras de cuatro patas, que, con su cariño incondicional, sus siestas a mi lado mientras escribía y su alegría cotidiana, hicieron que los días largos fueran más livianos y que nunca afloje.

A mis amigos, por estar siempre y darme el empujón justo en cada momento que lo necesité.

A los docentes del Departamento de Industrias que participaron de mi formación académica durante estos años de doctorado. Y a todos los integrantes del Departamento –becarios, docentes y no docentes– con quienes compartí este recorrido y que, de diversas maneras, contribuyeron a mis tareas de investigación y docencia.

A la Dra. María Edith Farías y a la Dra. Karina Loria, de la Universidad de Luján, por el apoyo técnico brindado para la realización de las mediciones de FTIR.

Y, con una mención especial, al CONICET por haberme otorgado la beca que hizo posible la realización de este trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN **1**
1. Cultivo de chía y región de cultivo 3
2. Semilla de chía 4
2.1. Composición química y nutricional de la semilla de chía 4
3. Mucílago de chía 6
3.1. Composición y estructura del mucílago 6
3.2. Métodos de extracción del mucílago de chía 8
3.3. Propiedades funcionales y tecnológicas 10
3.3.1. Capacidad de absorción y retención de agua 11
3.3.2. Propiedades reológicas 11
3.3.3. Propiedad emulsionante 12
3.3.4. Propiedad espumante 17
4. Usos del mucílago de chía 22
5. Modificación física del mucílago de chía 24
6. Efecto del mucílago de chía sobre la salud 26
7. Bibliografía 35

OBJETIVOS **49**
MATERIALES Y MÉTODOS **51**
1. Materiales 52
1.1. Semillas de chía 52
1.2. Proteínas 52
1.3. Goma xántica y goma guar 52
2. Métodos 52
2.1. Optimización de la extracción 52
2.1.1.Extracción del mucílago de chía 52
2.1.2.Diseño experimental 55
2.1.3.Análisis del diseño experimental 57
2.1.4.Validación del diseño experimental 59
2.1.5.Preparación de soluciones 59
2.2. Modificación física del mucílago de chía por homogeneización a altas presiones 60

2.3. Caracterización fisicoquímica del mucílago de chía 61
2.3.1.Composición proximal 61
2.3.2.Peso molecular 62
2.3.3.Tamaño de partícula 62
2.3.4.Potencial zeta 64
2.3.5.Microestructura 66
2.3.6.Espectroscpía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) 67
2.4. Caracterización de propiedades tecnológicas del mucílago de chía 67
2.4.1.Propiedades reológicas 67
2.4.2.Capacidad de absorción de agua 67
2.4.3.Capacidad de retención de agua 68
2.4.4.Propiedades interfaciales aire:agua 69
2.4.5.Propiedades espumantes 71
2.4.6.Propiedades emulsionantes 72
2.5. Evaluación de propiedades funcionales-biológicas del mucílago de chía 77
2.5.1.Evaluación de la capacidad del mucílago de chía para modular la digestión de lípidos 77
2.5.2.Interacción con las sales biliares 80
2.5.3.Capacidad del mucílago de chía para unir hierro 81
2.6. Aplicación del mucílago de chía en una bebida 82
2.6.1.Preparación del jugo 83
2.6.2.Estabilidad de la bebida a lo largo del tiempo 83
2.6.3.Análisis sensorial 85
2.7. Análisis estadístico 88
3. Bibliografía 88

CAPÍTULO I 92

1. Optimización de la extracción del mucílago de chía mediante el uso de ultrasonidos de alta intensidad 92

1.1. Evaluación preliminar del uso de ultrasonidos de alta intensidad para la extracción del mucílago de chía 94
1.2. Diseño experimental y ajuste del modelo 99
1.2.1.Diseño experimental 99
1.2.2.Ajuste del modelo 101
1.3. Optimización de la extracción 112
1.3.1.Optimización del rendimiento 112
1.3.2.Optimización de la relación FT/FO 114

1.3.3.Optimización de la viscosidad aparente 116
1.4. Validación de la red 117
1.5. Función de deseabilidad para rendimiento y viscosidad aparente 118
1.5.1.Condiciones para alcanzar máximo rendimiento y mínima viscosidad aparente 119
1.5.2.Condiciones para alcanzar máximo rendimiento y máxima viscosidad aparente 114
1.3.3.Optimización de la viscosidad aparente 120
1.6. Conclusiones 121
1.6. Bibliografía 123

CAPÍTULO II 126
2. Caracterización fiscoquímica y propiedades tecnológicas del mucílago de chía: efecto del HPH 126
2.1. Modificación física del mucílago de chía por homogeneización a altas presiones 128
2.2. Caracterización fisicoquímica del mucílago de chía 130
2.2.1.Composición proximal 130
2.2.2.Peso molecular 131
2.2.3.Tamaño de partícula 132
2.2.4.Microestructura 134
2.2.5.Potencial zeta 135
2.2.6.FTIR 137
2.3. Caracterización tecnológica del mucílago de chía 139
2.3.1.Propiedaes reológicas 139
2.3.2.Capacidad de absorción de agua 142
2.3.3.Capacidad de retención de agua 143
2.3.4.Propiedades espumantes 144
2.3.5.Capacidad emulsionante 173
2.4. Conclusiones 194
2.6. Bibliografía 196

CAPÍTULO III 203
3. Impacto del mucílago de chía en la salud 203
3.1. Rol del mucílago de chía en la digestión de lípidos 205
3.1.1.Evaluación de la capacidad del mucílago de chía para digerir lípidos emulsionados 205

3.1.2.Interacción del mucílago de chía con las sales biliares 212
3.1.3.Modelo propuesto para la reacción de lipólisis 226
3.2. Estudio de la aptitud del mucílago de chía como carrier de hierro 228
3.2.1.Capacidad de unión de hierro 228
3.2.2.Interacción del mucílago de chía con hierro..... 232
3.2.3.Modelo estructural del complejo formado por el mucílago de chía y el hierro 238
3.3. Conclusiones..... 239
3.4. Bibliografía 242

CAPÍTULO IV..... **252**
4. Uso del mucílago de chía como vehículo de hierro para la fortificación de jugo de naranja..... **252**
4.1. Estabilidad en el tiempo de jugos de naranja..... 254
4.1.1.Parámetros fisicoquímicos de los jugos de naranja en el tiempo 254
4.1.2.Parámetros cromáticos de los jugos de naranja en el tiempo 257
4.1.3.Cinética de reacción y tiempo de deterioro..... 262
4.2. Análisis sensorial de jugos de naranja 265
4.2.1.Prueba de intensidad y preferencia de atributos sensoriales 265
4.2.2.Prueba de satisfacción global 271
4.2.3.Prueba de comparaciones múltiples y de preferencia 272
4.3. Conclusiones..... 276
4.4. Bibliografía 277

CONCLUSIONES GENERALES **280**
ANEXOS..... **283**

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica L*.) es una planta anual perteneciente a la familia de las *Lamiaceae*, nativa de Mesoamérica, donde fue cultivada y utilizada por civilizaciones precolombinas como los aztecas y los mayas. Las semillas de chía comenzaron a ser utilizadas en la alimentación humana alrededor del 3500 a.C. y adquirieron importancia como cultivo básico en el centro de México entre 1500 y 900 a.C. (Cahill, 2003; Sosa et al., 2016). La palabra "chía" proviene del náhuatl, el idioma de los aztecas, y significa "fuerza", lo cual refleja perfectamente las propiedades energéticas y nutritivas de estas pequeñas semillas, que eran utilizadas por aztecas y mayas para la preparación de varios medicamentos, alimentos y pinturas. Fue uno de los principales cultivos de las sociedades precolombinas, superado sólo por el maíz y los porotos. Se consumían como alimento, pero también se prensaban para extraer su aceite, que formaba la base de pinturas para el rostro y el cuerpo. Los aztecas recibían semillas de chía como tributos anuales de los pueblos bajo su dominio, y se usaban como ofrenda a los dioses en ceremonias religiosas (Beltrán Orozco y Romero, 2003).

Estudios recientes han ayudado a explicar por qué las antiguas civilizaciones consideraban la chía un componente básico de su dieta. La composición química de la semilla y su valor nutricional le otorgan un gran potencial para la comercialización, y los avances tecnológicos han creado una excelente oportunidad para establecer una industria agrícola completamente capaz de ofrecer al mundo un cultivo nuevo y antiguo al mismo tiempo (Ayerza y Coates, 2005; Scheer, 2001; Sosa et al., 2016).

En los últimos años, la chía ha ganado popularidad mundial debido a sus excepcionales propiedades nutricionales y sus múltiples beneficios para la salud. La semilla de chía es rica en ácidos grasos omega-3, antioxidantes, proteínas y fibra dietética, lo que la ha convertido en un superalimento de gran demanda en la industria alimentaria y de suplementos dietéticos.

El interés científico en la chía ha llevado a la investigación de sus componentes bioactivos, en particular el mucílago de chía, una sustancia hidrocoloidal que se extrae de las semillas. Este mucílago tiene propiedades funcionales y tecnológicas que lo hacen atractivo para diversas aplicaciones industriales, especialmente en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Esta investigación se centra en el estudio del mucílago de chía, sus métodos de extracción, su caracterización físicoquímica y tecnofuncional, su modificación, y sus efectos sobre la salud humana, con un enfoque especial en el mucílago de chía como carrier de hierro y también su rol en la lipólisis.

1. Cultivo de chía y región de cultivo

La chía (*Salvia hispanica L.*) es una hierba anual que florece durante los meses de verano. Es una planta herbácea o arbustiva de hasta 1-2 m de altura; con hojas opuestas, pecioladas y dentadas que miden de 4 a 8 cm de largo y de 3 a 5 cm de ancho (**Figura 1**). Las flores son hermafroditas y crecen en numerosos racimos en una espiga protegida por pequeñas brácteas con puntas largas y puntiagudas (Ayerza y Coates, 2005; USDA, 2008).



Figura 1. Cultivo de chía

La chía ha sido cultivada desde tiempos precolombinos en regiones que hoy corresponden al centro y sur de México, Guatemala, El Salvador y Nicaragua. En las últimas décadas, el cultivo de chía ha resurgido y se ha extendido a otras partes del mundo debido a la creciente demanda de alimentos saludables y funcionales. En 1991, un grupo de productores, científicos y entidades comerciales, asociados en el Proyecto Regional del Noroeste Argentino, retomaron el cultivo de chía a pequeña escala (Ayerza y Coates, 2005; Coates y Ayerza, 1996; Muñoz et al., 2012). En la actualidad, los principales países productores de chía son Paraguay, Holanda, China, México, Bolivia y Australia. Paraguay lidera tanto la producción como la exportación mundial, con envíos a más de 70 países; entre enero y mayo de 2024 Paraguay exportó 17.145.161 toneladas (Infonegocios, 2025). México, con estados como Jalisco al frente, se ubica entre los principales productores de semillas de chía a nivel mundial, mientras que Bolivia ha logrado exportar a más de 60 países y recientemente abrió el mercado chino, alcanzando 22.635 hectáreas con un volumen de producción de 11.544 toneladas a partir de

2024 (Mordor Intelligence, 2025). En Argentina, el cultivo de chía se concentra en el Noroeste Argentino, especialmente en las provincias de Salta, Tucumán, Catamarca y Jujuy, donde las condiciones agroclimáticas son favorables. La superficie cultivada con chía a escala nacional se mantiene relativamente baja, alcanzando aproximadamente 40.000 hectáreas en la actualidad; sin embargo, ha ido aumentando con el correr de los años (Ministerio de Economía Agricultura, 2024). El consumo de chía en el país está estrechamente vinculado al aumento de la conciencia en torno a la salud y el bienestar. Esta mayor preocupación por una alimentación saludable ha favorecido la inclusión de semillas de chía en la dieta cotidiana, así como en productos funcionales y bebidas, gracias a su alto valor nutricional, especialmente por su contenido de ácidos grasos omega-3, fibra y compuestos antioxidantes.

Se proyecta que el mercado sudamericano de semillas de chía alcanzará un valor de USD 108,3 millones en 2025, con expectativas de crecimiento hasta los USD 189,67 millones en 2030. Esto representa una tasa de crecimiento anual compuesta del 11,86 % para el período 2025-2030 (Mordor Intelligence, 2025). La región se destaca a nivel global por su intensa actividad productiva y exportadora, favorecida por condiciones climáticas propicias y una producción a gran escala. Entre los principales impulsores del crecimiento se encuentran el aumento en la demanda de alimentos veganos ricos en proteínas, la incorporación creciente de semillas de chía en la formulación de productos alimentarios, y su uso cada vez más extendido en la alimentación animal. Además, la capacidad de la chía para tolerar condiciones de sequía la posiciona como un cultivo estratégico para las zonas con baja disponibilidad hídrica en América del Sur (Mordor Intelligence, 2025).

2. Semilla de chía

2.1. Composición química y nutricional de la semilla de chía

Las semillas de chía (**Figura 2**) son monospérmicas, ovales y el tamaño es de 1,5–2 mm de longitud y 1–1,2 mm de diámetro medio; son suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares castaño oscuro, en su mayoría y, en menor proporción, blanquecinas (Busilacchi et al., 2013). Son conocidas por su excepcional perfil nutricional, contienen altos niveles de ácidos grasos omega-3 (60 %) y omega-6 (15 %); la proporción de omega-3 a omega-6 en las semillas de chía es aproximadamente 3:1. El aceite de chía, rico en ácido alfa-linolénico, podría ser una fuente alternativa de ácidos grasos omega-3 para vegetarianos y personas alérgicas al pescado y sus subproductos. Además, son una fuente rica de proteínas

de alta calidad (19 %), con aminoácidos esenciales (arginina, leucina, isoleucina, fenilalanina y lisina son los mayoritarios) necesarios para el cuerpo humano (Muñoz et al., 2012).



Figura 2. Semillas de chía.

Un componente clave de las semillas de chía es su alto contenido de fibra dietética (30 %), que se divide en fibra soluble e insoluble. La fibra soluble, principalmente en forma de mucílago, contribuye a la formación de una solución viscosa cuando las semillas se mezclan con agua. El contenido de fibra de la semilla de chía corresponde a un polisacárido con un alto peso molecular (0,8–2 × 10^6 Da) (Lin et al., 1994; Muñoz et al., 2012). En 1996, la FAO la identificó como una posible fuente de goma de polisacárido debido a sus extraordinarias propiedades mucilaginosas a bajas concentraciones en soluciones acuosas (Hulse, 1996).

Además de ácidos grasos y fibra, las semillas de chía contienen antioxidantes como el ácido clorogénico y el ácido cafeico, así como minerales esenciales como calcio, magnesio y hierro. Estos nutrientes contribuyen a la salud ósea, la función muscular y la prevención de enfermedades crónicas (Muñoz et al., 2012; Martínez-Cruz y Paredes-López, 2014).

En 2009, la chía fue reconocida como un alimento novedoso por el Parlamento Europeo y el Consejo Europeo (Commission, 2009). No existe evidencia de efectos negativos o alergias relacionadas con el consumo de semillas de chía enteras o molidas (EFSA, 2005, 2009), esto ha abierto la posibilidad de utilizar la chía y sus derivados como harina, mucílago o concentrados proteicos, en diversas aplicaciones alimentarias (Muñoz et al., 2012).

En Argentina, el Código Alimentario Argentino (CAA) permite el uso de semillas de chía (*Salvia hispanica L.*) como ingrediente alimentario, regulando su calidad, identidad y condiciones de comercialización. La harina de chía está contemplada como subproducto autorizado y se

cataloga como fuente vegetal de fibra. Dado que el mucílago de chía no se encontraba específicamente legislado, nuestro grupo de trabajo impulsó el inicio del trámite correspondiente para su incorporación formal al CAA, que dio como resultado su incorporación tal como se detallará más adelante.

Las propiedades físicas de las semillas de chía, como su capacidad para absorber y retener agua, las hacen únicas. Esta capacidad espesante es atribuida al mucílago de chía, que es un polisacárido soluble en agua. Según estudios de Capitani et al. (2012), el mucílago de chía tiene propiedades reológicas que lo hacen útil como agente espesante y estabilizante en alimentos.

3. Mucílago de Chía

3.1. Composición y Estructura del Mucílago

El mucílago de chía se localiza en las estructuras celulares de las tres primeras capas de la cubierta seminal (Muñoz et al., 2012). La capa de la semilla o testa tiene un grosor de 13 ± 0,41 µm y está compuesta por tres capas: una capa externa, formada por células rectangulares de paredes delgadas con tamaños de 4,2 ± 0,26 µm, donde presumiblemente se localiza el mucílago; una capa esclerótica de células largas y delgadas que se asemejan a fibras, y el endocarpio, una capa delgada e interna (**Figura 3**) (Muñoz et al., 2012).

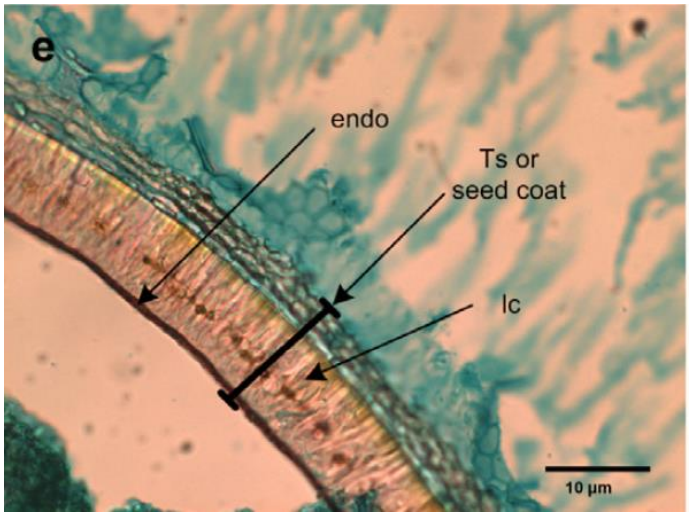


Figura 3. Cubierta de la semilla: se observan tres capas de células rectangulares que forman la cubierta; endo: corresponde a la capa del endocarpio; lc: capa de esclereidas. Fuente: Muñoz et al. (2012).

Esta conformación estructural sólo ha sido reportada en *Salvia hispanica* L. por Muñoz et al., (2012); sin embargo, se encontró una estructura similar en *Arabidopsis thaliana* (Beeckman,

2000). Cuando las semillas de chía se sumergen en agua se forma sobre la capa exterior de las mismas una película de gel firme, el mucílago, que está fuertemente unido a las semillas (**Figura 4**). Salgado-Cruz et al. (2013) estudiaron la microestructura del mucílago de la semilla de chía y reportaron que se excreta de las células poligonales de la capa de la epidermis, estando compuesta principalmente por fibras de carbohidratos.



Figura 4. Mucílago de chía.

El mucílago de chía es un polisacárido complejo compuesto principalmente por ácido galacturónico, ramnosa, galactosa y glucosa. En uno de los primeros estudios sobre el mucílago de chía, Lin et al. (1994) describieron la estructura del polisacárido como un tetrasacárido con residuos de 4-O-metil-α-D-glucuronopiranosilo que se ramifican desde una cadena principal de β-D-xilopiranosilo. A partir de una aplicación web (MolView) creamos la estructura química de la unidad del mucílago de chía, a partir de la descripción antes mencionada, y se muestra en la **Figura 5**.

Mediante hidrólisis ácida, se obtuvieron los monosacáridos β-D-xilosa, α-D-glucosa y 4-O-metil-α-D-glucurónico en una proporción de 2:1:1, respectivamente (Lin et al., 1994). Sin embargo, el mucílago de chía no es un polisacárido homogéneo. Se informó la presencia de dos fracciones de mucílago de chía después de la extracción (Brütsch et al., 2019; Tha Goh et al., 2016; Muñoz et al., 2012), una fracción soluble neutra (que tiene aproximadamente 35 % p/p del polisacárido presente en el mucílago) y una fracción insoluble gelificada y cargada negativamente (65 % p/p de polisacárido). La mayoría de los estudios utilizan sólo la fracción

de polisacárido soluble debido a la dificultad para separar la fracción gelificada fuertemente unida a las semillas.

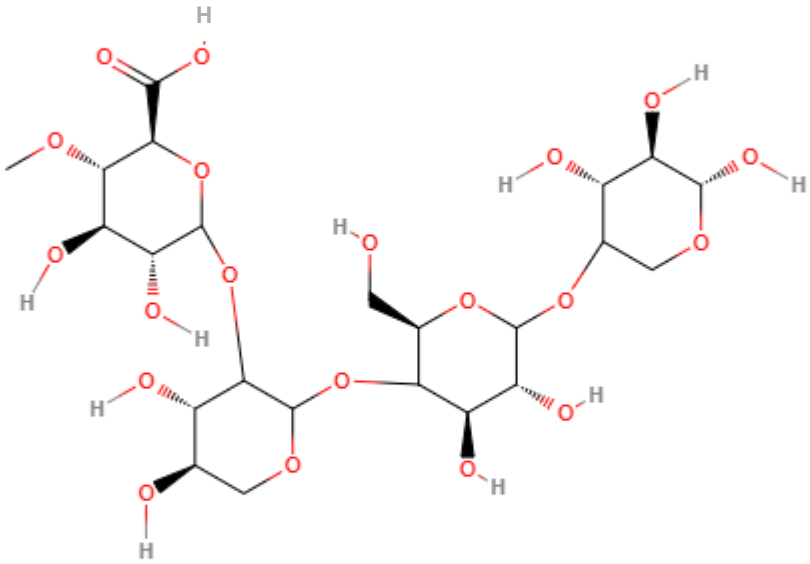


Figura 5. Estructuras químicas de la unidad del mucílago de chía, predicho por el software MolView (aplicación web).

3.2. Métodos de extracción del mucílago de chía

En la literatura se han reportado diferentes métodos de extracción del mucílago de semillas de chía, incluyendo varios pretratamientos, técnicas de agitación y diferentes relaciones semilla:agua, tiempos y temperaturas de remojo. Después de la hidratación de las semillas y la liberación del mucílago de chía, se han utilizado diferentes técnicas para separar las semillas de chía hidratadas y el mucílago, como por ejemplo la separación por centrifugación (Hussain et al., 2020), secado y liofilización (Campos et al., 2016; Coorey et al., 2014; Orifici et al., 2018), filtración industrial de alto vacío (Masuelli et al., 2018). Además, con el fin de optimizar las condiciones de extracción, se han utilizado algunos procesos más drásticos, como precipitación con etanol, ajuste de pH alcalino, urea, adición de sal, entre otros. Esto lleva a un rendimiento que varía de aproximadamente 5 a 7 % (Campos et al., 2016; Lin et al., 1994; Muñoz et al., 2012; Punia y Dhull, 2019; Tha Goh et al., 2016), alcanzando incluso 12,6% utilizando Soxhlet y métodos de extracción de fluidos supercríticos (Segura-Campos et al., 2014).

Además de los diferentes rendimientos reportados según las condiciones de extracción, también existen diferentes resultados en la literatura en cuanto a las propiedades

fisicoquímicas del mucílago de chía. De hecho, se han reportado discrepancias en la capacidad de absorción de agua (Segura-Campos et al., 2014; Fernandes y Mellado, 2018; Coorey et al., 2014). Por otro lado, muchos autores reportaron el efecto de las condiciones de extracción sobre la viscosidad del mucílago de chía, con resultados contradictorios. Hussain et al. (2020), reportaron un aumento en la viscosidad aparente del mucílago con el aumento de temperatura de extracción, contrario a lo encontrado por Campos et al. (2016). También estos autores estudiaron el efecto de la relación semilla:agua sobre la viscosidad aparente y reportaron una mayor viscosidad de un mucílago extraído con una relación semilla:agua 1:10 en comparación con otros extraídos con una relación menor (1:30) (Hussain et al., 2020). Campos et al. (2016) no encontraron un efecto relevante de la relación semilla:agua sobre la viscosidad aparente del mucílago. Estos diferentes resultados se han atribuido principalmente al método de extracción; pero las razones de estas diferencias aún no están claras.

Un método implementando en los últimos años para favorecer la obtención de diferentes compuestos es la extracción asistida con ultrasonidos de alta intensidad (USAI) (Chemat et al., 2017). Se ha empleado en la extracción de polisacáridos de las raíces de valeriana (Hromádková et al., 2002), *Salvia officinalis* (Hromádková et al., 1999), Piña coreana (Chen y Zhang, 2007), Lima (Toma et al., 2001), Azufaifo *Zyziphus* (Li et al., 2007), semillas de chía (Castejón et al., 2017), *Hyptis suaveolens* (Jiménez-Flores et al., 2005), mucílago de semillas de lino (Fabre et al., 2015), mutamba (*Guazuma ulmifolia* Lam.) (Pereira et al., 2020) y *Arabidopsis* (Zhao et al., 2017).

Garcia e Silva et al. (2022) también evaluaron la extracción del mucílago de semilla de chía mediante agitación mecánica y aplicación de ultrasonido, utilizando únicamente agua como disolvente, a temperatura ambiente y sin una etapa posterior de purificación. El uso de ultrasonido en la extracción del mucílago de chía es una técnica prometedora debido a su mayor eficiencia respecto a una extracción convencional.

El ultrasonido, con frecuencias superiores a 20 kHz, genera ondas mecánicas que provocan ciclos de compresión y rarefacción en un medio, lo que da lugar a la formación y colapso de burbujas de cavitación. Este fenómeno genera condiciones extremas (hasta 5000 K y 1000 atm) que aceleran reacciones bioquímicas. En la extracción asistida por ultrasonido (EAU), la cavitación acústica es el mecanismo principal; el colapso de las burbujas de cavitación y las ondas acústicas asociadas pueden inducir una variedad de efectos, tales como fragmentación celular, erosión localizada, formación de poros, fuerzas de corte, aumento en la absorción y

mayor índice de hinchamiento en la matriz vegetal. Las ondas de choque generadas por la implosión de las burbujas, junto con la colisión acelerada de partículas, provocan la fragmentación de las estructuras celulares. Esta rápida ruptura favorece la solubilización de los compuestos bioactivos, al reducir el tamaño de partícula, aumentar el área superficial y mejorar la transferencia de masa en la interfase sólido-líquido (Kumar et al., 2021).

El ultrasonido también causa daños localizados en los tejidos vegetales, un fenómeno conocido como erosión, atribuible a la implosión de las burbujas sobre las superficies celulares. Estas áreas erosionadas facilitan el contacto del disolvente con los tejidos, incrementando el rendimiento de la extracción. Asimismo, durante la cavitación se forman poros en las membranas celulares (proceso conocido como sonoporación) que permiten la liberación de los compuestos bioactivos (Kumar et al., 2021). La fuerza de corte y la turbulencia generadas por las burbujas colapsantes contribuyen adicionalmente a la ruptura de las paredes celulares y, por ende, a la liberación de los compuestos.

Además, el ultrasonido favorece la absorción de agua en el material vegetal, lo cual mejora su accesibilidad como disolvente para los compuestos objetivo, al tiempo que incrementa la difusividad de estos. También se observa un aumento en el índice de hinchamiento de la matriz vegetal, lo que facilita tanto la desorción como la difusión de los solutos, resultando en una extracción más eficiente. En definitiva, el incremento en el rendimiento de la EAU no se debe a un único mecanismo, sino a la acción sinérgica de todos estos procesos.

Por todo esto, la extracción asistida por ultrasonido podría aumentar significativamente el rendimiento de extracción del mucílago de chía, reduciendo el tiempo y el consumo de solventes.

3.3. Propiedades funcionales y tecnológicas

La estructura del mucílago de chía le confiere propiedades similares a las de otros hidrocoloides, presentando un gran potencial como ingrediente tecnofuncional en la industria alimentaria por sus propiedades nutricionales (alto contenido en fibra) y tecnológicas (alta capacidad de retención de agua y viscosidad, propiedades emulsionantes, estabilidad térmica, mejorador de textura y estabilidad de diversos productos) (Campos et al., 2016; Punia y Dhull, 2019; Zettel y Hitzmann, 2018; Capitani et al., 2012).

3.3.1. Capacidad de absorción y retención de agua

La capacidad de absorción de agua (WAC, por sus siglas en inglés), es la capacidad de un material para captar agua en su estructura al entrar en contacto con ella, sin necesidad de aplicar fuerza externa. Refleja la habilidad del ingrediente para hidratarse y aumentar su peso o volumen al absorber agua. Esta propiedad depende de la porosidad, composición química (presencia de grupos hidrofílicos), y el grado de hinchamiento del material. Se expresa comúnmente como gramos de agua absorbidos por gramo de muestra seca (g/g). Para el mucílago de chía se han reportado valores de WAC de 21,0 g de agua/g de mucílago (Muñoz et al., 2012), 11,7 g/g (Alfredo et al., 2009) y 16,8 g/g (García-Salcedo et al., 2018).

La capacidad de retención de agua (WHC, por sus siglas en inglés) es la capacidad del material para retener el agua absorbida en su matriz tras ser sometido a una fuerza externa, como centrifugación o presión. Indica la fuerza con la que el agua queda atrapada en la red del biopolímero o fibra, lo que es relevante para la estabilidad de alimentos, textura y jugosidad. También se expresa como gramos de agua retenidos por gramo de muestra después de aplicar una fuerza externa (g/g). Debido a las diferentes condiciones de determinación (tiempo y fuerza aplicada) existen valores muy diversos de WHC para el mucílago de chía en la bibliografía, según la metodología utilizada.

3.3.2. Propiedades reológicas

El mucílago de chía presenta propiedades reológicas destacadas que lo posicionan como un hidrocoloide natural de interés para la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. Su comportamiento en solución acuosa depende fuertemente de la concentración, el pH, la temperatura y los tratamientos físicoquímicos aplicados durante su extracción y procesamiento (Capitani et al., 2012; Hussain et al., 2020; Muñoz et al., 2012; Timilsena et al., 2016).

A bajas concentraciones, el mucílago de chía puede exhibir un comportamiento newtoniano o ligeramente pseudoplástico. Sin embargo, a concentraciones superiores, el sistema presenta un marcado comportamiento pseudoplástico, caracterizado por la disminución de la viscosidad aparente con el aumento de la velocidad de corte (Brütsch et al., 2019; Hussain et al., 2020; Tavares et al., 2018). Este comportamiento se atribuye a la presencia de polisacáridos de alto peso molecular capaces de formar estructuras organizadas en solución.

La viscosidad aparente del mucílago varía ampliamente según la concentración y el tratamiento aplicado. En términos viscoelásticos, el mucílago de chía se comporta como un gel débil (Tavares et al., 2018; Brütsch et al., 2019). En el análisis de barrido de frecuencia, el módulo de almacenamiento (G') es consistentemente mayor que el módulo de pérdida (G''), lo que indica una dominancia del carácter elástico sobre el viscoso. Esta relación se mantiene relativamente constante en un amplio rango de frecuencias, lo cual es indicativo de una red estructural estable en solución.

3.3.3. Propiedad emulsionante

Se puede definir a una emulsión como un sistema coloidal consistente en, al menos, un líquido íntimamente disperso en forma de gotas (fase dispersa), en el seno de otro inmiscible con él (fase continua) (Angelo, 1989; Khan et al., 2006; Mason et al., 2006; McClements, 2015).

Las emulsiones se pueden clasificar según la naturaleza de las fases que las componen. Un sistema que consiste en gotas de aceite dispersas en un medio acuoso continuo se denomina emulsión aceite en agua (O/W, por sus siglas en inglés), como es el caso de la leche, cremas, algunas bebidas, mayonesas y salsas. Por otro lado, si la emulsión consiste en gotas de agua dispersas en un medio oleoso continuo, se denomina emulsión agua en aceite (W/O, por sus siglas en inglés), como ocurre en productos como la margarina o la manteca (McClements, 2015).

El proceso de convertir dos líquidos inmiscibles en una emulsión se denomina homogeneización (McClements, 2015). Según el proceso involucrado en la obtención de una emulsión, la homogeneización se clasifica en dos categorías: la homogeneización primaria, que consiste en crear una emulsión a partir de dos fases líquidas separadas; y la homogeneización secundaria, que se refiere al proceso de reducir el tamaño de las gotas en una emulsión ya existente o pre-emulsión (**Figura 6**).

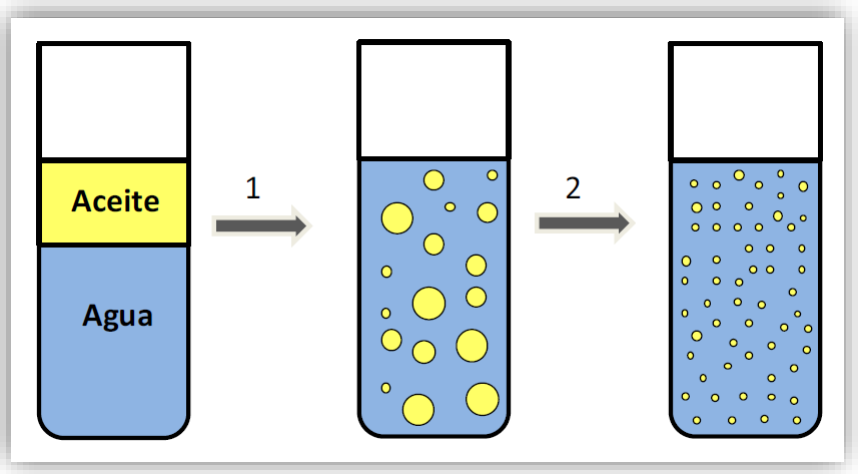


Figura 6. Proceso de homogeneización para una emulsión aceite/agua (O/W): Homogeneización primaria (1), Homogeneización secundaria (2). Fuente: Bellesi (2016).

3.3.3.1. Estabilidad de las emulsiones

La incapacidad de las moléculas de aceite para formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua hace que la mezcla de aceite y agua sea muy desfavorable desde el punto de vista energético (McClements, 2015). Por ello, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y tienden a la separación de sus fases con el tiempo. Sin embargo, existen moléculas que tienen afinidad por ambas fases y al ubicarse en la interfase entre el agua y el aceite permiten mantener estos sistemas estables durante un tiempo. Esas moléculas, que pueden ser proteínas, polisacáridos o surfactantes de bajo peso molecular (polisorbatos, fosfolípidos), se denominan emulsionantes y poseen estructuras moleculares con zonas hidrófilas e hidrófobas. Los grupos hidrofílicos se orientan hacia la fase acuosa, mientras que los grupos hidrófobos se dirigen hacia la fase oleosa, lo que ayuda a reducir la inestabilidad termodinámica (minimizar la energía libre) del sistema (**Figura 7**) (Dickinson, 1986; McClements, 2015).

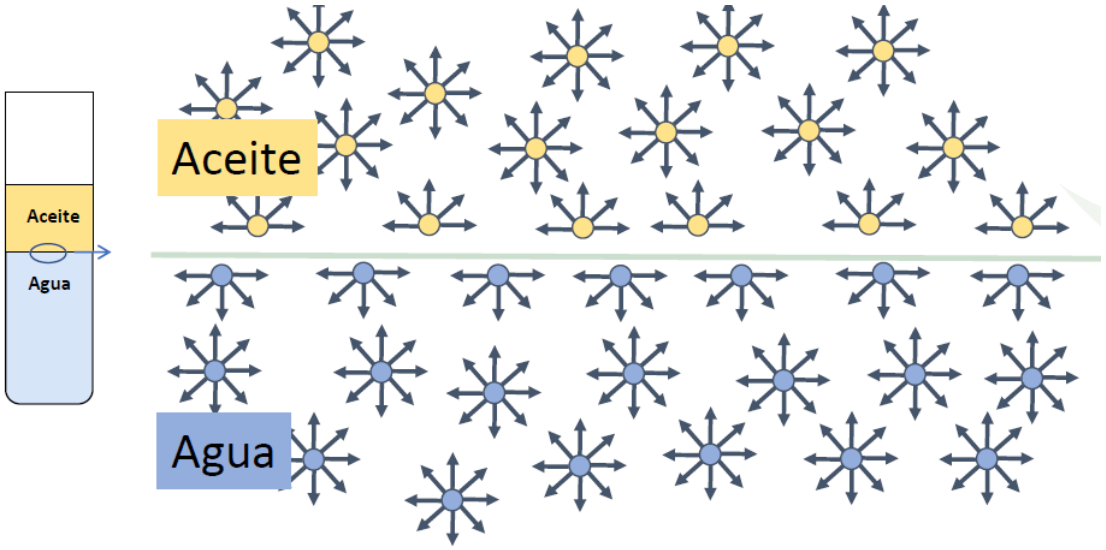


Figura 7. Origen de la tensión interfacial (γ). En el seno del líquido las atracciones son simétricas, mientras que en la interfase existe una atracción hacia el seno del líquido.

Sin embargo, lenta o rápidamente la desestabilización ocurrirá igual. Si la velocidad a la cual ocurre la separación de sus fases es lenta y la emulsión no presenta modificaciones significativas dentro del intervalo de tiempo considerado, se puede decir que el coloide es estable desde un punto de vista cinético, aunque no lo sea desde el punto de vista termodinámico. La razón por la cual las emulsiones pueden mantenerse en un estado cinéticamente estable (o metaestable) se debe a la existencia de una energía de activación (ΔG*) que debe superarse para alcanzar la separación completa de las fases. Este estado de separación total representaría el equilibrio termodinámico más estable, donde el área interfacial es mínima.

Desde el momento en que se forma una emulsión, comienza el proceso de desestabilización, el cual tiende a reducir el área interfacial y alcanzar el estado termodinámico más estable, es decir, la separación de las fases. Diversos mecanismos contribuyen a esta desestabilización, incluyendo la diferencia de densidad entre las fases continua y dispersa, las interacciones entre las gotas y la estructura y elasticidad del film interfacial (McClements, 2015). Al dejar reposar una emulsión por algún tiempo, las gotas se agregan pasando primero por el estado conocido como floculación para luego producir la coalescencia y, por último, la separación de dos fases inmiscibles y diferenciables. A continuación, se describen los principales mecanismos de desestabilización física que ocurren en las emulsiones alimentarias (**Figura 8**).

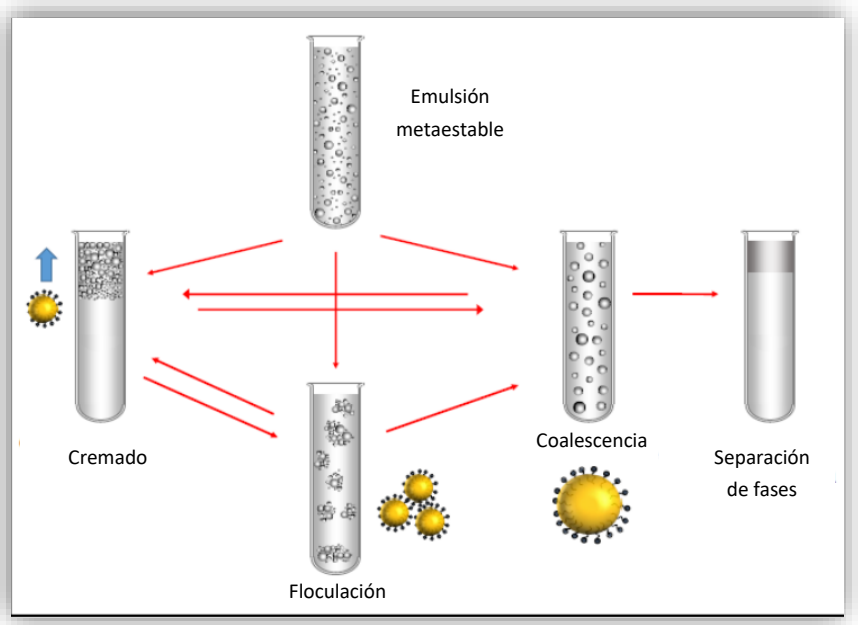


Figura 8. Mecanismos de desestabilización de emulsiones.
Fuente: McClements y Jafari (2018).

Cremado y **sedimentación**: el cremado es un fenómeno que ocurre en emulsiones aceite en agua (O/W) debido a que el aceite tiene una densidad menor que el agua. En el cremado, las gotas de aceite se desplazan hacia arriba, formando una fase superior o crema, que está enriquecida en gotas de aceite. A medida que las gotas ascienden, se crea una fase inferior o suero, que está empobrecida en gotas de aceite. Mientras que, la sedimentación es un fenómeno que se observa en emulsiones agua en aceite (W/O), donde el agua tiene una densidad mayor que el aceite. En la sedimentación, las gotas de agua se mueven hacia abajo, formando una fase inferior rica en gotas de agua, mientras que la fase superior queda empobrecida en gotas de agua. Tanto la sedimentación, como el cremado, se produce debido a la diferencia de densidad entre las fases continua y dispersa.

La **floculación** y la **coalescencia** son mecanismos de desestabilización que resultan de la agregación entre gotas. En la floculación, las gotas se agrupan pero mantienen su integridad individual. Implica que las gotas se unen formando grupos o flóculos, sin que las gotas individuales se fusionen. A diferencia de la floculación, en la coalescencia, las gotas se fusionan para formar gotas de mayor tamaño. Este proceso conlleva la ruptura de la película interfacial entre las gotas. Si la coalescencia ocurre extensamente, puede resultar en la formación de una capa de aceite libre en la parte superior de la emulsión (Friberg, 1997).

La **inversión de fase** es un proceso en el que una emulsión cambia de una estructura aceite en agua (O/W) a una estructura agua en aceite (W/O), o viceversa. Este mecanismo de desestabilización es crucial en la fabricación de productos alimenticios como la margarina y la manteca (McClements, 2015).

La **desproporción de Ostwald** ocurre debido al transporte difusivo de la fase dispersa desde las gotas más pequeñas hacia las más grandes, lo que resulta en el crecimiento de las gotas grandes a expensas de las pequeñas. Sin embargo, en emulsiones de aceite en agua, la insolubilidad del aceite en la fase acuosa impide este transporte difusional. Por lo tanto, este mecanismo es más relevante en otros sistemas dispersos, como las espumas, donde el gas en las burbujas puede difundir a través de la fase líquida (Friberg, 1997; McClements, 2015).

Los mecanismos de desestabilización no ocurren de manera aislada; una emulsión puede desestabilizarse simultáneamente por varios mecanismos. La combinación de factores como la viscosidad de la fase continua, el tipo y concentración del agente emulsificante, la adición de otros componentes, el pH y la aplicación de tratamientos como trabajo mecánico, ciclos de temperatura y congelación puede influir en la estabilidad de la emulsión.

3.3.3.2. Mucílago de chía como agente emulsionante o estabilizante de emulsiones

El mucílago de chía ha sido ampliamente investigado por su capacidad como emulsionante o estabilizante de emulsiones, especialmente en sistemas alimentarios. Timilsena et al. (2016) evaluaron la capacidad del mucílago de chía para estabilizar emulsiones O/W, demostrando que puede formar emulsiones estables a bajas concentraciones, mejorando la estabilidad con el aumento de la concentración. Fernandes y Salas-Mellado (2017) reportaron que la pequeña fracción lipídica presente en el mucílago de chía podría favorecer sus propiedades estabilizantes en sistemas emulsionados. Gracias a la viscosidad que aporta al sistema, contribuye a la formación de una red que reduce el movimiento de las gotas de aceite, su colisión y coalescencia. De esta manera el mucílago de chía se presenta como buen sustituto, parcial o total, de grasa en productos lácteos con alto contenido graso (como helados y yogures), así como en salsas tipo mayonesa.

En los productos cárnicos, la grasa cumple un rol fundamental en sus propiedades reológicas, estructurales y de ligazón, especialmente en productos emulsionados como las salchichas. Además, la grasa contribuye a la textura, capacidad de retención de agua y estabilización de las redes de geles proteicos, afectando directamente la estabilidad de la emulsión (Chiang

et al., 2021). Por ello, su reformulación con menor contenido graso representa un desafío tecnológico. En este contexto, Câmara et al. (2020) evaluaron el uso de geles de mucílago de chía para sustituir el 50 % de la grasa dorsal de cerdo en emulsiones cárnicas. Los resultados mostraron que ni la reducción de grasa ni la incorporación de mucílago de chía afectaron negativamente la exudación de grasa o agua. Esto puede explicarse debido a que el mucílago de chía puede producir dispersiones altamente viscosas a bajas concentraciones (Muñoz et al., 2012), lo que lo hace valioso para estabilizar productos cárnicos emulsionados con contenido reducido de grasa a través de la formación de gel o el espesamiento de la fase continua, lo que resulta en emulsiones más estables (Capitani et al., 2016).

Todos estos resultados previos posicionan al mucílago de chía con un gran potencial como estabilizante natural de emulsiones alimentarias, como se dijo anteriormente, gracias a la capacidad para aumentar la viscosidad del medio ayudando a mantener la mezcla estable y homogénea por más tiempo. De ahí, nuestro interés en estudiar las propiedades emulsionantes y, sobre todo, el efecto que tiene la presencia del mucílago de chía en emulsiones sobre la lipólisis que ocurre durante la digestión gastrointestinal de las mismas.

Además, al ser un ingrediente de origen vegetal, resulta una alternativa atractiva para desarrollar productos más saludables y con etiquetas limpias. Su uso puede aplicarse en diversas formulaciones, desde productos lácteos hasta cárnicos y salsas, ofreciendo beneficios tanto tecnofuncionales como nutricionales.

3.3.4. Propiedad espumante

De manera similar a las emulsiones, técnicamente, se define a las espumas como sistemas coloidales termodinámicamente inestables, en los cuales una fase dispersa gaseosa es mantenida en una matriz continua, líquida o semisólida, debido a un agente con actividad interfacial (Dickinson, 1992; Kinsella, 1979).

El proceso de formación de una espuma implica la incorporación de gas en una solución que contiene un agente espumante (como proteínas, lípidos, o tensioactivos), creando así una nueva área interfacial. Esto da lugar a la formación de burbujas rodeadas por una película del agente espumante. Una espuma se puede generar mediante distintos métodos:

1. **Sobresaturación de un líquido con gas**

   a. Disolución de gas bajo presión, seguida de su liberación al reducir la presión (ejemplos: bebidas gaseosas, cerveza).

b. Formación de gas in situ (ejemplo: masas fermentadas).

2. **Métodos mecánicos**

   a. Inyección de gas a través de un orificio estrecho/dispersores (proceso conocido como burbujeo).

   b. Batido o agitación de una fase fluida o emulsión, formación de burbujas de aire mediante un abrupto movimiento del líquido, introduciendo una cantidad ilimitada de gas.

La inyección o burbujeo es preferido industrialmente, ya que permite un control de la proporción de gas en la espuma. El batido es usado comúnmente en preparaciones caseras o a nivel de laboratorio.

3.3.4.1. Estabilidad de espumas

La estabilidad de una espuma depende de varios factores, como la tensión superficial y la viscosidad de la fase continua, las propiedades de la película que rodea las burbujas, la distribución del tamaño de las burbujas, la temperatura, el movimiento al que se somete, y la naturaleza de la fase gaseosa dispersa. Los primeros tres factores están estrechamente relacionados con la naturaleza de los solutos presentes en la fase acuosa, como proteínas, azúcares, polisacáridos y sales. Para lograr espumas estables, el agente espumante debe cumplir simultáneamente dos funciones esenciales: ser tensioactivo y formar una película alrededor de las burbujas (Walstra, 1989; Xiangfang et al., 2023).

De manera similar que en las emulsiones, aunque las espumas también son termodinámicamente inestables o, en el mejor de los casos, metaestables, si la velocidad de desestabilización es lo suficientemente lenta en la escala de tiempo en la que se desea que el producto permanezca intacto, se puede considerar que es estable (Dickinson, 1999; McClements, 2015). Por lo tanto, es esencial definir el intervalo de tiempo durante el cual el alimento será utilizado para determinar su estabilidad.

La estabilidad de una espuma depende en gran medida del tamaño de las burbujas de la fase dispersa, de la naturaleza de las interacciones existentes entre ellas, de la viscosidad de la fase continua, de la relación en volumen entre ambas fases y de la diferencia de densidad de las mismas. Estos sistemas pueden permanecer estables por la disminución de la tensión superficial debido a la adición de tensioactivos, por la repulsión electrostática existente entre

las partículas de la fase dispersa, por la adición de sólidos finamente divididos, o por el aumento de la viscosidad de la fase continua (Damodaran, 1997; Deotale et al., 2023).

El proceso de desestabilización de una espuma consiste en la tendencia de la fase gaseosa discontinua a formar una fase continua por aproximación y fusión de las burbujas, a fin de alcanzar un área superficial mínima (mínima energía libre). A este proceso se opone la película tensioactiva, que como barrera mecánica es más efectiva cuanto mayor sea su viscoelasticidad y su rigidez.

Existen tres mecanismos de desestabilización de una espuma (**Figura 9**) que actúan simultáneamente. Se trata de los mecanismos de drenaje, difusión y colapso.

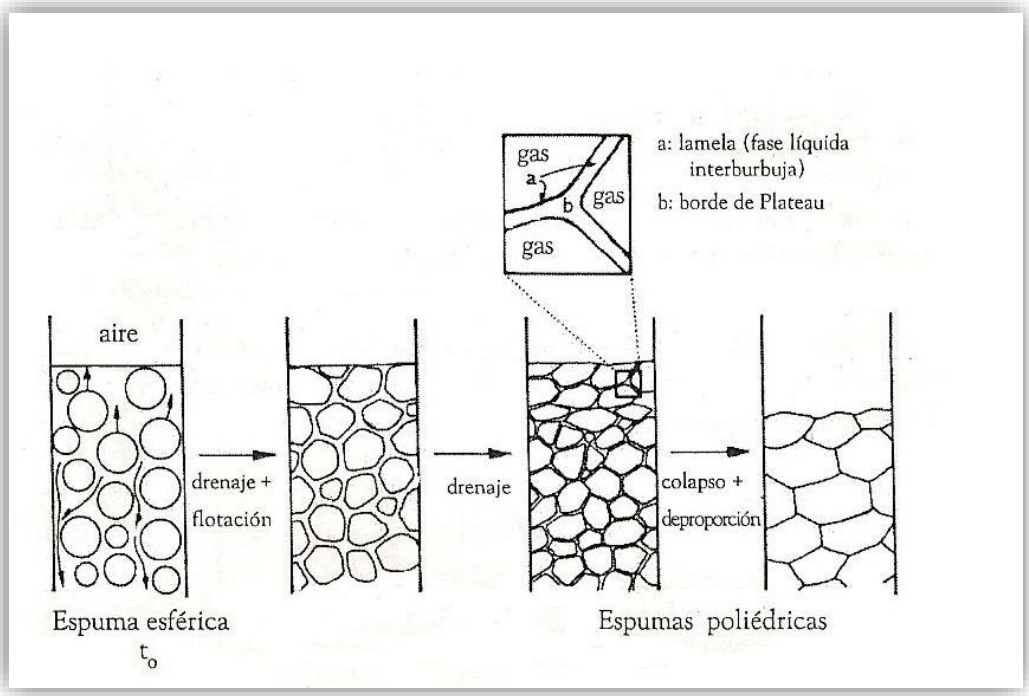


Figura 9. Representación esquemática de los procesos de desestabilización de una espuma y vista ampliada de la película existente entre las burbujas Fuente: Pilosof et al. (2000)

El **drenaje** en espumas consiste en la migración del líquido desde el interior de las películas hacia los bordes de Plateau y, posteriormente, hacia la base de la espuma. Este proceso está influenciado por la gravedad, la viscosidad y las diferencias de densidad entre fases. De estos factores, es importante destacar dos procesos clave: en primer lugar, el líquido drena desde las lamelas hacia los bordes de Plateau ya que la diferencia de curvatura entre los bordes de Plateau y la parte plana de las películas según la ley de Laplace producen un gradiente de presión, que es la fuerza impulsora que desplaza el líquido del centro de las películas hacia los

bordes de Plateau, gracias a un mecanismo llamado succión capilar; en segundo lugar, la gravedad contribuye al drenaje simultáneo del líquido hacia la parte inferior de la espuma. La resistencia de las películas a estas deformaciones resulta esencial para la estabilidad de la espuma.

Las burbujas de aire ascienden en la matriz líquida debido a la diferencia de densidad entre fases. Este movimiento, predominante frente al del líquido, se describe por la ley de Stokes, según la cual la velocidad de ascenso depende de la gravedad, el radio de la burbuja, y las propiedades de la fase continua: densidad y viscosidad. La densidad del gas se considera despreciable.

La **difusión** o **maduración de Ostwald** es un proceso en el que el gas contenido en las burbujas más pequeñas se transfiere hacia las burbujas más grandes, impulsado por diferencias de presión de Laplace (Ettelaie et al., 2003; Murray et al., 2002). Las burbujas tienden a adoptar una forma poliédrica a medida que se comprimen unas contra otras. Las burbujas de formas trigonales, tetraédricas o pentagonales evolucionan hacia estructuras hexagonales, similares a un panal de abeja, ya que esta forma es más estable (**Figura 10**).

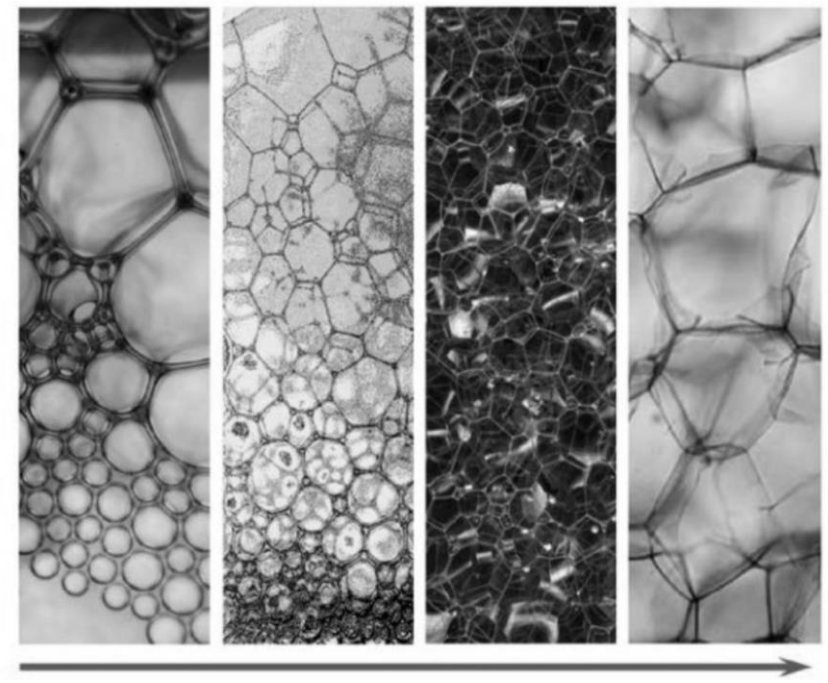


Figura 10. Evolución de una espuma por difusión gaseosa: de espuma esférica a espuma poliédrica.

La desestabilización de espumas por **colapso o coalescencia** ocurre cuando dos burbujas se fusionan debido a la ruptura de la pared que las separa. Este proceso adelgaza las lamelas entre las burbujas, llevando a la ruptura del film y al colapso de la espuma, lo que se manifiesta en una disminución del volumen de la espuma. La ruptura puede ser provocada por diversos factores y puede ocurrir a través de varios mecanismos.

El drenaje y la ruptura de la espuma son interdependientes. A medida que aumenta el drenaje, se reduce el grosor y la resistencia de las lamelas, lo que puede provocar su ruptura.

3.3.4.2. Agentes espumantes

Las proteínas constituyen la principal categoría de agentes espumantes naturales en la industria alimentaria. Las proteínas comúnmente utilizadas para este propósito incluyen β-lactoglobulina, proteína de suero, proteína de clara de huevo y gluten de trigo (Xu et al., 2019), entre otras. Sin embargo, algunas proteínas presentan limitaciones en cuanto a capacidad o estabilidad de la espuma, lo que puede no cumplir con los requisitos cada vez más exigentes de la industria alimentaria.

Algunos agentes espumantes poseen una buena capacidad para generar espuma, pero presentan baja estabilidad, lo que limita su aplicación en sistemas alimentarios. En estos casos, la adición de polisacáridos puede ser una estrategia efectiva para mejorar la estabilidad. Es así que, las propiedades espumantes de las proteínas pueden mejorarse al combinarlas con polisacáridos (Jarpa-Parra, 2016), ya sea que éstos actúen aumentando la viscosidad de la fase continua o incluso interaccionando con las proteínas. Se ha reportado que la formación de complejos proteína-polisacárido en la interfase aire/agua contribuye a reforzar la estructura de la película interfacial y a retardar los procesos de desestabilización (Miquelim et al., 2010; Narchi et al., 2009; Rodríguez Patino et al., 2011; Sadahira et al., 2015).

Las interacciones entre proteínas y polisacáridos están fuertemente influenciadas por características intrínsecas de estos últimos, como la carga, el peso molecular y la ramificación. La goma guar es un viscosante que no forma geles, mientras que la goma xántica, más rígida y con carga negativa, también actúa como espesante, pero puede interactuar electrostáticamente con proteínas, aunque suele presentar incompatibilidades con proteínas lácteas. Por su parte, la pectina puede formar geles o sistemas de coacervación compleja según su grado de metoxilación y las condiciones del medio. Estas diferencias en propiedades fisicoquímicas influyen directamente en su funcionalidad tecnológica, como lo evidenció el

estudio de Narchi et al. (2007), quienes utilizaron matrices alimentarias viscosas para analizar el comportamiento del espumado en condiciones de flujo laminar.

En este sentido, y por todo lo anteriormente mencionado, el mucílago de chía se posiciona como un posible estabilizante de espumas. Aunque el mucílago de chía ha sido estudiado en algunos alimentos espumosos como el pan y el helado, su uso se ha enfocado principalmente en la sustitución de grasa (Chiang et al., 2021; Zettel y Hitzmann, 2018). Por lo tanto, su potencial como agente estabilizante en sistemas espumados sigue siendo en gran medida inexplorado y requiere una mayor investigación.

4. Usos del mucílago de chía

En los últimos diez años, se han publicado diversos trabajos que reportan potenciales aplicaciones del mucílago de chía en las industrias cosmética, farmacéutica y alimenticia. Entre estos estudios relacionados con las industrias cosmética y farmacéutica, se reportó que el mucílago de chía mostró una excelente fotoestabilidad bajo la luz UV, lo que permite que el biopolímero se utilice en la formulación de productos para la protección de sustancias fotosensibles (Da Silveira Ramos et al., 2021). Estos mismos autores reportaron también el potencial del mucílago de chía como un biomaterial para la liberación controlada de compuestos bioactivos y fármacos, basándos en la actividad mucoadhesiva del mucílago, lo que facilita la adhesión de la formulación a la mucosa y favorece la administración prolongada de compuestos bioactivos (Da Silveira Ramos et al., 2021), con el plus del uso de un biomaterial sostenible que responde a la actual demanda de tecnologías ecológicas también en estas industrias.

En relación con la aplicación del mucílago de chía en la industria alimentaria, se han reportado numerosos trabajos sobre su uso como agente espesante y estabilizante. Su capacidad para espesar lo hace ideal para mejorar la textura de productos como yogures, helados y salsas (Chiang et al., 2021). También se ha investigado mucho sobre otras aplicaciones alimentarias, como modificadores de textura, sustitutos de grasa, emulsionantes y otros (Punia y Dhull, 2019). En los últimos años, los consumidores están cada vez más preocupados por la salud, lo que ha llevado a una tendencia creciente hacia alimentos bajos en grasa y para ello se buscan sustitutos de grasa de diferentes fuentes (Chiang et al., 2021). Así, se han utilizado almidones, fibras, gomas/mucílagos como sustitutos de la grasa y, entre ellos, el mucílago de chía ha sido considerado recientemente como un eficaz sustituto de grasa, contribuyendo a la elaboración

de alimentos más saludables (Câmara et al., 2020; Campos et al., 2016; Punia y Dhull, 2019; Zettel y Hitzmann, 2018). Por ser un polisacárido conocido por su excelente capacidad de retención de agua, debido a su fracción rica en fibra que contiene múltiples grupos hidroxilo libres, capaces de formar enlaces con moléculas de agua (Punia y Dhull, 2019), el mucílago de chía puede imitar la funcionalidad de las grasas al promover la retención de humedad y aumentar la viscosidad de un sistema en productos alimenticios bajos en grasa. Por lo tanto, el mucílago de chía se ha aplicado extensamente en diferentes productos horneados como pan (Fernandes y Salas-Mellado, 2017), pasteles (Felisberto et al., 2015; Fernandes y Salas-Mellado, 2017) y galletas (Punia y Dhull, 2019). El mucílago de chía también se ha utilizado en productos lácteos como helados (Chaves et al., 2018) y yogures (Ribes et al., 2021), y en mayonesa (Fernandes y Mellado, 2018) como sustituto de grasas. En particular, en su aplicación en yogur (Ribes et al. 2021) también encontraron que la adición de mucílago de chía redujo la sinéresis observada en el yogur, lo que fue atribuido a interacciones entre la caseína cargada positivamente y el mucílago de chía cargado negativamente, lo que mejoró la estabilización de la matriz del yogur. De manera similar, la viscosidad de los yogures aumentó, indicando que el MC impartió un efecto espesante y fortaleció las fuerzas cohesivas internas de los yogures (Chiang et al., 2021).

Además, se observó que el mucílago de chía podría interferir en la digestibilidad de las proteínas, aumentando así el tiempo de retención en el estómago, lo que podría resultar en una saciedad temprana.

Debido al aumento en la demanda de opciones vegetarianas y a la presencia de alergias alimentarias al huevo, se han explorado alternativas vegetales como el mucílago de chía en distintas aplicaciones, especialmente en panificados. Salehi (2019) destacó que los polisacáridos de semillas como el mucílago de chía pueden mejorar la capacidad de retención de agua en sistemas acuosos con almidón, favoreciendo la textura en productos horneados sin huevo. Debido a su rápida hidratación a temperatura ambiente y a su capacidad de interaccionar consigo mismo, sin competir por el agua disponible con las proteínas del gluten o los almidones, permite un mayor contenido de humedad en productos como tortas sin huevo. Hasta la fecha, se han reportado al menos cuatro estudios que muestran el potencial del mucílago de chía como sustituto del huevo en alimentos como tortas, cupcakes y mayonesa (Chiang et al., 2021).

Otra aplicación potencial del mucílago de chía es como sustituto del gluten (Hargreaves y Zandonadi, 2018; Capitani et al. 2012) debido también a su alta capacidad de retención de agua que le permite formar geles y mejorar las características sensoriales de productos sin gluten. También se ha evaluado el uso de mucílago de chía como sustituto de fosfatos (sal empleada para mejorar la retención de agua de proteínas cárnicas) en productos cárnicos emulsionados (Câmara et al., 2020).

Más recientemente, Soares et al. (2024) evaluaron el agregado del mucílago de chía en jugos de maracuyá y reportaron que el uso de mucílago de chía disminuyó la separación de fases en el jugo. Las propiedades estabilizadoras del mucílago de chía en este producto fueron atribuidas al aumento de la viscosidad del jugo con la concentración de mucílago de chía, reflejando la formación de una estructura de red más resistente. Sin embargo, el aumento en la viscosidad redujo las puntuaciones de aceptación de la textura por parte de los consumidores, dependiendo de la concentración de mucílago de chía empleada.

5. Modificación física del mucílago de chía

Como muchas otras gomas/mucílagos, el mucílago de chía aporta viscosidad al sistema donde se incorpora, característica que es deseable en algunos casos, cuando se busca su función como espesante y estabilizante de sistemas dispersos, pero indeseable en otros casos, cuando un aumento de la viscosidad podría impartir una textura inaceptable para los consumidores, por ejemplo, en alimentos líquidos de baja viscosidad, como bebidas.

Por tal motivo, debido a que en algunas ocasiones la viscosidad del mucílago de chía podría ser un problema, el control de este parámetro podría expandir su aplicación como ingrediente en el desarrollo de nuevos alimentos.

Existen diferentes técnicas de modificación física que pueden cambiar la estructura de biopolímeros alterando así, por ejemplo, su viscosidad. Entre estas técnicas se encuentra, la homogenización por altas presiones (HPH, por sus siglas en inglés), una tecnología "verde" que se ha aplicado con éxito como un método eficiente de modificación física en las industrias alimentaria y farmacéutica. Esta técnica consiste en forzar una suspensión líquida a través de una válvula estrecha a muy alta presión, lo que genera intensas fuerzas de cizalla, turbulencia y cavitación. Estos efectos físicos provocan la ruptura de estructuras moleculares y la modificación de las propiedades funcionales de los biopolímeros, como la reducción del tamaño de partícula, el aumento de la solubilidad o la modificación de la viscosidad.

La HPH es una herramienta muy versátil que presenta la ventaja adicional de ser comúnmente utilizada en la industria. Los homogeneizadores de alta presión se utilizan generalmente para emulsionar, dispersar o mezclar productos en las industrias de proceso (Villay et al., 2012), para estabilizar y hacer más uniformes las emulsiones (Innocente et al., 2009), y para controlar su viscosidad (por ejemplo, en: aderezos, ketchup, postres lácteos, pero también ceras y siliconas). También se ha aplicado en el manejo de dispersiones de productos químicos y farmacéuticos (Kasongo et al., 2012). En biotecnología, su principal desarrollo consiste en la disrupción celular no química para extraer sustancias intracelulares (proteínas, enzimas) y en la inactivación de microorganismos (Campos y Cristianini, 2007).

En la industria de alimentos, se ha aplicado también para la modificación de diferentes polisacáridos (gomas guar y xántica, alginato, pectina, almidón), para reducir el peso molecular de hidrocoloides o modificar su estructura (Porto et al., 2018). También Villay et al. (2012) evaluaron el efecto de la homogenización a alta presión en la degradación de diferentes polisacáridos (goma guar, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, alginato sódico y goma arábiga) con diferentes propiedades físicas y estructurales, y encontraron que estas diferencias de estructuras y conformaciones tenían un mayor impacto en los tratamientos de HPH que la carga o la masa molar de los polisacáridos. Estos autores informaron que la goma arábiga, con una estructura ramificada globular, no se vio afectada por la HPH, mientras que los otros polisacáridos, con una estructura lineal, mostraron una disminución de su masa molar y viscosidad intrínseca luego del tratamiento HPH. Dado que el mucílago de chía exhibe principalmente una estructura lineal y de espiral aleatoria (Lin et al., 1994; Tha Goh et al., 2016), se podría pensar que el tratamiento con HPH podría modificar su estructura. Se sabe que el grado de degradación mecánica depende en gran medida de la presión y del número de ciclos de homogeneización, pero también de la concentración del polímero.

Entendiendo entonces el efecto que el tratamiento de HPH tiene sobre la estructura de los biopolímeros, y dada la relación entre la estructura de un biopolímero, como un polisacárido, (tamaño, disposición espacial) y su función tecnológica, es de interés evaluar, además de la viscosidad, el efecto del tratamiento HPH en otras propiedades tecno-funcionales (capacidad de retención y absorción de agua, propiedades emulsificantes, etc.) del mucílago de chía, que también podrían verse afectadas por dicho tratamiento.

6. Efecto del mucílago de chía sobre la salud

Entre las investigaciones realizadas sobre el mucílago de chía, no sólo se han reportado numerosos beneficios de su uso en relación con las propiedades tecnofuncionales que aporta en los alimentos a los que se lo incorpora, sino que, además, se han comprobado importantes beneficios sobre la salud.

Hace muchos años ya se comprobó que, así como cuando muchas semillas se hidratan en agua se forma una solución altamente viscosa, este mismo fenómeno puede ocurrir dentro del estómago cuando se consumen alimentos que contienen estas fibras gomosas o mucílago (Scheer, 2001) y crea una barrera física entre los carbohidratos y las enzimas digestivas que los descomponen, disminuyendo así la conversión de carbohidratos en azúcares mientras aumenta la sensación de saciedad (Rubio, 2002; Ribes et al., 2022). En esta línea, estudios más recientes han demostrado que fibras solubles viscosas como la goma xántica pueden reducir la ingesta de alimentos y la absorción de nutrientes al ralentizar la digestión y modificar la respuesta glucémica postprandial (Chen et al., 2020).

Câmara y col. (2020) también demostraron que el mucílago de chía podría interferir en la digestibilidad de las proteínas, aumentando el tiempo de retención en el estómago, lo que podría resultar en una saciedad temprana. Los estudios de simulación de digestión *in vitro* demostraron que la viscosidad aparente en el estómago aumenta en función de la concentración de mucílago de chía, lo que provoca un retraso en el vaciamiento gástrico (Lazaro et al., 2018; Tamargo et al., 2018). Se supone que este comportamiento reduce el movimiento de moléculas produciendo una estructura aún más densa y compacta que dificulta el acceso de las enzimas y los jugos digestivos (Lazaro et al., 2018).

Por otro lado, una estrategia ampliamente reconocida para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV) es disminuir los niveles de colesterol LDL en sangre, lo cual se logra comúnmente a través de la reducción en el consumo de grasas saturadas. Theuwissen y Mensink (2008) reportaron que cuatro tipos principales de fibras solubles —β-glucano, psyllium, pectina y goma guar— reducen de manera efectiva los niveles de colesterol LDL, sin afectar el colesterol HDL ni los triglicéridos. A pesar de las diferencias estructurales entre estas fibras, sus efectos fueron similares, lo que sugiere un mecanismo común, probablemente relacionado con la reducción de la reabsorción de ácidos biliares. Esta menor reabsorción obliga al hígado a utilizar más colesterol para sintetizar nuevos ácidos biliares, lo que aumenta

la captación de LDL por el hígado y reduce su concentración en sangre (Theuwissen y Mensink, 2008).

Un estudio reciente (Tamargo et al., 2020), reportó que el mucílago de chía reduce la tasa de bioaccesibilidad de lípidos, colesterol y glucosa en el intestino delgado. Los resultados mostraron que la bioaccesibilidad de la glucosa se redujo significativamente en los modelos azucarados cuando se incorporó 0,95 % de mucílago de chía, alcanzando una reducción máxima del 66,7 %, y un índice de retardo de diálisis de glucosa de hasta 53,4 % al final de la digestión intestinal. En los modelos lipídicos, las dos concentraciones que evaluaron (0,75 y 0,95 %) provocaron reducciones significativas en la bioaccesibilidad de ácidos grasos libres (16,8 y 56,1 %), colesterol (18,2 y 37,2 %) y sales biliares (4,8 y 64,6 %), demostrando una clara dependencia del efecto con la concentración de fibra (Tamargo et al., 2020).

Este hallazgo sugiere que el mucílago de semilla de chía tiene un gran potencial para ser utilizado como ingrediente funcional —ya sea como espesante, emulsionante o estabilizante— en el desarrollo de una amplia gama de productos alimenticios (como lácteos, cárnicos, productos horneados y bebidas), orientados a reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles específicas, y así brindar beneficios significativos para la salud (Tamargo et al., 2020). Esto se debe a que la fibra dietaria puede inducir diversos efectos fisiológicos positivos, incluyendo la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares (Theuwissen y Mensink, 2008), la prevención del síndrome metabólico (Aleixandre y Miguel, 2008) y la reducción de trastornos gastrointestinales (Müller, 2018), entre otros beneficios.

Si bien, todavía queda mucho camino en la investigación de los beneficios sobre la salud que aporta el consumo de mucílago de chía, los estudios existentes hasta el momento posicionan al mucílago de chía como un ingrediente con gran futuro, no sólo por las propiedades tecnológicas que imparte, sino por estas propiedades saludables.

En particular, en el presente trabajo se evaluarán dos aspectos relacionados a beneficios sobre la salud:

i) el primero relacionado a la capacidad del mucílago de chía de unir y vehiculizar minerales, específicamente hierro, para utilizarlo para la fortificación de alimentos;

ii) el segundo vinculado a la evaluación del potencial del mucílago de chía para modular la lipólisis durante la digestión duodenal.

Relacionado con el primer punto, la deficiencia de micronutrientes es una de las principales causas de morbilidad global (Shubham et al., 2020), y especialmente la deficiencia de hierro es la deficiencia mineral más común (Kassebaum et al., 2015; Zimmermann y Hurrell, 2007), por lo que, la fortificación de alimentos con hierro resulta de vital importancia para ayudar a satisfacer los requisitos de las personas en relación con este mineral. Una de las estrategias más reportadas para mejorar la incorporación de este mineral es su complejación con proteínas (Banjare et al., 2019; Caetano-Silva et al., 2018; Morales et al., 2020). Los polisacáridos también podrían ser un ligando potencial para unir hierro y facilitar su absorción en el sistema digestivo (Wang et al., 2020). Se han reportado algunos estudios en los que se evaluó la formación de complejos polisacárido/hierro, como es el caso de polisacáridos derivados de *Flammulina velutipes*) (Peng et al., 2022), o goma guar (Ganie et al., 2021) y el polisacárido obtenido de *Grifola frondosa* (Xu et al., 2018). En estos trabajos se comprobó que la complejación con estos polisacáridos permitió controlar la liberación de hierro durante las condiciones de digestión gastroduodenal, presentando además una alta actividad inmunoprotectora y antianémica.

Por estos antecedentes y debido a la gran característica aniónica del mucílago de chía en un amplio rango de pH, resulta interesante evaluar su aptitud para unir minerales, en este trabajo específicamente hierro, con el objetivo de determinar su uso potencial en el desarrollo de compuestos portadores de este mineral que podrían usarse para el tratamiento y prevención de la deficiencia de hierro.

En relación con el segundo punto vinculado a beneficios sobre la salud que se evaluará en este trabajo, la obesidad y sus comorbilidades, como las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión, la diabetes mellitus y la dislipidemia, se consideran cada vez más problemas importantes de salud pública (Zheng et al., 2024). Una estrategia para reducir el riesgo de desarrollar estas enfermedades es disminuir los niveles de colesterol LDL en la sangre a través de modificaciones dietéticas. Además de limitar la ingesta de grasas saturadas y colesterol, y aumentar el consumo de grasas insaturadas, se ha reconocido cada vez más la importancia de incorporar otras estrategias alimenticias, como incrementar el consumo de fibras dietéticas solubles en agua. De hecho, diversos estudios epidemiológicos han encontrado de manera consistente una relación inversa entre el consumo de fibra dietética y el riesgo de desarrollar enfermedades asociadas a la obesidad (Zheng et al., 2024). Esta asociación ha sido confirmada

por investigaciones en animales, que han identificado posibles mecanismos mediante los cuales la fibra dietética podría promover beneficios para la salud (Valdes et al., 2018). Es importante destacar que la fibra dietética sirve, además, como un sustrato esencial para el proceso de fermentación anaeróbica llevado a cabo por la microbiota intestinal, lo que favorece la producción de metabolitos clave como el acetato, propionato y butirato (Zheng et al., 2024). Estos metabolitos desempeñan un papel fundamental en la modulación de la composición de la microbiota intestinal, la mejora del metabolismo de los lípidos, la preservación de la integridad intestinal, la reducción de la inflamación intestinal y la participación en la regulación de la homeostasis energética (Sonnenburg y Bäckhed, 2016).

Específicamente, como se mencionó previamente, se plantea la hipótesis de que el mucílago de chía podría influir en la lipólisis, el proceso de digestión de las grasas en el cuerpo. La fibra dietaria puede unirse a los ácidos biliares en el intestino delgado, y mediante este mecanismo puede reducir el colesterol sérico y normalizar las proporciones de lípidos en la sangre (Kumar et al., 2012). La habilidad de las fibras de unir las sales biliares puede también influir en la digestión de los lípidos (lipólisis) que ocurre en el duodeno y ser por ello un mecanismo para reducir o controlar la lipólisis (Pilosof, 2017).

Durante la digestión, los alimentos sufren transformaciones complejas a medida que se mueven a través del sistema digestivo. Cada sección del tracto digestivo (la boca, el esófago, el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso) presenta diferentes condiciones que afectan cómo se descomponen y procesan los alimentos (McClements, 2010).

Los modelos *in vitro* para la digestión intestinal son herramientas útiles para evaluar cómo se liberan y asimilan los lípidos de interés en condiciones que simulan el entorno fisiológico del tracto gastrointestinal (TGI). Estos ensayos suelen involucrar la mezcla de las muestras con fluidos gastrointestinales simulados que tienen características precisas, como pH, composición mineral, biopolímeros, tensioactivos biológicos y actividad enzimática, además de condiciones de flujo y tiempos de incubación que replican las distintas zonas del TGI.

Para alimentos líquidos, como son las emulsiones que evaluaremos en este trabajo, suele desestimarse la etapa oral de la digestión por el bajo tiempo de residencia de los líquidos en la boca. Por lo tanto, a continuación, se describirán las etapas gástrica y duodenal, donde los biopolímeros pueden sufrir cambios importantes, debido a la presencia de enzimas, sales, etc., y también a los mayores tiempos de residencia en dichas etapas, y particularmente la etapa duodenal donde tiene lugar la digestión de lípidos. Por otro lado, tampoco se considerará en

este estudio las reacciones que ocurren en el intestino grueso, ya que no contribuye en sí mismas, al conocimiento del proceso de la digestión de lípidos, aunque sí es importante mencionar que en dicha fase, además de ocurrir la absorción de agua y electrolitos, la fermentación de polisacáridos y proteínas, y la formación y eliminación de la materia fecal, tiene lugar la reabsorción de sales biliares involucradas en la digestión de lípidos de la etapa duodenal (Barrett, 2006; Basit, 2005).

Fase gástrica: El bolo/alimento líquido proveniente de la fase oral es transportado al estómago, donde se mezcla con los jugos gástricos que contienen enzimas, sales y compuestos con actividad interfacial. Los movimientos peristálticos facilitan esta mezcla y dirigen el contenido hacia el píloro (Kozu et al., 2025; Liu et al., 2021). El pH gástrico (1–3) permite activar enzimas, degradar componentes alimentarios e inactivar microorganismos. En el caso de alimentos ricos en proteínas, en este ambiente ácido, la pepsina comienza con la hidrólisis proteica, hidrolizándolas parcialmente (alrededor del 15 %), mientras que la digestión lipídica en esta etapa es limitada (Brodkorb et al., 2019; Iddir et al., 2021). El contenido parcialmente digerido, llamado quimo, se libera al intestino delgado para continuar con la digestión.

Fase duodenal: En el intestino delgado, especialmente en el duodeno, ocurre la mayor parte de la hidrólisis de las distintas macromoléculas y absorción de nutrientes (Maldonado-Valderrama et al., 2008; Mun et al., 2007). Aquí, el quimo se mezcla con bicarbonato de sodio, sales biliares y enzimas digestivas provenientes del páncreas, hígado y vesícula biliar, elevando el pH a valores cercanos a la neutralidad (5,8–6,5), lo que favorece la actividad enzimática de las enzimas presentes en esta etapa (Tso, 2000; Bauer, 2004). El jugo pancreático aporta zimógenos como tripsinógeno, quimotripsinógeno y procarboxipeptidasa, activados por la enteropeptidasa y la tripsina en una cascada enzimática. La tripsina y otras proteasas degradan las proteínas en péptidos cortos y aminoácidos, que son finalmente procesados por peptidasas de la mucosa intestinal (Moughan, 2016; Koeppen, 2024), completando la proteólisis iniciada en el estómago. La amilasa pancreática hidroliza los polisacáridos en disacáridos y oligosacáridos más pequeños. Y las lipasas, junto con las sales biliares, actuarán digiriendo los lípidos presentes en el quimo.

Debido a que nuestro interés particular en este trabajo se centra en el efecto de la presencia del mucílago de chía sobre la digestión de lípidos emulsionados, a continuación, se describirá más en detalle el procedo de digestión de lípidos y el rol de las sales biliares (SB) en dicho proceso:

Las SB son compuestos biosurfactantes presentes en el intestino delgado durante la digestión de los alimentos y juegan un papel esencial en la digestión y absorción de nutrientes lipídicos (Maldonado-Valderrama et al., 2011). Son moléculas anfipáticas producidas, a partir del colesterol, por los hepatocitos en el hígado y se transportan a través de los conductos biliares hasta la vesícula biliar, donde se almacenan y concentran hasta cinco veces entre las comidas. La conversión del colesterol en SB permite la eliminación continua de una fracción significativa de colesterol en el organismo humano, desempeñando un papel crucial en la regulación del metabolismo del colesterol y, por lo tanto, siendo un factor importante para prevenir enfermedades cardiovasculares y trastornos relacionados (Chiang, 2013; Roger et al., 2011).

La bilis se secreta en el intestino a través del conducto biliar, bajo la influencia de diversas hormonas gastrointestinales y mecanismos de control (Maldonado-Valderrama et al., 2011). En los adultos, se producen entre 0,4 y 0,8 litros de bilis al día. Sin embargo, sólo una pequeña fracción de esta bilis es eliminada del cuerpo, ya que el 95 % se reabsorbe en el íleon y regresa al hígado para ser reutilizada en un proceso conocido como “recirculación enterohepática” (**Figura 11**) (Garidel et al., 2007). El 5 % restante llega al colon y finalmente se eliminan a través de las heces (Russell et al., 1992).

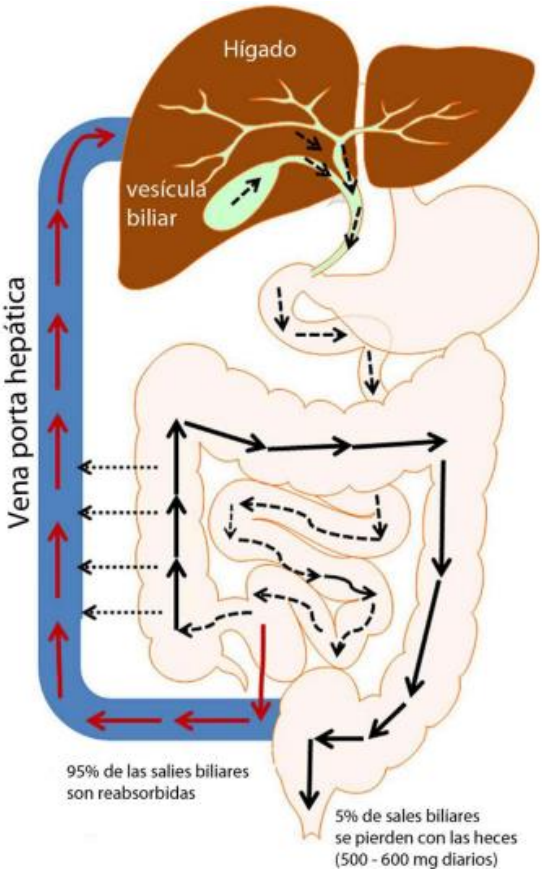


Figura 11. Recirculación enterohepática de las sales biliares. Fuente: Adaptado de Zhou et al. (2014).

Los triglicéridos (TG), son insolubles en agua, por lo que su emulsificación es esencial para que las lipasas —enzimas solubles en el medio acuoso— puedan acceder a la interfase O/W y catalizar su digestión (Bauer, 2004; Entressangles et al., 1968; Reis et al., 2009). Por esto, para que los lípidos sean absorbidos por el cuerpo, deben pasar por tres etapas clave:

1) Emulsificación, por medio de la unión del complejo SB - lipasa/colipasa a la interfase O/W: Cuando el quimo del estómago llega al duodeno, la vesícula biliar secreta la bilis, que está compuesta en un 98 % por agua, con el resto siendo sales biliares, colesterol y lecitina, entre otros componentes, para realizar el proceso de lipólisis. Al ser sustancias interfacialmente activas pueden adsorberse en las interfases O/W, removiendo total o parcialmente las sustancias tensioactivas que se encuentren allí, preparando de esta forma la interfase para que el complejo enzimático lipasa/colipasa pueda adsorberse y comenzar el proceso de lipólisis (Borreani et al., 2019; Hur et al., 2011; Sarkar et al., 2016; Ye et al., 2013). Durante este proceso de adsorción interfacial,

las SB promueven la emulsificación y la formación de gotas más pequeñas a través de la motilidad propia del intestino, aumentando el área interfacial disponible para la acción de la lipasa y promoviendo que el proceso sea más eficiente (Hofmann et al., 2008; McClements, 2010). En un trabajo de nuestro grupo de investigación (Bellesi, 2016) se realizó un estudio detallado de este proceso y se esquematizó esta acción de emulsificación de las sales biliares sobre la gota de aceite promoviendo la formación de gotas más pequeñas, dicho esquema se muestra en la **Figura 12**.

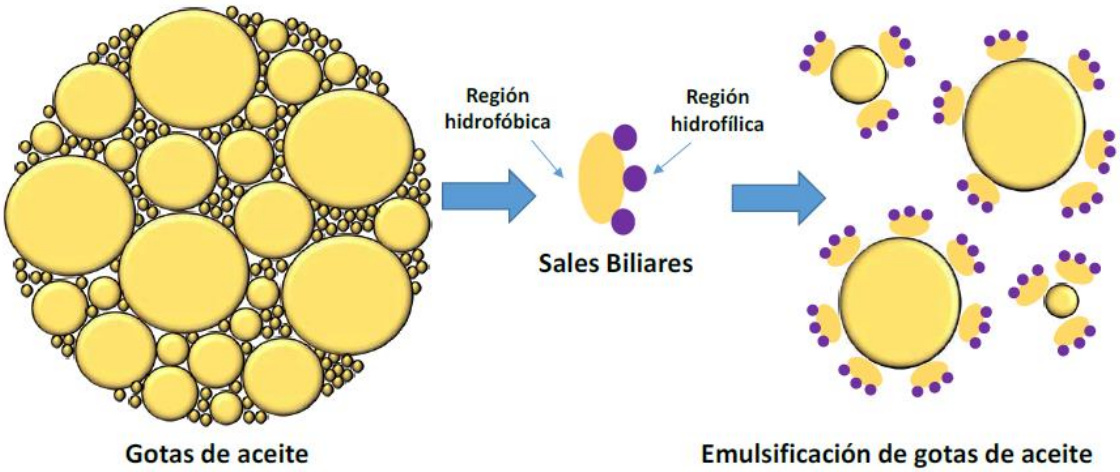


Figura 12. Representación esquemática de la emulsificación llevada a cabo por las SB sobre las gotas de aceite. Incremento de la interfase O/W expuesta a la lipasa pancreática. Fuente: Bellesi (2016).

2) Hidrólisis del lípido emulsionado. Una vez que las SB facilitan la llegada de la lipasa a la interfase O/W ocurre el proceso de lipólisis propiamente dicho. La acción de la lipasa sobre un triglicérido da lugar a la formación de un monoglicérido y dos ácidos grasos libres.

3) Desorción de estos productos lipolíticos inhibidores por solubilización en micelas mixtas de SB y fosfolípidos: Los productos obtenidos a partir de la reacción de lipólisis, al presentar actividad interfacial tienden a permanecer adsorbidos en la interfase O/W, lo que provocaría que la lipasa no pueda continuar trabajando eficientemente, por un lado por que resultarían una barrera física para el acceso de la lipasa a los TG emulsionados, y por el otro, porque al ser los productos de la reacción tenderían a

inhibirla (Golding y Wooster, 2010; Reis et al., 2009). En este sentido, la remoción continua de los mismos por parte de las micelas de SB resulta un mecanismo esencial para que el proceso de lipólisis progrese correctamente (Bauer et al., 2004; Vinarov et al., 2012). Al hacerlo, las SB liberan la interfase para que la lipasa pancreática pueda continuar su actividad. Finalmente, las micelas de SB con los productos de la lipólisis solubilizados en ella difunden y son transportadas a los enterocitos que son las células epiteliales del intestino responsables de absorber los nutrientes esenciales, el agua y los electrolitos (Golding y Wooster, 2010; Zornjak, 2020).

Sin embargo, si este mecanismo de solubilización de los productos de la lipólisis y su transporte falla o es lento, la acumulación de productos lipolíticos en las interfases de la emulsión inhibirá la reacción de lipólisis y dará como resultado la autorregulación de la digestión de los lípidos. Por lo tanto, si el mucílago de chía es capaz de interaccionar con las SB, alteraría este mecanismo pudiendo así afectar el procesos de lipólisis.

Diversos estudios han investigado cómo las SB interactúan con emulsionantes o fibras dietéticas tanto en la interfase O/W como en la fase acuosa de la digestión. Si el complejo formado entre ellos es insoluble, no se reabsorbe en el intestino y, por lo tanto, se excreta en las heces. Esto resulta en un aumento de la síntesis de nuevas SB a partir del colesterol endógeno, lo que puede disminuir los niveles de colesterol en sangre. En particular cuando se habla de fibras dietéticas que interaccionan con las SB, se las denomina “secuestrantes”, y entre los más estudiados se encuentran, fibras dietéticas (como los β-glucanos y arabinoxilanos), quitosano, pectinas, ésteres de celulosa, entre otros (Naso, 2021). En este sentido, el mucílago surge como un candidato prometedor para esta función. Al igual que las fibras dietéticas, el quitosano y las pectinas, el mucílago podría formar complejos insolubles con las sales biliares, impidiendo su reabsorción en el intestino y favoreciendo su excreción a través de las heces. Este mecanismo no sólo podría contribuir a la reducción de los niveles de colesterol en sangre mediante un aumento en la síntesis de nuevas sales biliares, sino también ofrecer beneficios adicionales en la regulación del metabolismo lipídico. Así, el mucílago se posiciona como una opción interesante para el desarrollo de estrategias dietéticas orientadas a mejorar la salud cardiovascular y reducir el colesterol.

7. Bibliografía

Aleixandre, A., y Miguel, M. (2008). Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *48*(10), 905-912. https://doi.org/10.1080/10408390701761886

Alfredo, V. O., Gabriel, R. R., Luis, C. G., y David, B. A. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica L.*). *LWT*, *42*(1), 168-173. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.012

Angelo, A. (1989). A brief introduction to food emulsions and emulsifiers. *En G. Charalambous y G. Doxastakis (Eds.), Food Emulsifiers: Chemistry, Technologgy, Functional Properties and Applications.*

Ayerza, R., y Coates, W. (2005a). Ground chia seed and chia oil effects on plasma lipids and fatty acids in the rat. *Nutrition Research*, *25*(11), 995-1003. https://doi.org/10.1016/J.NUTRES.2005.09.013

Ayerza, R., y Coates, W. (2005b). Chia: rediscovering a forgotten crop of the Aztecs. University of Arizona Press, 197 pp.

Banjare, I. S., Gandhi, K., Sao, K., y Sharma, R. (2019). Optimization of spray-drying conditions for the preparation of whey protein concentrate–iron complex using response surface methodology. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 1411-1424. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1651735

Barrett, K. E. (2006). Gastrointestinal Physiology. *Editado por McGraw-Hill Companies, 305 pp.*

Basit, A. W. (2005). Advances in colonic drug delivery. *Drugs*, *65*(14), 1991-2007.

Bauer, E. S. J. y R. M. (2004). *Physiology of Lipid Digestion*.

Beeckman, T., Rycke, R. y Viane, R. (. (2000). Histological study of seed coat development in Arabidopsis thaliana. *Journal of Plant Research*, *113*(2), 139-148.

Bellesi, F. A. (2016). Comportamiento de interfases y emulsiones submicrónicas estabilizadas por biopolímeros en simulaciones de procesos de digestión gastroduodenal in vitro. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n6088_Bellesi

Beltrán Orozco, M. C., y Romero, M. R. (2003). La chía, alimento milenario. *Industria alimentaria (México, D.F.)*, *25*(5), 20-29.

Borreani, J., Leonardi, C., Gemma, M., Quiles, A. y Hernando, I. (2019). How Do Different Types of Emulsifiers/Stabilizers Affect the In Vitro Intestinal Digestion of O/W Emulsions? *Food Biophysics*, *14*(3), 313-325.

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. y Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols 2019 14:4*, *14*(4), 991-1014. https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1

Brütsch, L., Stringer, F. J., Kuster, S., Windhab, E. J., y Fischer, P. (2019). Chia seed mucilage - A vegan thickener: Isolation, tailoring viscoelasticity and rehydration. *Food and Function*, *10*(8), 4854-4860. https://doi.org/10.1039/c8fo00173a

Busilacchi, H., Quiroga, M., Bueno, M., Sapio, O. Di, Flores, V., y Severin, C. (2013). Evaluación de *Salvia hispanica L*. Cultivada en el sur de Santa Fe (República Argentina). *Cultivos Tropicales*, *34*(4), 55-59. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193228546009

Caetano-Silva, M. E., Cilla, A., Bertoldo-Pacheco, M. T., Netto, F. M., y Alegría, A. (2018). Evaluation of in vitro iron bioavailability in free form and as whey peptide-iron complexes. *Journal of Food Composition and Analysis*, *68*, 95-100. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.010

Cahill, J. (2003). Ethnobotany of Chia, *Salvia hispanica L*. (Lamiaceae). *Economic Botany*, *57*, 604-618. https://doi.org/10.1663/0013-0001

Câmara, A. K. F. I., Geraldi, M. V., Okuro, P. K., Maróstica, M. R., da Cunha, R. L., y Pollonio, M. A. R. (2020). Satiety and in vitro digestibility of low saturated fat Bologna sausages added of chia mucilage powder and chia mucilage-based emulsion gel. *Journal of Functional Foods*, *65*, 103753. https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103753

Câmara, A. K. F. I., Okuro, P. K., Cunha, R. L. da, Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., y Pollonio, M. A. R. (2020). Chia (*Salvia hispanica L*.) mucilage as a new fat substitute in emulsified meat products: Technological, physicochemical, and rheological characterization. *LWT*, *125, 109193*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109193

Campos, B. E., Dias Ruivo, T., da Silva Scapim, M. R., Madrona, G. S., y de C. Bergamasco, R. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT - Food Science and Technology*, *65*, 874-883. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.021

Campos, F. P., y Cristianini, M. (2007). Inactivation of Saccharomyces cerevisiae and Lactobacillus plantarum in orange juice using ultra high-pressure homogenisation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *8*(2), 226-229. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2006.12.002

Capitani, M. I., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2016). Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica L.*) mucilage. *Food Hydrocolloids*, *61*, 537-546. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.008

Capitani, M. I., Spotorno, V., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica L*.) seeds of Argentina. *LWT - Food Science and Technology*, *45*(1), 94-102. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.012

Castejón, N., Luna, P., y Señorans, F. J. (2017). Ultrasonic removal of mucilage for pressurized liquid extraction of omega-3 rich oil from chia seeds (*Salvia Hispanica L*.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(12), 2572-2579. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05726

Chaves, M. A., Piati, J., Malacarne, L. T., Gall, R. E., Colla, E., Bittencourt, P. R. S. y Matsushita, M. (2018). Extraction and application of chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) and locust bean gum (Ceratonia siliqua L.) in goat milk frozen dessert. *Journal of Food Science and Technology, 55*(10), 4148-4158.

Chen, M., Guo, L., Nsor-Atindana, J., Goff, H. D., Zhang, W., y Zhong, F. (2020). The effect of viscous soluble dietary fiber on nutrient digestion and metabolic responses Ⅱ: In vivo digestion process. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105908. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.105908

Chen, X. Q., y Zhang, Y. (2007). Ultrasonic-associated extraction of water soluble polysaccharides from defatted Korean pine kernel. *Journal of Forestry Research*, *18*(2), 133-135. https://doi.org/10.1007/s11676-007-0026-8

Chiang, J. H., Ong, D. S. M., Ng, F. S. K., Hua, X. Y., Tay, W. L. W., y Henry, C. J. (2021). Application of chia (*Salvia hispanica*) mucilage as an ingredient replacer in foods. *Trends in Food Science and Technology*, *115*, 105-116. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.06.039

Chiang, J. Y. L. (2013). Bile acid metabolism and signaling. *Comprehensive Physiology*, *3*(3), 1191-1212. https://doi.org/10.1002/CPHY.C120023

Coates, W., y Ayerza, R. (1996). Production potential of chia in northwestern Argentina. *Industrial Crops and Products*, *5*(3), 229-233. https://doi.org/10.1016/0926-6690(96)89454-4

Commission, E. U. (2009). Authorizing the placing on the market of Chia seed (*Salvia hispanica*) as novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of European Parliament of the Council. *Official Journal of the European Union, notificado bajo el documento 7645.*

Coorey, R., Tjoe, A., y Jayasena, V. (2014). Gelling Properties of Chia Seed and Flour. *Journal of Food Science*, *79*(5). 859-866. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12444

Da Silveira Ramos, I.F., Magalhães, L.M., do O Pessoa, C., Michel Pinheiro Ferreira, P., dos Santos Rizzo, M., Anteveli Osajima, J., Cavalcanti Silva-Filho, E., Nunes, C., Raposo, F., Coimbra, M., Braga Ribeiro, A. y Pinheiro Costa, M. (2021). New properties of chia seed mucilage (*Salvia hispanica L*.) and potential application in cosmetic and pharmaceutical products. *Industrial Crops and Products*, *171, 113981.* https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113981

Damodaran, S. y P. A. (1997). "Food proteins and their applications". *Marcel Dekker, New York*, 694 pp. https://doi.org/10.1201/9780203755617

Dickinson, E. (1986). Food Emulsion and Foams. *Procter Department of Food Science, University of Leeds, England,* 290 pp.

Dickinson, E. (1992). An introduction to Food Colloids. *Oxford University Press*, 514 pp. https://doi.org/10.1002/food.19920360540

Dickinson, E. (1999). Review: Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface. *Colloids and Surfaces B*, *15*, 161-176.

EFSA. (2005). Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the Commission related to the safety of chia (*Salvia hispanica L*.) seed and ground whole chia seed as a novel food ingredient intended for use in bread. *The EFSA Journal*, *278*, 1-12.

EFSA. (2009). Scientific opinion of the panel on dietetic products nutrition and allergies on a request from the European Commission on the safety of 'chia seed (*Salvia hispanica*) and ground whole chia seed' as a food ingredient. *The EFSA Journal*, *996*, 1-2.

Entressangles, B. y Desnuelle. P. (1968). Action of Pancreatic Lipase on Aggregated Glyceride Molecules in an Isotropic System. *BBA - Enzymology*, *159*(2), 285-295. doi: 10.1016/0005-2744(68)90077-6.

Ettelaie R, Dickinson E, Du Z, Murray BS. (2003). Disproportionation of clustered protein-stabilized bubbles at planar air-water interfaces. *J. Colloids Interface Sci.*, *263*(1), 47-58. doi: 10.1016/s0021-9797(03)00214-5

Felisberto, M. H. F., Wahanik, A. L., Gomes-Ruffi, C. R., Clerici, M. T. P. S., Chang, Y. K., y Steel, C. J. (2015). Use of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage gel to reduce fat in pound cakes. *LWT - Food Science and Technology*, *63*(2), 1049-1055. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.114

Fernandes, S. S., y Mellado, M. de las M. S. (2018). Development of Mayonnaise with Substitution of Oil or Egg Yolk by the Addition of Chia (*Salvia Hispânica L*.) Mucilage. *Journal of Food Science*, *83*(1), 74-83. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13984

Fernandes, S. S., y Salas-Mellado, M. de las M. (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chemistry*, *227*, 237-244. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.01.075

Friberg, S. E. (1997). Emulsion stability. E*n E. A. Decker (Ed.), Food Emulsions (3 ed.), 608 pp.*

Ganie, S. A., Naik, R. A., Ali, A., Mir, T. A., y Mazumdar, N. (2021). Preparation, characterization, release and antianemic studies of guar gum functionalized Iron complexes. *International Journal of Biological Macromolecules*, *183*, 1495-1504. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.125

Garcia e Silva, L. L., da Silva, C. A. S., y Santana, R. de C. (2022). Rheology of dispersions and emulsions composed of chia mucilage and the application of chia in food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *102*(13), 5585-5592. https://doi.org/10.1002/JSFA.11921

García-Salcedo, Á. J., Torres-Vargas, O. L., del Real, A., Contreras-Jiménez, B., y Rodriguez-Garcia, M. E. (2018). Pasting, viscoelastic, and physicochemical properties of chia (*Salvia hispanica L*.) flour and mucilage. *Food Structure*, *16*, 59-66. https://doi.org/10.1016/J.FOOSTR.2018.03.004

Garidel P., Hildebrand A., Knauf K. y Blume A. (2007). Membranolytic Activity of Bile Salts: Influence of Biological Membrane Properties and Composition. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *12*, 2292-2326. 10.3390/12102292.

Golding, M., y Wooster, T. J. (2010). The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, *15*(1-2), 90-101. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.006

Hargreaves, S. M., y Zandonadi, R. P. (2018). Flaxseed and Chia Seed Gel on Characteristics of Gluten-Free Cake. *Journal of Culinary Science y Technology*, *16*(4), 378-388. https://doi.org/10.1080/15428052.2017.1394951

Hofmann, A. F. y Hagey., L. R. (2008). Bile Acids: Chemistry, Pathochemistry, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *65*(16), 2461-2483.

Hromádková, Z., Ebringerová, A. y Valachovicˇ, P. (2002). Ultrasound-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian (Valeriana officinalis L.). *Ultrasonics Sonochemistry*, *9*(1), 37-44. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00093-1

Hromádková, Z., Ebringerová, A., y Valachovič, P. (1999). Comparison of classical and ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from Salvia officinalis L. *Ultrasonics Sonochemistry*, *5*(4), 163-168. https://doi.org/10.1016/S1350-4177(98)00046-7

Hulse J. (1996). Flavour, spices and edible gums: opportunities for integrated agroforesty systems. Domestication and commercialization of non-timber forest products in agroforestry systems*. Non-Wood Forest Products*, *9*, 86-96.

Hur, S., Lim, B., Decker, E. y Mcclements, D. (2011). In Vitro Human Digestion Models for Food Applications. *Food Chemistry*, *125*(1), 1-12.

Hussain, N., Ishak, I., Sulaiman, R., Fauzi, N. M., y Coorey, R. (2020). Influence of processing conditions on rheological properties of aqueous extract chia (*Salvia hispanica*) mucilage. *Food Research*, *4*, 227-236. https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(S1).S03

Iddir, M., Porras Yaruro, J. F., Larondelle, Y., y Bohn, T. (2021). Gastric lipase can significantly increase lipolysis and carotenoid bioaccessibility from plant food matrices in the harmonized INFOGEST static in vitro digestion model. *Food and Function*, *12*(19), 9043-9053. https://doi.org/10.1039/D1FO00786F

Infonegocios. (2025). Chía absorbe mercado: exportación incrementó 34% en 2024 (EE.UU. es el principal destino). Recuperado de https://infonegocios.com.py/default/chia-absorbe-mercado-exportacion-incremento-34-en-2024-ee-uu-es-el-principal-destino?utm_source=chatgpt.com

Innocente, N., Biasutti, M., Venir, E., Spaziani, M., y Marchesini, G. (2009). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distribution and rheological properties of ice cream mixes. *Journal of Dairy Science*, *92*(5), 1864-1875. https://doi.org/10.3168/jds.2008-1797

Jarpa-Parra, M., Tian, Z., Temelli, F., Zeng, H. y Chen, L. (2016). Understanding the stability mechanisms of lentil legumin-like protein and polysaccharide foams. *Food Hydrocolloids*, *61*, 903-913. 10.1016/j.foodhyd.2016.07.017.

Kalantzi L, Goumas K, Kalioras V, Abrahamsson B, Dressman JB. y Reppas C. (2006). Characterization of the Human Upper Gastrointestinal Contents Under Conditions Simulating Bioavailability/Bioequivalence Studies. *Pharmaceutical Research*, *23*(1), 165-176. 10.1007/s11095-005-8476-1.

Kasongo, K.W., Müller, R.H. y Walker, R.B. (2012). The use of hot and cold high pressure homogenization to enhance the loading capacity and encapsulation efficiency of nanostructured lipid carriers for the hydrophilic antiretroviral drug, didanosine for potential administration to paediatric patients. Pharm Dev Technol, 17(3), 353-362. 10.3109/10837450.2010.542163.

Kassebaum, N. J., Jasrasaria, R., Naghavi, M., Wulf, S. K., Johns, N., Lozano, R., Regan, M., Weatherall, D., Chou, D. P., Eisele, T. P., Flaxman, S. R., Pullan, R. L., Brooker, S. J., y Murray, C. J. L. (2015). Plenary paper red cells, iron, and erythropoiesis a systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood Journal*, *123*(5), 615-625. https://doi.org/10.1182/BLOOD-2013-06-508325.THE

Khan AY, Talegaonkar S, Iqbal Z, Ahmed FJ, Khar RK. (2006). Multiple emulsions: an overview. *Current drug delivery*, *4*, 429-443. 10.2174/156720106778559056.

Kinsella, J. E. (1979). Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *56*, 242-258. https://doi.org/10.1007/BF02671468

Koeppen, B. M. (2024). Berne y Levy. Fisiología. *Elsevier Health Sciences*, 547-558.

Kozu, H., Kobayashi, I., y Ichikawa, S. (2025). A Review on In Vitro Evaluation of Chemical and Physical Digestion for Controlling Gastric Digestion of Food. *Foods 2025, Vol. 14, Page 1435*, *14*(8), 1435. https://doi.org/10.3390/FOODS14081435

Kumar, K., Srivastav, S., y Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*, 105325. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2020.105325

Lazaro, H., Puente, L., Zúñiga, M. C., y Muñoz, L. A. (2018). Assessment of rheological and microstructural changes of soluble fiber from chia seeds during an in vitro micro-digestion. *LWT*, *95*, 58-64. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.052

Li, J., Ma, C., Ma, Y., Li, Y., Zhou, W., y Xu, P. (2007). Medium optimization by combination of response surface methodology and desirability function: An application in glutamine production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *74*(3), 563-571. https://doi.org/10.1007/s00253-006-0699-5

Lin, K., Daniel, J., y Whistler, R. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, *23*(1), 13-18. https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90085-X

Liu, W., Jin, Y., Wilde, P. J., Hou, Y., Wang, Y., y Han, J. (2021). Mechanisms, physiology, and recent research progress of gastric emptying. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(16), 2742-2755. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1784841,

Müller M, Canfora EE y Blaak EE. (2018). Gastrointestinal transit time, glucose homeostasis and metabolic health: modulation by dietary fibers. *Nutrients*, *10* (3), 275. 10.3390/nu10030275.

Maldonado-Valderrama J., Woodward N.C., Gunning A.P., Ridout M.J., Husband F.A., Mackie A.R., Morris V.J. y Wilde P.J. (2008). Interfacial Characterization of β-Lactoglobulin Networks: Displacement by Bile Salts. *Langmuir*, *24*(13), 6759-6767. 10.1021/la800551u.

Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., MacIerzanka, A., y MacKie, A. (2011). The role of bile salts in digestion. *Advances in Colloid and Interface Science*, *165*(1), 36-46. https://doi.org/10.1016/J.CIS.2010.12.002

Martínez-Cruz, O. y Paredes-López, O. (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica L*.) by ultra high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 13, 1346:43-8. doi: 10.1016/j.chroma.2014.04.007.

Mason, G., Wilking, J., Meleson, K., Chang, C. y Graves, S. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, *18*(41), 635-666. 10.1088/0953-8984/18/41/R01.

Masuelli, M. (2018). Intrinsic Viscosity Determination of High Molecular Weight Biopolymers by Different Plot Methods. Chia Gum Case. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*, *6*(1), 13-25. https://doi.org/10.12691/jpbpc-6-1-2

McClements, D. J. (2015). *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques (3 ed. Vol. 1): CRC Press, 714 pp. 10.1201/b18868.*

McClements, D. J., y Jafari, S. M. (2018). Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, *251*, 55-79. https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.12.001

McClements DJ. y Li Y. (2010). Review of in Vitro Digestion Models for Rapid Screening of Emulsion- Based Systems. *Food and Function 1 (1): 32–59.*, *1*(1), 32-59. 10.1039/c0fo00111b.

Ministerio de Economía Agricultura, Ganadería y Pesca, INTA. (2024). *La chía resurge como oportunidad productiva en el NOA. Recuperado de* https://www.argentina.gob.ar/noticias/la-chia-resurge-como-oportunidad-productiva-en-el-noa?utm_source=chatgpt.com

Miquelim, J., LanneS, S. y Mezzenga, R. (2010). pH Influence on the stability of foams with protein–polysaccharide complexes at their interfaces. *Food Hydrocolloids*, *24*, 398-405.

Morales, R., Martinez, M. J., y Pilosof, A. M. R. (2020). Iron-caseinglycomacropeptide complexes: Characterization and application in beverages. *Food Research International*, *138, 109772*. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109772

Mordor Intelligence. (2025). Análisis del tamaño y la participación del mercado de semillas de chía en América del Sur: informe de investigación de la industria: tendencias de crecimiento. Recuperado de https://www.mordorintelligence.ar/industry-reports/south-america-chia-seeds-market?utm_source=chatgpt.com

Moughan, P. J. (2016). Protein: Digestion, Absorption and Metabolism A2. *En Encyclopedia of Food and Health, editado por P. M. Finglas and F. Toldrá*, 524-529.

Mun, S., Decker, E. y McClements, D. (2007). Influence of Emulsifier Type on in Vitro Digestibility of Lipid Droplets by Pancreatic Lipase. *Food Research International*, *40*(6), 770-781.

Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., y Aguilera, J. M. (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, *108*(1), 216-224. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037

Murray, B., Campbell E., Dickinson, K. y Phillip V., Söderberg, I. (2002). Technique for studying the effects of rapid surface expansion on bubble stability. *Langmuir*, *18*(12), 5007-5014. https://doi.org/10.1021/la025555h

Narchi, I., y Vial, C. y Djelveh, G. (2007). Influence of bulk and interfacial properties and operating conditions on continuous foaming operation applied to model media. *Food Research International*, *40*, 1069-1079. 10.1016/j.foodres.2007.06.002.

Narchi, I., Vial, C., y Djelveh, G. (2009). Effect of protein–polysaccharide mixtures on the continuous manufacturing of foamed food products. *Food hydrocolloids*, *23*(1), 188-201. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.12.010

Naso, J. N. (2021). Estudio de las interacciones entre las emulsionantes: impacto en los mecanismos de lipólisis y bioaccesibilidad de ácidos grasos omega 3 . *Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA*.

Orifici, S. C., Capitani, M. I., Tomás, M. C., y Nolasco, S. M. (2018). Optimization of mucilage extraction from chia seeds (*Salvia hispanica L*) using response surface methodology. *Journal of Science Food Agriculture*, *98*(12), 4495-4500. https://doi.org/doi: 10.1002/jsfa.8974

Peng, Y., Jiang, H., Wu, Y., Zhang, J., y Chen, Y. (2022). Preparation, characterization and antioxidant activity of a novel polysaccharide-iron (III) from Flammulina velutipes scraps. *Arabian Journal of Chemistry*, *15*(10), 104190. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104190

Pereira, G. A., Arruda, H. S., de Morais, D. R., Peixoto Araujo, N. M., y Pastore, G. M. (2020). Mutamba (Guazuma ulmifolia Lam.) fruit as a novel source of dietary fibre and phenolic compounds. *Food Chemistry*, *310*, 125857. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125857

Pilosof, A.M.R. (2017). Potential impact of interfacial composition of proteins and polysaccharides stabilized emulsions on the modulation of lipolysis. The role of bile salts. *Food Hydrocolloids*, *68*, 178-185. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.08.030

Pilosof, A.M.R. (2000). Gelificación. En: Caracterización funcional y estructural de proteínas. Pilosof, A.M.R. y Bartholomai, G.B (Eds.), pp. 75-95. Buenos Aires, Argentina: Eudeba.

Porto, B. C., Tribst, A. A. L., y Cristianini, M. (2018). Dynamic High Pressure Effects on Biopolymers: Polysaccharides and Proteins. *Biopolymers for Food Design*, 313-350. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00010-4

Punia, S., y Dhull, S. B. (2019). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) mucilage (a heteropolysaccharide): Functional, thermal, rheological behaviour and its utilization.

International Journal of Biological Macromolecules, *140*, 1084-1090. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.205

Reis P, Holmberg K, Watzke H, Leser ME. y Miller R. (2009). Lipases at Interfaces: A Review. *Advances in Colloid and Interface Science*, *147, 237-250*. 10.1016/j.cis.2008.06.001.

Ribes, S., Peña, N., Fuentes, A., Talens, P., y Barat, J. M. (2021). Chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage as a fat replacer in yogurts: Effect on their nutritional, technological, and sensory properties. *Journal of Dairy Science*, *104*(3), 2822-2833. https://doi.org/10.3168/jds.2020-19240

Rodríguez Patino, J. M. y Pilosof, A. M. (2011). Protein–polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, *25*(8), 1925-1937. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.023

Roger, V. L., Go, A. S., Lloyd-Jones, D. M., Adams, R. J., Berry, J. D., Brown, T. M., Carnethon, M. R., Dai, S., De Simone, G., Ford, E. S., Fox, C. S., Fullerton, H. J., Gillespie, C., Greenlund, K. J., Hailpern, S. M., Heit, J. A., Michael Ho, P., Howard, V. J., Kissela, B. M., y Wylie-Rosett, J. (2011). Heart disease and stroke statistics-2011 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*, *123(4), 18-209.* https://doi.org/10.1161/CIR.0B013E3182009701

Rubio, M. A. (2002). Implicaciones de la fibra en distintas patologías. *Nutrición Hospitalaria*, *2*, 17-29.

Russell DW. y Setchell KD. (1992). Bile Acid Biosynthesis. *Biochemistry*, *31*(20), 4737-4749.

Sadahira, M. S., Lopes, F. C. R., Rodrigues, M. I., Yamada, A. T., Cunha, R. L., y Netto, F. M. (2015). Effect of pH and interaction between egg white protein and hydroxypropymethylcellulose in bulk aqueous medium on foaming properties. *Carbohydrate Polymers*, *125*, 26-34. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.033

Salehi, F. (2019). Improvement of gluten-free bread and cake properties using natural hydrocolloids: A review. *Food Science and Nutrition*, *7*(11), 3391-3402. https://doi.org/10.1002/FSN3.1245

Salgado-Cruz, M. de la P., Calderón-Domínguez, G., Chanona-Pérez, J., Farrera-Rebollo, R. R., Méndez-Méndez, J. V., y Díaz-Ramírez, M. (2013). Chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage release characterisation. A microstructural and image analysis study. *Industrial Crops and Products*, *51*, 453-462. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.036

Sarkar, A., Aiqian, Y. y Singh, H. (2016). On the Role of Bile Salts in the Digestion of Emulsified Lipids. *Food Hydrocolloids*, *60*, 77-84. 10.1016/j.foodhyd.2016.03.018.

Scheer, J. F. (2001). *The magic of Chia: revival of an ancient wonder food*. Frog Books, 174, 200 pp.

Segura-Campos, M. R., Ciau-Solís, N., Rosado-Rubio, G., Chel-Guerrero, L., y Betancur-Ancona, D. (2014). Chemical and Functional Properties of Chia Seed (*Salvia hispanica L*.) Gum. *International Journal of Food Science*, *2014*(1), 241053. https://doi.org/10.1155/2014/241053

Shubham, K., Anukiruthika, T., Dutta, S., Kashyap, A. V., Moses, J. A., y Anandharamakrishnan, C. (2020). Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends in Food Science and Technology*, *99*, 58-75. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.021

Soares, A., Tavares, M., Ortega, E., Vidigal, M. y Santana, Re. (2024). Rheological and sensorial evaluation of fruit nectar with chia mucilage. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *35*, 100849. 10.1016/j.ijgfs.2023.100849.

Sonnenburg, J. L., y Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, *535*(7610), 56-64. https://doi.org/10.1038/NATURE18846

Sosa, A., Ruiz, G., Rana, J., Gordillo, G., West, H., Sharma, M. y Liu, X. (2016). Chia Crop (*Salvia hispanica* L.): its History and Importance as a Source of Polyunsaturated Fatty Acids Omega-3 Around the World: a Review. Journal of Crop Research and Fertilizer, 1, 1-9. *10.17303/jcrf.2016.104.*

Tamargo, A., Cueva, C., Laguna, L., Moreno-Arribas, M.V., y Muñoz, L.A. (2018). Understanding the impact of chia seed mucilage on human gut microbiota by using the dynamic gastrointestinal model simgi®. *Journal of Functional Foods*, *50*, 104-111. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.028

Tamargo, A., Martin, D. Navarro del Hierro, J., Moreno Arribas, M.V. y Muñoz, LA. (2020). Intake of soluble fibre from chia seed reduces bioaccessibility of lipids, cholesterol and glucose in the dynamic gastrointestinal model simgi®. *Food Research International, 137*, 109364. 10.1016/j.foodres.2020.109364.

Tavares, L. S., Junqueira, L. A., de Oliveira Guimarães, Í. C., y de Resende, J. V. (2018). Cold extraction method of chia seed mucilage (*Salvia hispanica L*.): effect on yield and

rheological behavior. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(2), 457-466. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2954-4

Tha Goh, K. K., Matia-Merino, L., Chiang, J. H., Quek, R., Soh, S. J. B., y Lentle, R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydrate Polymers*, *149*, 297-307. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.126

Theuwissen, E., y Mensink, R. P. (2008). Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology y Behavior*, *94*(2), 285-292. https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2008.01.001

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2016). Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 128-136. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035

Tso, P. (2000). Overview of Digestion and Absorption. *En Biochemical and Physiological Aspects of Human Nutrition, editado por K. D. Crissinger and M. H. Stipanuk*, 75-90.

USDA. (2008). NRCS Plant guide. *National Plant Data Center*, Baton Rouge.

Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E., y Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *British Medical Journal*, *361*, 36-44. https://doi.org/10.1136/BMJ.K2179

Villay, A., Lakkis de Filippis, F., Picton, L., Le Cerf, D., Vial, C., y Michaud, P. (2012). Comparison of polysaccharide degradations by dynamic high-pressure homogenization. *Food Hydrocolloids*, *27*(2), 278-286. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.10.003

Vinarov Z., Tcholakova S., Damyanova B., Atanasov Y., Denkov ND., Stoyanov SD., Pelan E. y Lips A. (2012). Effects of Emulsifier Charge and Concentration on Pancreatic Lipolysis: 2. i*nterplay of emulsifiers and biles. Langmuir, 28(33), 12140-12150. 10.1021/la301820w*

Walstra, P. (1989). Principles of foam formation and stability. En Foam: Physics, chemistry and structure. *A. J. Wilson, Ed., Springer-Verlag: Berlín, Heidelberg*, *1*, 1-15.

Wang, L., Wang, L., Su, C., Wen, C., Gong, Y., You, Y., Zhao, J., Han, Y., Song, S., y Xiao, H. (2020). Characterization and digestion features of a novel polysaccharide-Fe(III) complex as an iron supplement. *Carbohydrate Polymers*, *249, 116812.* https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2020.116812

Xu, L., Meng, Y., Liu, Y., Meng, Q., Zhang, Z., Li, J., y Lu, Q. (2018). A novel iron supplements preparation from Grifola frondosa polysaccharide and assessment of antioxidant, lymphocyte proliferation and complement fixing activities. *International Journal of*

Biological Macromolecules, *108*, 1148-1157. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.163

Xu, Y., Yang, N., Yang, J., Hu, J., Zhang, K., Nishinari, K., Phillips, G. y Fang, Y. (2019). Protein/Polysaccharide Intramolecular Electrostatic Complex as Superior Food-Grade Foaming Agent. *Food Hydrocolloids*, 101, 105474. 10.1016/j.foodhyd.2019.105474.

Ye, A. y Singh., H. (2013). Effect of Calcium on the Kinetics of Free Fatty Acid Release during in Vitro Lipid Digestion in Model Emulsions. *Food Chemistry*, *139*, 681-688. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.014

Zettel, V., y Hitzmann, B. (2018). Applications of chia (*Salvia hispanica L.*) in food products. *Trends in Food Science and Technology*, *80*, 43-50. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.011

Zhao, X., Qiao, L. y Wu, A. M. (2017). Effective extraction of Arabidopsis adherent seed mucilage by ultrasonic treatment. *Scientific reports*, *7, 40672*. https://doi.org/10.1038/SREP40672

Zheng, B., Ao, T., Zhao, X., Chen, Y., Xie, J., Gao, X., Liu, L., Hu, X. y Yu, Q. (2024). Comprehensive assessment of the anti-obesity effects of highland barley total, insoluble, and soluble dietary fiber through multi-omics analysis. *Food Research International*, *189*, 114535. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2024.114535

Zhou, H. y Hylemon, PB. (2014). Bile acids are nutrient signaling hormones. Steroids, 86:62-8. doi: 10.1016/j.steroids.2014.04.016.

Zimmermann, M. B. y Hurrell, R. F. (2007). Nutritional iron deficiency. *Lancet*, *370*(9586), 511-520. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61235-5

Zornjak, J. y Fraguas, C. F. (2020). Bulk and Interfacial Interactions between Hydroxypropyl-Cellulose and Bile Salts: Impact on the Digestion of Emulsified Lipids. *Food Hydrocolloids 106, 105867. 10.1016/j.foodhyd.2020.105867.*

OBJETIVOS

Al momento de plantear los objetivos de esta tesis, luego de haber realizado una exhaustiva búsqueda bibliográfica del tema, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

- La información existe en la literatura, hasta el momento, en relación con las condiciones de extracción de mucílago de chía, y la variabilidad en las características de los mucílagos obtenidos en función de dichas condiciones.
- Los conocimientos sobre la estrategia de modificación de estructura como herramienta para ampliar la versatilidad de diferentes compuestos.
- El potencial efecto beneficioso que tiene el consumo de fibras sobre la salud.

Por ello, a continuación, se presenta el objetivo general de este trabajo de tesis, seguido de los objetivos específicos que se han planteado para alcanzarlo.

OBJETIVO GENERAL

Optimizar la extracción del mucilago de chía (MC) mediante el uso de ultrasonido de alta intensidad (USAI), caracterizarlo, evaluar su modificación estructural mediante la homogeneización a alta presión (HPH) y sus potenciales beneficios para la salud.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar la eficiencia de un tratamiento con USAI en la extracción de MC a partir de la semilla de chía, y optimizar las variables del proceso.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y tecno-funcionales de los MC extraídos.
- Estudiar las modificaciones estructurales del MC por efecto del tratamiento HPH y su impacto en propiedades tecnológicas de interés.
- Evaluar la capacidad del MC de alterar la liberación de ácidos grasos durante la digestión gastroduodenal *in vitro* de emulsiones formuladas con MC y estudiar la existencia de interacción del MC con las sales biliares.
- Determinar la capacidad del MC de unir hierro para evaluar su capacidad como carrier de dicho mineral.
- Estudiar la aptitud del mucilago de chía para desarrollar bebidas funcionales fortificadas con hierro.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales

1.1. Semillas de chía

Las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) utilizadas en este estudio fueron proporcionadas por productores de Salta, Argentina, cosechadas en el año 2018. La humedad de las semillas fue de 9 % (bs). Las mismas se fraccionaron en bolsas plásticas herméticas de 500 gramos y se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

1.2. Proteínas

Para algunos de los estudios se realizaron mezclas de mucílago de chía con dos proteínas lácteas, caseinoglicomacropéptido y β-lactoglobulina. Ambas proteínas fueron provistas por Agropur Inc. (Eden Prairie, Minnesota, Estados Unidos).

La composición del caseinoglicomacropéptido (CMP) comercial (BioPURE CMP), es: 93,5 % de proteína (base seca), siendo CMP el 96,0% del total de proteínas, 0,5 % de grasa, 6,0 % de ceniza y 6,5 % de humedad.

La composición de la β-lactoglobulina (BioPURE β-lactoglobulinaes: 97,8 % de proteína (base seca) siendo β-lactoglobulina el 93,6 % del total de proteínas, 0,3 % de grasa, 1,8 % de ceniza y 5,0 % de humedad.

1.3. Goma xántica y goma guar

Para algunas determinaciones se tomó de referencia los valores obtenidos con gomas comerciales como goma xántica y goma guar. Las mismas fueron provistas por Sanofi (Bio-Industrias).

2. Métodos

2.1. Optimización de la extracción

2.1.1. Extracción del mucilago de chía

Teniendo en cuenta la dificultad que representa la extracción de mucílago de la semilla de chía se decidió realizar la extracción con la asistencia de ultrasonidos de alta intensidad (USAI), ya que a partir de estudios preliminares se obtuvo un mayor rendimiento con el uso de USAI comparado a una extracción convencional sin USAI.

Para llevar a cabo la extracción del mucílago se realizó un diseño experimental con el objetivo de optimizar las condiciones de extracción en función, en primera instancia, del rendimiento obtenido, aunque luego también se consideraron otras respuestas.

Según lo consultado en bibliografía, las variables más comunes en la extracción de mucílago de chía son: relación semilla:agua, temperatura, pH y tiempo de extracción(Mensah et al., 2024) . A partir de estudios preliminares y de los resultados encontrados en la bibliografía se decidió descartar la variable de pH, ya que dicha variable no influía tanto en el rendimiento de extracción como las otras tres. Por lo tanto, se optó por un diseño de red uniforme Doehlert (Doehlert, 1970) para tres factores en 3, 5 y 7 niveles. Las variables estudiadas fueron la relación semilla:agua (p/v) (1:10, 1:15 y 1:20), la temperatura de extracción (25, 35, 45, 55 y 65°C) y el tiempo de extracción (30, 60, 90, 120, 150, 180 y 210 min).

El procedimiento de extracción se realizó según el diagrama de flujo de la **Figura 13**.



Figura 13. Diagrama de flujo del proceso de extracción asistida por USAI del mucílago de la semilla de chía.

El proceso de extracción puede dividirse en cuatro grandes etapas:

1) Se mezcló la cantidad necesaria de semillas de chía con 10 mL de agua destilada para obtener las diferentes relaciones semilla:agua, que se mantuvieron bajo agitación a cada tiempo elegido con un agitador magnético orbital, y la temperatura se mantuvo utilizando una incubadora (HERAtherm, Thermo Scientific, EE. UU.). Durante esta etapa, al ponerse en contacto la semilla con agua, el mucílago que se encuentra en el interior de la semilla es exudado hacia la superficie.
2) Una vez concluido el tiempo de extracción, la mezcla se sometió a la aplicación de ultrasonidos de alta intensidad (USAI) durante 3 minutos en un equipo procesador ultrasónico Vibra Cell Sonics® VCX750 (**Figura 14**) (Newton, CT, EE.UU.) con una potencia neta máxima de 750 W, a una frecuencia de 20 kHz y una amplitud del 20%, controlando la temperatura a 20 °C usando una camisa termostatizada con glicerina conectada a un baño de agua (Polystat, Cole-Parmer) seteado a 5 °C. Esta etapa se agregó al proceso de extracción con el objetivo de mejorar la separación del mucílago de la semilla, que es un punto crítico para la obtención de un mayor rendimiento.



Figura 14. Equipo de ultrasonido de alta intensidad (Sonics®).

3) La mezcla viscosa de semillas y agua se centrifugó a 9000 g durante 20 minutos a 20 °C (Centrifuga 5804 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemania). El sobrenadante que se obtuvo constaba de dos capas o fases (**Figura 15**), la fase inferior era más viscosa y opaca (FO) y la fase superior más translúcida (FT). Ambas fases se separaron del pellet de semillas, se cuantificaron por separado (como se explica en la siguiente sección) y

posteriormente se mezclaron y congelaron para luego ser secadas en un liofilizador (L-A-B3, Rificor, Argentina).

4) Luego de obtener el mucilago de chía seco, se molió utilizando un procesador de alimentos para obtener un polvo fino y se determinó su masa para calcular el rendimiento. El mucílago seco se envasó en recipientes herméticamente sellados y se almacenó a -18 °C.



Figura 15. Mucílagos de chía y pellet de semillas obtenidos luego de la centrifugación de muestras extraídas con asistencia de USAI.

2.1.2. Diseño experimental

Para el diseño experimental, los valores reales de las variables independientes (x) se codificaron con base en una funcionalidad lineal entre los valores codificados (z) y reales (x) de acuerdo con la **Ecuación 1**:

$$X = z\frac{\Delta x}{\Delta z} + X_0 \qquad \textbf{(1)}$$

Donde: **x** es el valor real de la variable independiente; **z** es el valor codificado de la variable independiente dada por la matriz experimental; $\mathbf{x_0}$ es el valor real del punto central; **Δx** y **Δz** son la diferencia entre los valores más alto y más bajo de los números reales y codificados, respectivamente.

El valor de los niveles de las variables reales y codificados estudiadas se muestra en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Valores reales y codificados (entre paréntesis) para las variables estudiadas

Variable	Valores reales y codificados
Relación semilla:agua (g:mL)	1:20 (-0,816); 1:15 (0); 1:10 (0,816)
Temperatura (°C)	25(-1); 35 (-0,5); 45 (0); 55 (0,5); 65 (1)
Tiempo (min)	30 (-0,866); 60 (-0,577); 90 (-0,289); 120 (0); 150 (0,289); 180 (0,577); 210 (0,866)

Las respuestas estudiadas fueron: rendimiento, en gramos de mucílago de chía cada 100 g de semilla seca (SS); relación de fase translúcida y fase opaca (FT/FO); y viscosidad aparente de la solución de mucílago de chía crudo (Pa/s). Denominamos mucílago de chía crudo al mucílago recién extraído, previo a la liofilización.

2.1.2.1. Determinación del rendimiento de extracción

El rendimiento de extracción del mucílago de chía se calculó mediante el peso seco del mucílago de chía (Mms) relativo al peso de semillas secas utilizadas para la obtención de dicho mucílago (Mss) (Campos et al., 2016; Tha Goh et al., 2016; Lin et al., 1994; Muñoz et al., 2012; Punia y Dhull, 2019), expresado en porcentaje como indica la **Ecuación 2**:

$$Rendimiento\ (\%) = \frac{Mms}{Mss} \times 100 \qquad \textbf{(2)}$$

2.1.2.2. Determinación de la relación FT/FO

Luego de la centrifugación del mucílago extraído, las fracciones opacas y translúcidas observadas en la **Figura 15** fueron recuperadas en tubos graduados y se midieron sus respectivos volúmenes con el fin de determinar la relación FT/FO correspondiente en cada uno de los puntos de la red.

2.1.2.3. Determinación de la viscosidad del mucílago de chía

La viscosidad del mucílago crudo extraído completo y las fases (FO y FT) por separado fueron evaluadas en un reómetro oscilatorio dinámico Modular Compact Rheometer (MCR 302, Anton Paar) con esfuerzo de corte controlado. Se determinaron las curvas de

flujo utilizando un sistema de cono-plato con un ángulo de 2° (CP40-2). La temperatura fue controlada a 25 °C mediante un sistema Peltier y un baño termostatizado. Se programó un aumento de la velocidad de deformación de 0,1 a 300 s^{-1} y de 300 a 0,1 s^{-1} para evaluar si presentaba o no tixotropía. El rango de medición se encuentra dentro de la región viscoelástica lineal, previamente determinada. Se informó la viscosidad aparente (η_{ap}) obtenida a partir de la relación de esfuerzo de corte/velocidad de corte a 10,3 s^{-1} luego de eliminada la tixotropía con tres ciclos sucesivos de aumento de velocidad de deformación. Las curvas de flujo se ajustaron al modelo de Herschel Buckley, según **Ecuación 3**:

$$\tau = \tau_0 + k\,\dot{\gamma}^n \qquad \textbf{(3)}$$

Donde: $\boldsymbol{\tau}$ es el esfuerzo de corte; $\boldsymbol{\tau_0}$ es el esfuerzo mínimo de corte (Pa), necesario para que el fluido comience a fluir; **k** es el índice de consistencia; $\dot{\boldsymbol{\gamma}}$ es la velocidad de deformación; **n** es el índice de comportamiento de flujo, describe si el fluido es pseudoplástico (n<1), dilatante (n>1) o tiene un comportamiento newtoniano (n=1).

2.1.3. Análisis del diseño experimental

La red de Doehlert (**Tabla 2**) y las respuestas experimentales se analizaron utilizando el software Statgraphics 16.1.03 para realizar el análisis estadístico de las respuestas, desarrollar múltiples modelos de regresión a partir de los datos experimentales y obtener gráficos de superficie de respuesta para predecir las condiciones óptimas del proceso para maximizar las respuestas.

Tabla 2. Matriz experimental de la extracción del mucílago de chía.

Extracción	Relación semilla:agua	Temperatura	Tiempo
1	0,000	1,000	0,000
2	0,000	-1,000	0,000
3	0,000	0,500	0,866
4	0,000	-0,500	-0,866
5	0,000	0,500	-0,866
6	0,000	-0,500	0,866
7	0,816	0,500	0,289
8	-0,816	-0,500	-0,289
9	-0,816	0,500	-0,289
10	-0,816	0,000	0,577
11	0,816	-0,500	0,289
12	0,816	0,000	-0,577
13	0,000	0,000	0,000
14	0,000	0,000	0,000
15	0,000	0,000	0,000

Los datos experimentales se ajustaron a un modelo cuadrático completo (**Ecuación (4)**):

$$Y = b_0 + b_1x^1 + b_2x^2 + b_3x^3 + b_4x_1^2 + b_5x_2^2 + b_6x_3^2 + b_7\,x_1\,x_2 + b_8\,x_1\,x_3 + b_9\,x_2\,x_3 \qquad \textbf{(4)}$$

Donde: **Y**, la variable dependiente, es la respuesta predicha (rendimiento de extracción, FT/FO y viscosidad aparente); **b** son los coeficientes de regresión dados por el modelo, siendo: b_0 el término constante, b_1, b_2 y b_3 los efectos lineales, b_4, b_5 y b_6 los efectos cuadráticos, y b_7, b_8 y b_9 los efectos de interacción; **x** representan los niveles codificados de las variables independientes, siendo: x_1 la relación semilla:agua, x_2 la temperatura, x_3 el tiempo de extracción.

A partir de dicho ajuste se obtienen los coeficientes de regresión de cada término y además se genera el valor estadístico de R^2 y R^2 ajustado, el cual es más adecuado para comparar modelos con diferentes números de variables independientes.

Se realizó un análisis de varianza para evaluar las variables independientes que se encontraron significativas en $p < 0,05$, y así determinar cuál de las variables del proceso tuvo efectos significativos en la respuesta. Sólo se seleccionaron términos con

coeficientes significativos para construir los modelos. Se realizó una prueba de falta de ajuste, obteniendo como resultado un valor $p > 0,05$ para todas las respuestas evaluadas, indicando que el modelo empleado ajusta adecuadamente los datos experimentales.

Adicionalmente, se utilizó la función de deseabilidad (D), que permite transformar múltiples respuestas en la optimización global del proceso, y así encontrar el mejor compromiso entre maximizar el rendimiento de extracción y minimizar o maximizar la viscosidad aparente, participando cada una de las respuestas con el mismo peso.

2.1.4. Validación del diseño experimental

Finalmente, se seleccionaron dos conjuntos de condiciones para la prueba de validación, se realizó la extracción en dichas condiciones y los resultados se compararon con los resultados esperados mediante el uso de las ecuaciones reducidas del ajuste, previamente obtenidas.

A partir de la optimización de la extracción se decidió continuar el trabajo de tesis con los mucílagos obtenidos a partir de dos condiciones de extracción que permiten obtener mucílagos con altos rendimientos, pero con diferentes viscosidades, como se describirá en los resultados del capítulo 1. Estos mucílagos fueron denominados MC A al mucílago de chía que presentó la mayor viscosidad y MC B al mucílago de chía con menor viscosidad. Ambos mucílagos son los que se evaluarán en todas las metodologías que se mencionarán a continuación.

2.1.5. Preparación de soluciones

Para todos los ensayos posteriores a la optimización de la extracción, no se trabajó con el MC crudo, sino con el mucílago liofilizado. Las soluciones tanto de MC, como de las proteínas fueron preparadas en agua bidestilada, a las cuales se les ajustó el pH por medio del agregado de HCl o NaOH 0,01, 0,1 o 1 N según el caso.

En el caso de las soluciones de MC, una vez resuspendido el polvo en agua a la concentración correspondiente, se lo dejó en agitación durante 2 h para garantizar la completa hidratación y posteriormente se dejó en refrigeración (4 °C) hasta el día siguiente. Las concentraciones de MC utilizadas para cada determinación se detallan en

cada metodología empleada. Las soluciones de proteínas se prepararon el mismo día de estudio con 2 h de anticipación para garantizar su completa hidratación.

Para estudios de composición proximal, peso molecular, FTIR y capacidad de absorción de agua se utilizó el MC en polvo.

2.2. Modificación física del mucílago de chía por homogeneización a altas presiones

Las soluciones de MC al 0,2 % p/p se sometieron a un tratamiento de homogeneización a alta presión (HPH) en un equipo Panda PLUS 2000 (GEA Niro Soavi, Alemania) con una válvula de dos etapas, una presión máxima de 2000 bar y una tasa de flujo de 9 l/h (**Figura 16a**). Una vez dentro del sistema, el fluido es presurizado a través de una bomba de pistón o émbolo. El fluido presurizado pasa por una válvula de homogenización ajustable que tiene una pequeña apertura. Al pasar por esta válvula, el fluido experimenta una caída de presión extrema. Este proceso genera fuerzas intensas de cizalla, turbulencia y cavitación. La cavitación ocurre cuando el fluido sufre un cambio rápido de presión, creando pequeñas burbujas de vapor que colapsan, ayudando a romper las partículas y/o gotas en el fluido. Estas fuerzas combinadas (cizalla, turbulencia y cavitación) provocan la fragmentación de las partículas, lo que resulta en una reducción significativa de su tamaño. Como resultado, se obtienen partículas más pequeñas y uniformes. Después de pasar por la válvula de homogenización, el fluido ya homogenizado sale del equipo a menor presión y con las partículas distribuidas de manera uniforme (**Figura 16b**).

En el presente trabajo, el tratamiento de homogeneización se realizó a una presión de 2000 bar, aplicando el 80 % de esta presión con la primera válvula y el 20 % con la segunda válvula. La temperatura final del tratamiento fue cercana a 30,6 °C. El MC se sometió a tres ciclos sucesivos de homogeneización a alta presión. Después de cada ciclo, se determinó el tamaño de partícula por dispersión dinámica de luz como se describe más adelante (sección 2.3.3) para evaluar la eficiencia del tratamiento realizado.

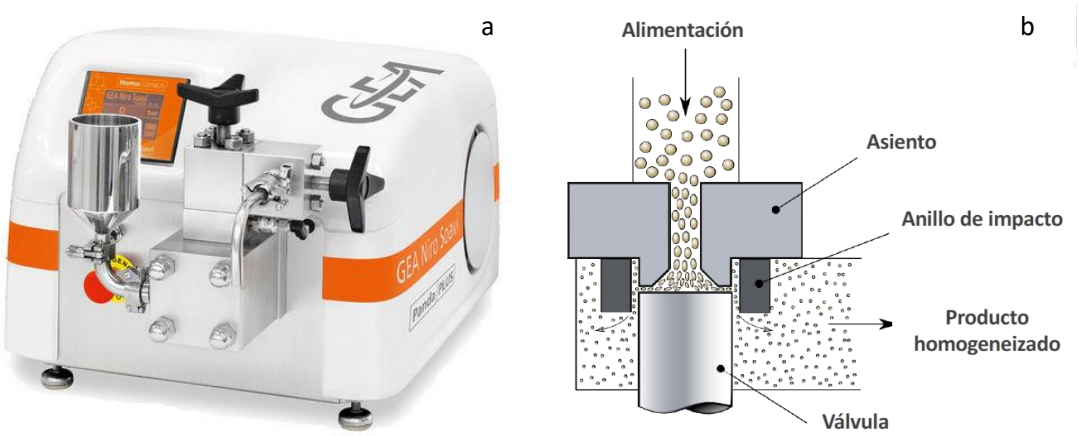


Figura 16. Foto del homogeneizador por altas presiones (GEA) (a) y esquema de funcionamiento (b).

2.3. Caracterización fisicoquímica del mucílago de chía

2.3.1. Composición proximal

El contenido total de carbohidratos del MC se determinó mediante el método de fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al., 1956). Dicho método se basa en la hidrólisis de los carbohidratos mediante la acción del ácido sulfúrico concentrado, liberando azúcares que reaccionan con el fenol para formar un compuesto coloreado. La intensidad del color, medida espectrofotométricamente a 480 nm (máximo de absorción para xilosa), es proporcional a la concentración de carbohidratos. El contenido de hidratos de carbono totales se cuantificó por referencia a curvas patrón de xilosa, por considerarla el azúcar mayoritario.

El contenido de ácidos urónicos se determinó siguiendo la modificación de Filisetti-Cozzi y Carpita (1991) del método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973), un ensayo colorimétrico específico para detectar estos compuestos a 525 nm.

El contenido de proteínas se determinó utilizando el método estándar de AOAC 960.52 (AOAC, 2006), que se basa en la determinación del nitrógeno total mediante un proceso de digestión química (método Kjeldahl). El contenido de nitrógeno se convierte en contenido proteico utilizando un factor de conversión estándar (f = 6,25), asumiendo que las proteínas contienen aproximadamente un 16% de nitrógeno.

El contenido de fibras se determinó siguiendo las indicaciones del método 985.29 de la AOAC (AOAC, 2006). Este método evalúa las fibras dietéticas totales mediante un procedimiento gravimétrico que incluye la eliminación de lípidos, proteínas y

carbohidratos digeribles, dejando únicamente la fracción de fibras. Estas se cuantifican pesándolas tras el secado.

2.3.2. Peso molecular

La determinación del peso molecular del MC se llevó a cabo mediante cromatografía de permeación en gel en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (GPC-HPLC). El análisis se realizó utilizando las columnas Polysep-GFC-P5000 (300 × 7,8 mm, rango de 50–2000 kDa) y Supelco TSK-GP4000PW (300 × 7,8 mm, rango de 1–700 kDa) conectadas en serie. Se utilizó un solvente de elución de 0,05 M $NaNO_3$ con 0,02 % de NaN_3. El trabajo se realizó a una tasa de flujo constante de 0,6 ml/min y a 20 °C. El sistema se calibró utilizando dextranos como estándares y se empleó el programa LC Solution GPC (Shimadzu).

2.3.3. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula del MC se determinó mediante dispersión de luz dinámica (DLS) en un equipo Zetasizer Lab Red Label (Malvern Panalytical, United Kingdom) como el que se muestra en la **Figura 17**. Las mediciones fueron realizadas a un ángulo de dispersión de 90 ° y a 25 °C. El rango de medición del equipo es 0,3 – 10000 nm. La solución de MC fue preparada al 0,2 % p/p y se filtró a través de microfiltros de 0,45 µm, previo a la medida. Se utilizaron cubetas de plástico desechables para las mediciones y se tomó el promedio de cinco mediciones.



Figura 17. Equipo de dispersión dinámica de luz Zetasizer Lab Red Label (Malvern Panalytical).

El fundamento de la medición se basa en el movimiento Browniano de las partículas, que se debe a la colisión al azar de las moléculas del líquido que rodean a la partícula. Las partículas pequeñas se mueven rápidamente y las grandes lo hacen más lentamente. En la técnica DLS, la muestra es iluminada con un láser y la intensidad de la luz dispersada producida por las partículas fluctúa a una velocidad que es dependiente del tamaño de las partículas. El análisis de la intensidad de estas fluctuaciones permite estimar el coeficiente de difusión translacional (*D*) de la partícula y a partir de éste el tamaño de la misma mediante la ecuación de Stokes–Einstein (**Ecuación (5)**):

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \qquad \textbf{(5)}$$

Donde: ***d(H)*****:** diámetro hidrodinámico (m); ***D*****:** coeficiente de difusión translacional ($m^2.s^{-1}$); ***k*****:** constante de Boltzmann (1,38 x 10^{-23} $N.m.K^{-1}$); ***T*****:** temperatura absoluta (K); **η**: viscosidad ($N.s.m^{-2}$).

En el presente trabajo, el tamaño de partícula se derivó del Análisis de Contin: se ajusta una exponencial múltiple a la función de correlación para obtener la distribución porcentual de tamaños de partículas (Stepanek, 1993). La distribución de tamaño obtenida es un gráfico de la intensidad relativa de luz dispersada por las partículas en varias clases de tamaños y por lo tanto se define como distribución de tamaño por intensidad. Aunque la distribución de tamaño fundamental generada por el equipo es la distribución por intensidad, ésta se puede convertir, mediante la teoría de Mie (Mie, 1908), a distribución por volumen con el objetivo de analizar la importancia de los diferentes picos en relación con la cantidad de partículas que lo conforman.

Una forma muy simple de describir las diferencias entre las distribuciones de intensidad, volumen y número es considerar por ejemplo dos poblaciones de partículas esféricas de 5 y 50 nm de diámetro presentes en igual cantidad. Si se grafica una distribución de número de estas dos poblaciones de partículas, el gráfico consistirá en dos picos (ubicados a 5 y 50 nm) obteniendo una relación 1:1 (**Figura18A**). Si en cambio se grafica una distribución en volumen (**Figura18B**), entonces la relación de estos dos picos cambia a 1:1000 (porque el volumen de una esfera es $\frac{4}{3}\pi(\frac{d}{2})^3$). Por último, si quisiéramos graficar una distribución de intensidad (**Figura18C**), la relación entre los dos picos sería de

1:1000000 (porque la intensidad de dispersión es proporcional al diámetro^6 a partir de la aproximación de Rayleighs) (Malvern Instruments Ltd., 2013).

Es importante recordar que en DLS, la distribución que se obtiene es en intensidad y que las distribuciones de volumen y número son obtenidas a partir de ésta, de aquí la importancia de que la lectura del tamaño de partícula se haga a partir de la distribución en intensidad. En este trabajo se analizarán en primer lugar las distribuciones en intensidad y luego las distribuciones en volumen, ya que da una visión más realista de la importancia de los picos. La distribución en número no se evaluará ya que arrastra muchos errores a partir de su cálculo y no aporta información extra.

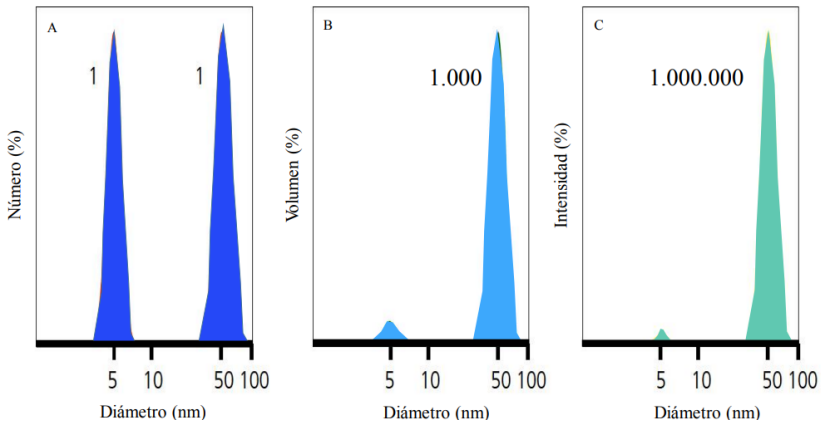


Figura 18. Distribución en (A) número, (B) volumen y (C) intensidad de una muestra bimodal de partículas de 5 y 50 nm presentes en igual cantidad. Fuente: Malvern Instruments Ltd. (2013).

Todos los ensayos de tamaño de partícula se realizaron por duplicado y se informa un promedio y desviación estándar.

2.3.4. Potencial zeta

Las mediciones del potencial ζ se realizaron también mediante dispersión de luz dinámica (DLS) en el mismo equipo Zetasizer Lab Red Label (Malvern Panalytical, United Kingdom) pero evaluando ahora la movilidad electroforética de las partículas. Se determinó el potencial zeta de soluciones de MC (0,01 % p/p, hidratado según sección 2.1.5), a diferentes valores de pH (1,3; 2; 2,5; 3; 4; 5; 6; 7 y 8). Todas las muestras se colocaron en celdas capilares provistas de electrodos de platino a cada lado (**Figura 19**)

para su correspondiente medida. Los valores reportados son el promedio y la desviación estándar de dos mediciones.

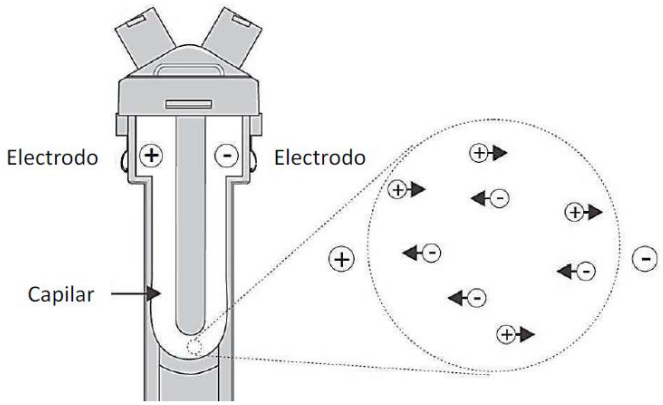


Figura 19. Celda para la determinación del potencial zeta. Fuente: Malvern Instruments Ltd. (2013).

Cuando se aplica un campo eléctrico, las partículas cargadas que se encuentran en la dispersión migran hacia el electrodo con carga opuesta. La velocidad a la que migran las partículas se conoce como movilidad electroforética y se puede convertir al potencial zeta mediante la aplicación de la ecuación de Henry (**Ecuación (6)**):

$$U_E = \frac{2\varepsilon Z f(ka)}{3\mu} \qquad \textbf{(6)}$$

Donde: **Z** es el potencial zeta; $\mathbf{U_E}$ es la movilidad electroforética; $\boldsymbol{\varepsilon}$ es la constante dieléctrica del medio; $\boldsymbol{\mu}$ es la viscosidad y $\boldsymbol{f}$**(ka)** es la función de Henry.

En medios acuosos y con baja concentración de electrolitos se usa una aproximación de f(ka) igual a 1,0 (aproximación de Huckel) (Malvern Instruments Ltd., 2013). El desarrollo de una carga neta en la superficie de una partícula afecta a la distribución de los iones que se encuentran en la región interfacial circundante. Esto resulta en un aumento de la concentración de iones de carga opuesta a la partícula que están cercanos a la superficie. Así, se genera una doble capa eléctrica alrededor de cada partícula (**Figura 20**).

La capa de líquido que rodea a la partícula tiene dos partes: una región interna, conocida como capa de Stern, donde los iones están fuertemente ligados, y una región externa, conocida como capa difusa, donde los iones están ligados más débilmente. Cuando una

partícula se mueve (por ejemplo, debido a la gravedad), lo hace con los iones que conforman la capa Stern y la capa difusa, pero los iones que se encuentran por fuera del límite no se mueven con la partícula. Este límite se conoce como plano de deslizamiento. El potencial que existe en este límite se conoce como potencial zeta (**Figura 20**) y su magnitud es un indicador de la estabilidad del sistema coloidal en estudio (Malvern Instruments Ltd., 2013).

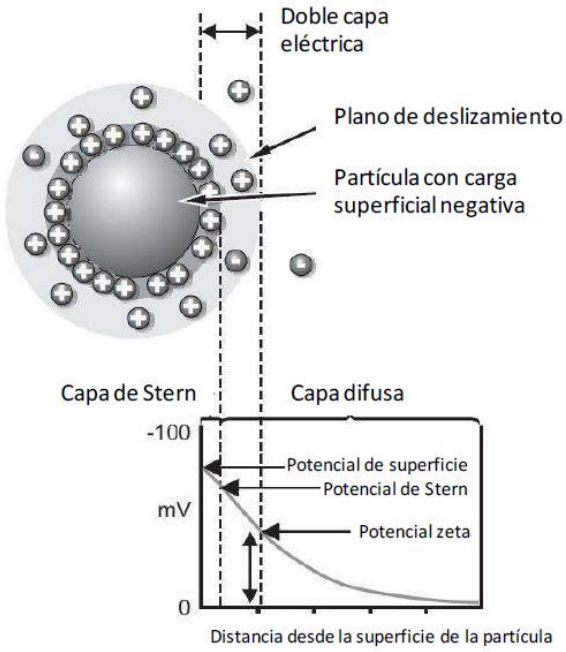


Figura 20. Esquema de una partícula cargada y de la doble capa que la rodea. Fuente: Malvern Instruments Ltd. (2013).

2.3.5. Microestructura

Se utilizó un microscopio óptico (modelo BX61, Olympus Corp. Japón) provisto de un objetivo de 40× para evaluar tanto el proceso de extracción del mucílago desde semilla de chía asistida por USAI a distintos tiempos como las soluciones 0,2 % p/p de MC preparadas a partir del mucílago liofilizado (hidratado según inciso 2.1.5.). Los archivos de imagen digital se adquirieron en formato .tif múltiple.

Para la evaluación de la eficiencia del USAI para separar el mucílago de la semilla durante la extracción, se realizó una extracción según la metodología descrita en el apartado 2.1.1 y se obtuvieron imágenes de la muestra sin sonicación y con sonicación durante 10 s, 30 s, 1 min y 3 min. Esta evaluación también se realizó mediante el uso de una lupa

binocular (Unitron MS, Unitron Inc., Nueva York, Estados Unidos) evaluando tanto la muestra sin sonicación como la sonicada a diferentes tiempos.

2.3.6. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros FTIR se registraron a temperatura ambiente en un espectrofotómetro infrarrojo Shimadzu® (modelo IR Prestige-21, Japón) en un rango de longitud de onda de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}. Un miligramo de muestra liofilizada se mezcló con 100 mg de KBr, se molió hasta obtener un polvo fino y se comprimió en un disco delgado. Cada muestra se sometió a 40 escaneos con una resolución de 2,0 cm^{-1}. Las señales de los picos en los espectros se analizaron utilizando el software OMNIC 8.2 (Thermo Nicolet Co., Madison, WI, EE. UU.).

2.4. Caracterización de propiedades tecnológicas del mucílago de chía

2.4.1. Propiedades reológicas

Las propiedades reológicas de los MC preparados a partir del MC seco se estudiaron mediante la obtención de las curvas de flujo como se describió previamente en la sección 2.1.2.3. Se evaluaron, por duplicado, soluciones de MC al 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % y 1 % p/p y también de goma xántica al 0,2 % p/p como control. Se informaron los valores del coeficiente de consistencia (k) y el índice de comportamiento de flujo (n) obtenidos al ajustar las curvas de flujo con Herschel Buckley (**Ecuación 3**) y la viscosidad aparente (η_{ap}) obtenida a partir de la relación de esfuerzo de corte/velocidad de corte a 149 s^{-1} luego de eliminada la tixotropía con tres ciclos sucesivos de aumento de velocidad de deformación.

2.4.2. Capacidad de absorción de agua

La capacidad de absorción de agua (WAC, por sus siglas en inglés) se evaluó utilizando un aparato Baumann modificado (Pilosof et al., 1985) en el que se puede determinar el volumen de agua absorbido por la muestra. El aparato de Baumann consiste en un filtro bacteriológico millipore de 4 cm de diámetro, en el cual se coloca un papel de filtro (tipo Whatman o similar). El filtro está conectado mediante una manguera flexible a una pipeta graduada de 1 o 2 mL, sostenida en posición horizontal y al mismo nivel que el papel de filtro (**Figura 21**). Se colocaron 10 mg de muestra de MC y también de goma

xántica, como control, en un papel de filtro en un extremo del aparato y se registró el cambio en el volumen de agua a lo largo del tiempo en la pipeta horizontal llena de agua, conectada al dispositivo que contenía la muestra y equilibrada al mismo nivel que el papel de filtro. Se informó la capacidad de absorción de agua, a los 120 minutos, como g agua/g muestra.

Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente y las lecturas se corrigieron considerando las pérdidas por evaporación. Para ello, se llevó a cabo una medición siguiendo el procedimiento descrito, pero sin colocar la muestra en polvo en el filtro. A partir de estas mediciones, se obtuvo una curva de evaporación que permitió realizar las correcciones necesarias en cada punto de las curvas de absorción de agua obtenidas.

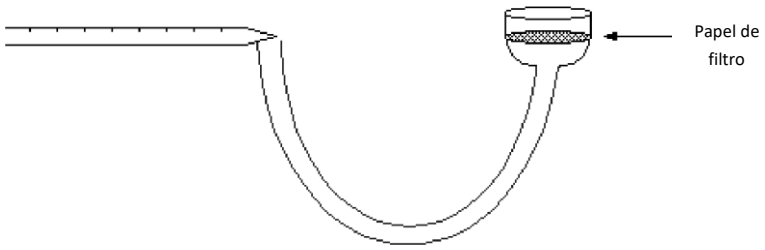


Figura 21. Aparato modificado de Baumann.

2.4.3. Capacidad de retención de agua

Para la determinación de la capacidad de retención de agua (WHC, por sus siglas en inglés), se colocaron soluciones de MC al 0,2 % p/p (y también de goma xántica y goma guar a la misma concentración como control) en tubos con filtros (BIO-RAD, Mini Spin Filters, 50), y se sometieron a centrifugación a 5600 g durante 5 minutos. La WHC se calculó según la **Ecuación (7)**:

$$WHC\ (\%) = \frac{100 * (Wi\ -\ Wp)}{Ws} \qquad \textbf{(7)}$$

Donde: **Wi** masa inicial de agua (g); **Wp** masa de agua perdida (g); **Ws** masa de la solución al 0,2 % p/p.

2.4.4. Propiedades interfaciales aire:agua

La tensión interfacial y la reología dilatacional en la interfase aire/agua para soluciones de MC (0,1, 0,2 y 0,5 % p/p), CMP (2 % p/p) y sus mezclas se midieron utilizando un tensiómetro interfacial PAT-1 (SINTERFACE Technologies, Berlín, Alemania) empleando el método de la gota pendiente. El equipo utilizado (**Figura 22**) cuenta con un sistema de inyección que permite la formación de una gota (12 µl), con la solución del agente interfacial, en la punta de un capilar inmerso en una cubeta de vidrio. Para el caso de estudio de interfases aire/agua (A/W, por sus siglas en inglés) se trabaja con la cubeta vacía.

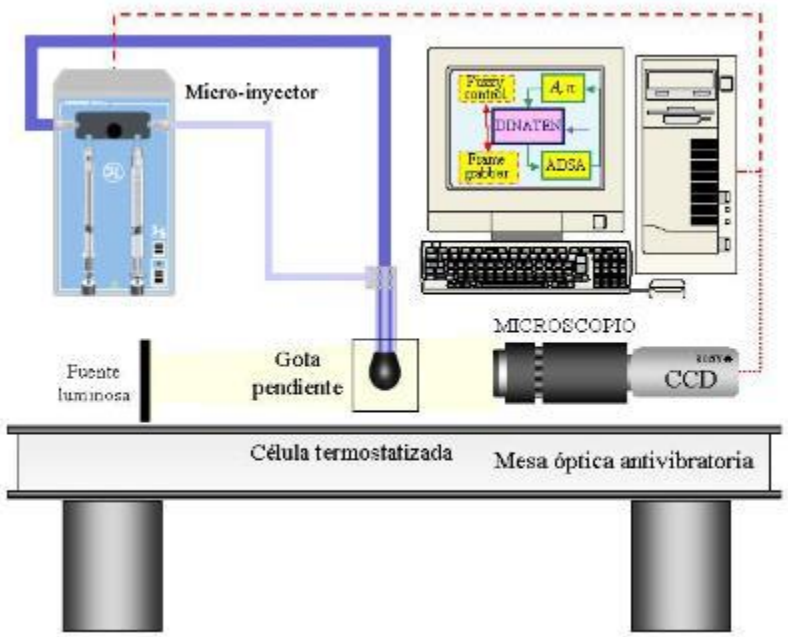


Figura 22. Esquema del tensiómetro interfacial PAT-1. Fuente: Bellesi (2016).

El tensiómetro, además cuenta con un sistema óptico formado por una fuente de luz, lentes y una cámara CCD que permite obtener imágenes de la gota en una computadora. La tensión interfacial se determina mediante la ecuación de Young-Laplace midiendo los cambios en el perfil de la gota. La presión superficial (π) se define como (**Ecuación (8)**):

$$\pi = \gamma_0 - \gamma \qquad \textbf{(8)}$$

Donde: $\boldsymbol{\gamma_0}$ es la tensión superficial del agua pura en ausencia de cualquier componente activo en la superficie; $\boldsymbol{\gamma}$ es la tensión superficial de las soluciones.

A partir de los valores de γ, es posible obtener la cinética de adsorción interfacial de cada surfactante analizando los cambios de presión interfacial (π) con el tiempo. Además de la variación de γ con el tiempo, se puede obtener la respuesta de γ al someter el área de la interfase a una deformación, llevada a cabo mediante expansiones y contracciones de carácter sinusoidal del volumen de la gota (de amplitud y frecuencia fijas), lo cual produce la variación de la concentración interfacial del agente tensioactivo adsorbido en la interfase, causante de esa respuesta (**Ecuación (9)**). En este caso, la viscoelasticidad superficial se midió oscilando el volumen de la gota en condiciones que garantizan que los parámetros reológicos sean independientes de la amplitud (amplitud del 3 % y frecuencia de 0,05 Hz). Las compresiones y expansiones sinusoidales se lograron con seis ciclos de oscilación, seguidos de 10 minutos de registro con un área interfacial constante. Como respuesta a la variación de la tensión interfacial (**Ecuación (9)**) causada por la deformación sinusoidal aplicada en el área (**Ecuación (10)**), se obtiene el valor del módulo elástico dilatacional (E) de la película del agente tensioactivo (**Ecuación (11)**) que permitirá describir el comportamiento reológico de cada interfase.

$$\gamma = \gamma_0 . sen(\omega\theta + \Phi) \quad \textbf{(9)}$$

$$A = A_0 . sen(\omega\theta) \quad \textbf{(10)}$$

$$E = \frac{d\gamma}{\frac{dA}{A}} = -\frac{d\pi}{dlnA} \quad \textbf{(11)}$$

Donde: $\boldsymbol{\gamma_0}$ amplitud del esfuerzo; $\boldsymbol{A_0}$ amplitud a la deformación; $\boldsymbol{\phi}$ es el ángulo de fase entre el esfuerzo y la deformación, $\boldsymbol{\theta}$ es el tiempo; $\boldsymbol{\omega}$ la frecuencia de la oscilación.
El módulo dilatacional es un término complejo que se compone de una parte real y otra imaginaria (**Ecuación (12)**).

$$E = E_d + i . E_v \quad \textbf{(12)}$$

La parte real del módulo, o componente de almacenamiento, es la elasticidad dilatacional interfacial, *Ed =|E|.cos ϕ.* La parte imaginaria del módulo, o componente de pérdida, representa a la viscosidad dilatacional interfacial y se define como: *Ev =|E|.sen ϕ.*

Los datos se obtuvieron de al menos dos experimentos independientes.

2.4.5. Propiedades espumantes

Considerando la capacidad espesante que tiene el MC, por la viscosidad que aporta al medio donde se lo incorpora, en este apartado además de evaluar la capacidad espumante del MC solo, se incorporó el estudio del caseinoglicomacropéptido, un péptido derivado del suero lácteo que tiene muy buena capacidad espumante pero baja estabilidad, con el objetivo de evaluar también la capacidad del MC de estabilizar espumas proteicas que son originalmente inestables.

2.4.5.1. Formación de las espumas

Se evaluó la capacidad de formación de espuma de MC, CMP y su combinación a concentraciones constantes de CMP (2 % p/p) y concentraciones variables de MC (0,1, 0,2 y 0,5 % p/p). Las soluciones se ajustaron a diferentes pH (3 y 7) y se batieron durante 3 minutos usando un agitador Griffin y George operando a 200 rpm a temperatura ambiente. Se midió el volumen de espuma a los 3 minutos y se registró como V_e. La capacidad de espumado (CE) fue calculada, según **Ecuación (13)**:

$$CE(\%) = \frac{V_e - V_l}{V_l} \times 100 \qquad \textbf{(13)}$$

Donde: $\boldsymbol{V_e}$ es el volumen de espuma luego de los 3 minutos de agitación; $\boldsymbol{V_l}$ es el volumen inicial de líquido utilizado para hacer la espuma.

Los datos reportados son promedios de dos repeticiones.

2.4.5.2. Estabilidad contra el drenado y colapso de la espuma

Se evaluaron los fenómenos de desestabilización de las espumas por medio de dos mecanismos: el drenado del líquido desde la espuma y el colapso de la espuma.

Para evaluar el drenado, luego de la formación de la espuma, se registró el volumen de líquido drenado en la parte inferior del tubo graduado en el tiempo. Se evaluaron dos parámetros para determinar la estabilidad de drenado: 1) el porcentaje de volumen máximo de drenado ($V_{d\,máx.}$) al final de la prueba y el tiempo de retardo de drenado (t_{lag}), que es el tiempo transcurrido entre la formación de la espuma y el momento en que comienza a registrarse un volumen de líquido drenado.

Por otro lado, se registró la disminución del volumen de espuma (colapso) luego de la formación de la misma. El colapso se analizó, en función del tiempo, mediante la **Ecuación (14)**:

$$(Vt - Vi)/(Ve - Vi) \qquad \textbf{(14)}$$

Donde $\mathbf{V_t}$ es el volumen de espuma al tiempo t, $\mathbf{V_e}$ es el volumen de espuma inmediatamente después de la formación de la misma y $\mathbf{V_i}$ corresponde al volumen inicial de líquido utilizado para hacer la espuma. Por lo tanto, esta relación tendrá valores entre 0 y 1. Los datos reportados son promedio de dos repeticiones.

2.4.5.3. Interacción entre MC y caseinoglicomacropéptido

Por último, con el objetivo de evaluar la existencia de interacciones en solución entre MC y CMP se determinó el tamaño de partícula de ambos componentes por separado y sus mezclas según el procedimiento indicado en el inciso 2.3.3.

Adicionalmente, se evaluó la viscosidad aparente a una velocidad de cizalla de 149 s^{-1}, de los mismos sistemas, obtenida a partir de las curvas de flujo según inciso 2.1.2.3 para entender la contribución de cada componente a la viscosidad de la mezcla.

2.4.6. Propiedades emulsionantes

2.4.6.1. Preparación de la emulsión

Se prepararon emulsiones aceite/agua (O/W, por sus siglas en inglés) de MC al 0,2 %, 0,5 % y 1 % p/p y también emulsiones mixtas MC (0,1 y 0,3 % p/p) + β-lactoglobulina (2 % p/p) con aceite de girasol comercial en una relación 20:80. Para formar la emulsión se utilizó ultrasonido de alta intensidad (USAI) durante 15 minutos, usando un procesador ultrasónico Vibra Cell Sonics® VCX750 (Newton, CT, EE. UU.), mencionado

anteriormente en sección 2.1.1, a una frecuencia de 20 kHz y una amplitud de 20 %. Durante el sonicado, se genera un fenómeno de cavitación en el cual la implosión de las burbujas de cavitación crea ondas de choque, que inician una reacción en cadena de una ruptura de gotas dispersas en gotas más pequeñas hasta que alcanzan un tamaño en el que se forma una emulsión muy estable. Se empleó una sonda de aleación de titanio acoplada a un microtip de 3 mm de diámetro. Para asegurar la homogeneidad del efecto de las ondas ultrasónicas sobre la muestra se debe colocar la punta del microtip en la interfase existente entre el aceite y el agua. La muestra se sonicó a temperatura controlada, colocándola en un tubo de vidrio de 10 mL sumergido en un baño de glicerina. El baño se mantuvo a temperatura constante mediante una camisa con circulación de agua a 0,5 °C (Polystat, Cole-Parmer). A esta temperatura se disipa totalmente el calor producido durante el proceso de sonicación, manteniendo la muestra por debajo de los 25 °C (Camino y Pilosof, 2011).

2.4.6.2. Determinación del tamaño de gota por dispersión estática de luz

El tamaño de gota de las emulsiones se determinó por dispersión estática de luz en un equipo Mastersizer 3000 con una unidad de dispersión Hydro EV provisto con dos láseres: red He-Ne (633 nm) y blue (470 nm) (Malvern Panalytical, Malvern, Worcestershire, Reino Unido) (**Figura 23**). El rango de medición del equipo es de 0,01 µm a 3500 µm y la velocidad de la hélice se mantuvo en 1800 rpm. Se utilizó el índice de refracción (IR) de la fase dispersa (aceite de girasol: 1,354) y su parámetro de absorción (0,001).



Figura 23. Equipo de dispersión estática de luz láser, Mastersizer 3000 (Malvern Panalytical).

El tamaño de gota se informó como diámetros promedio $D_{3,2}$ y $D_{4,3}$. $D_{3,2}$ es el diámetro promedio de volumen-superficie o diámetro de Sauter (**Ecuación (15)**) y $D_{4,3}$ es el diámetro promedio de volumen equivalente o diámetro De Broucker (**Ecuación (16)**).

$$D_{32} = \frac{\sum nidi^3}{\sum nidi^2} \qquad \textbf{(15)}$$

$$D_{43} = \frac{\sum nidi^4}{\sum nidi^3} \qquad \textbf{(16)}$$

donde **ni** es el número de partículas de diámetro **di** (Gu et al., 2005; Guzey et al., 2004; Leroux et al., 2003).

El diámetro $D_{3,2}$ brinda una medida del diámetro promedio en donde se encuentran la mayoría de las gotas. Mientras que, el diámetro $D_{4,3}$ está relacionado con cambios en el tamaño de gota que involucran procesos de desestabilización. Los parámetros informados corresponden al promedio de dos mediciones realizadas de cada muestra.

2.4.6.3. Determinación de estabilidad de emulsiones por dispersión de luz múltiple estática

Para evaluar la estabilidad de las emulsiones se utilizó un analizador de estabilidad de suspensiones y coloides Turbiscan Classic 2 (Formulaction, Francia), el cual emplea la técnica de dispersión múltiple de luz, utiliza Luz LED 880 nm (IR cercano) y consta de un cabezal con dos detectores: de transmisión (0°) y de retrodispersión (135°) (**Figura 24**).



Figura 24. Turbiscan Classic 2 (Formulaction).

El equipo mide, a lo largo de toda la muestra (idealmente unos 60 mm), tanto la transmisión como la retrodispersión de luz para detectar cambios en la distribución de partículas o gotas en la muestra (**Figura 25**). Cuando la muestra es transparente el detector de transmitancia recibe gran parte de la luz, mientras que al aumentar la turbidez de la muestra el haz de luz se dispersa y atraviesa la muestra cada vez en menor proporción hasta que (y es el caso de muestras opacas) prácticamente nada de luz llega al detector. El detector de retrodispersión, por el contrario, recibe mucha luz cuando la muestra es opaca. En estos casos, cuando las fases se desestabilizan o se separan, aparece una zona de clarificación (que al principio no existe) y la luz comienza a atravesar la muestra, lo que disminuye significativamente la cantidad de señal en el detector de retrodispersión. Cuando la muestra es transparente la luz no llega al detector colocado a 135°, sino al detector de transmitancia. Así, este equipo permite obtener una huella macroscópica de la muestra en un determinado tiempo, a través del monitoreo en tiempo real de las emulsiones, proporcionando una caracterización

precisa y rápida de los fenómenos de desestabilización, como sedimentación, cremado, coalescencia, en el caso de una emulsión.

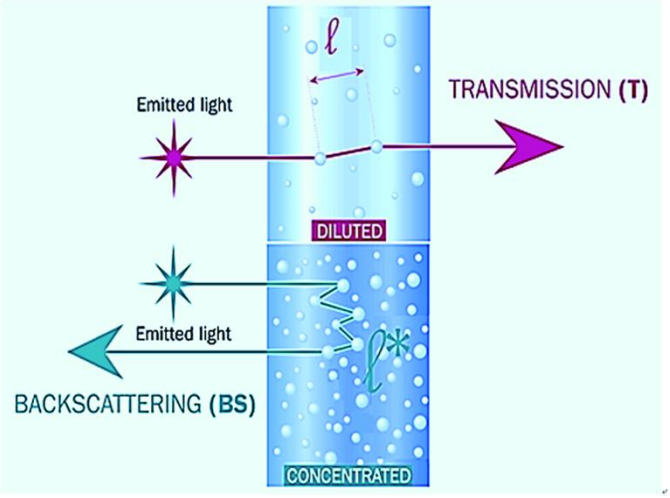


Figura 25. Escaneo de transmisión y retrodispersión (o backscattering).

Una vez formadas las emulsiones se colocaron en viales de vidrio. Se evitó cualquier tipo de perturbación para mantener las condiciones reales e iniciales de la muestra. Luego, dichos viales se colocaron en el equipo para realizar un escaneo a lo largo de toda la altura de la muestra. Dichos escaneos se realizaron periódicamente (cada 7 o 15 días) durante el almacenamiento. Se registraron las curvas de transmisión y retrodispersión en función de la altura de la muestra y el tiempo.

A partir de los datos de retrodispersión obtenidos, se calculó la cinética de desestabilización, permitiendo evaluar la estabilidad a corto y largo plazo de las emulsiones, utilizando el Índice de Estabilidad por Dispersión (TSI), donde un valor más alto indicaría una mayor inestabilidad de la emulsión (**Ecuación (17)**):

$$TSI = \sum_{i=1}^{n} |\Delta Ri| \qquad \textbf{(17)}$$

Donde: **ΔRi** es el cambio en el perfil de retrodispersión (R) en cada posición (i) a lo largo de la altura del tubo de ensayo en un tiempo dado; **n** es el número total de posiciones a lo largo de la altura de la muestra. Los valores de TSI se calcularon a partir del promedio de duplicados.

2.5. Evaluación de propiedades funcionales-biológicas del mucílago de chía

2.5.1. Evaluación de la capacidad del mucílago de chía para modular la digestión de lípidos

Para determinar la capacidad del MC para modular la digestión de lípidos emulsionados, se sometieron las emulsiones elegidas luego del análisis de sus propiedades emulsionantes, a una digestión *in vitro* bajo el protocolo INFOGEST 2.0 que constó de una etapa gástrica (1 hora a pH 2,5) y una etapa duodenal (2 horas a pH 7,0) (Brodkorb et al., 2019). Durante esta última, se monitoreó la liberación de ácidos grasos, que ocurre por la acción conjunta de las sales biliares y la lipasa pancreática. Este proceso se llevó a cabo en un titulador automático titrando (Metrohm, Herisau, Suiza) (**Figura 26**) bajo agitación constante en un vaso de vidrio con doble camisa, que permite la termostatización de la muestra a temperatura fisiológica (37 °C) por medio de la circulación de agua por la doble camisa.



Figura 26. Titrando: titulador potenciométrico (Metrohm).

El procedimiento de digestión gastroduodenal se puede ver en la **Figura 27**. En primer lugar, se colocaron 10 mL de emulsión en el recipiente de reacción, donde fue termostatizada a 37 °C durante 10 min. A continuación, se incorporaron 10 mL de SGF (KCl (0,5 M), KH_2PO_4 (0,5 M), NaCl (1 M), NaCl (2 M), $MgCl_2(H_2O)_6$ (0,15 M), $(NH_4)_2CO_3$ (0,5 M), HCl (6 M)) y, de ser necesario, la mezcla resultante se ajustó a pH 2,5 utilizando HCl 5M. Luego, se agregó la solución de $CaCl_2(H_2O)_2$ para lograr una concentración final de 0,3 mM en SGF y la solución de pepsina porcina (P7000, Sigma, ≥250 u/mg) preparada en agua para lograr una actividad de 2000 U/mL en la mezcla de digestión final. Por último, se agregó agua para lograr una concentración 1× de SGF y se incubó la mezcla a 37 °C, mezclando constantemente con agitador magnético durante 1 hora desde el momento en que se añadió la pepsina.

Finalizada la digestión gástrica, se añadió la solución de electrolitos SIF (KCl (0,5 M), KH_2PO_4 (0,5 M), NaCl (1 M), NaCl (2 M), $MgCl_2(H_2O)_6$ (0,15 M), HCl (6 M)), previamente atemperado a 37 °C, al quimo gástrico para lograr una proporción final de 1:1 (volumen/volumen), la mezcla resultante se ajustó a pH 7 con NaOH 5 M. El aumento de pH (de 2,5 a 7) pone fin a la etapa gástrica de la digestión, originando la inactivación de la pepsina (Piper y Fenton, 1965). Luego, se agregó la solución de $CaCl_2(H_2O)_2$ para alcanzar una concentración de 0,6 mM en el SIF. Se agregó la solución de sales biliares a la mezcla de SIF/quimo gástrico para alcanzar una concentración final de 10 mM. Y, finalmente, se agregaron las soluciones de tripsina, quimotripsina, α-amilasa pancreática y lipasa pancreática en el SIF para alcanzar actividades de 100, 25, 200 y 2,000 U/mL, respectivamente en la mezcla final de digestión. Se verificó el pH y se ajustó a 7,0 de ser necesario. Por último, se agregó agua para lograr una concentración de 1× del SIF. Las muestras siguieron incubadas a 37 °C y bajo agitación, para mezclar adecuadamente la mezcla digestiva durante 2 horas, comenzando en el punto en que se añadieron las enzimas pancreáticas.

Para detener las reacciones y finalizar con el proceso de digestión *in vitro*, las enzimas fueron inactivadas por frío (temperaturas < 0 °C).

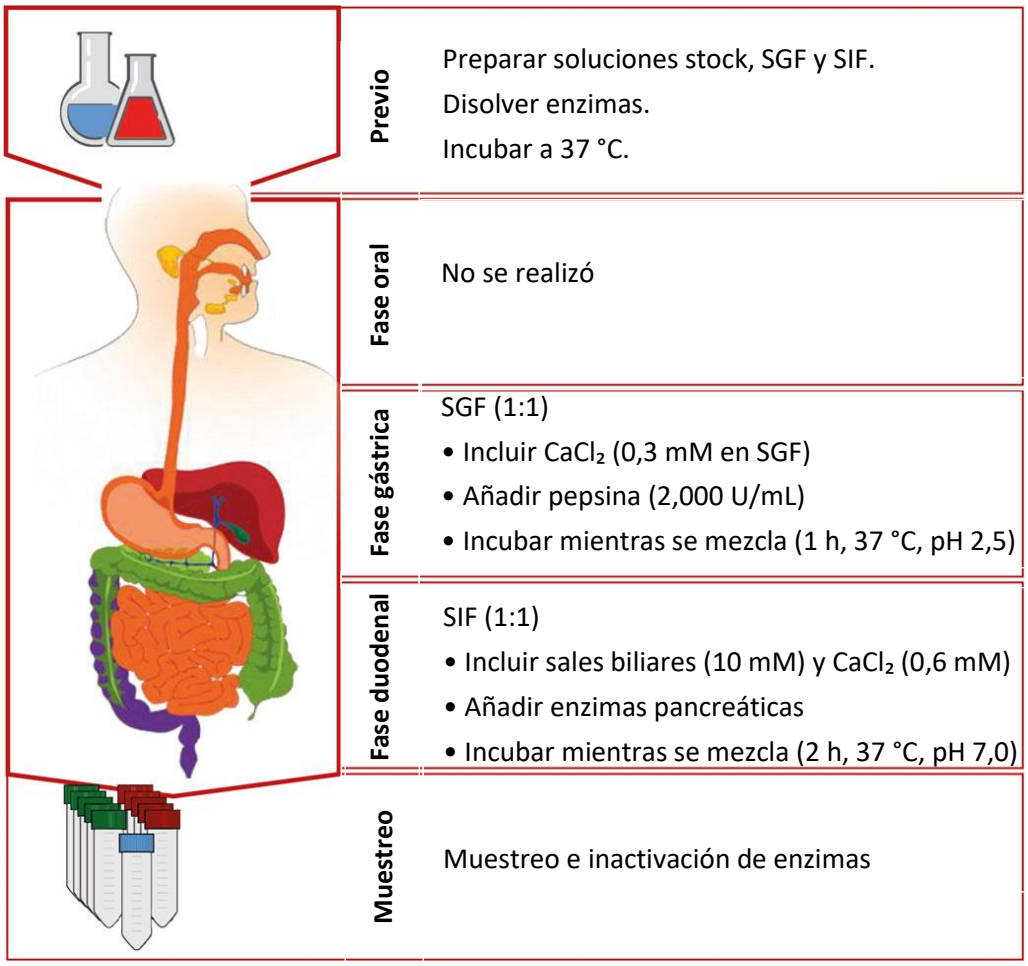


Figura 27. Diagrama de flujo del método de digestión INFOGEST 2.0. SGF: fluido gástrico simulado; SIF: fluido intestinal simulado. Adaptado de: Brodkorb et al., (2019).

2.5.1.1. Caracterización del grado de lipólisis

Se determinó el comportamiento de las emulsiones bajo las condiciones del proceso gastroduodenal *in vitro* de manera de evaluar el impacto del proceso sobre el grado de lipólisis del aceite emulsionado. El grado de lipólisis se determinó mediante el porcentaje de ácidos grasos liberados (% FFA, por sus siglas en inglés) durante la fase duodenal, a través de la acción de la lipasa pancreática. Para ello, se neutralizaron los ácidos grasos producidos durante el proceso usando una solución de NaOH 5 M en el titulador automático titrando de Metrohm, mencionado previamente (**Figura 26**). El volumen de NaOH utilizado (V_{NaOH}) para mantener el sistema a pH constante (pH 7) se relaciona con el % FFA a través de la siguiente ecuación (**Ecuación (18)**) (Li y McClements, 2010):

$$\% FFA = \left(\frac{V_{NaOH}\ (t) *\ M_{NaOH} * MW_{TG}}{m_{TG}} * 2 \right) * 100 \qquad \textbf{(18)}$$

Donde: **M** es la concentración molar de la solución de NaOH utilizada, $\mathbf{MW_{TG}}$ es el peso molecular promedio de un triglicérido (TG), $\mathbf{m_{TG}}$ corresponde a la masa de triglicéridos presentes al momento de incorporar la lipasa pancreática.

El valor de MW_{TG} se estimó a partir de la composición promedio de un TG típico de aceite de girasol, considerando la composición de éste en ácidos grasos y el peso molecular de cada uno (874,64 Da) (Chowdhury et al., 2007).

Para determinar m_{TG}, se consideró el porcentaje de TG del aceite utilizado y, dado que la mezcla de digestión contiene 10 mL de emulsión O/W (20/80), el aporte total de aceite fue de 2 mL, equivalente a 1,758 g (considerando que la densidad del aceite de girasol es 0,925 g/mL). Con base en esto, el valor de m_{TG} se deriva del porcentaje de TG correspondientes a los 1,758 g de muestra.

La **Ecuación (18)**, empleada para estimar el % FFA, considera que una molécula de TG genera dos moléculas de ácidos grasos (titulables) y una molécula de monoglicérido (MG) durante la lipólisis. Es decir, por cada equivalente de TG (que origina dos equivalentes de AG), se requieren dos equivalentes de NaOH para su titulación (Li y Mcclements, 2010; McClements, 2010).

La determinación del grado de lipólisis se realizó por duplicado.

2.5.2. Interacción con las sales biliares

Con el objetivo de evaluar la existencia de interacciones entre MC y SB, se determinó el tamaño de partícula (Sección 2.3.3), el potencial zeta (Sección 2.3.4) y la turbidez de soluciones individuales de MC, de SB y también de sus mezclas. Todas las soluciones se prepararon en SIF, fluido empleado durante la etapa duodenal del protocolo de digestión *in vitro* descripto previamente (sección 2.5.1). La determinación de turbidez se realizó por medio de medidas espectrofotométricas a 600 nm de longitud de onda utilizando un espectrofotómetro T70 UV/VIS (PG Instrument Ltd., Leicestershire, Reino Unido).

Las concentraciones de MC evaluadas (0,25 % y 0,125 % p/p) corresponden a la dilución según el paso por el tracto gastroduodenal (factor de dilución 1/4), de las emulsiones estabilizadas por MC 1 % y 0,5 % p/p. Por otro lado, se utilizaron concentraciones de extracto de sal biliar (SB) de 5 y 15 mM, que se encuentran dentro del rango de concentración fisiológica reportado (Sarkar et al., 2010; Ye et al., 2013; Zangenberg, 2001). De hecho, se ha reportado que en condiciones normales, la concentración de SB es de aproximadamente 4-6 mM, pero tras la ingestión de un alimento sus niveles pueden incrementarse hasta 15 mM, dependiendo del tipo de alimento ingerido y, sobre todo, de su aporte en materia grasa (Kalantzi et al., 2006; Maldonado-Valderrama et al., 2011).

Las SB se disolvieron en el SIF con agitación suave. El MC fue disuelto en SIF de la misma forma que se lo hizo en agua bi-destilada indicado en la sección 2.1.5. Las mezclas SB-MC estudiadas fueron: 5 mM-0,125 % p/p, 15 mM-0,125 % p/p, 5 mM-0,25 % p/p y 15 mM-0,25 % p/p. Estas soluciones mixtas fueron obtenidas mezclando los volúmenes adecuados de las soluciones que contenían los componentes individuales, más concentrados, para alcanzar la concentración de cada componente requerida en la mezcla final.

Una vez obtenidas, las soluciones individuales y las mezclas fueron evaluadas inmediatamente luego de ser preparadas y cada 15 minutos hasta completar las 2 h de ensayo. Los resultados se informan como el promedio de duplicados.

2.5.3. Capacidad del MC para unir hierro

Con el objetivo de evaluar la aptitud del mucílago de chía para vehiculizar hierro, se determinó la capacidad de unión del hierro del mucílago de chía por medio de un método colorimétrico utilizando ferrozina (3-(2-Piridil)-5,6-bis(4-ácido fenil-sulfónico)-1,2,4 triazina, sal disódica), adquirida de Sigma-Aldrich Co. (Steinheim, Alemania) como detector de la presencia de iones Fe^{+2} libres (Stookey, 1970). Su fundamento principal radica en la formación de un complejo altamente coloreado entre el ion ferroso (Fe^{+2}) y el reactivo ferrozina en un medio ligeramente ácido. La intensidad del color púrpura-rojizo depende directamente de la concentración de Fe^{+2} presente en la muestra. Se evaluaron soluciones de MC (0,2 y 0,4 % p/p), con concentraciones crecientes de hierro (0,2–1,0 mM) (sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) adquirido de BIOPACK (Buenos Aires,

Argentina)). La medición de absorbancia se realizó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible T70 (PG Instruments Limited, Leicestershire, Reino Unido) a 562 nm, la longitud de onda en la que el complejo Fe^{+2}/ferrozina exhibe alta absorbancia. Por lo tanto, una alta capacidad de unión de iones ferroso, que deja menos hierro libre para reaccionar con ferrozina, resulta en un valor bajo de absorbancia. La capacidad de unión del hierro (CU) se expresa como un porcentaje usando la **Ecuación (19):**

$$CU\ (\%) = \left[1\ - \frac{A_1}{A_0}\right] * \ 100 \qquad \textbf{(19)}$$

Donde: $\mathbf{A_0}$ es la absorbancia del control (sólo hierro), $\mathbf{A_1}$ es la absorbancia de la muestra (MC + hierro).

Además, se evaluaron las interacciones entre el MC y el hierro mediante la determinación del tamaño de partícula (0,2 % p/p), el potencial ζ (0,01 % p/p) y FTIR (muestra sólida) según las metodologías descriptas previamente (ver secciones 2.3.3, 2.3.4 y 2.3.6, respectivamente).

2.6. Aplicación del mucílago de chía en una bebida

Finalmente, con el objetivo de finalizar el trabajo de tesis con la aplicación del mucílago de chía en un alimento, se lo incorporó a un jugo de naranja comercial, como fuente de fibra y posible carrier de hierro (Fe). Para realizar este análisis en una primera instancia se presentó la documentación para ser aprobada por el Comité de Ética (CEI) de la Facultad de Bromatología de la Universidad Nacional de Entre Ríos (FB - UNER), ésta incluía: el formulario de solicitud de intervención, el consentimiento informado y las planillas de evaluación.

Teniendo en cuenta que el agregado de hierro suele alterar las características organolépticas del alimento al que se lo incorpora, se llevó a cabo un análisis sensorial con consumidores para evaluar la forma de incorporación (solo o complejado con el MC) y se analizó también la estabilidad de las bebidas a lo largo del tiempo. Para evaluar el impacto de la incorporación conjunta del MC+Fe al jugo, se evaluó un jugo control (sin ningún agregado), un jugo con el agregado de Fe solo y un jugo con el agregado del complejo MC+Fe.

2.6.1. Preparación del jugo

Según el Código Alimentario Argentino (CAA, Cap. XVII, Art. 1363), un alimento se considera "fortificado" con hierro cuando aporta al menos el 20 % del valor diario de referencia (VDR) de hierro por porción del alimento. En base a esto, para calcular la cantidad de sulfato ferroso ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, BIOPACK, Buenos Aires, Argentina) a agregar, se tuvo en cuenta: i) dicho porcentaje de hierro necesario para designar al jugo como fortificado, ii) la capacidad de unión obtenida (Capítulo 3 de la sección Resultados); y iii) la porción de alimento, que para el caso de bebidas corresponde a 200 ml.

Los ingredientes utilizados para la elaboración del producto a evaluar se encuentran listados a continuación: jugo de naranja comercial, mucílago de chía y sulfato ferroso.

Para preparar el jugo de naranja final, se hidrató el mucílago y se mezcló con la solución de hierro para formar el complejo MC+Fe, una vez formado se tomó una fracción del jugo para mezclarlos y posteriormente poder incorporarlo al jugo base sin dificultad. Este procedimiento se llevó a cabo el día previo al análisis sensorial y de la evaluación de estabilidad.

2.6.2. Estabilidad de la bebida a lo largo del tiempo

Un análisis de vida útil de un alimento implica una serie de evaluaciones físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales para determinar cómo cambian sus propiedades con el almacenamiento. En este caso, como no se realizaron estudios microbiológicos, se denomina prueba de estabilidad en el tiempo. Para ello, se sometieron las muestras a un estudio de ensayo de estabilidad acelerado, almacenando los jugos envasados en tetrabrik en una cámara de vida útil con control de temperatura de 37 °C.

A lo largo del ensayo (45 días) se realizaron mediciones periódicas (cada 15 días) para analizar cambios en los parámetros fisicoquímicos (pH, color, sólidos solubles y acidez titulable). A continuación, se describen los parámetros físicoquímicos y cromáticos que se evaluaron antes (control) y durante la prueba de estabilidad con el objetivo de determinar si existen cambios en el tiempo:

- pH: puede variar debido a la degradación de ácidos orgánicos o el crecimiento microbiano. Una alteración importante en el pH podría indicar pérdida de frescura o contaminación. La medición se llevó a cabo con un pHmetro Accumet AB250.

- Color: el color del jugo puede cambiar debido a la oxidación de compuestos como los carotenoides y flavonoides. La medición se realizó mediante un fotocolorímetro portátil (HunterLab Mini ScanEZ, Estados Unidos), evaluando los valores de L* y mediante espectrofotometría, previamente filtrando el jugo haciéndolo pasar a través de un algodón para separar la pulpa, (espectrofotómetro ultravioleta-visible Jenway 6505, Burlington, Nueva Jersey, Estados Unidos), calculando los valores triestímulo (X, Y, Z) a partir de las lecturas de transmitancia a cuatro longitudes de onda (625, 550, 495 y 445 nm) mediante las **Ecuaciones (20), (21)** y **(22)**:

  $X = T_{625} * 0{,}42 + T_{550} * 0{,}35 + T_{445} * 0{,}21$ **(20)**

  $Y = T_{625} * 0{,}2 + T_{550} * 0{,}63 + T_{495} * 0{,}17$ **(21)**

  $Z = T_{495} * 0{,}24 + T_{445} * 0{,}94$ **(22)**

  Donde T625, T495, T445 y T550 son los valores de transmitancia a 625, 495, 445 y 550 nm, respectivamente.
- Sólidos solubles: el contenido de sólidos solubles, medido en ° Brix, puede variar por el proceso de fermentación o cambios en el contenido de azúcar y otros solutos. Se determinó utilizando un refractómetro Abbe.
- Acidez titulable: este parámetro indica la cantidad de ácidos presentes en el jugo y es clave para determinar el sabor. Se determinó mediante titulación ácido base.

2.6.2.1. Determinación de la cinética de reacción

La aplicación de la ecuación de cinética de reacción contribuyó a estimar la medición cuantitativa de deterioro de los jugos por medio de la selección del parámetro L* como un indicador del deterioro (Garzón-García et al., 2018). Si la pérdida de luminosidad ocurre de forma lineal con el tiempo, la cinética es de orden 0, se emplea la **Ecuación (23)**:

$$L_t = L_0 - k.t \quad \textbf{(23)}$$

Cuando la pérdida de luminosidad es exponencial la cinética es de orden 1 y se emplea la **Ecuación (24):**

$$Ln(L_t) = Ln(L_0) - k.t \quad \textbf{(24)}$$

Donde: Siendo: $\mathbf{L_t}$ es el valor después de la reacción de deterioro al tiempo t; $\mathbf{L_0}$ el valor inicial de luminosidad; **k** la constante de velocidad cinética; **t** el tiempo de almacenamiento (días).

2.6.2.2. Determinación del tiempo de deterioro

El tiempo de deterioro visual de las formulaciones de jugo de naranja fue estimado a partir del ajuste de modelos cinéticos de orden 0 y orden 1 a los valores de luminosidad (L*) registrados durante el almacenamiento. En función del modelo que presentó mejor ajuste para cada muestra (según el coeficiente de determinación R^2), se seleccionó la ecuación correspondiente y se despejó el tiempo necesario para que L* alcanzara un valor equivalente al 90% del valor inicial, considerando una reducción del 10% como umbral de deterioro visual significativo. Este umbral se estableció tomando como referencia el valor límite de L* reportado por Berliot (2015) para jugo de naranja (L* = 49,39) que representa una disminución porcentual relativa del 10% respecto al valor inicial.

2.6.3. Análisis sensorial

La evaluación sensorial consistió en probar los tres jugos de naranja, que fueron codificados con números de tres cifras elegidos al azar.

Mediante el uso de una planilla (**Anexo 1**), se pidió a los evaluadores que analizaran diferentes aspectos de los jugos, evaluando:

- Atributos sensoriales: en esta prueba el consumidor debía marcar con una X la categoría con la que identificaba el nivel de intensidad y de preferencia de los siguientes atributos característicos de la bebida: color, turbidez, acidez, sabor metálico, sabor naranja. Cada uno respectivamente definidos.

  La prueba de "intensidad" sensorial, se utilizó para evaluar el nivel de cada uno de los atributos en particular, empleando una escala JAR de sus siglas en inglés Just About Right, de 1 a 3 puntos, siendo: 1= Poco; 2= ideal o en el punto justo; 3= Mucho. La prueba de "satisfacción/preferencia" consistió en solicitar a los consumidores que describiera la sensación que les produjo cada atributo en cada jugo. Para esto, se empleó una escala hedónica verbal, que midió la respuesta de agrado o rechazo ante cada atributo, en una escala

ordinal de 1 a 5, siendo 1 = me disgusta mucho, 2 = me disgusta, 3 = no me gusta ni me disgusta, 4 = me gusta levemente, 5 = me gusta. También se dejó abierto un espacio para que los consumidores vuelquen comentarios o comuniquen opiniones.

- Satisfacción global: en esta prueba el consumidor tuvo que marcar con una X la categoría con la que identificaba el grado satisfacción que percibía por cada bebida.
- Prueba de comparaciones múltiples y de preferencia: en esta prueba el consumidor tenía que probar los tres jugos, de izquierda a derecha, e indicar si percibía diferencias o no entre los jugos. En caso de percibir diferencias, tenía que indicar cuál jugo consideraba diferente. Y, por último, tenía que seleccionar qué jugo prefería.

La cantidad de consumidores que realizaron estos ensayos sensoriales fue de 100 personas. La participación tomó aproximadamente 20 minutos.

2.6.3.1. Análisis estadístico de la evaluación sensorial

2.6.3.1.1. Análisis de penalidades de atributo

El método basado en comparaciones múltiples, tales como las que se usan en ANOVA, consiste en identificar, para cada una de las características utilizadas en la escala JAR, si las calificaciones están relacionadas con resultados significativamente diferentes en las puntuaciones de gusto o preferencia. Esto nos permite mejorar el producto, al conocer cuáles atributos impactan de manera negativa en la aceptación y a la vez contribuye a comprender los atributos más aceptados.

El análisis de penalización (Penalty Analysis) se realizó a partir de dos tipos de datos:

- Datos recopilados sobre la escala JAR, reestructurada en 3 puntos para cada atributo.
- Datos de preferencia (o puntuaciones de gusto) que corresponden a un índice de satisfacción respecto al producto que en este caso se toma a partir de una escala de 5 puntos.

Se calculó la frecuencia porcentual de consumidores que consideraron el atributo fuera de su “punto justo”. Se promediaron los valores de aceptabilidad para los puntos que

en las preguntas JAR quedaron fuera de su punto justo y el promedio de los que seleccionaron al atributo en su "punto justo". Se determinó el "grado de penalización" para cada atributo, para evaluar el efecto de los atributos sobre la aceptabilidad. El grado de penalización se determinó por la diferencia entre el promedio de la aceptación global de los "punto justo" y los puntos fuera de este nivel. Por ende, cada atributo puede tener dos niveles de penalización, correspondientes a los valores resultantes de los más intensos que su punto justo y los menos intensos que su punto justo. Por último, se graficó la penalización en función de la frecuencia porcentual de consumidores que consideran el atributo fuera de su "punto justo". Se estableció que, aquellos puntos por encima del 30 % de consumidores y con un grado de penalización superior a 0,5 estuvieran "penalizados".

2.6.3.1.2. Método comparaciones múltiples

Un análisis de varianza sólo informa si existen diferencias entre medias, pero no informa acerca de cuáles medias son las que difieren. Una vez comprobada la existencia de diferencias globales, se procedió a aplicar un test con el objetivo de identificar específicamente entre qué pares de muestras se presentaban diferencias significativas. Como se mencionó anteriormente, a los consumidores se les solicitó:

I. indicar si percibían diferencias entre los jugos (respuesta dicotómica: sí/no),
II. en caso afirmativo, seleccionar cuál jugo consideraban diferente (respuesta categórica nominal), y
III. elegir cuál de los tres jugos preferían (respuesta categórica nominal).

Las respuestas se analizaron de la siguiente forma:

- Para la pregunta I, se aplicó una prueba binomial, considerando como hipótesis nula una proporción del 50 % para evaluar si un número significativo de consumidores percibió diferencias entre las muestras.
- Para las preguntas II y III, se utilizaron pruebas de chi-cuadrado (χ^2) para determinar si la distribución de respuestas difería significativamente de la distribución esperada por azar (1/3 para cada jugo). En los casos donde se encontraron diferencias significativas, se realizaron comparaciones por pares

mediante pruebas de diferencia de proporciones con corrección de Bonferroni. El nivel de significancia se fijó en $p < 0,05$ (Watts et al., 1992).

2.7. Análisis estadístico

Excepto el estudio sensorial que se evaluó de manera diferente como fue explicado en la sección anterior, todos los otros estudios fueron realizados al menos por duplicado y se informa el promedio de los mismos. Las diferencias significativas entre los parámetros estudiados de las muestras fueron determinadas por análisis de varianza (One Way ANOVA) ($p < 0,05$) usando el software para análisis estadístico Infostat. Los valores estadísticamente diferentes fueron indicados con diferentes superíndices.

3. Bibliografía

AOAC. (2006). *Métodos Oficiales de Análisis. 18.ª edición, Asociación de Químicos Analíticos Oficiales, Gaithersburgs, MD. - Referencias - Publicaciones de Investigación Científica*. https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1387682

Bellesi, F.A. (2016). *Comportamiento de interfases y emulsiones submicrónicas estabilizadas por biopolímeros en simulaciones de procesos de digestión gastroduodenal in vitro*. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/collection/tesis/document/tesis_n6088_Bellesi

Berliot Bolaños, U. (2015). Estimación de la vida útil de jugo secundario concentrado de naranja (*Citrus sinensis*) almacenado en condiciones de refrigeración. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.

Blumenkrantz, N. y Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, *54*(2), 484–489. https://doi.org/10.1016/0003-2697(73)90377-1

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., y Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols 2019 14:4*, *14*(4), 991–1014. https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1

CAA. (2008). Capítulo XVII: Alimentos de Régimen o Dietéticos. Artículo 1363, *Resolución Conjunta SPyRS N° 118/2008 y SAGPyA N° 474/2008.*

Camino, N. A. y Pilosof, A. M. R. (2011). Hydroxypropylmethylcellulose at the oil-water interface. Part II. Submicron-emulsions as affected by pH. *Food Hydrocolloids*, *25*(5), 1051–1062. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.026

Campos, B. E., Dias Ruivo, T., da Silva Scapim, M. R., Madrona, G. S., y de C. Bergamasco, R. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT*, *65*, 874–883. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.09.021

Chowdhury, K., Banu, L., Khan, S., y Latif, A. (2007). Studies on the Fatty Acid Composition of Edible Oil. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, *42*(3), 311–316. https://doi.org/10.3329/BJSIR.V42I3.669

Doehlert, D. H. (1970). Uniform Shell Designs. *Applied Statistics*, *19*(3), 231. https://doi.org/10.2307/2346327

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., y Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/AC60111A017

Filisetti-Cozzi, T. M. C. C., y Carpita, N. C. (1991). Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. *Analytical Biochemistry*, *197*(1), 157–162. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90372-Z

Garzón-García, A. M., Dussán-Sarria, S., Melo-Sevilla, R. E., Garzón-García, A. M., Dussán-Sarria, S., y Melo-Sevilla, R. E. (2018). Estudio de la Variación de Parámetros de Color del Yacón utilizando un Prototipo de Medición de Color y Temperatura. *Información Tecnológica*, *29*(6), 75–82. https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000600075

Gu, Y. S., Decker, A. E., y McClements, D. J. (2005). Production and characterization of oil-in-water emulsions containing droplets stabilized by multilayer membranes consisting of β-lactoglobulin, l-carrageenan and gelatin. *Langmuir*, *21*(13), 5752–5760. https://doi.org/10.1021/LA046888C,

Guzey, D., Kim, H. J., y McClements, D. J. (2004). Factors influencing the production of o/w emulsions stabilized by β-lactoglobulin–pectin membranes. *Food Hydrocolloids*, *18*(6), 967–975. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2004.04.001

Kalantzi, L., Goumas, K., Kalioras, V., Abrahamsson, B., Dressman, JB. y Reppas, C. (2006). Characterization of the Human Upper Gastrointestinal Contents Under Conditions

Simulating Bioavailability/Bioequivalence Studies. *Pharmaceutical Research*, *23*(1), 165–176.

Leroux, J., Langendorff, V., Schick, G., Vaishnav, V., y Mazoyer, J. (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, *17*(4), 455–462. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(03)00027-4

Li, Y., y McClements, D. J. (2010). New mathematical model for interpreting ph-stat digestion profiles: Impact of lipid droplet characteristics on in vitro digestibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(13), 8085–8092. https://doi.org/10.1021/JF101325M,

Lin, K. Y., Daniel, J. R., y Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, *23*(1), 13–18. https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90085-X

Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., MacIerzanka, A., y MacKie, A. (2011). The role of bile salts in digestion. *Advances in Colloid and Interface Science*, *165*(1), 36–46. https://doi.org/10.1016/J.CIS.2010.12.002

Malvern Instruments Ltd. (2013). *Zetasizer Nano User Manual. In. Worcestershire, Reino Unido. n.d.*

McClements, D. J. y Li. Y. (2010). Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based. *Food and Function*, *1*, 32–59.

Mensah, E. O., Oludipe, E. O., Gebremeskal, Y. H., Nadtochii, L. A., y Baranenko, D. (2024). Evaluation of extraction techniques for chia seed mucilage; A review on the structural composition, physicochemical properties and applications. *Food Hydrocolloids*, *153*, 110051. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2024.110051

Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen Der Physik*, *330*(3), 377–445. https://doi.org/10.1002/ANDP.19083300302

Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., y Aguilera, J. M. (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, *108*(1), 216–224. https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2011.06.037

Pilosof, A. M. R., Boquet, R., y Bartholomai, G. B. (1985). Kinetics of Water Uptake by Food Powders. *Journal of Food Science*, *50*(1), 278–279. https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.1985.TB13334.X

Piper, D. W., y Fenton, B. H. (1965). pH stability and activity curves of pepsin with special reference to their clinical importance. *Gut*, *6*(5), 506–508. https://doi.org/10.1136/GUT.6.5.506

Punia, S., y Dhull, S. B. (2019). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) mucilage (a heteropolysaccharide): Functional, thermal, rheological behaviour and its utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, *140*, 1084–1090. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.08.205

Sarkar, A., Horne, D. S., y Singh, H. (2010). Interactions of milk protein-stabilized oil-in-water emulsions with bile salts in a simulated upper intestinal model. *Food Hydrocolloids*, *24*(2–3), 142–151. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2009.08.012

Stepanek P. (1993). Data Analysis in Light Scattering. Dynamic Light Scattering. *The Methods and Some Applications. Brown W. (Ed), Clarendon Press, London, UK, 177-241 pp.*

Stookey, L. L. (1970). Ferrozine-A New Spectrophotometric Reagent for Iron. *Analytical Chemistry*, *42*(7), 779–781. https://doi.org/10.1021/AC60289A016

Tha Goh, K. K. T., Matia-Merino, L., Chiang, J. H., Quek, R., Soh, S. J. B., y Lentle, R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydrate Polymers*, *149*, 297–307. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.04.126

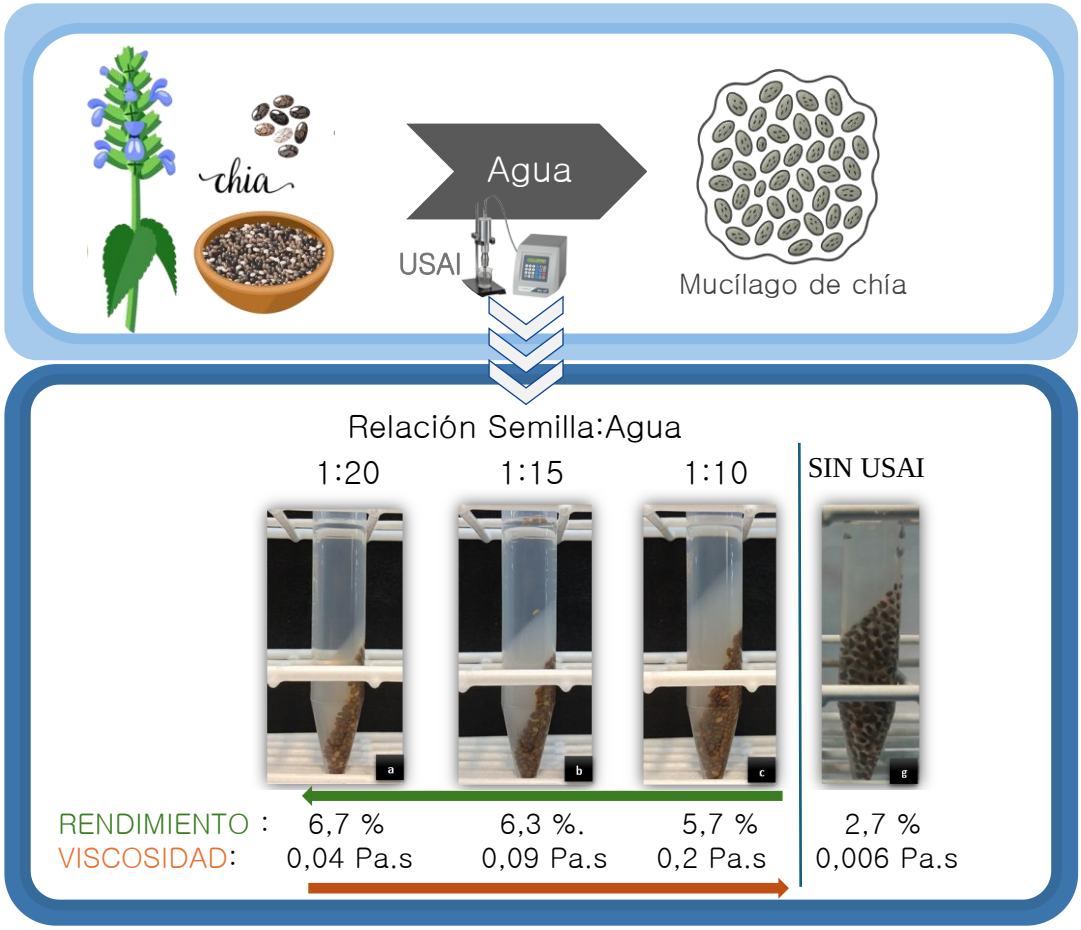
Watts, B.M., Ylimaki, G.L., Jeffery, L.E. y Elías, L.G. (1992). Basic sensory methods for food evaluation. *CIID, Ottawa, ON, CA*, 184 pp.

Ye, A., Cui, J., Zhu, X., y Singh, H. (2013). Effect of calcium on the kinetics of free fatty acid release during in vitro lipid digestion in model emulsions. *Food Chemistry*, *139*(1–4), 681–688. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.02.014

Zangenberg, NH., Müllertz, A., Kristensen, HG. y Hovgaard, L. A. (2001). A Dynamic in Vitro Lipolysis Model. I. Controlling the Rate of Lipolysis by Continuous Addition of Calcium. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *14*(2), 115–122.

CAPÍTULO I

1 *"Optimización de la extracción del mucílago de chía mediante el uso de ultrasonidos de alta intensidad"*



¿Por qué utilizar ultrasonidos de alta intensidad para la extracción de mucílago de chía?

En los últimos 10 años, grupos de investigación de diferentes partes del mundo han trabajado en la optimización de la obtención del mucílago de chía, modificando diferentes variables de las condiciones de extracción como por ejemplo temperatura, tiempo, relación semilla:agua y pH. Las diferentes combinaciones han dado como resultado diferentes rendimientos de extracción y también diferentes características del mucílago extraído; sin embargo, más allá de la cantidad de mucílago que exuda desde el interior de la semilla, el mayor problema radica en la separación de dicho mucílago de la semilla, a la que se encuentra fuertemente adherido.

Teniendo en cuenta la dificultad que representa la separación del mucílago de chía de la semilla, nos propusimos utilizar la técnica de extracción asistida por ultrasonidos, que se ha empleado en la extracción de diversos compuestos, como vitaminas, polifenoles, polisacáridos, cannabinoides y otros fitoquímicos de productos botánicos (Chemat et al., 2017). Dicha técnica se ha comenzado a implementar en los últimos años en la industria alimentaria, de suplementos nutricionales y farmacéutica, ya que reduce el consumo de disolventes orgánicos, disminuye los tiempos de operación y es una técnica ecológica (Chemat et al., 2011, 2017).

Por ello, este primer capítulo se centra en optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de alta intensidad, con el objetivo de facilitar la separación del mucílago de la semilla, mejorando así el rendimiento y evaluar el efecto de las diferentes condiciones de extracción sobre las propiedades reológicas del mucílago obtenido.

1.1. Evaluación preliminar del uso de ultrasonidos de alta intensidad para la extracción del mucílago de chía

Como paso inicial de la optimización de la extracción del mucílago de chía (MC) asistida por ultrasonidos de alta intensidad (USAI), se realizaron pruebas preliminares para evaluar el efecto del uso de USAI en la eficiencia de la separación del mucílago de la semilla. Para ello, se sonicaron muestras de semillas de chía previamente hidratada (durante 2 horas a 20°C) a diferentes tiempos de sonicado entre 10 segundos y 5 minutos y amplitudes entre 20 y 40 % a una potencia fija de 750 W y temperatura controlada de 20 °C.

Las muestras sonicadas con 40 % de amplitud resultaron en mucílagos oscuros debido a la ruptura de la semilla con la liberación de la cubierta seminal en la fase acuosa, por lo cual se descartó dicha condición. Al evaluar los diferentes tiempos de sonicación al 20 % de amplitud, se observaron diferencias en la eficiencia de separación y también una coloración oscura al superar los 3 minutos.

En la **Figura I.1** y **Figura I.2** se muestran imágenes tomadas con la lupa y micrografías tomadas con un microscopio óptico, respectivamente, de una semilla de chía hidratada con una relación semilla:agua 1:20 (**Figura I.1 I y Figura I.2 I-II**) y 1:10 (**Figura I.1 II** y **Figura I.2 III-IV**) sin sonicar y sonicada, al 20 % de amplitud, durante diferentes tiempos entre 10 segundos y 3 minutos con el objetivo de evaluar la eficiencia de separación que produce el uso de USAI.

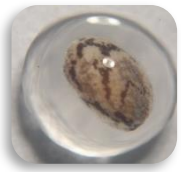
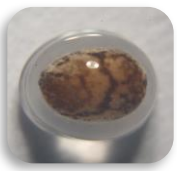
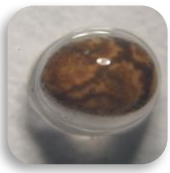
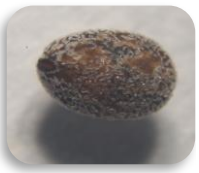
	Sin USAI	**Con USAI**			
		10 s	30 s	1 min	3 min
I					
II					

Figura I.1. Imágenes de lupa de la extracción del mucílago de las semillas de chía sin sonicación y con sonicación, al 20 % de amplitud, durante 10 s, 30 s, 1 min y 3 min en (I) una relación semilla:agua de 1:20 y (II) una relación semilla:agua de 1:10.

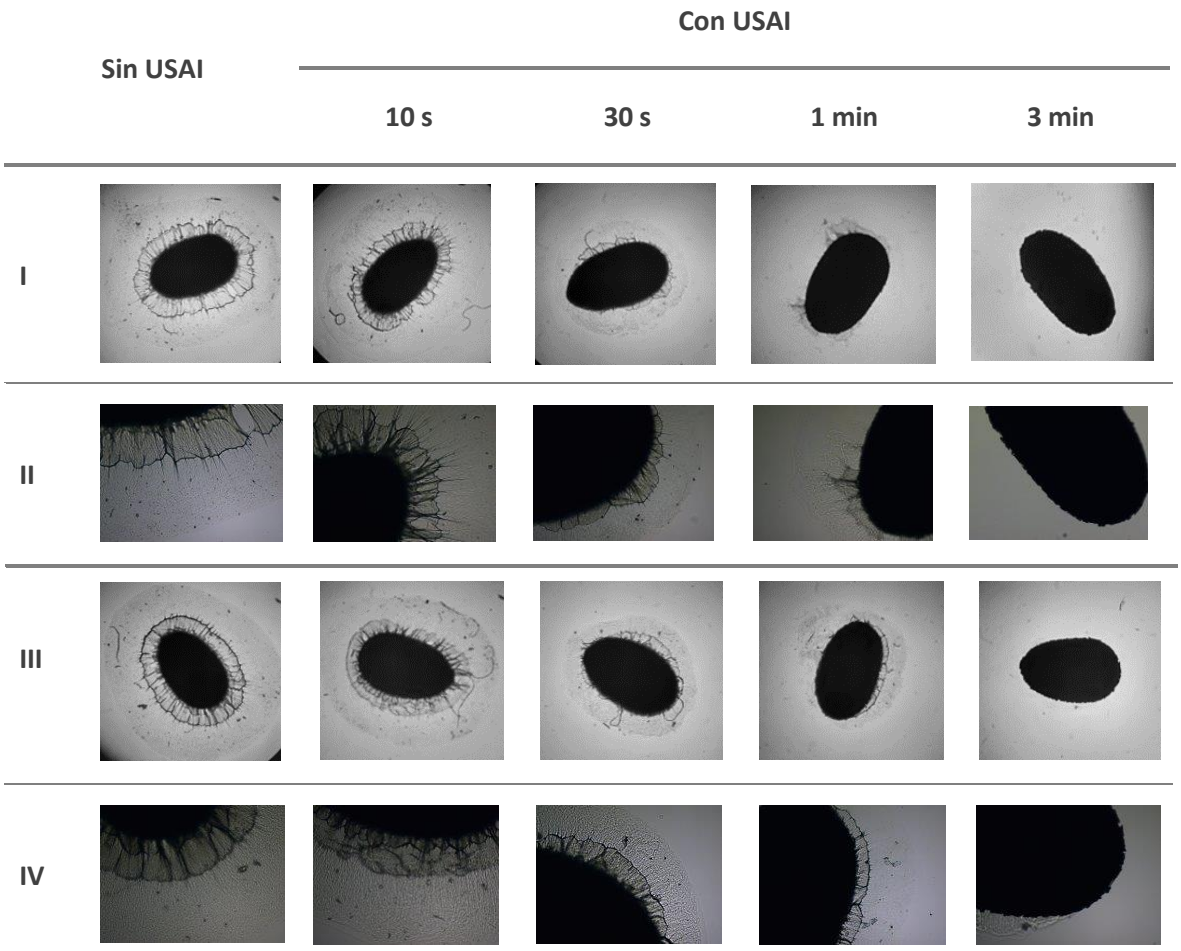


Figura I.2. Imágenes de microscopía óptica de la extracción del mucílago de las semillas de chía sin sonicación y con sonicación, al 20 % de amplitud, durante 10 s, 30 s, 1 min y 3 min en (I, II) una relación semilla:agua de 1:20, y (III, IV) una relación semilla:agua de 1:10. I, III: ampliación de 40x; II, IV: sección ampliada de las imágenes originales.

Mediante ambas técnicas y en ambas condiciones de extracción se pudo observar el efecto del USAI sobre la eficiencia de separación, ya que el mucílago se fue removiendo gradualmente de la superficie de la semilla de chía con el tiempo de sonicación, en comparación con la extracción sin USAI. De hecho, a los 3 minutos fue posible observar la eliminación completa del mucílago de la superficie de la semilla. Por tal razón y, además, porque tiempos más largos promovieron la ruptura de la semilla con la liberación de la cubierta seminal en la fase acuosa, oscureciéndola, se seleccionaron 3 minutos como el tiempo de tratamiento con USAI para el paso posterior de optimización. En un estudio reciente, Wang et al. (2022) también evaluaron la

microestructura de semillas de chía extraídas con diferentes combinaciones de USAI, temperatura y tiempo de extracción, y reportaron que las fibras del mucílago se separaron eficientemente de la semilla y se liberaron en la solución acuosa bajo el efecto del ultrasonido. Sin embargo, dichos autores utilizaron pulsos de ultrasonidos, alternado cada 1 s, durante períodos de entre 5 y 60 minutos, alcanzando tiempos muchos más largos que los evaluados en nuestro trabajo y obtuvieron, en algunos casos, mucílagos más oscuros probablemente debido al desprendimiento de parte de la superficie de la semilla.

Cuando el USAI se aplica a un medio líquido, se generan ondas de compresión y expansión. Durante la fase de expansión, la presión del líquido disminuye, lo que provoca la formación de microburbujas de gas o vapor. Estas burbujas crecen progresivamente hasta alcanzar un tamaño crítico, momento en el cual colapsan enérgicamente en la fase de compresión. Este colapso genera efectos clave que favorecen la extracción del MC, la implosión de las burbujas genera microjets líquidos que impactan sobre la superficie de la semilla, rompiendo o debilitando la matriz estructural que retiene el mucílago. En simultáneo, se producen ondas de choque que alteran la pared celular y la matriz de polisacáridos, facilitando la liberación del mucílago. Aunque el proceso global no eleva significativamente la temperatura del sistema, este colapso es lo suficientemente rápido para considerarse casi adiabático, y crea un punto transitorio con elevada temperatura y presión localizadas, pudiendo alcanzar hasta 5000 K y 50000 kPa, respectivamente, promoviendo la disrupción de la matriz celular (Ashokkumar, 2011; Pingret et al., 2013; Soria y Villamiel, 2010). La combinación de estos efectos mejora la penetración del solvente (agua) en la estructura de la semilla y facilita la disolución del mucílago en el medio circundante (Chemat et al., 2011). El USAI ha sido aplicado exitosamente en la extracción de polisacáridos de otras semillas (Zhao et al., 2017), y recientemente en semillas de chía (Silva et al., 2022; Wang et al., 2022) como en el presente trabajo, y se observó que este procedimiento mejoró efectivamente la separación física del mucílago adherido a la semilla.

Mediante este ensayo se pudo verificar entonces la eficiencia de la asistencia de ultrasonidos de alta intensidad para la extracción del MC, en comparación con extracción por métodos convencionales, ya que numerosos autores que realizaron la extracción del MC sin la aplicación de ultrasonido (Brütsch et al., 2019; Muñoz et al.,

2012; Orifici et al., 2018; Tha Goh et al., 2016) señalaron las dificultades que se presentaron al momento de separar la fracción del mucílago fuertemente adherido a las semillas.

Por otro lado, luego de la hidratación, sonicación y centrifugación se observó la presencia de dos fases acuosas, además del pellet de semilla. En la **Figura I.3 a, b** y **c** se muestran tubos conteniendo el mucílago extraído de las semillas con USAI y separado por centrifugación para diferentes condiciones de relación semilla:agua (1:10, 1:15 y 1:20) y también un tubo con una extracción sin el uso de USAI con una relación semilla:agua 1:20 (**Figura I.3 g**), con el objetivo de comparar el efecto del USAI. A simple vista también es posible observar la eficiencia de la extracción con USAI, ya que en las muestras **a**, **b** y **c**, el pellet de semillas se encuentra compacto en el fondo del tubo, con muy poco mucílago adherido a la superficie, mientras que en la muestra **g** no se observa el pellet compacto, sino que las semillas se encuentran distribuidas en gran parte del mucílago extraído.

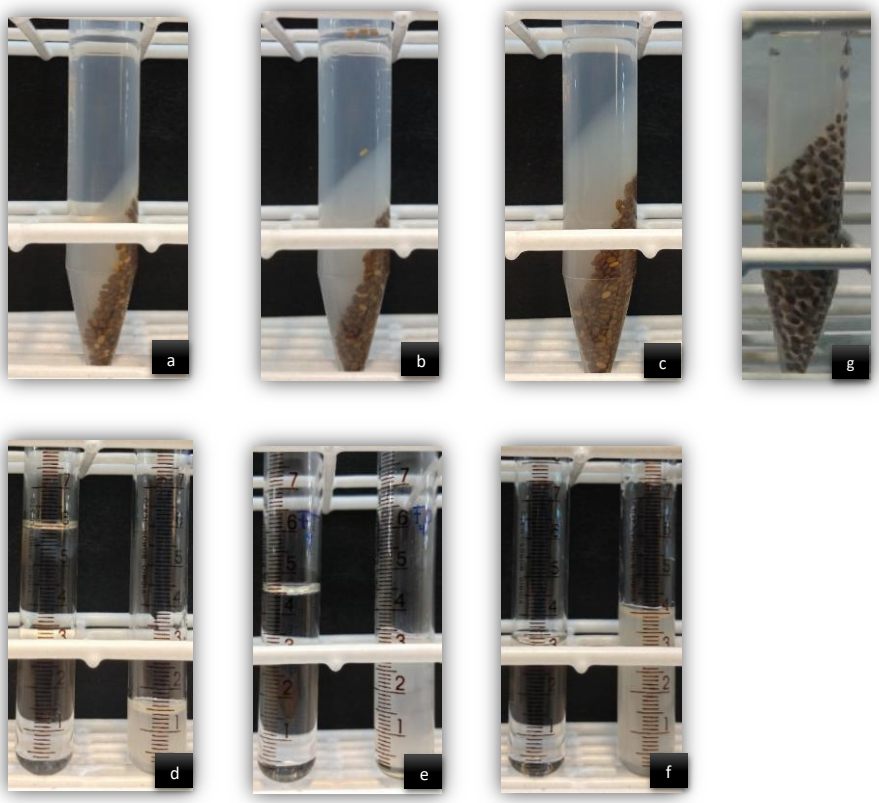


Figura I.3. Extracción del mucílago de chía después de la centrifugación (a, b, c, g) y separación de las dos capas (d, e, f): opaca (derecha) y translúcida (izquierda) obtenidas mediante USAI con las relaciones semilla:agua: (a, d) 1:20; (b, e) 1:15; (c, f) 1:10 y sin USAI (g) con una relación semilla:agua de 1:20.

Luego de la extracción y centrifugación, como se mencionó previamente, se observaron dos fases (**Figura I.3 a, b, c**): una fase inferior, cercana a las semillas, que era opaca y más viscosa (FO), y una fase superior más translúcida y menos viscosa (FT). Ambas fracciones también fueron observadas por otros autores sin la aplicación de USAI (Brütsch et al., 2019; Hussain et al., 2020; Muñoz et al., 2012; Orifici et al., 2018; Tha Goh et al., 2016) e incluso con USAI (Silva et al., 2022) pero algunos de ellos, como Hussain et al. (2020) y Silva et al. (2022), descartaron la fase traslúcida, considerándola agua, quedándose sólo con la fase opaca y señalaron las dificultades para separar la fracción del mucílago fuertemente adherido a las semillas mediante métodos convencionales y/o más drásticos.

Para verificar si la fase superior después de la centrifugación (FT) contiene polisacáridos, se determinó el contenido de carbohidratos totales mediante la metodología de Dubois et al. (1956), descripta en la sección de Materiales y Métodos, de las fases translúcidas y opacas para dos relaciones semilla:agua diferentes: 1:20 y 1:10. A partir de este estudio se verificó la presencia de un contenido similar de polisacárido en ambas fases (42,75 ± 1,40 (% p/p b.s.) y 42,55 ± 1,65 (% p/p b.s.) para FT y FO, respectivamente), verificando la presencia de un alto contenido de polisacáridos incluso en la fase translúcida. Sin embargo, la metodología utilizada en esta determinación no incluyó el contenido de ácidos urónicos (ácidos glucurónico y galacturónico), los cuales se ha reportado que están presentes sólo en la fase opaca (Tha Goh et al., 2016), lo que podría estar relacionado con la mayor viscosidad observada para esta fase.

Según la relación semilla:agua, se observaron diferencias con respecto al color de la fase opaca, desde blanquecino a tonalidad amarronada al cambiar la relación semilla:agua de 1:20 a 1:10 (**Figura I.3 d, e, f**), mientras que no se observaron diferencias de coloración en las fases translúcidas. Koocheki et al. (2009) sugirieron que el color desarrollado por el mucílago extraído de las semillas puede deberse al paso de pigmentos naturales o sustancias tánicas desde el tegumento. Ellos afirmaron que tiempos de extracción más largos y temperaturas más altas provocaban una mayor difusión del color en el agua, resultando en MC más oscuro. Dado que nuestros experimentos con una relación semilla:agua de 1:10 tienen la mayor proporción de semilla, era esperable que estos mucílagos presentaran un color más oscuro; sin

embargo, no se distinguieron diferencias de coloración debidas a los diferentes tiempos y las diferentes temperaturas empleadas en este trabajo.

1.2. Diseño experimental y ajuste del modelo

1.2.1. Diseño experimental

Luego de definir las condiciones de aplicación de USAI, para la optimización de la extracción, se seleccionó un diseño de red de Doehlert para tres factores en 3, 5 y 7 niveles para la evaluación de las condiciones de extracción de mucílago. Las variables estudiadas fueron la relación semilla:agua, la temperatura y el tiempo de extracción, ya que según la bibliografía fueron las variables que mayor efecto tenían sobre el rendimiento. En la **Tabla I.1** se muestra la red con los valores reales de las variables (que fue previamente descripta en Materiales y Métodos con las variables codificadas), con el objetivo de poder luego entender y vincular las condiciones de extracción de cada punto de la red con las respuestas obtenidas que se presentarán en este capítulo.

Tabla I.1. Puntos experimentales de la red de Doehlert para la extracción del mucílago de chía.

Experimento	Relación semilla:agua	Temperatura (°C)	Tiempo de hidratación (min)
1	1:15	65	120
2	1:15	25	120
3	1:15	55	210
4	1:15	35	30
5	1:15	55	30
6	1:15	35	210
7	1:10	55	150
8	1:20	35	90
9	1:20	55	90
10	1:20	45	180
11	1:10	35	150
12	1:10	45	60
13	1:15	45	120
14	1:15	45	120
15	1:15	45	120

Como se mencionó previamente, durante los estudios preliminares, se observó que luego de la extracción asistida por USAI, los mucílagos extraídos con diferentes condiciones de temperatura, tiempo y relación semilla:agua presentaban a simple vista diferente viscosidad, y luego de la centrifugación se obtenían dos fases: una superior traslúcida (FT) y una inferior opaca (FO) en contacto con la semilla, con diferentes viscosidades también. A partir de esta observación se decidió sumar a las respuestas de la red, además del rendimiento, la determinación de la viscosidad del mucílago completo y la evaluación de la relación entre FT y FO, para luego determinar si las diferencias de proporción de dichas fases tenían influencia sobre la viscosidad total de los mucílagos obtenidos.

Las respuestas estudiadas fueron entonces: 1) el rendimiento de extracción, en g de mucílago de chía (MC)/100 g de semilla seca (SS); 2) la relación de volúmenes de fases FT/FO; y 3) los parámetros reológicos: viscosidad aparente (η_{ap}), en Pa.s, el índice de consistencia (k), en Pa.s^n y el índice de flujo (n). La **Tabla I.2** muestra los resultados obtenidos para cada una de estas respuestas para las 15 combinaciones experimentales. En dicha tabla se puede observar que el rendimiento obtenido en la matriz experimental varió de 4,38 a 6,09 g MC/100 g SS, la relación FT/FO de 0,81 a 4,21, la η_{ap} de 0,017 a 0,103 Pa.s, el parámetro k de 0,025 a 0,497 (Pa.s^n) y el parámetro n de 0,367 a 0,762.

Tabla I.2. Resultados obtenidos para el rendimiento de extracción del mucílago de chía, la relación FT/FO, la viscosidad aparente (η_{ap}) y el parámetro k y n, de cada uno de los experimentos de la red.

Experimento	Rendimiento (g MC/100 g SS)	Relación FT/FO	η_{ap} (Pa.s)*	k (Pa.s^n)	n
1	5,85	2,10	0,061	0,138	0,587
2	4,98	1,84	0,048	0,107	0,594
3	6,09	1,60	0,056	0,139	0,551
4	5,03	1,45	0,056	0,121	0,596
5	5,08	1,54	0,032	0,060	0,653
6	5,24	1,56	0,087	0,267	0,463
7	5,47	0,84	0,103	0,271	0,526
8	4,38	4,21	0,021	0,035	0,708
9	4,51	3,34	0,017	0,025	0,762
10	5,92	2,79	0,037	0,081	0,597
11	5,55	0,83	0,165	0,497	0,476
12	5,36	0,81	0,083	0,189	0,575
13	5,54	1,53	0,030	0,055	0,660
14	5,89	1,52	0,058	0,136	0,564
15	5,41	1,65	0,065	0,272	0,367

*La η_{ap} fue determinada a una velocidad de deformación de 10,3 s^{-1}.

1.2.2. Ajuste del modelo

Se realizó el ajuste del modelo, evaluando el efecto de las variables independientes, incluyendo la temperatura (T), la relación semilla:agua (s:a) y el tiempo (t), sobre el rendimiento de extracción del MC, la relación FT/FO y los parámetros reológicos (η_{ap}, k y n). Se aplicó un análisis de regresión múltiple a los datos experimentales y se obtuvieron los coeficientes de regresión estimados para el efecto lineal, interactivo y cuadrático de las variables independientes del proceso sobre las respuestas (**Tabla I.3**). Los resultados del análisis de varianza y la prueba de significancia también se muestran en la **Tabla I.3**. Con el fin de acotar la información en esta tabla, no fue incluido el resultado del análisis del parámetro n ya que no se obtuvo significancia estadística para ninguno de los términos evaluados.

Tabla I.3. Coeficientes del modelo estimados mediante regresiones lineales múltiples.

COEFICIENTES				
Experimento	**Rendimiento (g MC/ 100 g SS)**	**Relación FT/FO**	**η_{ap} (Pa.s)**	**k ($Pa.s^n$)**
Constante	5,61	1,57	0,051	0,154
Lineal				
Temperatura	(0,336)	(-0,0125)	(-0,0119)	(-0,0454)
Relación semilla:agua	(0,320)	-1,74*	0,0564*	0,167*
Tiempo	0,499*	(-0,152)	(0,0219)	(0,0842)
Cuadrática				
$Temperatura^2$	(-0,198)	(0,403)	(0,0035)	(-0,0318)
$Relación\ semilla:agua^2$	(-0,505)	0,971*	(0,0272)	(0,0508)
$Tiempo^2$	(-0,272)	(-0,173)	(0,0078)	(0,0005)
Interacciones				
Temperatura*relación semilla:agua	(-0,292)	(0,482)	(-0,0341)	(-0,119)
Temperatura*tiempo	(0,462)	(-0,0289)	(-0,0040)	(-0,0387)
Relación semilla:agua*tiempo	(-0,963)	(0,754)	(0,0249)	(0,113)
R^2	0,85	0,95	0,87	0,80

**Significativo (p<0,05); () no significativo.*

Mediante el análisis de regresión múltiple (ajustando los datos del diseño experimental) se obtuvieron las **Ecuaciones (I.1)**, **(I.2)**, **(I.3) y (I.4)**, que son las que describen la relación entre las variables estudiadas y la respuesta, en donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales:

$$Rendimiento: 5{,}6133 + 0{,}3205 * s:a + 0{,}3363 * T + 0{,}4987 * t - 0{,}5052 * s:a^2 - 0{,}2923 * s:a * T - 0{,}9632 * s:a * t - 0{,}1983 * T^2 + 0{,}4619 * T * t - 0{,}2717 * t^2 \quad \textbf{(I.1)}$$

$$FT/FO = 1{,}5667 - 1{,}7463 * s:a - 0{,}0125 * T - 0{,}1516 * t + 0{,}9709 * s:a^2 + 0{,}4820 * s:a * T + 0{,}7549 * s:a * t + 0{,}4033 * T^2 - 0{,}0289 * T * t - 0{,}1733 * t^2 \quad \textbf{(I.2)}$$

$$\eta_{ap}: 0{,}051 + 0{,}0564 * s:a - 0{,}0119 * T + 0{,}0219 * t + 0{,}0272 * s:a^2 - 0{,}0341 * s:a * T + 0{,}0249 * s:a * t + 0{,}0035 * T^2 - 0{,}0040 * T * t + 0{,}0078 * t^2 \quad \textbf{(I.3)}$$

$$k: 0{,}1543 + 0{,}1666 * s:a - 0{,}0454 * T + 0{,}0842 * t + 0{,}0508 * s:a^2 - 0{,}1187 * s:a * T + 0{,}1133 * s:a * t - 0{,}0318 * T^2 - 0{,}0387 * T * t + 0{,}0005 * t^2 \quad \textbf{(I.4)}$$

El coeficiente de correlación (R^2) representa la proporción de la variación en la respuesta atribuida al modelo y no al error aleatorio; para un modelo bien ajustado, no debería ser inferior al 80 %. Se obtuvieron coeficientes R^2 entre 0,80 y 0,95 (**Tabla I.3**), lo que indica que los modelos de regresión fueron adecuados para explicar más del 80 % de las respuestas observadas.

1.2.2.1. Significancia para el rendimiento

Los coeficientes de regresión para el rendimiento mostraron que sólo el coeficiente lineal del tiempo de extracción fue significativo ($p<0,05$) (**Tabla I.3**), es decir que de las tres variables evaluadas sólo el tiempo de extracción influye significativamente sobre el rendimiento. El valor positivo de esta variable lineal indica que el rendimiento aumentó a medida que se incrementó el tiempo de extracción. No se observó efecto significativo de temperatura ni de la relación semilla:agua, ni de sus interacciones o términos cuadráticos.

La **Figura I.4** es el diagrama de Pareto obtenido para el rendimiento, en el eje horizontal (X) se muestra el efecto estandarizado de cada término del modelo sobre la variable respuesta (rendimiento), mientras que el eje vertical (Y) enumera los factores individuales y sus interacciones. Los factores son: A: Relación semilla/agua; B: Temperatura; C: Tiempo; Términos cuadráticos: AA, BB, CC; Interacciones: AB, AC, BC. Las barras grises indican un efecto positivo sobre el rendimiento y las barras azules indican un efecto negativo. La línea vertical azul representa el umbral de significancia estadística (basado en un nivel de confianza del 95%).

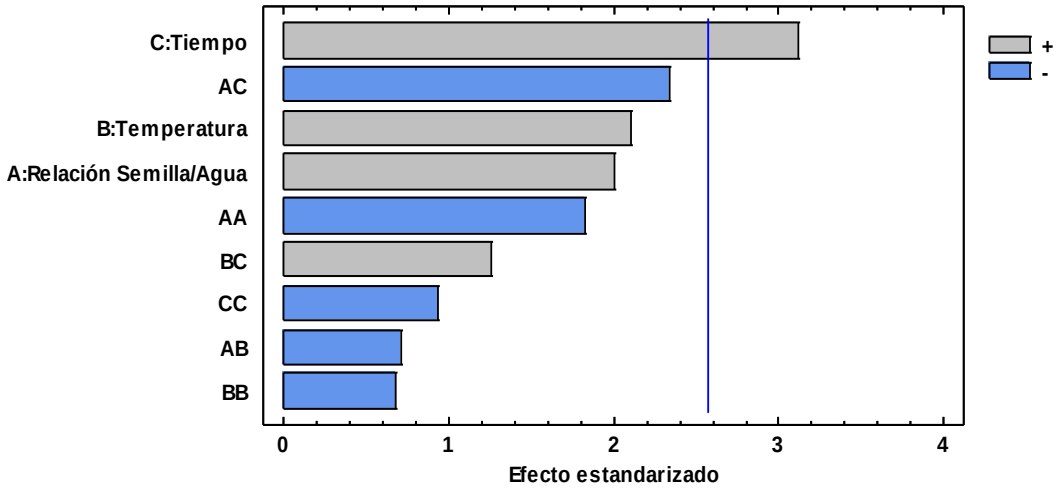


Figura I.4. Diagrama de Pareto para la respuesta rendimiento.

Tal como se observó en la **Tabla I.3**, el único efecto significativo (es decir, cuya barra supera la línea azul) es el efecto lineal del tiempo de extracción (C:Tiempo). El hecho de que el efecto sea positivo indica que, a mayor tiempo de extracción, mayor es el rendimiento. Los demás factores (temperatura, relación semilla:agua) y todas las interacciones (AC, AB, etc.) no resultaron significativos (sus efectos no cruzan el umbral de significancia). Aun cuando algunas variables como AC o B muestran cierta influencia (barras cercanas a la línea azul), no alcanzan significancia estadística al nivel $p<0,05$.

1.2.2.2. Significancia para la relación FT/FO

Los coeficientes de regresión que resultaron significativos ($p<0,05$) para la relación FT/FO fueron los coeficientes lineal y cuadrático de la relación semilla:agua (**Tabla I.3, Figura I.5**). El valor positivo del término cuadrático de la relación semilla:agua significa que la relación FT/FO disminuye hasta alcanzar un valor de relación semilla:agua mínimo, a partir del cual la relación FT/FO aumenta con el aumento de la relación semilla:agua.

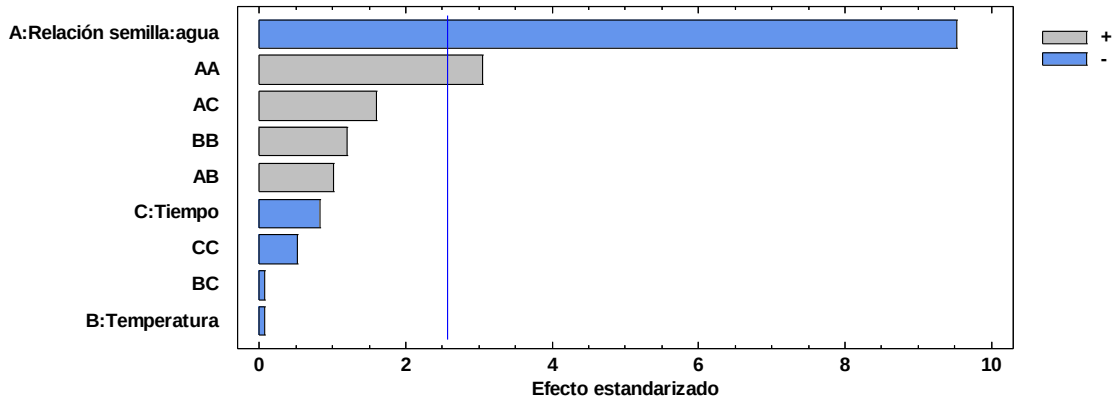


Figura I.5. Diagrama de Pareto para la respuesta FT/FO.

De hecho, durante la determinación de los volúmenes de cada fase, fue posible observar este efecto significativo de la relación semilla:agua en la proporción de cada fase para cada combinación experimental. En la **Figura I.6** se muestra la relación de volúmenes de fase para cada uno de los puntos de la red. Las barras fueron marcadas con diferente patrón según la relación semilla:agua y se observa que los experimentos con una relación semilla:agua de 1:10 (barras 7, 11 y 12) fueron similares entre sí y mostraron la relación FT/FO más baja, seguidos por los experimentos con una relación semilla:agua de 1:15 (barras 1-6, 13-15), que mostraron valores intermedios. Finalmente, los experimentos con una relación semilla:agua de 1:20 (barras 8-10) obtuvieron la relación FT/FO más alta. Además, estos últimos experimentos mostraron diferencias entre ellos, lo que podría atribuirse a diferentes combinaciones de temperatura y tiempo de extracción entre dichos puntos experimentales.

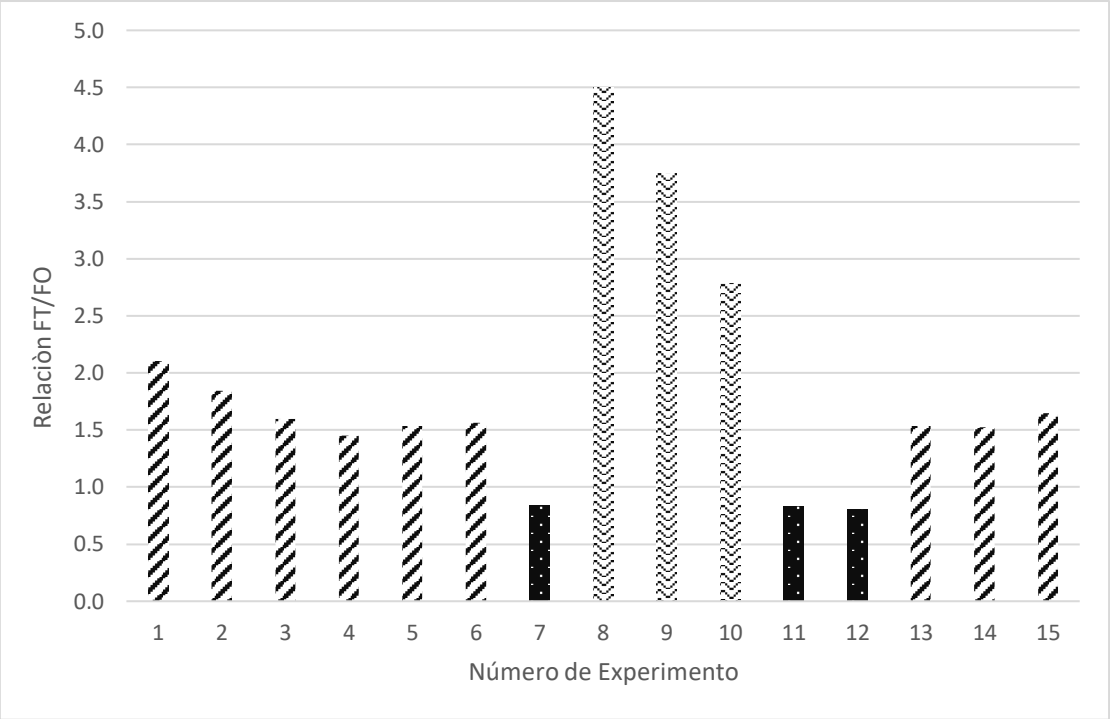


Figura I.6. Relación FT/FO para cada uno de los experimentos de la red *de Doehlert*. Relación semilla:agua 1:20 (▒), 1:15 (▨) y 1:10 (■).

1.2.2.3. Significancia para los parámetros reológicos

La tercera respuesta evaluada fue la de los parámetros reológicos, para ello se determinaron las curvas de flujo de los mucílagos extraídos en cada punto experimental de la red. A modo de ejemplo se muestra, en la **Figura I.7**, la curva de flujo para uno de los puntos experimentales. En dicha figura se puede observar que se detectó tixotropía (al igual que en el resto de los puntos experimentales no mostrados), detectable como un bucle de histéresis entre las ramas ascendente y descendente de las curvas de flujo. Debido a dicho comportamiento y para poder realizar el ajuste correspondiente, se eliminó la tixotropía realizando tres ciclos de ascenso y descenso de velocidad de corte en el reómetro, tal como se mencionó en la sección 2.1.2.3 de Materiales y Métodos. Cuando ambas curvas se superponen se considera que se eliminó la tixotropía. Luego de la eliminación de la tixotropía, todas las curvas de flujo obtenidas muestran que el MC presenta un comportamiento pseudoplástico con umbral de fluencia que ronda entre 0,04 y 0,17 Pa. Un comportamiento similar fue observado para dispersiones de MC reportado por otros autores (Capitani y col., 2015; Tha Goh y col., 2016; Tavaresy col., 2018). Por el contrario, Garcia e Silva y col. (2022) y Ferraro y col. (2022) no reportaron

histéresis en las curvas de flujo de soluciones de MC, indicando que no presentaban un comportamiento dependiente del tiempo.

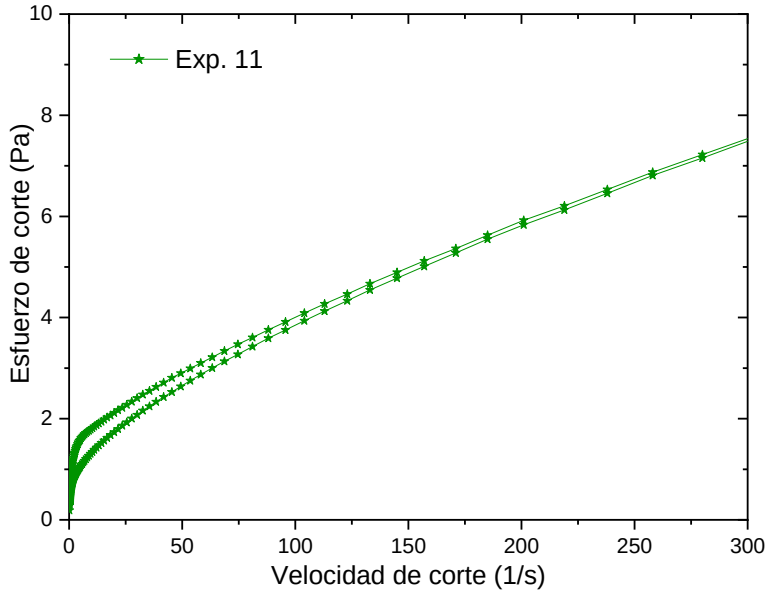


Figura I.7. Curvas de flujo del primer ciclo del MC extraído mediante el experimento 11 de la red, a modo de ejemplo de su dependencia con el tiempo (bucle de histéresis) y su comportamiento pseudoplástico con umbral de fluencia.

La curva ascendente, de cada uno de los puntos experimentales, luego de la eliminación de la tixotropía se muestra en la **Figura I.8**. Utilizando dichas curvas de flujo, se realizó el ajuste según Herschel-Bulkley, a partir del cual, se obtuvieron la constante de proporcionalidad k y el índice de flujo n reportados en la **Tabla I.2**.

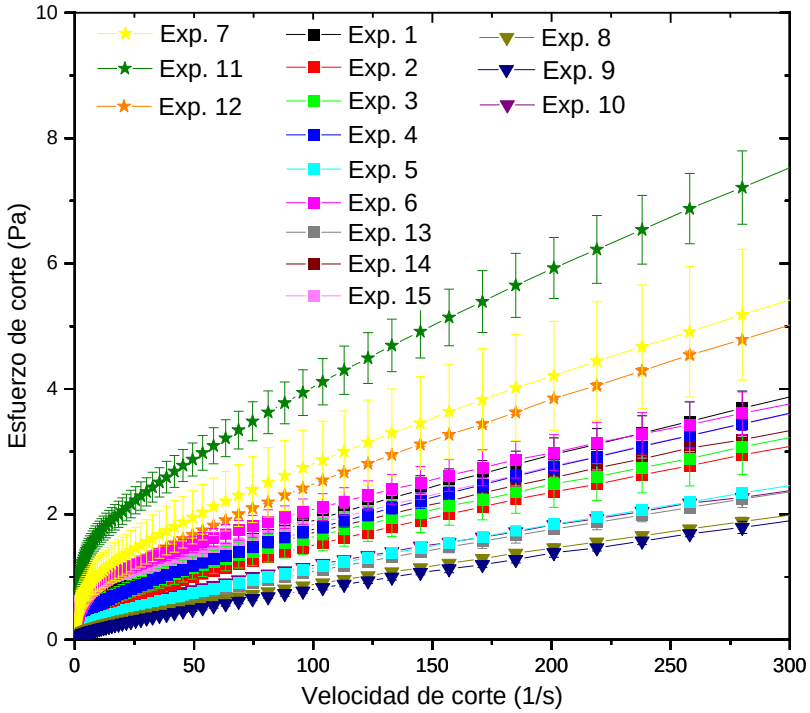


Figura I.8. Curvas de flujo del mucílago de chía extraído mediante los 15 experimentos de la red. Experimento 7 ★, 11★ y 12★: relación semilla:agua 1:10; Experimento 1■, 2■, 3■, 4■, 5■, 6■, 13■, 14■ y 15■: relación semilla:agua 1:15; Experimento 8▼, 9▼ y 10▼: relación semilla:agua 1:20.

En primer lugar, se puede observar una clara agrupación de las curvas según la relación semilla:agua utilizada durante la extracción de cada punto experimental, por tal razón las referencias de los experimentos fueron agrupados en función de dicha variable. Este diferente comportamiento en la curva de flujo en función de la variable semilla:agua puede explicarse por la diferente viscosidad de cada una de las fases translúcida y opaca que se observó a simple vista luego de la extracción y centrifugación y por la diferente proporción de cada fase en cada punto experimental (**Figura I.3**). La influencia de la relación semilla:agua sobre el comportamiento reológico del mucílago se evidencia también en el valor de η_{ap} obtenido (**Tabla I.2**), donde por ejemplo los puntos experimentales 8, 9 y 10, que son los que tenían la relación semilla:agua 1:20, mostraron los menores valores en esta respuesta y son los que mostraron el menor contenido de fase opaca, es decir mayor relación FT/FO (**Figura I.6**).

De hecho, al analizar los coeficientes del modelo (**Tabla I.3**), para los parámetros η_{ap} (**Figura I.9**) y k (**Figura I.10**), la única variable significativa fue la relación semilla:agua; sin embargo, para el parámetro n no se encontró ninguna variable significativa por este

motivo no se continuó con su análisis (**Figura I.11**). Entonces, de manera similar a la respuesta de FT/FO, la variable de extracción con mayor influencia en los parámetros reológicos fue la relación semilla:agua, pero sólo el coeficiente lineal de esta variable fue significativo (**Tabla I.3** y **Figura I.9**). El valor positivo de la variable lineal relación semilla:agua en las respuestas de η_{ap} y k indica que la viscosidad aumentó con el incremento de la relación semilla:agua. Teniendo en cuenta la relación existente entre la relación semilla:agua con la respuesta de relación FT/FO, estos resultados evidencian que cuanto menor es la relación FT/FO (mayor proporción de fase opaca), mayor es la viscosidad del mucílago.

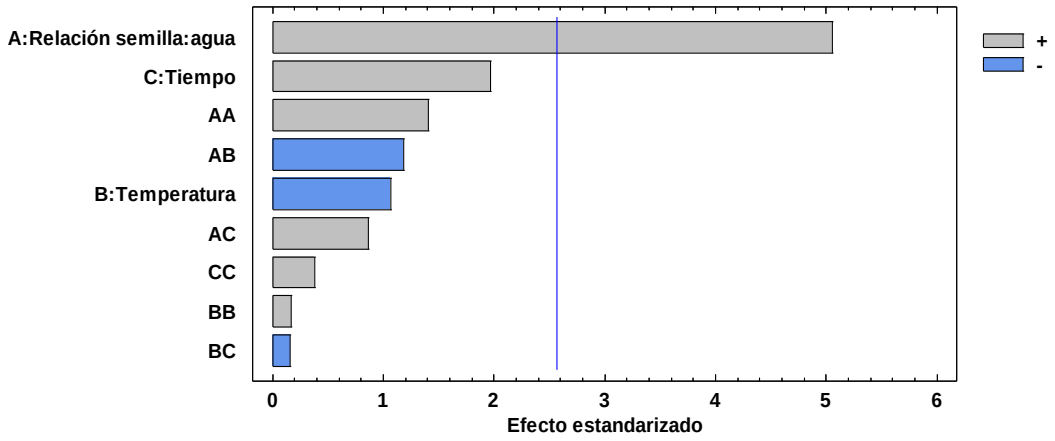


Figura I.9. Diagrama de Pareto para la respuesta viscosidad.

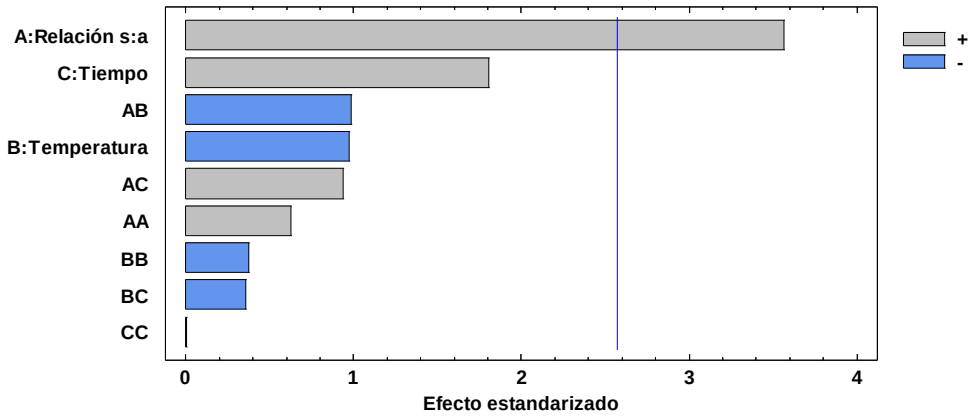


Figura I.10. Diagrama de Pareto para el parámetro k.

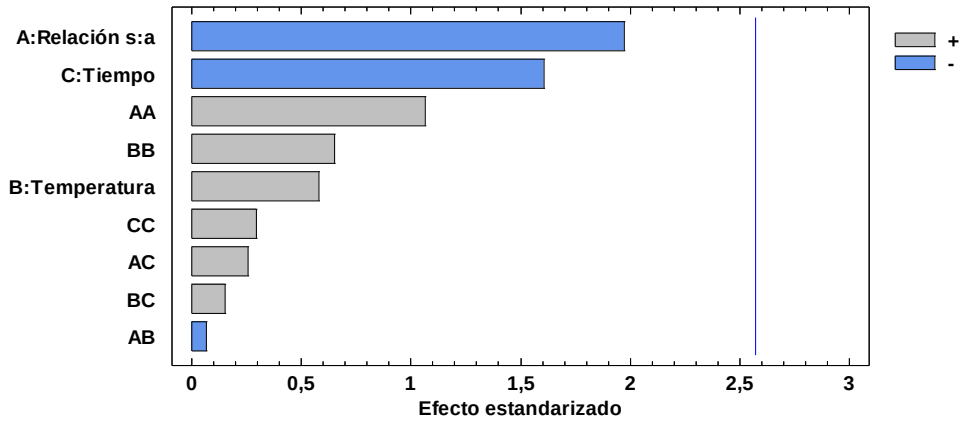


Figura I.11. Diagrama de Pareto para el parámetro n.

De manera adicional, con el objetivo de cuantificar las diferentes viscosidades observadas para las FT y FO de forma individual, se determinaron las curvas de flujo para cada fase por separado en cada punto de la red. A modo de ejemplo, en la **Figura I.12**, se muestran las curvas de flujo de las FT y FO del punto experimental 11 y también de la mezcla de ambas fases, que fue previamente mostrada en la **Figura I.7**. Como era de esperar, al comparar las tres curvas de flujo (**Figura I.12**), se puede observar que la curva de flujo de la mezcla se ubicó en un rango intermedio entre las obtenidas para cada una de las fases individuales.

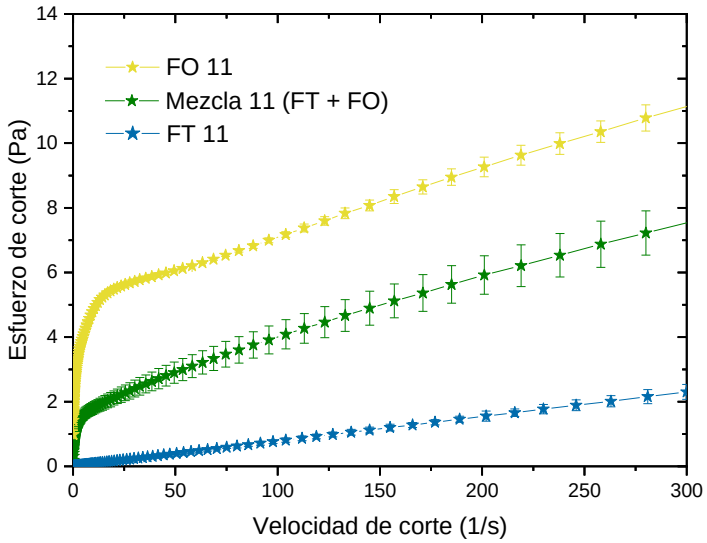


Figura I.12. Curvas de flujo del mucílago de chía extraído mediante el experimento 11 de la red a modo de ejemplo del comportamiento de las fases por separado y juntas.

Además, es importante destacar que las curvas de flujo de todas las FT mostraron un comportamiento newtoniano, por lo cual dichas curvas fueron ajustadas por la Ley de Newton, mientras que las curvas de flujo de todas las FO mostraron un comportamiento pseudoplástico y, por ende, fueron ajustadas mediante la Ley de la potencia.

En la **Tabla I.4** se muestran los valores de η_{ap}, obtenido a partir del ajuste de las curvas de flujo, de cada fase para cada punto experimental.

Tabla I.4. η_{ap} de las FT y FO para cada uno de los puntos de la red.

Experimento	η_{ap} * (Pa.s)	
	FT	FO
1	0,005	0,390
2	0,005	0,247
3	0,005	0,227
4	0,006	0,258
5	0,005	0,238
6	0,005	0,294
7	0,009	0,503
8	0,004	0,230
9	0,005	0,259
10	0,006	0,146
11	0,008	0,358
12	0,009	0,261
13	0,005	0,312
14	0,006	0,182
15	0,006	0,184

*La η_{ap} fue determinada a una velocidad de deformación de 10,3 s^{-1}.

La η_{ap} de la FO resultó estar entre 0,146 y 0,503 Pa.s, dos órdenes de magnitud mayor que la η_{ap} de la FT, cuyos valores estuvieron entre 0,004 y 0,009 Pa.s.

Estos resultados confirmaron la significativa diferencia de viscosidad entre ambas fases, observada a simple vista, siendo la fase opaca notablemente más viscosa que la translúcida, lo que resalta el impacto de la relación FT/FO en las propiedades reológicas del mucílago completo.

1.3. Optimización de la extracción

1.3.1. Optimización del rendimiento

Para visualizar los efectos combinados de las tres variables (tiempo, temperatura y relación semilla:agua) sobre el rendimiento de extracción, se generó un gráfico de malla de la superficie de respuesta estimada de rendimiento (**Figura I.13**), como una representación gráfica de la ecuación de regresión (**Ecuación (I.1)**).

Esta figura revela una zona en la que el rendimiento de extracción fue máximo (zona roja), que corresponde a condiciones de tiempos de extracción prolongados, altas temperaturas y una relación semilla:agua entre 1:20 y 1:15. Dicha zona mostró un rendimiento de aproximadamente 6,5 g MC /100 g SS.

Como se mostró previamente, la variable de extracción que más influyó en el rendimiento fue el tiempo (**Tabla I.3** y **Figura I.4**). De hecho, la **Figura I.13** muestra que, a tiempos de extracción más cortos, el rendimiento fue independiente de la temperatura, mientras que, a tiempos de extracción más largos, mostró una mayor dependencia de la temperatura, aumentando con el incremento de la temperatura de 25 °C a 65 °C.

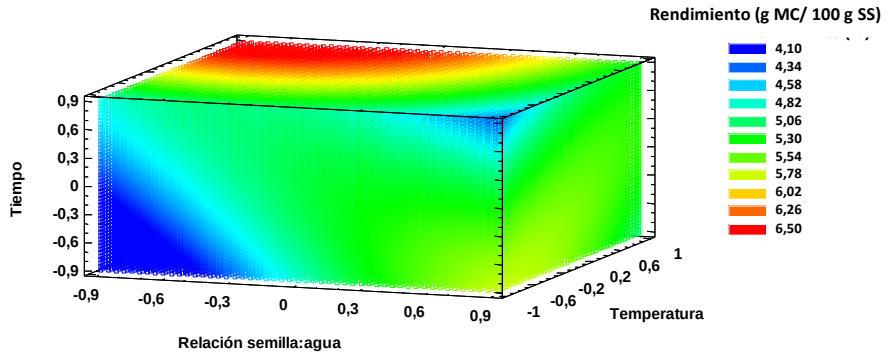


Figura I.13. Gráfica de malla 3D estimada de rendimiento (g MC/100 g SS).

El rendimiento máximo estimado ajustando la matriz experimental fue de 6,7 g MC/100 g SS, y las condiciones requeridas para obtener esta respuesta fueron una temperatura de 65 °C, una relación semilla:agua 1:20 y un tiempo de extracción de 210 minutos.

Este rendimiento óptimo de extracción (6,7 g MC/100 g SS = 6,7 % p/p) fue superior al reportado por otros autores: 1,2 % (Tha Goh et al., 2016); 5,6 % (Timilsena et al., 2016);

5,09 % (Campos et al., 2016); 5,06 % (Silva et al., 2022) y similar al obtenido por Muñoz et al. (2012) (6,97 %). Sin embargo, la mayoría de estos autores utilizaron un rango de temperatura más amplio, llegando a temperaturas muy altas (80 – 85 °C) (Hussain et al., 2020; Muñoz et al., 2012; Orifici et al., 2018; Wang et al., 2022), una relación semilla:agua más baja (1:30, 1:40) (Muñoz et al., 2012; Orifici et al., 2018; Silva et al., 2022; Wang et al., 2022), un tratamiento ultrasónico más severo, como una amplitud del 40 % y pulsos de ultrasonido 2 s encendido y 3 s apagado durante 3, 10 y 30 min (Silva et al., 2022) y/o combinación de temperaturas (50-80 °C) con tratamientos largos de ultrasonido (30-60 min) (Wang et al., 2022) que el usado en el presente trabajo, e incluso algunos de ellos no estudiaron el tiempo de extracción como variable (Hussain et al., 2020; Muñoz et al., 2012). Investigaciones previas han demostrado que las condiciones que favorecen un mayor rendimiento de extracción (mayor temperatura y tiempo de extracción más largo) inducen un cambio en la estructura molecular, lo que lleva a una disminución en la viscosidad del mucílago (Koocheki et al., 2009, 2010). Como uno de los objetivos de este estudio fue evaluar el efecto de las condiciones de extracción sobre la viscosidad del mucílago, no se utilizaron condiciones extremas con el propósito de evitar modificar irreversiblemente la viscosidad.

Además, es importante destacar que con las relaciones semilla:agua evaluadas en el presente trabajo se obtuvo un rendimiento moderado con condiciones de extracción más suaves (menores tiempos y temperaturas) en comparación con otros trabajos en la literatura, que reportaron tiempos y temperaturas de extracción de hasta 2-4 h y 80-85 °C, respectivamente (Campos et al., 2016; Hussain et al., 2020; Muñoz et al., 2012; Orifici et al., 2018). Incluso para la relación semilla:agua con la menor proporción de agua (1:10), se obtuvieron valores de rendimiento cercanos al 5,8 % con tiempos y temperaturas de extracción muy bajos, como se muestra en la **Figura I.13**. Esto significa, además de menores costos relacionados con tiempos y temperaturas de extracción más bajos, una condición con una cantidad de agua significativamente menor que la reportada en la literatura, lo que facilita el secado posterior.

La posibilidad de obtener un alto rendimiento con tiempos y temperaturas de extracción más bajos podría atribuirse al uso de USAI (Chemat et al., 2017), que permitió una extracción más eficiente del mucílago de la semilla de chía, como fue reportado en la literatura tanto para éste como para otros polisacáridos (Silva et al., 2022; Wang et al.,

2022; Zhao et al., 2017). Esto es consecuencia de la acción de las frecuencias ultrasónicas que generan microjets en la superficie de la semilla de chía, dirigiéndose a estructuras llamadas columnelas que permiten la separación física del mucílago de manera rápida y eficiente (Chemat et al., 2017), como fue observado en las micrografías de las **Figura I.1** y **Figura I.2**.

Es importante destacar que la metodología propuesta en el presente trabajo para la extracción de mucílago sólo implica el uso de un dispositivo de agitación y un equipo de ultrasonido de alta intensidad, lo que permite una fácil escalabilidad a mayores volúmenes. De hecho, un trabajo reciente reportó la viabilidad de escalar procesos de ultrasonido mediante el uso de reactores tubulares con modos de operación continua o de recirculación, que mostraron altos rendimientos de extracción de otro mucílago de semillas, *Camelina sativa* (Fabre et al., 2020). Además, el tiempo de tratamiento con ultrasonido propuesto en el presente trabajo (3 min) fue muy bajo en comparación con otros trabajos (30 y 60 min) (Silva et al., 2022; Wang et al., 2022).

1.3.2. Optimización de la relación FT/FO

La **Figura I.14** muestra la malla de la superficie de respuesta obtenida para la relación de fases FT/FO estimada a partir de la ecuación de regresión (**Ecuación (I.2)**). La zona roja indica las condiciones en las que se obtuvo la relación FT/FO máxima, que se correspondió con bajas temperaturas, relaciones semilla:agua bajas (1:20) y un amplio rango de tiempo de extracción. Una mayor relación FT/FO implica una mayor proporción de fase translúcida y/o una menor proporción de fase opaca. Por otro lado, la zona azul en la **Figura I.14**, que indica las condiciones en las que se obtuvo la relación FT/FO mínima, corresponde a condiciones en las que predomina la fase opaca: relación semilla:agua alta (1:10) y un amplio rango de temperaturas y tiempos de extracción, siendo el efecto más pronunciado a menores tiempos y temperaturas.

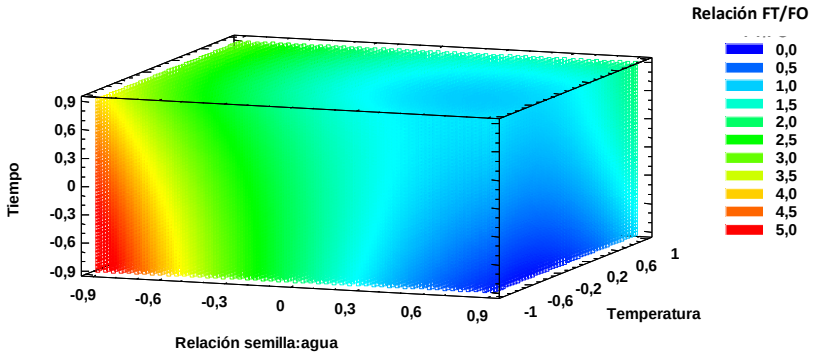


Figura I.14. Gráfica de malla 3D estimada de relación FT/FO.

La relación FT/FO máxima estimada ajustando la matriz experimental fue de 4,85, y las condiciones requeridas para obtener esta respuesta fueron una temperatura de 26,8 °C, una relación semilla:agua de 1:20 y un tiempo de extracción de 30 minutos. Mientras que la relación FT/FO mínima estimada fue de 0,15, y las condiciones requeridas para obtener esta relación mínima fueron una temperatura de 35 °C, una relación semilla:agua de 1:10 y un tiempo de extracción de 30 minutos. Por lo tanto, estos resultados indican que con una relación semilla:agua baja (1:20) es posible extraer un mayor volumen de fase translúcida, mientras que con una relación semilla:agua alta (1:10) se extrae un mayor volumen de fase opaca.

La presencia de dos fases en el estudio de la hidratación de semillas fue descrita por Zhao et al. (2017) para *Arabidopsis thaliana*, una semilla que libera un mucílago con características similares al de chía, y que sólo pudo ser eficientemente removido mediante tratamiento ultrasónico. Ellos explican que la fuerte adherencia del mucílago a la superficie de la semilla podría deberse a la fuerte unión del mucilago a la pared celular, los cuales dificultan su liberación (Zhao et al., 2017).

Es importante señalar que la mayoría de los estudios sobre la extracción de MC reportados en la literatura analizaron el mucílago completo (mezcla de las fases opaca y translúcida) (Campos et al., 2016; Muñoz et al., 2012; Orifici et al., 2018; Timilsena et al., 2016). Otros autores, como Brütsch et al. (2019) y Hussain et al. (2020), usaron sólo la fase opaca y descartaron la fase translúcida para sus estudios. Sólo Tha Goh et al. (2016) evaluaron ambas fases de manera individual; sin embargo, estos autores únicamente determinaron la composición química de las fases individuales, ya que la

caracterización molecular y reológica del MC se realizó sobre el mucílago completo. Así, la caracterización de las fases individuales del MC aún no ha sido evaluada en profundidad. Por ello, los resultados presentados en este trabajo permitirán conocer la gran influencia de las condiciones de extracción en la composición de las fases del MC y, en consecuencia, en sus características moleculares y reológicas y de esta manera se podrá modular las condiciones de extracción en función de las características que se quiera obtener en el mucílago.

1.3.3. Optimización de la viscosidad aparente

Como se mostró anteriormente (**Tabla I.4**), la FO mostró una mayor η_{ap} que la FT en todos los extractos de mucílago, por lo que era de esperar que el comportamiento de las respuestas de la relación FT/FO y la η_{ap} fueran opuestos, dado que a mayor relación FT/FO, menor es la proporción de FO en el extracto de mucílago. Los efectos combinados del tiempo, la temperatura y la relación semilla:agua sobre la η_{ap} se muestran en la gráfica de malla de la superficie de respuesta obtenida a partir de la ecuación de regresión (**Ecuación (I.3)**) (**Figura I.15**).

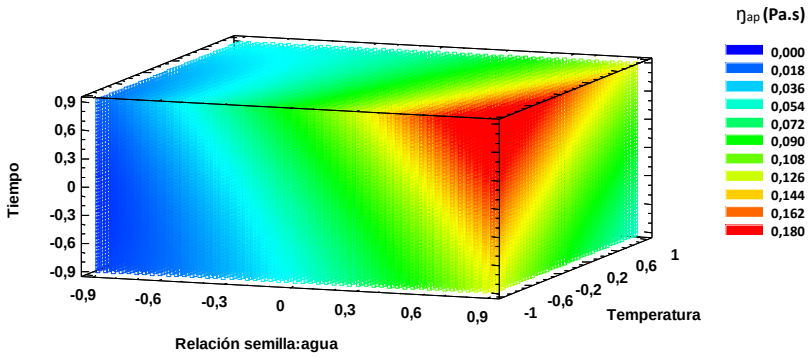


Figura I.15. Gráfica de malla 3D estimada de η_{ap} (Pa.s).

Las extracciones realizadas con una relación semilla:agua de 1:20 mostraron los valores más bajos de η_{ap}, mientras que las extracciones con una relación semilla:agua de 1:10 mostraron los valores más altos. Las variables tiempo y temperatura no mostraron un efecto significativo en la η_{ap}, aunque para la relación semilla:agua de 1:10 se observó un incremento de la η_{ap} con el aumento del tiempo de extracción y la disminución de la temperatura de extracción (ver corridas 7, 11 y 12 en la **Tabla I.2**).

Otros autores reportaron un efecto de la temperatura y tiempo sobre la viscosidad del mucílago, pero en rangos de temperaturas mayores a los evaluados en este trabajo, obteniendo un mucílago de baja viscosidad con mayores temperaturas y tiempos más largos, y lo atribuyeron a una modificación de su estructura molecular (Koocheki et al., 2009, 2010). En concordancia con estos resultados, Silva et al. (2022) reportaron una menor η_{ap} y un menor índice de consistencia (k) del MC en tiempos de agitación más prolongados durante la extracción.

1.4. Validación de la red

Para realizar la validación de la red, se seleccionaron dos condiciones de extracción: las condiciones requeridas para obtener el máximo rendimiento (relación semilla:agua 1:20, temperatura de 65 °C y tiempo de 210 minutos) y una condición intermedia (relación semilla:agua 1:15, temperatura de 40 °C y tiempo de 75 minutos). A partir del análisis de regresión múltiple explicado en el inciso 1.2.2, se obtuvieron ecuaciones reducidas para las respuestas rendimiento **(I.5)**, relación FT/FO **(I.6) y** η_{ap} **(I.7)** que incluyen únicamente las variables significativas, a diferencia de las ecuaciones completas (**Ecuación (I.1), (I.2) y (I.3))**:

$$Rendimiento = 5{,}6133 + 0{,}4987 * t \quad \textbf{(I.5)}$$

$$FT/FO = 1{,}5667 - 1{,}7463 * s{:}a + 0{,}9709 * s{:}a^2 \quad \textbf{(I.6)}$$

$$\eta_{ap} = 0{,}0717 + 0{,}0653 * s{:}a \quad \textbf{(I.7)}$$

Los valores experimentales y predichos, para el rendimiento de extracción, la relación FT/FO y la η_{ap}, tanto para la condición óptima como para una condición intermedia se presentan en la **Tabla I.5**. Los valores experimentales de rendimiento de extracción, relación FT/FO y η_{ap} fueron 6,98 g MC/ 100 g SS, 2,91 y 0,034 Pa·s, respectivamente, para la condición óptima de rendimiento, y 5,32 g MC/ 100 g SS, 1,64 y 0,046 Pa·s, respectivamente, para la condición intermedia.

Los valores predichos fueron 6,70 g MC/ 100 g SS, 2,82 y 0,050 Pa·s para la condición óptima de rendimiento, y 5,38 g MC/ 100 g SS, 1,63 y 0,050 Pa·s para la condición intermedia, para el rendimiento de extracción, la relación FT/FO y la η_{ap}, respectivamente. Por lo tanto, la diferencia porcentual entre los valores experimentales y los predichos, que fue menor al 4 % para el rendimiento y la relación FT/FO, y algo superior en el caso de la η_{ap}, confirmó la adecuación de los modelos correspondientes aplicados para predecir la variación del rendimiento, la relación FT/FO y la η_{ap} del MC.

Tabla I.5. Valores experimentales y predichos de las respuestas estudiadas.

Respuestas	**Valores experimentales**		**Valores predichos por ecuación**	
	Óptimo	Intermedio	Óptimo	Intermedio
Rendimiento (g MC/100 g SS)	6,98	5,32	6,70	5,38
Relación FT/FO	2,91	1,64	2,82	1,63
η_{ap} (Pa.s)	0,034	0,046	0,050	0,050

1.5. Función de Deseabilidad para rendimiento y η_{ap}

De las respuestas obtenidas en el análisis previamente descripto, la relación FT/FO fue evaluada con el objetivo de entender las características de esas fases obtenidas, y si bien explica las diferentes η_{ap} obtenidas en los puntos de extracción de la red, por la diferente relación FT/FO, en sí misma no representa una característica de interés para modular. En este sentido, las respuestas más relevantes a la hora de seleccionar condiciones de extracción son: el rendimiento y la η_{ap}, ya que son las que definirán la eficiencia del proceso de extracción y las características del mucílago obtenido.

Sin embargo, debido a la imposibilidad de optimizar estas dos respuestas al mismo tiempo, ya que las condiciones de optimización de cada una eran diferentes, se utilizó la función de deseabilidad (D) para combinar las respuestas de rendimiento y η_{ap} en un solo gráfico, con el fin de obtener la combinación óptima general. Se realizaron dos optimizaciones, pero siempre maximizando el rendimiento de extracción: una optimización se basó en maximizar el rendimiento y minimizar la viscosidad, y la otra en maximizar tanto el rendimiento como la viscosidad. Esta función estimada varía entre 0 y 1. Una función de D con un valor igual a cero representa un valor completamente

inaceptable de las respuestas predichas, mientras que un valor igual a uno representa un valor de respuesta completamente deseable o ideal.

Las **Figura I.16** y **Figura I.17** muestran los resultados de la función de deseabilidad para las diferentes condiciones de extracción. Las variables tiempo y relación semilla:agua se representan en los ejes "y" y "x", respectivamente, de cada una de las figuras que representan los cinco niveles de la variable temperatura que se evaluaron. Estos gráficos permiten reconocer qué niveles de cada variable permitieron la mayor deseabilidad.

1.5.1. Condiciones para alcanzar máximo rendimiento y mínima η_{ap}

Las condiciones necesarias para lograr el máximo rendimiento y la mínima η_{ap} se muestran en la **Figura I.16**. La máxima deseabilidad se encontró a una baja relación semilla:agua (cercana a 1:20) y tiempos de extracción altos para las cinco temperaturas analizadas; sin embargo, se obtuvieron diferentes valores de D a las distintas temperaturas evaluadas. A 25 °C (**Figura I.16 a**), se obtuvieron valores intermedios de D con un rango de 0,4–0,5. A medida que la temperatura aumentó (35 °C) (**Figura I.16 b**), se observó un incremento en los valores de D, alcanzando un rango de 0,7–0,8. Los mejores resultados se observaron a las temperaturas más altas de 45 °C, 55 °C y 65 °C (**Figura I.16 c**, **d**, **e**, respectivamente), con valores máximos de D entre 0,9 y 1,0. Las condiciones óptimas para obtener estas respuestas son una relación semilla:agua de 1:20, temperatura de 48,8 °C y 208,4 minutos de extracción. Bajo estas condiciones, se predijo un rendimiento óptimo de extracción de 6,09 g MC/100 g SS y una viscosidad de 0,033 Pa.s, con una deseabilidad máxima D de 0,95.

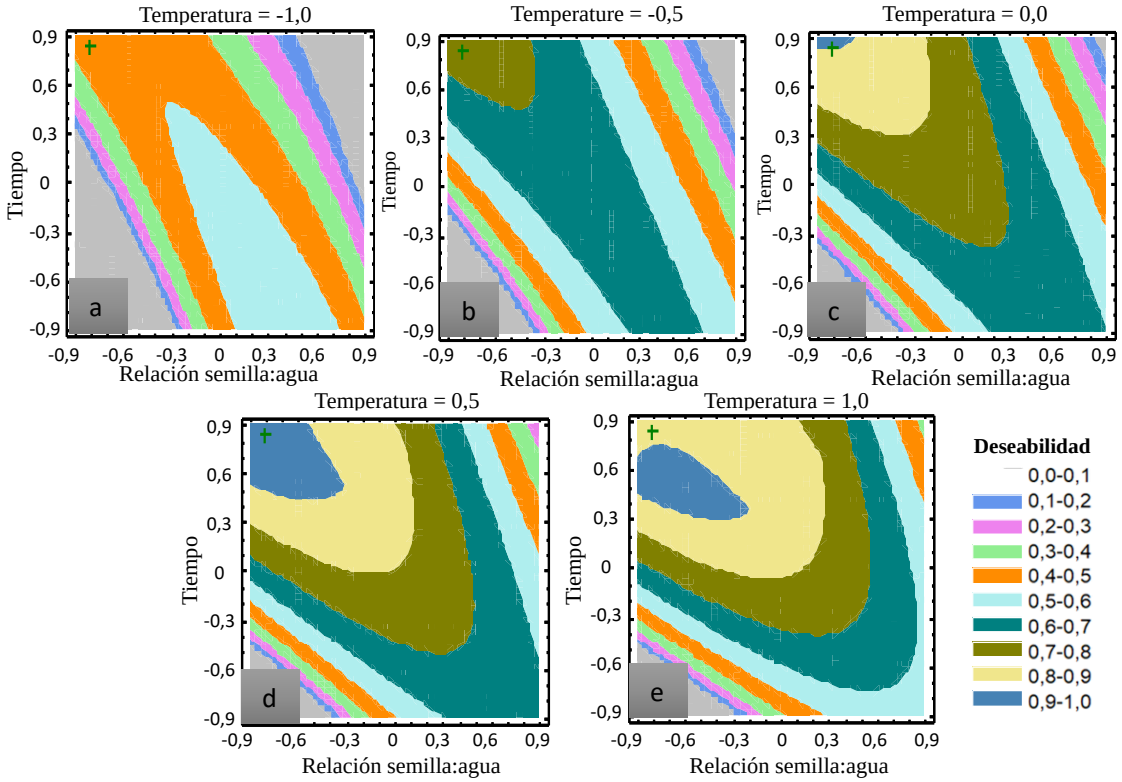


Figura I.16. Gráficos de contorno basados en la función de deseabilidad que muestran el efecto del tiempo de extracción y la relación semilla:agua, con la temperatura ajustada a diferentes valores: (a) 25 °C; (b) 35 °C; (c) 45 °C; (d) 55 °C; (e) 65 °C, maximizando las respuestas de rendimiento de extracción de MC (g MC/100 g SS) y minimizando la η_{ap} (Pa.s).

1.5.2. Condiciones para alcanzar máximo rendimiento y máxima η_{ap}

Por otro lado, las condiciones necesarias para alcanzar el máximo rendimiento y la máxima η_{ap} se pueden observar en la **Figura I.17**. A diferencia de lo observado en la **Figura I.16**, se requiere una relación semilla:agua más alta para obtener el máximo valor de D, y diferentes tiempos dependiendo de las temperaturas de extracción. A 25 °C y 35 °C (**Figura I.17 a** y **b**, respectivamente), se obtuvieron los valores más altos de D en un rango de 0,7–0,8 a una relación semilla:agua de 1:10 y tiempos de extracción bajos o medianos. De hecho, la combinación óptima deseada se logró con una relación semilla:agua de 1:10, una temperatura de 25,3 °C y 53,7 minutos de tiempo de extracción. Bajo estas condiciones, se predijo un rendimiento óptimo de extracción de 5,61 g MC/100 g SS y una viscosidad de 0,131 Pa.s, con una deseabilidad máxima, D, de 0,75. A medida que la temperatura aumentó (**Figura I.17 c**), se observó una disminución en los valores de D, alcanzando valores de 0,6–0,7, bajo condiciones de relación semilla:agua cercanas a 1:10 en tiempos de extracción más bajos, e incluso con

relaciones semilla:agua intermedias (1:15) pero con tiempos de extracción más altos. A las temperaturas más altas (55 y 65 °C, **Figura I.17 d** y **e**, respectivamente), también se obtuvieron valores de D de 0,6–0,7. Las condiciones necesarias para obtenerlo fueron una relación semilla:agua baja e intermedia, pero con tiempos de extracción más largos.

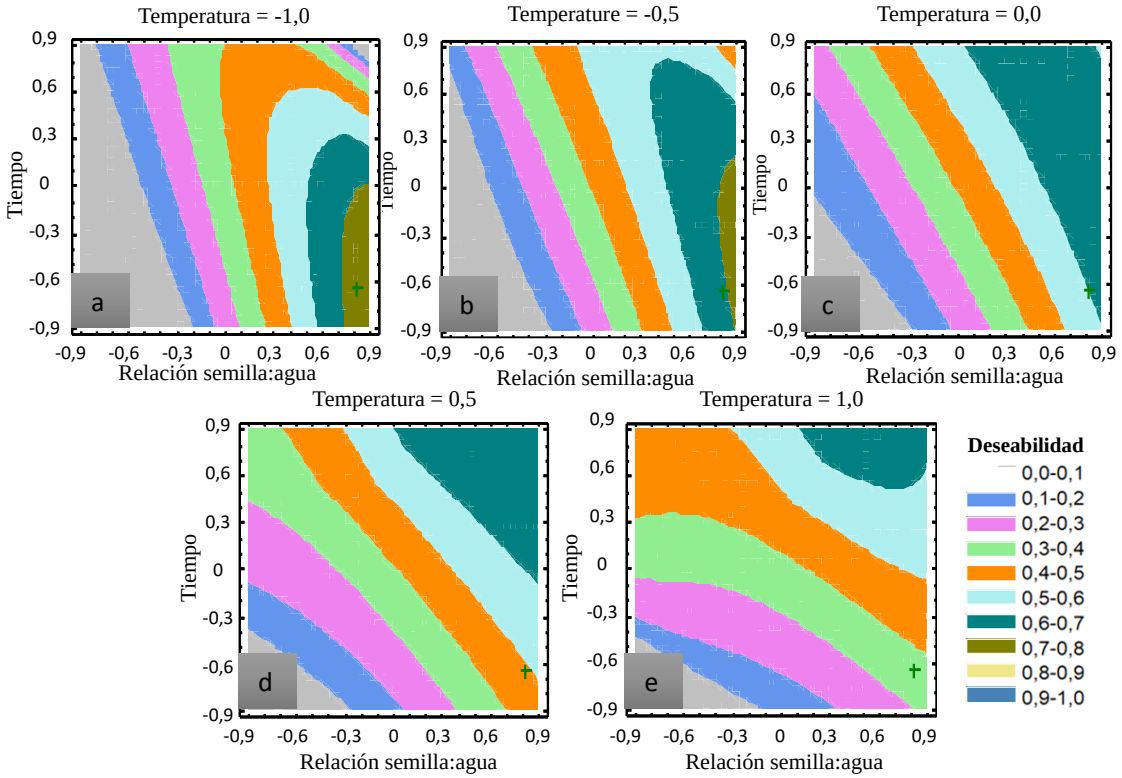


Figura I.17. Gráficos de contorno basados en la función de deseabilidad que muestran el efecto del tiempo de extracción y la relación semilla:agua, con la temperatura ajustada a diferentes valores: (a) 25 °C; (b) 35 °C; (c) 45 °C; (d) 55 °C; (e) 65 °C, maximizando simultáneamente las respuestas de rendimiento de extracción de MC (g MC/100 g SS) y η_{ap} (Pa.s).

1.6. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este capítulo proporcionan una comprensión integral sobre cómo las condiciones de extracción influyen en las propiedades reológicas y en el rendimiento del MC. A través de un enfoque sistemático que incluye el diseño de Doehlert y la optimización de múltiples respuestas, se lograron identificar los parámetros críticos que afectan tanto la extracción como las características reológicas del mucílago.

Los resultados obtenidos indican que la relación semilla:agua es la variable más influyente en la η_{ap} de los extractos. Una relación semilla:agua 1:20, es decir mayor proporción de agua en la mezcla de hidratación, favorece la obtención de un mucílago con menor viscosidad, gracias a la predominancia de la fase translúcida en el extracto. En contraste, en la relación semilla:agua 1:10, menor proporción de agua en la mezcla de hidratación, se observó un incremento del volumen de la fase opaca, lo que se traduce en un extracto con mayor viscosidad, debido a la mayor viscosidad impartida por dicha fase. Esta relación entre la proporción de fases y la η_{ap} subraya la importancia de ajustar las condiciones de extracción para satisfacer diferentes requerimientos funcionales del mucílago, especialmente en aplicaciones alimentarias.

Además, la aplicación de USAI en la extracción del mucílago ha demostrado ser una técnica eficiente, que no sólo facilita la separación del mucílago de las semillas, sino que también permite realizar el proceso en condiciones menos severas que las reportadas por otros autores, obteniendo rendimientos similares o mayores. Esto es especialmente relevante, dado que el uso de temperaturas elevadas y tiempos prolongados de extracción puede alterar la estructura molecular del mucílago y, como consecuencia de ellos, su viscosidad. Por lo tanto, la extracción asistida por USAI se posiciona como una alternativa viable para obtener un MC con características deseables, optimizando al mismo tiempo el rendimiento de extracción.

Los modelos de predicción ajustados a los datos experimentales confirmaron la validez de los métodos utilizados y la capacidad de estos para prever la variabilidad en la producción de mucílago bajo diferentes condiciones, lo que pone en evidencia que las técnicas de optimización pueden ser herramientas valiosas en la industria alimentaria y en la investigación científica para el diseño eficiente y efectivo de procesos de extracción.

1.7. Bibliografía

Ashokkumar, M. (2011). The characterization of acoustic cavitation bubbles – An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, *18*(4), 864–872. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2010.11.016

Brütsch, L., Stringer, F. J., Kuster, S., Windhab, E. J., y Fischer, P. (2019). Chia seed mucilage - A vegan thickener: Isolation, tailoring viscoelasticity and rehydration. *Food and Function*, *10*(8), 4854–4860. https://doi.org/10.1039/c8fo00173a

Campos, B. E., Dias Ruivo, T., da Silva Scapim, M. R., Madrona, G. S., y de C. Bergamasco, R. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT*, *65*, 874–883. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.09.021

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., y Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *34*, 540–560. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2016.06.035

Chemat, F., Zill-E-Huma, y Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, *18*(4), 813–835. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2010.11.023

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., y Smith, F. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350–356. https://doi.org/10.1021/AC60111A017

Fabre, J. F., Lacroux, E., Gravé, G., y Mouloungui, Z. (2020). Extraction of camelina mucilage with ultrasound and high flow rate fluid circulation. *Industrial Crops and Products*, *144*. https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.112057

Ferraro, G., Fratini, E., Sacco, P., Asaro, F., Cuomo, F., Donati, I., y Lopez, F. (2022). Structural characterization and physical ageing of mucilage from chia for food processing applications. *Food Hydrocolloids*, *129*, 107614. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107614

Garcia e Silva, L. L., da Silva, C. A. S., y Santana, R. de C. (2022). Rheology of dispersions and emulsions composed of chia mucilage and the application of chia in food.

Journal of the Science of Food and Agriculture, *102*(13), 5585–5592. https://doi.org/10.1002/JSFA.11921

Hussain, N., Ishak, I., Sulaiman, R., Fauzi, N. M., y Coorey, R. (2020). Influence of processing conditions on rheological properties of aqueous extract chia (*Salvia hispanica* l.) mucilage. *Food Research*, *4*, 227–236. https://doi.org/10.26656/FR.2017.4(S1).S03

Koocheki, A., Mortazavi, S. A., Shahidi, F., Razavi, S. M. A., Kadkhodaee, R., y Milani, J. M. (2010). Optimization of mucilage extraction from Qodume Shirazi seed (*Alyssum homolocarpum*) using response surface methodology. *Journal of Food Process Engineering*, *33*(5), 861–882. https://doi.org/10.1111/J.1745-4530.2008.00312.X

Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., y Bostan, A. (2009). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, *23*(8), 2369–2379. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2009.06.014

Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., y Aguilera, J. M. (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, *108*(1), 216–224. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037

Orifici, S. C., Capitani, M. I., Tomás, M. C., y Nolasco, S. M. (2018). Optimization of mucilage extraction from chia seeds (*Salvia hispanica* L) using response surface methodology. *Journal of Science Food Agriculture*, *98*(12), 4495–4500. https://doi.org/doi: 10.1002/jsfa.8974

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., y Chemat, F. (2013). Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, *31*(2), 593–606. https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2012.11.039

Silva, L. A., Sinnecker, P., Cavalari, A. A., Sato, A. C. K., y Perrechil, F. A. (2022). Extraction of chia seed mucilage: Effect of ultrasound application. *Food Chemistry Advances*, *1, 100024*. https://doi.org/10.1016/J.FOCHA.2022.100024

Soria, A. C., y Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science and Technology*, *21*(7), 323–331. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2010.04.003

Tha Goh, K. K., Matia-Merino, L., Chiang, J. H., Quek, R., Soh, S. J. B., y Lentle, R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydrate Polymers*, *149*, 297–307. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.126

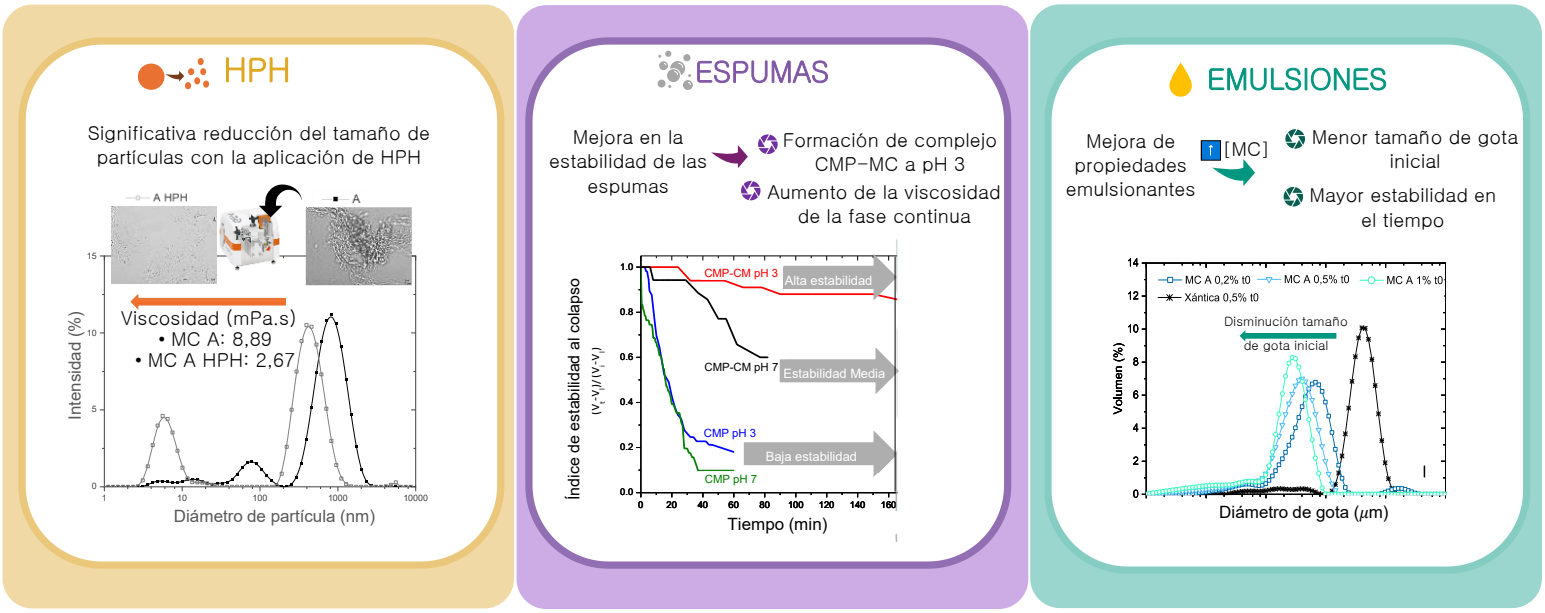
Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2016). Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 128–136. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.09.035

Wang, W. H., Lu, C. P., y Kuo, M. I. (2022). Combination of Ultrasound and Heat in the Extraction of Chia Seed (*Salvia hispanica* L.) Mucilage: Impact on Yield and Technological Properties. *Processes*, *10*(3), 519. https://doi.org/10.3390/PR10030519

Zhao, X., Qiao, L., y Wu, A. M. (2017). Effective extraction of Arabidopsis adherent seed mucilage by ultrasonic treatment. *Scientific Reports*, *7, 40672*. https://doi.org/10.1038/SREP40672

CAPÍTULO II

2 "Caracterización fisicoquímica y propiedades tecnológicas del mucílago de chía: efecto del HPH"



Luego de optimizar la extracción del MC mediante la asistencia de ultrasonidos de alta intensidad, obteniendo altos rendimientos y modulando su viscosidad, en este capítulo se evaluarán las características fisicoquímicas y las propiedades tecnológicas de dos mucílagos con viscosidades diferentes (alta (MC A) y baja (MC B) viscosidad).

Además, ya que la viscosidad del MC podría representar un problema para su incorporación en productos líquidos o de baja viscosidad, el control de la viscosidad del MC podría ampliar su aplicación como ingrediente en el desarrollo de nuevos alimentos. Una forma de controlar la viscosidad del mucílago es modificar físicamente su estructura, por ejemplo, mediante el uso de homogeneización por alta presión.

¿Cómo puede la homogenización a alta presión potenciar las propiedades del MC?

La homogenización a alta presión se presenta como una solución innovadora y sostenible para este objetivo. Esta técnica verde tiene la capacidad de modificar la estructura molecular de biopolímeros, por ejemplo, el mucílago, lo que podría impactar sobre las propiedades fisicoquímicas claves como la viscosidad, el tamaño molecular y, en consecuencia, sobre las propiedades tecnológicas.

Explorar el efecto de la homogenización a alta presión permitiría no sólo ajustar el comportamiento del mucílago en alimentos líquidos o de baja viscosidad, sino también potenciar su funcionalidad en productos complejos. Con esta estrategia, es posible transformar al MC en un ingrediente más versátil, adecuado para satisfacer las demandas de la industria alimentaria actual, que busca soluciones naturales y sostenibles para el desarrollo de alimentos funcionales innovadores.

Por todo lo mencionado, el objetivo de este capítulo fue caracterizar el MC y evaluar sus modificaciones estructurales por efecto de la homogenización a alta presión y su impacto en las propiedades físicoquímicas y tecnológicas.

Para llevar a cabo los estudios a partir de este capítulo, se seleccionaron dos condiciones de extracción que permiten obtener mucílagos con altos rendimientos, pero con diferentes viscosidades. Como se discutió en el Capítulo 1, la principal variable que influye en la viscosidad es la relación semilla:agua, la cual determina la proporción de las fases opacas y translúcidas obtenidas. Así, el MC A se obtuvo con una relación semilla:agua de 1:10 a 45 °C durante 60 minutos, condiciones que permiten obtener una alta viscosidad con un rendimiento relativamente alto; por el contrario, el MC B se

obtuvo con una relación semilla:agua de 1:20 a 65 °C durante 210 minutos, condiciones que permiten obtener el rendimiento óptimo de extracción, pero con una viscosidad menor. Ambas extractos fueron obtenidos mediante el uso de ultrasonido de alta intensidad, centrifugadas y liofilizadas como se explicó en Materiales y Métodos.

2.1. Modificación física del mucílago de chía por homogeneización a altas presiones

Las soluciones de MC, A y B, al 0,2 % p/p, preparadas como se detalla en la sección 2.1.5 de Materiales y Métodos, fueron homogenizadas mediante homogenización a alta presión (HPH). Sobre dichas soluciones, tratadas y sin tratamiento HPH, se determinaron diferentes propiedades fisicoquímicas y tecnológicas como se verá a lo largo de este capítulo.

El mucílago se sometió a tres ciclos sucesivos de HPH a una presión de 2000 bar. Las soluciones de MC fueron enfriadas previo al tratamiento de HPH para evitar un sobrecalentamiento excesivo de la muestra. Si bien no se pudo mantener la temperatura constante ya que la cizalla del tratamiento eleva la temperatura de la muestra, la temperatura final no superó los 30 °C cuando se realizó el primer ciclo, alcanzando temperaturas cercanas a los 40-50 °C luego de los tres ciclos.

En la **Figura II.1** se muestra, a modo de ejemplo, la distribución de tamaño de partícula del MC B sin tratamiento y tras 1, 2 y 3 ciclos de HPH, expresada como intensidad (%) en función del diámetro de partícula (nm) con el objetivo de evaluar el impacto del número de ciclos del tratamiento HPH sobre el tamaño. Se observó un desplazamiento de la distribución de tamaño de partícula hacia tamaños menores por efecto del tratamiento HPH, respecto a la muestra sin tratar, y también a medida que aumentó el número de ciclos. Se observa que el MC sin tratamiento presenta una distribución amplia, con un pico principal centrado alrededor de 500 nm y un segundo pico en 40 nm. La aplicación de un ciclo de HPH generó una reducción en el valor máximo del pico principal (350 nm) y la aparición de una población más pequeña con valores máximos de tamaño de 10 nm, lo que sugiere un primer nivel de desagregación de estructuras macromoleculares. Al incrementar el número de ciclos a 2 y 3, se evidenció un desplazamiento progresivo del pico principal hacia diámetros menores (250 nm), con curvas más estrechas y definidas,

lo que indica una mayor homogeneidad en la distribución y una fragmentación más efectiva del mucílago. Resultados similares fueron observados en la muestra del MC A (no mostrados). Estos resultados reflejan que el tratamiento por HPH tiene un efecto notable sobre el tamaño de partícula provocando una reducción del mismo. La misma tendencia se observó sobre el mucílago A (resultados no mostrados).

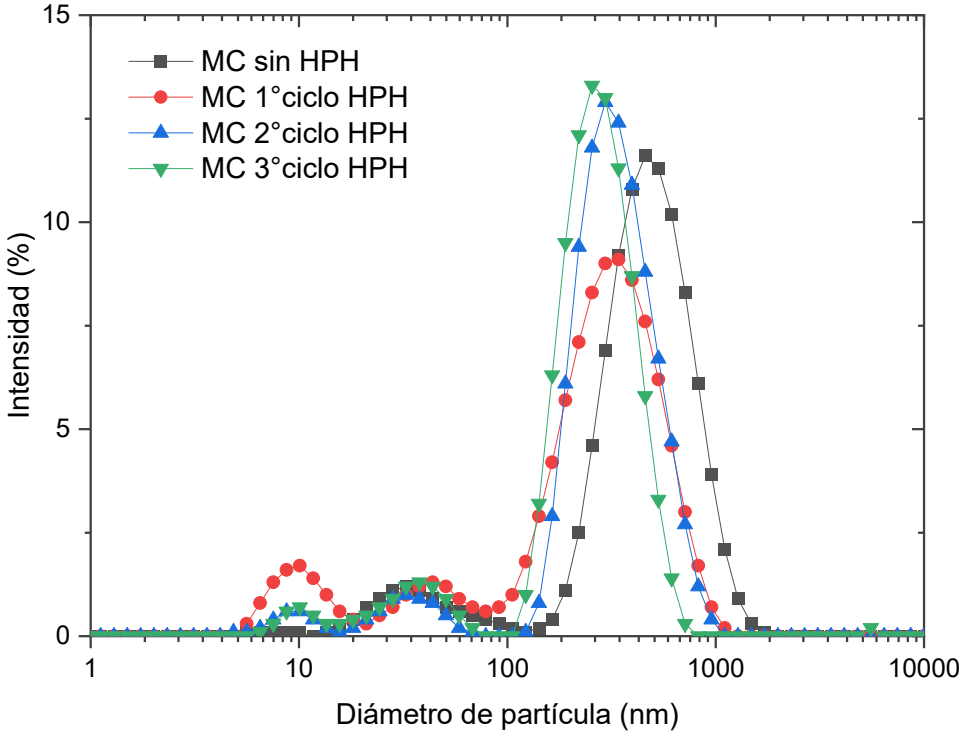


Figura II.1. Distribución de tamaño de partícula en intensidad (%) del MC B sin tratamiento HPH y luego de cada ciclo de HPH.

A pesar de las diferencias observadas en el tamaño de partícula por efecto de los diferentes ciclos, se decidió continuar con el estudio de la caracterización post tratamiento HPH sólo con la muestra que fue homogenizada con un ciclo, ya que además de obtener una modificación notoria en el tamaño respecto al control, no se sobrecalentaba tanto la muestra.

Villay et al. (2012) evaluaron el efecto del número de ciclos de HPH, de uno a seis ciclos sucesivos, en la reducción de la masa molar y la viscosidad de diferentes polisacáridos (goma guar, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, alginato de sodio y goma arábiga) y reportaron que el primer tratamiento siempre tuvo el mayor impacto en la

reducción de la viscosidad, los ciclos 2 y 3 no tuvieron casi efecto y los ciclos 4, 5 y 6 promovieron solo una ligera disminución adicional de la viscosidad.

2.2. Caracterización fisicoquímica del mucílago de chía

2.2.1. Composición proximal

La composición proximal de los MC A y B, sin tratar, se presenta en la **Tabla II.1.** El contenido de proteínas del MC B fue significativamente mayor que el del MC A. Ambos mucílagos mostraron un contenido similar de carbohidratos totales, alrededor del 42–43 %, y aproximadamente un 20 % de ácidos urónicos. Aunque la diferencia fue leve, el MC A presentó un contenido de ácidos urónicos significativamente mayor que el MC B. Alfredo et al. (2009), así como Tha Goh et al. (2016), reportaron un contenido de carbohidratos cercano al 35 %, similar al obtenido en este trabajo. Por el contrario, García-Salcedo et al. (2018) reportaron un contenido muy bajo de carbohidratos (17,88 %). El contenido de fibras totales tanto para el MC A como para el MC B fue del 22 %, valores que resultaron inferiores a los reportados en la bibliografía por Marineli et al. (2014), quienes obtuvieron un valor del 37 %.

Tabla II.1. Composición proximal del MC A y B.

Mucílago de chía	Proteínas (%)	Carbohidratos (%)	Ácidos urónicos (%)	Fibras totales (%)
A	$5,83 \pm 0,25^{A}$	$43,3 \pm 1,2^{A}$	$21,5 \pm 1,2^{B}$	$22,1 \pm 0,9^{A}$
B	$11,37 \pm 0,18^{B}$	$42,2 \pm 1,6^{A}$	$19,7 \pm 0,7^{A}$	$22,3 \pm 0,0^{A}$

Letras mayúsculas diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas entre los mucílagos de chía ($p < 0,05$).

Las diferencias observadas entre ambos mucílagos podrían atribuirse a las diferentes condiciones (relación semilla:agua, temperatura y tiempo) de los métodos de extracción utilizados para obtener cada mucílago. Otros autores también han reportado composiciones diferentes, principalmente en el contenido de carbohidratos (tanto contenido total, como composición) y proteínas, obtenidas mediante distintos métodos de extracción (Tha Goh et al., 2016; Soares et al., 2024, Timilsena et al., 2016).

2.2.2. Peso molecular

La determinación del peso molecular de los mucílagos se llevó a cabo mediante cromatografía de permeación en gel en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (GPC-HPLC). El perfil de elución de los mucílagos, con y sin tratamiento de HPH, se presentan en la **Figura II.2**. Los perfiles de los MC A y B sin tratamiento se presentan a tiempos de elución similares, mientras que los mucílagos tratados con HPH muestran un perfil de elución con volúmenes máximos a tiempos mayores lo que se corresponde con masas molares más bajas. A partir de los tiempos de elución y mediante la curva de calibración, se obtuvo el peso molecular de las muestras. Los MC A y B sin tratar mostraron un peso molecular en el rango de 1,8–2,2 × 10^6 Da. Este valor es similar al reportado por otros autores (Lin et al., 1994; Timilsena et al., 2015). Los mucílagos A y B tratados con HPH presentaron valores de peso molecular de alrededor de 5–7 × 10^5 Da. En concordancia con estos resultados, Timilsena et al. (2015) evaluaron diferentes grados de despolimerización en soluciones de MC, sometiéndolo a un tratamiento de hidrólisis ácida en medio etanólico, y reportaron una reducción similar en el peso molecular, de 2,3 × 10^6 Da a 2,7 × 10^5 Da.

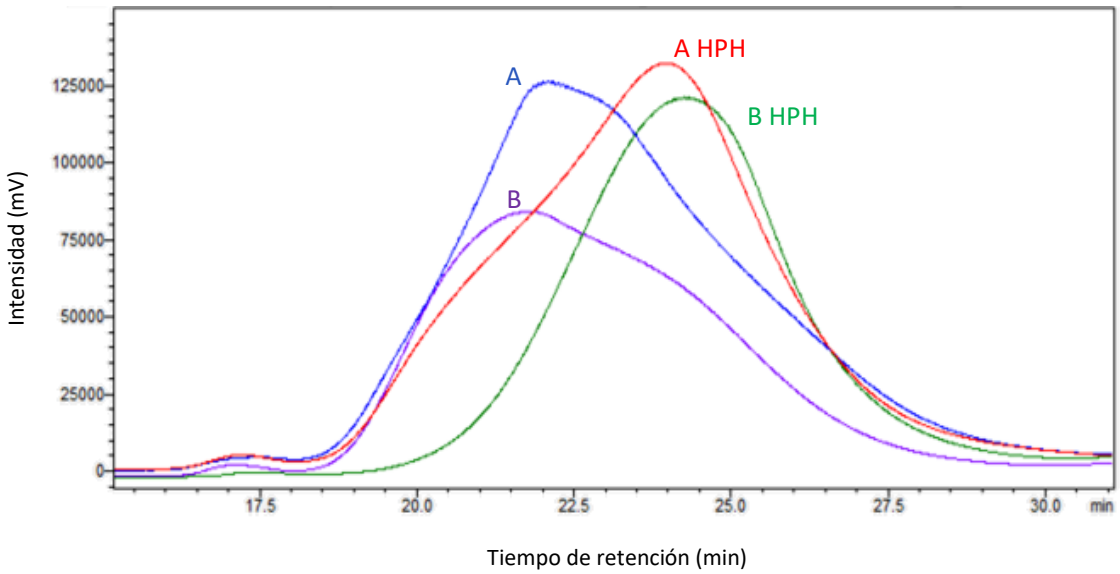


Figura II.2. Perfil de elución del MC A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión.

2.2.3. Tamaño de partícula

La técnica de dispersión dinámica de luz proporciona resultados en distribución de tamaños por intensidad, donde la contribución de cada partícula en la distribución se relaciona con la intensidad de la luz dispersada por la partícula. Es posible convertir los datos de tamaño de partícula de intensidad a distribución por volumen para evaluar la relevancia de cada población en el gráfico de intensidad, ya que la distribución por volumen muestra el volumen ocupado por partículas de diferentes tamaños, lo que permite estimar las cantidades relativas de cada pico en la distribución. Previamente se mostraron los resultados de tamaño de partícula sometidos a diferentes ciclos. En esta sección se analizará en mayor detalle los resultados obtenidos a partir del paso por un ciclo de homogeneización que es la condición que se seleccionó, y para ambos mucílagos.

Las distribuciones de tamaño de partícula por intensidad y volumen de soluciones de MC A y B al 0,2 % p/p, antes y después del tratamiento de HPH, se presentan en la **Figura II.3**.

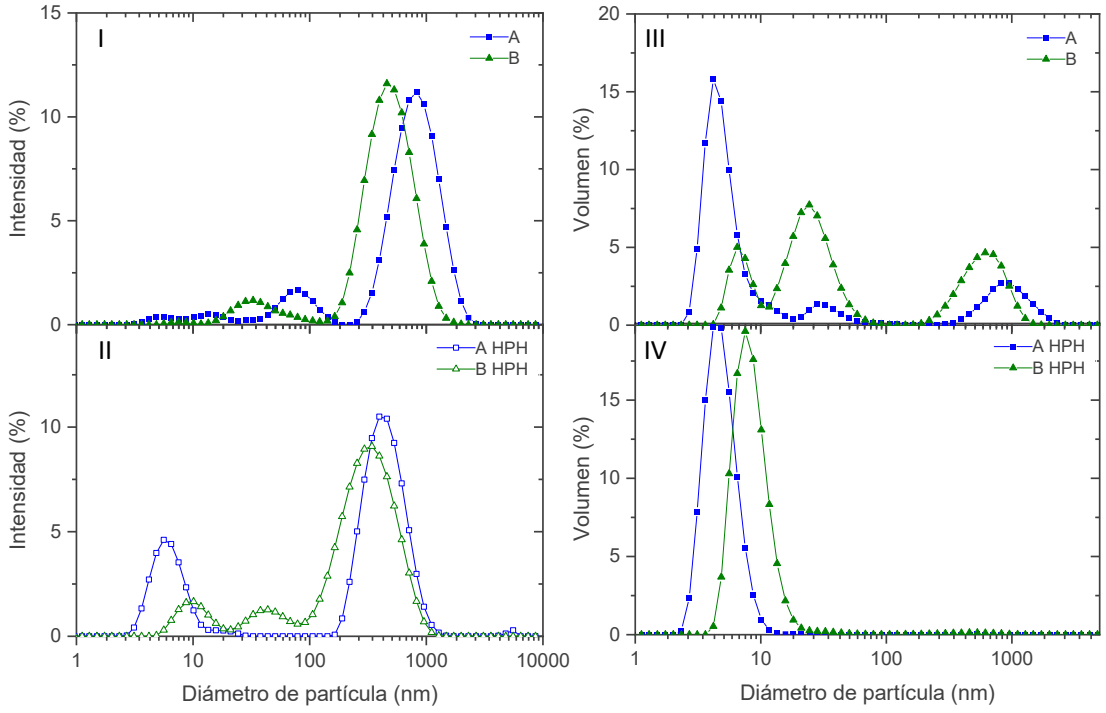


Figura II.3. Distribuciones de tamaño de partícula por intensidad (I y II) y por volumen (III y IV) para los mucílagos de chía A y B (0,2 % p/p, 25 °C) antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión.

Los MC A y B sin tratamiento de HPH presentaron distribuciones multimodales tanto en intensidad como en volumen (**Figura II.3 I** y **III**), indicando que los picos con tamaños mayores representan una población importante. En estos casos, un tamaño promedio, conocido como z-average o diámetro medio de partícula, es un valor útil para comparar diferentes muestras multimodales. Los diámetros medios de partícula de los MC A y B fueron 368,2 y 282,4 nm, respectivamente (**Tabla II.2**). Estos resultados indican que las condiciones de extracción del MC influyen significativamente en el tamaño de partícula del mucílago. Comparando con otras gomas, el tamaño de partícula obtenido para el MC fue similar al de la goma arábiga (290 nm) y menor que otros mucílagos, como los de *Dioscorea opposita* (540 a 860 nm) y *Ornithogalum cuspidatum* (970 nm) (Gheybi et al., 2021; Ma et al., 2018).

Las distribuciones de tamaño de partícula de las muestras tratadas con HPH (**Figura II.3 II** y **IV**) evidenciaron una disminución del tamaño de partícula respecto a las muestras control (**Figura II.3 I** y **III**), mostrando un desplazamiento de las distribuciones de intensidad hacia tamaños menores y además, el resultado más relevante es la desaparición de los picos de mayor tamaño en las distribuciones de volumen, lo que indica que los picos de tamaños mayores son despreciables en número. Los valores máximos del pico de menor tamaño en la distribución de intensidad de las muestras tratadas fueron 5,6 y 10,1 nm para los MC A HPH y B HPH, respectivamente. Como consecuencia de este desplazamiento hacia tamaños menores, también el diámetro medio disminuyó (**Tabla II.2**), mostrando valores de 76,52 nm para el MC A HPH y 131,5 nm para el MC B HPH. La magnitud de reducción en el diámetro de partícula obtenida tras el tratamiento con HPH fue mayor para el MC A que para el B (con una magnitud de reducción de 5 frente a 2, respectivamente).

Tabla II.2. Diámetro de partícula promedio (nm) del MC A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión (HPH).

MC	Diámetro de partícula promedio (nm)
A	$368,2 \pm 11,7^{bB}$
A HPH	$76,5 \pm 5,0^{aA}$
B	$282,4 \pm 18,3^{bA}$
B HPH	$131,5 \pm 1,9^{aB}$

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada MC por efecto del tratamiento de HPH ($p < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los MC ($p < 0,05$).

2.2.4. Microestructura

La microestructura del MC, hidratado según inciso 2.1.5 de Materiales y Métodos, antes y después del tratamiento de HPH, se observó mediante microscopía óptica, y las imágenes obtenidas para los MC A y B se muestran en la **Figura II.4**. En las dos muestras sin tratar se observan grandes estructuras, incluso más grandes para el MC A, y luego del tratamiento de HPH se puede observar una reducción significativa en el tamaño de estas estructuras mostrando fracciones más pequeñas o desagregadas de MC en comparación con la muestra no tratada.

Villay et al. (2012) evaluaron el efecto de la homogenización a alta presión sobre la degradación de diferentes polisacáridos (goma guar, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, alginato sódico y goma arábiga) con diferentes propiedades físicas y estructurales. Encontraron que estas diferencias estructurales y de conformación tuvieron un impacto más fuerte en los tratamientos con HPH que la carga o la masa molar de los polisacáridos. Estos autores reportaron que la goma arábiga, con una estructura globular ramificada, no se vio afectada por la HPH, mientras que los demás polisacáridos, con estructuras lineales, mostraron una disminución de su masa molar y viscosidad intrínseca durante el tratamiento. El hecho de que el MC presente principalmente una estructura lineal y en forma de espiral aleatoria (Tha Goh et al., 2016; Lin et al., 1994), podría explicar la modificación estructural provocada por el tratamiento con HPH.

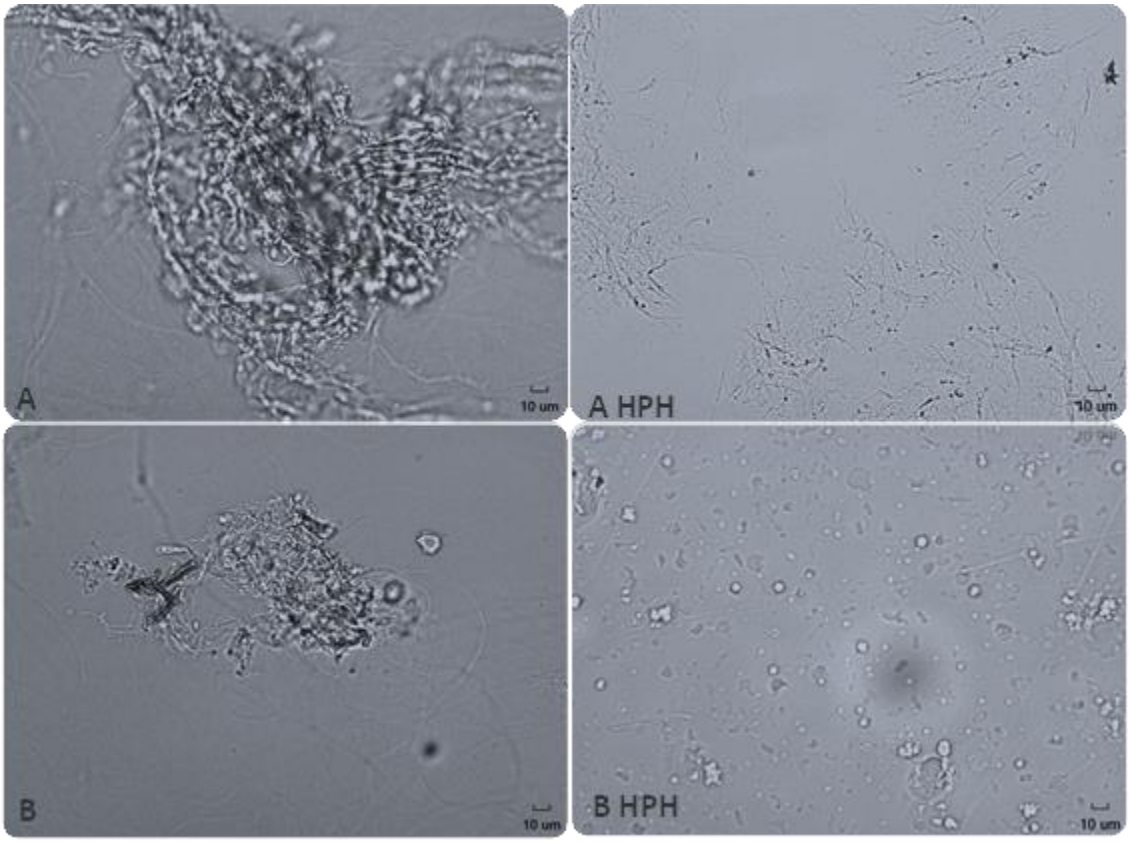


Figura II.4. Micrografías ópticas del MC (0,2 % p/p, 25 °C) A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión (aumento de 40x).

2.2.5. Potencial zeta

Se determinó el potencial ζ de las muestras de MC A y B sin tratamiento de HPH a diferentes pH entre 1 y 6 (**Figura II.5**). A pH natural, tras la disolución en agua, el MC mostró una fuerte característica aniónica, con valores entre -24,4 y -30,1 mV para los MC A y B, respectivamente (**Figura II.5**).

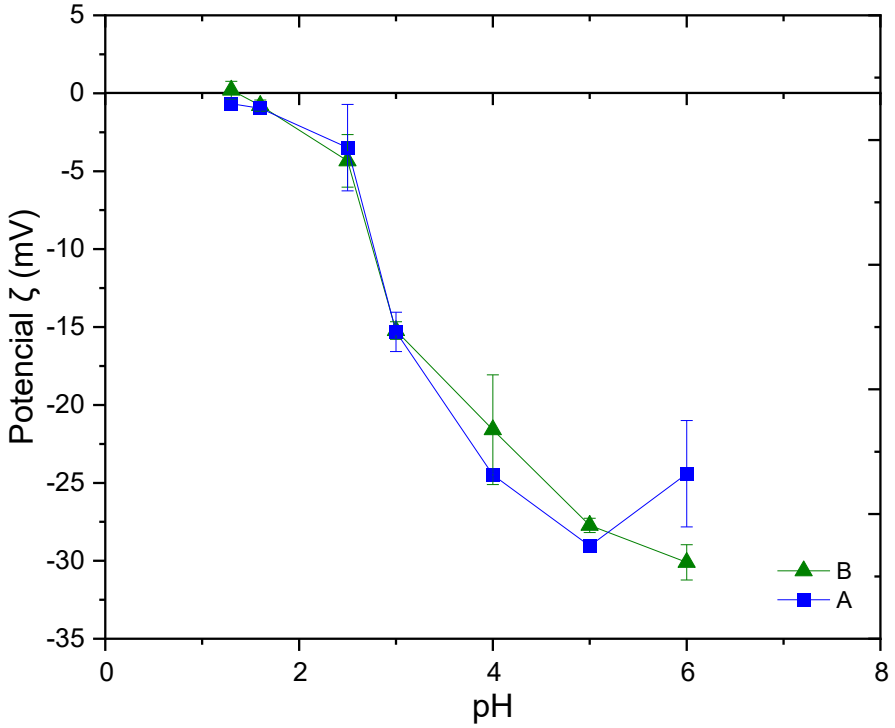


Figura II.5. Variación del potencial ζ (mV) del MC (0,01 % p/p, 25 °C) a diferentes valores de pH para el MC A (■) y B (▲). Las barras de error representan la desviación estándar de dos réplicas.

El potencial ζ fue afectado por el pH debido al diferente grado de ionización del grupo carboxilo del MC en función de la acidez del medio, reduciendo gradualmente esta característica aniónica al disminuir el pH desde valores neutros a ácidos. El potencial ζ fue 0 a pH 1,8, en concordancia con los resultados de Timilsena et al. (2016). La característica aniónica del mucílago se atribuye a la presencia de una cantidad apreciable de ácidos urónicos, ya que a pH superior a 1,8 ocurre la ionización de los grupos carboxilo presentes en estos ácidos (Soares et al., 2024; Wang et al., 2003). Como se mencionó previamente ambos mucílagos tienen una cantidad apreciable y similar de ácidos urónicos, cercana al 20 % (**Tabla II.1**).

Después del tratamiento con HPH, se determinó el potencial ζ de los MC A y B al pH natural (**Tabla II.3**), post tratamiento no se evaluó a otros valores de pH debido a que los estudios sobre las propiedades tecnológicas se hicieron a pH natural. Se observó que el tratamiento con HPH no modificó significativamente la carga eléctrica del MC, mostrando valores de potencial ζ similares a obtenidos sin tratamiento. Estos resultados indican que el mucílago puede ser utilizado como un polielectrolito aniónico en diversas

tecnologías, lo que, además, no se vería afectado por la modificación física generada por el tratamiento de HPH.

Tabla II.3. Potencial ζ (mV) del MC A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión (HPH).

MC	Potencial ζ (mV)
A	$-24,4 \pm 0,1^{aA}$
A HPH	$-27,2 \pm 0,3^{bA}$
B	$-30,1 \pm 1,1^{aB}$
B HPH	$-25,5 \pm 2,7^{aA}$

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas para cada MC por efecto del tratamiento de HPH ($p < 0,05$). Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los MC ($p < 0,05$).

2.2.6. FTIR

Los espectros químicos de los mucílagos de chía obtenidos en diferentes condiciones de extracción y sus modificaciones estructurales por HPH fueron estudiados mediante espectroscopía FTIR. Los espectros FTIR de todas las muestras de MC (**Figura II.6**) mostraron picos alrededor de 3500, 2900, 1700, 1570–1450, 1230 y 1140 cm^{-1}. Las bandas obtenidas representan el estiramiento del grupo hidroxilo (OH) (3512–3573 cm^{-1}) (Soares et al., 2024), el estiramiento CH de los anillos aromáticos y el grupo metilo (2970 cm^{-1}), la vibración de flexión de C–O y C-O-C presentes en el anillo de piranosa (1700 y 1140 cm^{-1}) (Alizadeh Behbahani et al., 2017; Gheybi et al., 2021), el CO enlazado a un grupo aromático de los sacáridos y el estiramiento simétrico del grupo ácido carboxílico (COO^-) perteneciente a los grupos de ácidos urónicos en la estructura del MC (1570–1448 cm^{-1}) (Soares et al., 2024). Los ácidos urónicos suelen estar presentes en las gomas de semillas, impartiendo un carácter aniónico a la estructura molecular (Wang et al., 2003). La presencia de grupos carboxílicos puede servir como sitio para enlaces iónicos, lo cual puede tener efectos significativos en las propiedades funcionales del mucílago, tales como la formación de geles y la viscosidad (Farhadi, 2017; Fathi et al., 2016; Razavi et al., 2014; Silva et al., 2019). Además, la banda alrededor de 1677–1700 cm^{-1} también podría corresponder al estiramiento C═O de la amida I de la proteína de las semillas de chía (Capitani et al., 2016; Ferraro et al., 2022; Punia y Dhull, 2019), considerando el contenido proteico presente en ambos mucílagos (A y B) (**Tabla II.1**). De

manera similar, Manhivi, Venter, Amonsou y Kudanga (2018) observaron el pico entre 1600 y 1700 cm^{-1} y lo atribuyeron principalmente a la vibración de estiramiento C═O (carbonilo) de los grupos peptídicos por la presencia de proteínas en el mucílago.

Se han observado espectros similares para otros mucílagos de origen vegetal, tales como mucílago de *Ornithogalum cuspidatum* y goma de semilla de salvia (Dhull et al., 2023; Gheybi et al., 2021; Razavi et al., 2014) y para otras gomas (Pongjanyakul y Puttipipatkhachorn, 2007), identificando los mismos grupos funcionales que en las muestras de MC.

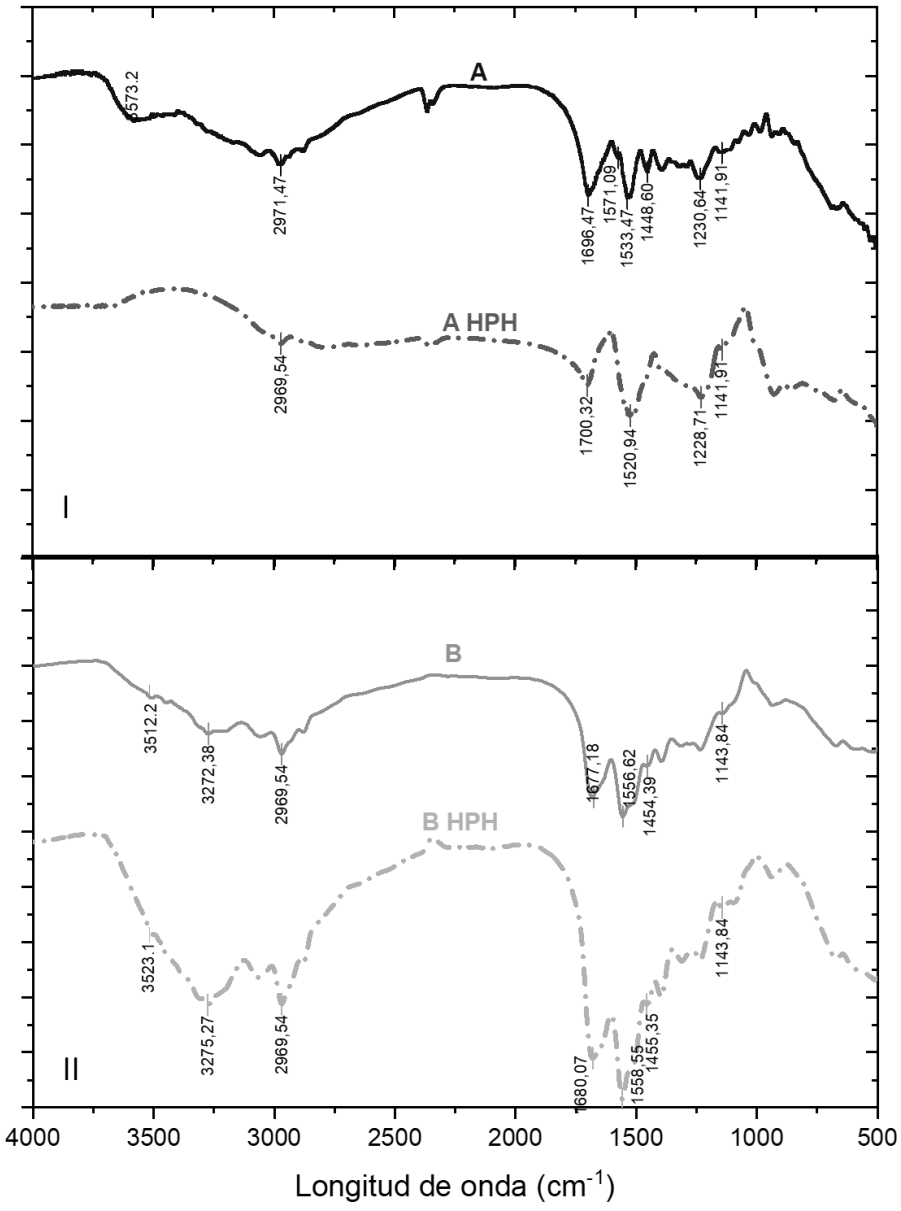


Figura II.6. Espectro FTIR del MC A (I) y B (II) antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión en la región de longitud de onda entre 4000 cm^{-1} y 500 cm^{-1}, con una resolución de 2 cm^{-1}.

El patrón FTIR fue similar para ambos MC (A y B) (**Figura II.6**, sin HPH), sin embargo, se observaron diferencias significativas en algunas regiones:

i) La banda alrededor de 1700 cm^{-1} se observó en 1696 cm^{-1} para el MC A y en 1677 cm^{-1} para el MC B. Como se mencionó anteriormente, esta banda está relacionada con el anillo de piranosa y también con la amida I de la proteína de chía, por lo que estas diferencias podrían atribuirse a alguna diferencia en la estructura del polisacárido e incluso en el contenido proteico dependiendo de las condiciones de extracción (**Tabla II.1**).

ii) Las bandas en el rango de 1400–1550 cm^{-1}, relacionadas con el grupo carboxilo de los ácidos urónicos, también mostraron diferencias entre ambos mucílagos. El MC A mostró el pico principal en 1533 cm^{-1} mientras que en el MC B este pico se observó en un número de onda mayor (1557 cm^{-1}). Este desplazamiento y otras diferencias en esta región podrían atribuirse al, aunque leve, diferente contenido de ácidos urónicos (**Tabla II.1**).

Además, el tratamiento con HPH influyó en el espectro FTIR, principalmente en el MC A, en la región correspondiente a los ácidos urónicos, con un desplazamiento del pico hacia longitudes de onda más bajas, de 1533 a 1520 cm^{-1}, antes y después del tratamiento con HPH, respectivamente (**Figura II.6 I**).

2.3. Caracterización tecnológica del mucílago de chía

2.3.1. Propiedades reológicas

Si bien en el capítulo 1 se evaluaron las curvas de flujo del MC, dichas determinaciones se realizaron sobre los mucílagos crudos, tal cual extraídos y se evaluaron todos los puntos de la red como parte del proceso de optimización de la extracción. En esta sección, en cambio, se mostrarán las curvas de flujo del MC A y B al 0,2 % p/p, preparado a partir del mucílago liofilizado, antes y después del tratamiento con HPH (**Figura II.7**). Como se observó en el Capítulo 1, todas las muestras mostraron un comportamiento tixotrópico, ya que se evidenció histéresis entre la rama ascendente y descendente de las curvas de flujo. Las propiedades reológicas de las dispersiones de MC mostraron un comportamiento de adelgazamiento por cizalla para ambos mucílagos (A y B) no tratados con HPH. Este comportamiento es característico de materiales pseudoplásticos, en los cuales la viscosidad aparente disminuye con el aumento de la

velocidad de corte, formando una curva convexa en un gráfico de esfuerzo cortante vs velocidad de corte (Punia y Dhull, 2019). El MC A tratado con HPH también mostró un comportamiento pseudoplástico; sin embargo, el MC B tratado con HPH mostró un comportamiento newtoniano.

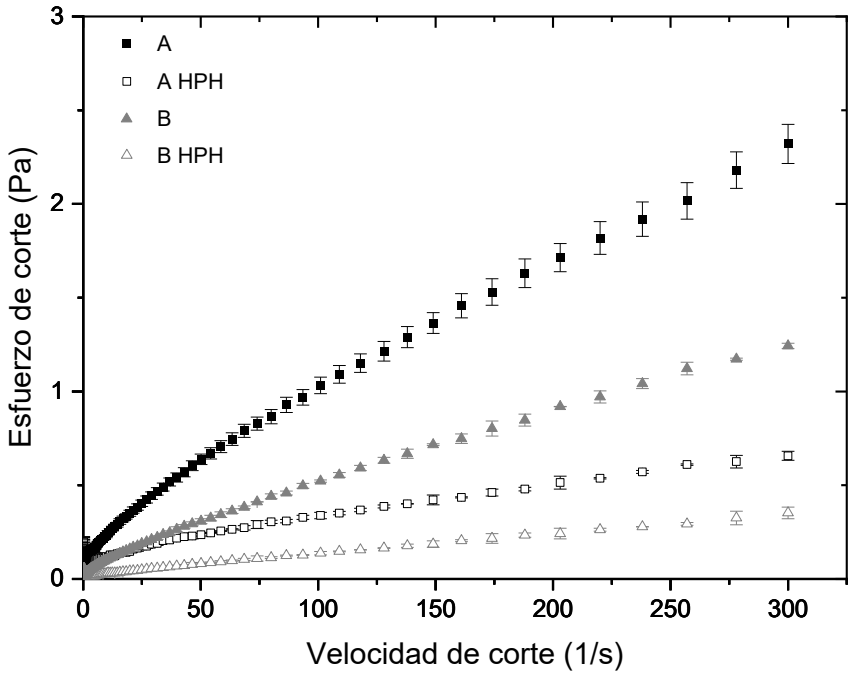


Figura II.7. Curvas de flujo del esfuerzo de corte en función de la velocidad de corte para el MC (0,2 % p/p, 25 °C) A y B: antes (símbolo cerrado) y después del tratamiento de homogeneización a alta presión (símbolo abierto).

Después de la ruptura tixotrópica (con 2 ciclos de velocidad de corte de 0,1 a 300 s^{-1} y de 300 a 0,1 s^{-1}), se corroboró el comportamiento reológico ajustando las curvas con la ley de Newton o el modelo de Herschel-Bulkley para muestras newtonianas y pseudoplásticas, respectivamente. Los resultados de ese modelo (parámetros n y k) y la viscosidad aparente determinada a una velocidad de corte de 149 s^{-1} se incluyen en la **Tabla II.4**. En dicha tabla podemos hacer dos observaciones principales, en primer lugar, que las muestras tratadas con HPH presentaron una viscosidad aparente significativamente menor que las muestras de mucílago sin tratar, y en segundo lugar que el MC A presentó una viscosidad significativamente mayor que el MC B, tanto sin tratar como tratado. Esto último era de esperar, ya que como se concluyó en el capítulo 1, los mucílagos extraídos con una relación semilla:agua 1:20 presentaban viscosidades

más bajas, debido a la presencia de mayor proporción de fase traslúcida, respecto a la opaca, y por el contrario, los mucílagos extraídos con una relación semilla:agua 1:10 mostraron viscosidades más altas y mayor proporción de fase opaca.

Tabla II.4. Parámetros reológicos del MC A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión (HPH).

MC	Parámetros reológicos				
	n	k 10^3 (Pa.s^n)	τ_0 10^3 (Pa)	R^2	Viscosidad aparente (mPa.s)*
A	0,7513 ± 0,0191^{aA}	0,286 ± 0,014^{bB}	0,825 ± 0,017^{aB}	0,956	8,89 ± 0,37^{bB}
A HPH	0,8213 ± 0,0115^{b}	0,055 ± 0,004^{aB}	0,897 ± 0,011^{b}	0,988	2,67 ± 0,14^{aB}
B	0,7565 ± 0,0037^{A}	0,157 ± 0,003^{aA}	0,142 ± 0,004^{A}	0,998	4,74 ± 0,06^{bA}
B HPH	1,0 ± 0,0	0,011 ± 0,001^{aA}	-	0,999	1,44 ± 0,16^{aA}

*Los valores de viscosidad aparente reportados se obtuvieron a una velocidad de cizalla de 149 s^{-1}. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas por tratamiento, mientras que letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los mucílagos ($p < 0,05$).

Además, las diferentes temperaturas utilizadas en la extracción también podrían impactar sobre este parámetro. En este sentido, Tavares et al. (2018) estudiaron una extracción en frío de MC y reportaron que diferentes proporciones semilla:agua no tuvieron efecto sobre la viscosidad aparente de las soluciones de mucílago; sin embargo, informaron que la extracción con altas temperaturas (80 °C) mostró viscosidades aparentes más bajas. Según los autores, la goma extraída a alta temperatura presenta una degradación de las cadenas de proteínas y polisacáridos, lo que impactaría en esta disminución de la viscosidad aparente. El MC B se extrajo a una temperatura más alta (65 °C) que el MC A (45 °C), por lo que las diferentes temperaturas de extracción podrían tener un impacto adicional en las diferentes viscosidades de los MC A y B. Además, las diferencias en viscosidad no podrían atribuirse al contenido total de carbohidratos de cada mucílago y de cada fase (opaca y translúcida), ya que todos tienen el mismo contenido de carbohidratos (42–43 % en base seca). Sin embargo, el contenido de ácidos urónicos del MC A, aunque ligeramente, fue significativamente más alto que el contenido del MC B. Dado que se ha reportado que el grupo carboxílico del ácido urónico es responsable de propiedades funcionales del mucílago, como la formación de geles y la viscosidad, y, además, encontramos diferencias en las bandas correspondientes a los ácidos urónicos en el espectro FTIR, estos resultados podrían corroborar el impacto del

contenido de ácidos urónicos (**Tabla II.1**) en la diferente viscosidad observada (**Tabla II.4**) para los mucílagos dependiendo de las condiciones de extracción.

Asimismo, como se puede observar en el comportamiento de flujo (**Figura II.7**), el MC tratado con HPH mostró una disminución en la pendiente de las curvas. Esto se evidencia por una marcada disminución en el índice de consistencia k (**Tabla II.4**) y se explica por el efecto del tratamiento de HPH sobre el mucílago, ya que genera una modificación estructural, discutida en secciones previas, que causa una disminución en el tamaño de partícula (**Figura II.3**), resultando en una menor interacción entre cadenas poliméricas adyacentes, generando soluciones con menor viscosidad. De hecho, al analizar la viscosidad aparente del MC, se observó que el MC control presentó los valores más altos (8,89 mPa.s para A y 4,74 mPa.s para B) en comparación con el MC tratado con HPH (2,67 mPa.s para A y 1,44 mPa.s para B). Además, las diferencias observadas entre el MC A y B antes del tratamiento de HPH, también se observan luego del mismo.

2.3.2. Capacidad de absorción de agua

En la **Figura II.8** se grafica la capacidad de absorción de agua en función del tiempo para el MC en polvo. La absorción de agua fue muy rápida en los primeros minutos y luego se volvió más lenta, tanto para el MC A como para el MC B, alcanzando condiciones de equilibrio aproximadamente después de 120 minutos de hidratación. Los valores de capacidad de absorción de agua (WAC) en el equilibrio (120 min) se muestran en la **Tabla II.5**. La WAC del MC A (18,5 g de agua/g de mucílago) fue significativamente mayor que la del MC B (10,4 g de agua/g de mucílago). Esta diferencia puede atribuirse a las diferentes condiciones de extracción que se emplearon lo cual conduce a obtener mucílagos con diferentes características y/o estructuras. Valores similares de WAC para MC fueron reportados por Muñoz et al. (2012) (21,0 g de agua/g de mucílago) y Vázquez Ovando et al. (2009) (11,7 g de agua/g de mucílago). La aplicación de HPH en el MC resultó en una reducción significativa de su WAC de 18,5 a 10,3 g de agua/g de mucílago y de 10,4 a 7,6 g de agua/g de mucílago, para los MC A y B, respectivamente (**Tabla II.5**). Por otro lado, también se midió la WAC de la goma xántica (**Tabla II.5**), a fines comparativos, la cual resultó ser significativamente mayor (77,2 g de agua/g de goma) que la de los MC.

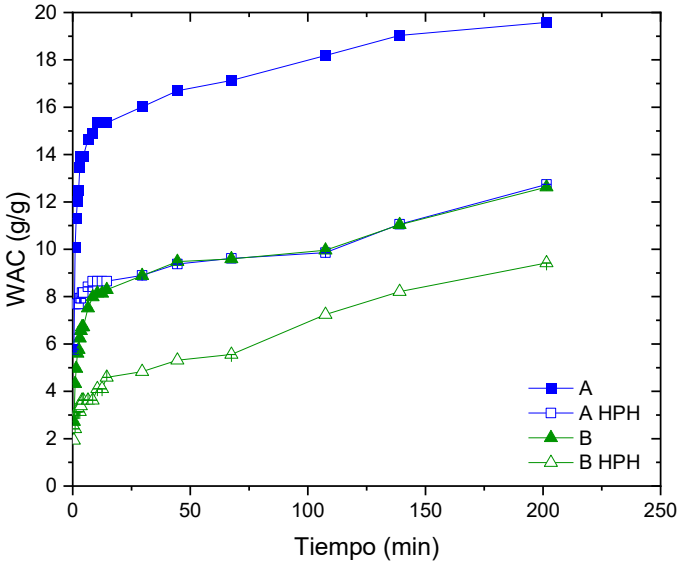


Figura II.8. Cinética de la absorción de agua (g de agua/g de mucílago) del MC A y B antes y después del tratamiento de HPH.

Tabla II.5. Valores de la capacidad de absorción de agua (WAC) y capacidad de retención de agua (WHC) del MC A y B antes y después del tratamiento de homogeneización a alta presión.

MC	WAC (g/g)	WHC (%)
A	$18,52 \pm 0,02^{bB}$	$71,97 \pm 0,38^{aA}$
A HPH	$10,34 \pm 0,00^{aB}$	$66,74 \pm 0,42^{aA*}$
B	$10,38 \pm 0,01^{bA}$	$71,53 \pm 0,10^{aA}$
B HPH	$7,63 \pm 0,00^{aA}$	$63,92 \pm 0,39^{aA*}$
Xántica	77,2 ± 0,03*	78,43 ± 0,02*
Guar	-	67,31 ± 2,00

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas por efecto del tratamiento, mientras que letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los mucílagos ($p < 0,05$). Los asteriscos (*) indican diferencia significativa entre MC y gomas comerciales.

2.3.3. Capacidad de retención de agua

Se determinó la capacidad de retención de agua (WHC) de ambos mucílagos, con y sin tratamiento HPH, y a modo comparativos también se determinó para la goma xántica y

la goma guar con el mismo método. Los resultados de esta evaluación se muestran en la **Tabla II.5**.

No se observaron diferencias significativas entre MC y MC tratado con HPH. Además, los valores de WHC de los MC A y B dan en el mismo orden que otras gomas comerciales, presentando valores similares a la goma guar (67,3 ± 2,0 %) y un poco menores que la goma xántica (78,4 ± 0,02 %), lo que sugiere que, para este propósito, ambos MC podrían reemplazar a estas gomas de referencia manteniendo una alta capacidad de retención de agua. En el caso del MC HPH, ambos presentaron resultados significativamente menores que la goma xántica. La capacidad de retención de agua es una propiedad funcional clave en la formulación de productos alimenticios, una alta WHC permite mantener una textura suave y agradable, especialmente en productos horneados, cárnicos y plant-based, evitando una sensación seca o arenosa, ya que influye directamente en la textura y jugosidad de los productos. A medida que las semillas se hidratan, se vuelven viscosas y su capacidad de retención de agua permiten conservar la frescura en los productos de panadería (Punia y Dhull, 2019). En matrices gelificadas, como postres y/o yogures una alta WHC contribuye a evitar la sinéresis mejorando la estabilidad durante el almacenamiento. Por otro lado, este tipo de hidrocoloides, como el MC, permiten formular productos bajos en grasa actuando como sustitutos, debido a que por su alta WHC permiten simular textura y palatabilidad (Câmara et al., 2020; Zettel y Hitzmann, 2018).

2.3.4. Propiedades espumantes

Si bien existen algunos trabajos en la literatura que reportan el uso de MC en alimentos espumados, la mayoría de ellos se centraron en el uso del mucílago como reemplazante de grasa, en panes, helados, etc. Sólo un estudio (Campos et al., 2016) reportó una mejora en la incorporación de aire (CE) en helado en presencia de MC; sin embargo, su aplicación específica como estabilizante en sistemas espumados sigue sin explorarse, lo que representa una notable y novedosa línea de investigación dentro de la literatura científica actual (Makri y Doxastakis, 2007; Murray, 2020; Narchi et al., 2009). Como se mencionó en la introducción, las espumas comestibles son sistemas heterogéneos inestables que proporcionan características texturales y sensoriales específicas a alimentos como merengues, crema batida, helados, pasteles y bebidas espumosas.

En el caso de la evaluación de las propiedades espumantes, el MC presentó nula capacidad para formar espumas a todas las concentraciones evaluadas, tanto para los MC sin y con tratamiento HPH. Por ello, y porque la viscosidad que presenta lo ubica como un potencial estabilizante en sistemas coloidales, se propuso evaluar la capacidad del MC como agente estabilizante de espumas. Se utilizan diversas especies químicas para formar y estabilizar sistemas espumados, desde moléculas relativamente pequeñas (tween 20 y 80, monopalmitina y monolaurina) hasta compuestos complejos (proteína de clara de huevo, aislado de proteína de suero, caseinato de sodio) (Murray, 2020; Narsimhan y Xiang, 2018). Algunas proteínas o péptidos pueden generar una disminución en la tensión interfacial entre el aire y el agua y, por lo tanto, facilitar la formación de espuma, como es el caso del caseinoglicomacropeptido (CMP). Este péptido lácteo tiene excelentes propiedades superficiales y de formación de espuma. Como resultado de su tamaño y estructura molecular, el CMP es capaz de cubrir rápidamente la interfase aire-agua y promover la formación de espuma (Thoma-Worringer et al., 2007). Sin embargo, las espumas formadas con este péptido son inestables, ya que las películas interfaciales que forma son débiles (Martinez et al., 2012; Morales et al., 2017). Para modular la estabilidad de las espumas de proteínas, una de las estrategias más utilizadas involucra su interacción con polisacáridos (Makri y Doxastakis, 2007; Murray, 2020; Narchi et al., 2009). En general, la presencia de polisacáridos en sistemas dispersos, como las espumas, mejora su estabilidad. Sin embargo, la efectividad de estos compuestos en la estabilización depende de la estructura del polisacárido, su concentración y su afinidad con la interfase aire-agua, así como de condiciones externas como el pH, la temperatura y la fuerza iónica (Narchi et al., 2009; Perez et al., 2009; Xu et al., 2020).

Por ello, en este apartado se evaluará el efecto de la presencia de MC en la estabilidad de espumas de caseinoglicomacropéptido (CMP). Para este estudio se utilizó solamente el MC sin tratamiento HPH porque justamente lo que se busca es otorgar viscosidad a la fase continua de la espuma y para dicho fin se consideró más apropiado el uso de los MC sin tratar que presentaron mayor viscosidad que los tratados por HPH (**Figura II.7** y **Tabla II.4**).

Se decidió evaluar dos condiciones de pH: 1) pH 7, condición en la que ambos biopolímeros (CMP y MC) tienen la misma carga neta, y 2) pH 3, donde el CMP ya

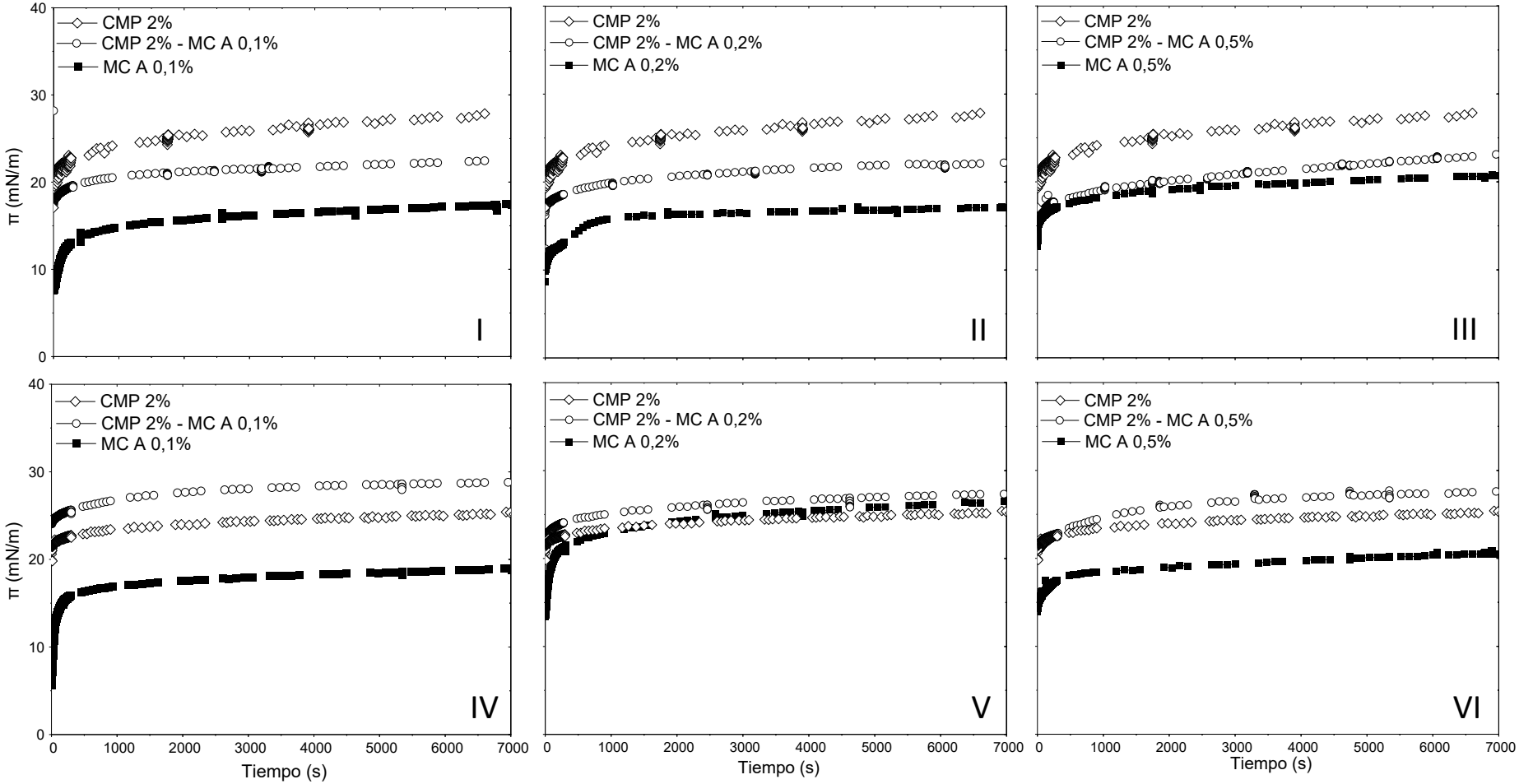
presenta carga positiva (pI = 4,15), mientras que MC se mantiene con carga negativa (**Figura II.5**).

Para entender el efecto de la presencia del MC en las espumas de CMP, se realizaron estudios en la interfase aire-agua, así como la evaluación de la capacidad de formación y estabilización de las espumas de CMP solo y en presencia de diferentes concentraciones de MC y también se evaluó la viscosidad de los sistemas mixtos CMP-MC. De manera adicional, para evaluar la existencia de interacciones entre CMP y MC se evaluó el tamaño de partícula tanto del CMP, de los MC y de sus mezclas a los dos pH evaluados.

2.3.4.1. Propiedades dinámicas superficiales

Con el objetivo de caracterizar el comportamiento interfacial aire-agua de los componentes individuales y sus mezclas, se evaluaron las propiedades dinámicas interfaciales de las soluciones de CMP, MC y las mezclas CMP-MC.

En la **Figura II.9** se observa la curva de presión superficial en función del tiempo de adsorción para las soluciones puras de CMP, MC A y B y para sus mezclas a pH 7 y 3.


CMP 2%
CMP 2% - MC A 0,1%
MC A 0,1%
CMP 2%
CMP 2% - MC A 0,2%
MC A 0,2%
CMP 2%
CMP 2% - MC A 0,5%
MC A 0,5%
π (mN/m)
Tiempo (s)
I
II
III
IV
V
VI
0
10
20
30
40
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000

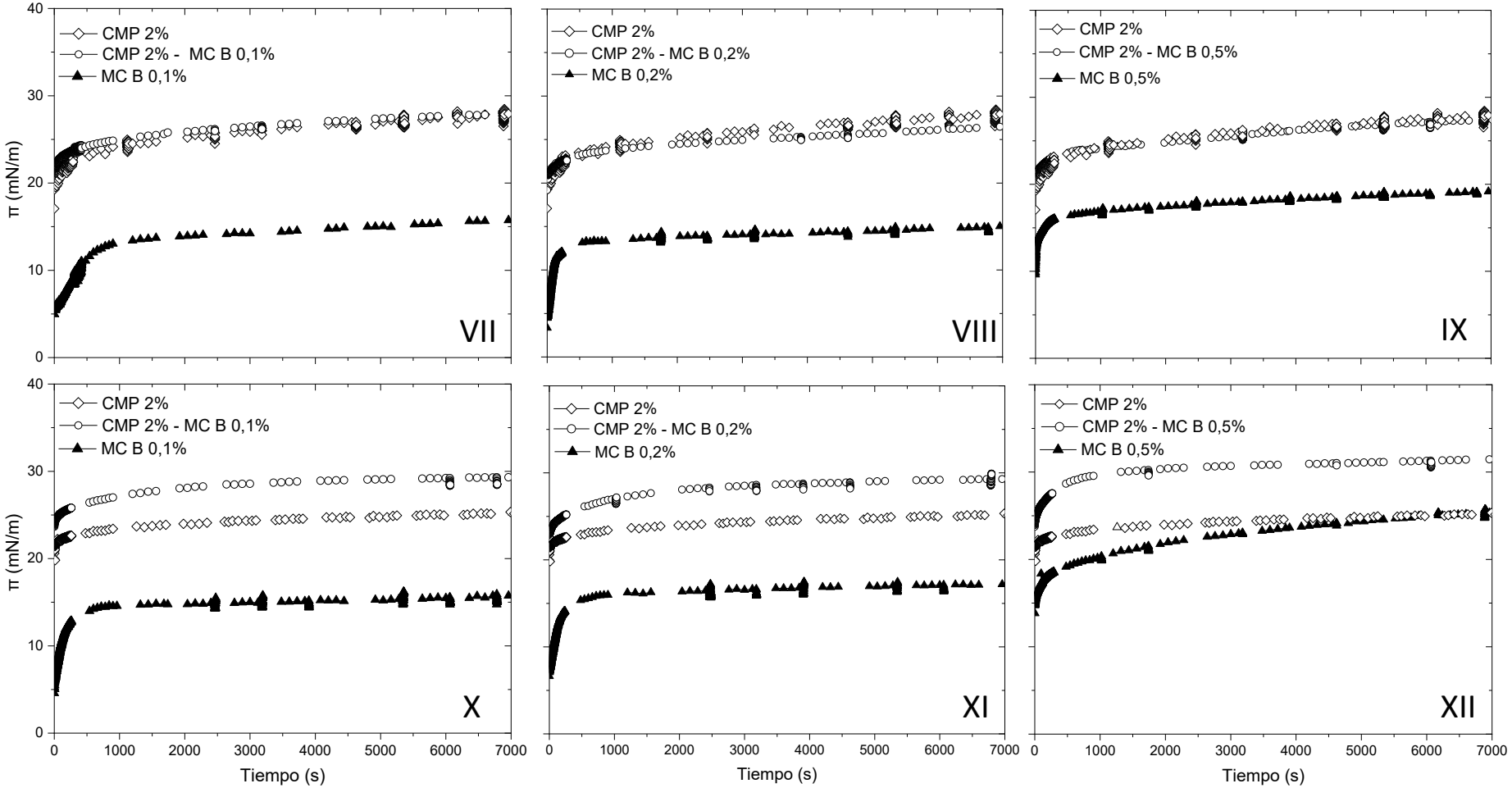


Figura II.9. Presión superficial π, (mN/m) durante 120 minutos de adsorción a la interfase aire-agua de soluciones de CMP (2 % p/p), MC (0,1 %, 0,2 % y 0,5 % p/p) y soluciones mixtas de CMP-MC (2 % p/p - 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p); a pH 7 para MC A y B (I-III y VII-IX, respectivamente) y a pH 3 para MC A y B (IV-VI y X-XII, respectivamente).

Si bien los valores finales de π no representan necesariamente toda la dinámica de adsorción, teniendo en cuenta que las diferencias entre las soluciones se mantienen durante todo el tiempo de adsorción, y con el objetivo de facilitar la comparación estadística entre todos los sistemas, en la **Figura II.10** se presentan los valores de la presión superficial final obtenida después de 120 minutos de tiempo de adsorción (**Figura II.10 I** y **II** para pH 7 y en la **Figura II.10 III** y **IV** para pH 3).

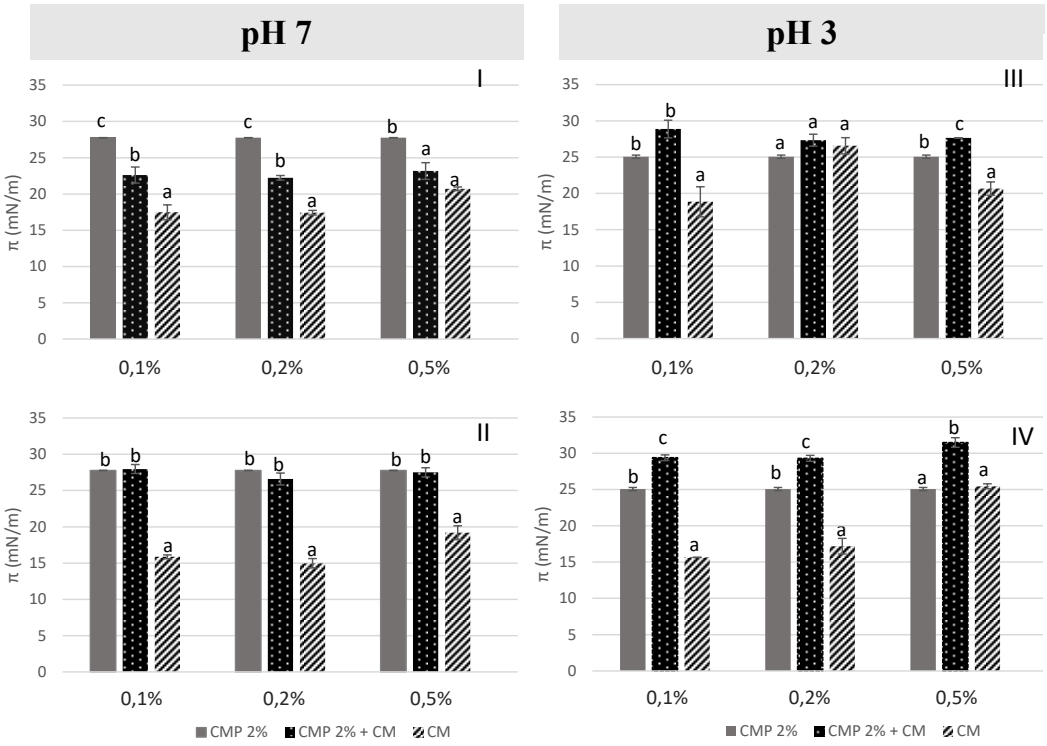


Figura II.10. Presión superficial máxima, π (mN/m) después de 120 minutos de adsorción a la interfase aire-agua de soluciones de CMP (2 % p/p), MC (0,1 %, 0,2 % y 0,5 % p/p) y soluciones mixtas de CMP-MC (2 % p/p - 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p); a pH 7 para MC A y B (I y II, respectivamente) y a pH 3 para MC A y B (III y IV, respectivamente). Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de cada grupo de barras ($p < 0,05$).

Aunque la mayoría de las gomas/mucílagos no muestran actividad interfacial, el MC mostró un aumento gradual de π durante el tiempo de adsorción (▲ en **Figura II.9**). Otros autores también reportaron actividad interfacial aire-agua del MC, indicando un mejor comportamiento en comparación con otras gomas como guar, arábiga y xántica, que requieren concentraciones más altas para reducir la tensión interfacial de manera similar al MC (Timilsena et al., 2016). Algunos autores atribuyen la actividad superficial

de los polisacáridos a la contaminación con pequeñas cantidades de proteínas, surfactantes o la presencia de surfactantes residuales que no se eliminan durante la preparación comercial (Dickinson, 2003; Han et al., 2024). Es bien sabido que las proteínas son unos de los agentes interfaciales más importantes, ya que disminuyen eficazmente tanto la tensión interfacial aire-agua como aceite-agua (Dickinson, 2017); sin embargo, considerando la concentración proteica del MC (**Tabla II.1**) y la concentración utilizada en este ensayo, puede sugerirse que no sólo la presencia de proteínas en las soluciones de MC (cuya concentración máxima fue de aproximadamente 0,03 % p/p para MC A y 0,057 % p/p para MC B) es responsable de la actividad superficial observada. Además, si la actividad interfacial del MC se debiera exclusivamente a su contenido proteico, deberían haberse obtenido resultados opuestos, ya que MC B presentó un mayor contenido de proteínas (11,37 %) que MC A (5,83 %), pero fue MC A el que mostró un valor más alto de presión superficial final.

A pH 7, las mezclas de CMP con MC A mostraron un valor intermedio de presión superficial entre las soluciones puras de CMP y MC para cada concentración de MC durante todo el tiempo de adsorción; mientras que las mezclas de CMP con MC B mostraron valores de presión superficial similares a las soluciones de CMP y significativamente mayores que las soluciones de MC en las concentraciones evaluadas (**Figura II.9** y **Figura II.10 I-III** y **VII-IX** para MC A y B, respectivamente). Este comportamiento podría atribuirse a la menor viscosidad del MC B que permitiría una migración en el sistema mixto similar a la de las soluciones puras de CMP hacia la interfase aire-agua, mientras que la mayor viscosidad del MC A limitaría esta migración. Por otro lado, a pH 3, las mezclas, tanto con MC A como con MC B, mostraron los mayores valores de presión superficial durante todo el tiempo de adsorción (**Figura II.9 IV-VI** y **X-XII**, para mezclas con MC A y B, respectivamente), mientras que las soluciones de CMP mostraron valores intermedios y las soluciones de MC los más bajos, observándose diferencias significativas en los valores finales de π entre las soluciones de CMP y las mezclas con MC B y con la mayor concentración de MC A (0,5 % p/p) **(Figura II.10 III** y **IV**). Este comportamiento sinérgico de las mezclas a pH 3 sugiere la existencia de interacciones entre CMP y MC en este pH, ya que, si no existieran interacciones, los valores de las mezclas deberían ser intermedios entre las soluciones puras. Xu et al. (2020) evaluaron las propiedades interfaciales aire-agua y de formación de espuma en

sistemas mixtos de aislado de proteína de suero (WPI) y ácido algínico (ALG) en diferentes proporciones (WPI/ALG) y pH, y reportaron una mayor actividad interfacial a una proporción de 1 y 2 a pH 4, atribuyéndolo a la complejación electrostática entre WPI y ácido algínico, que promueve la desnaturalización parcial del WPI, exponiendo regiones hidrofóbicas que facilitan su interacción con la interfase.

La cinética de adsorción de proteínas en la interfase aire-agua se puede resumir en tres etapas: (i) la difusión desde el seno de la solución a la interfase aire-agua, (ii) la adsorción, penetración y desdoblamiento interfacial, y (iii) el reordenamiento en la interfase, con posible formación de multicapas o incluso gelificación interfacial (MacRitchie, 1989). Para analizar el primer paso, si el proceso de adsorción interfacial está controlado por la difusión, se puede calcular la tasa de difusión (k_{dif}) a partir de la ecuación de Ward y Tordai, como el valor de la pendiente de la gráfica π en función del $t^{1/2}$ (Rodríguez Patino et al., 2008). Sin embargo, en algunos casos, la etapa de difusión es demasiado rápida (con un valor inicial de $\pi > 10$ mN/m), como ocurre con todas las soluciones CMP-MC y CMP en ambos pH, e incluso con las soluciones de MC a la concentración más alta (0,5 % p/p), por lo que no es posible obtener k_{dif} de dicha pendiente, y se debe estimar a partir del valor $\pi/t^{1/2}$ del primer punto del gráfico π vs $t^{1/2}$.

Los resultados del análisis de la velocidad de difusión hacia la interfase aire-agua se muestran en la **Tabla II.6**. La difusión en los sistemas mixtos estuvo dominada por el CMP, especialmente a pH 7, ya que es el componente que se adsorbió más rápidamente. Esta mayor velocidad de migración del CMP a la interfase aire-agua se relaciona con su menor tamaño en comparación con el MC, lo que facilita su desplazamiento, como se reportó previamente (Martinez et al.,2009).

Asimismo, nuestros resultados, donde la proteína domina la difusión en sistemas mixtos, coinciden con los de Perez et al. (2009), quienes evaluaron la difusión de proteínas (WPC y WPI), tanto en presencia y ausencia de polisacáridos (λ-carragenina y ácido algínico), y reportaron que la etapa de difusión en sistemas mixtos también estaba dominada por la proteína.

No fue posible comparar la velocidad de difusión de las mezclas y las soluciones de CMP con las soluciones de MC a concentraciones de 0,1 % y 0,2 % p/p debido a los diferentes métodos empleados para su determinación.

Tabla II.6. Velocidad de difusión (k_{dif}) (mN m^{-1} $s^{-0,5}$) de soluciones de CMP, MC y sus mezclas a pH 7 y 3.

	k_{dif} (mN m^{-1} $s^{-0.5}$)					
	MC 0,1 % p/p		MC 0,2 % p/p		MC 0,5 % p/p	
	pH 7	pH 3	pH 7	pH 3	pH 7	pH 3
CMP 2 % p/p	21,37 ± 0,00^{B}	28,50 ± 0,10^{A}	21,37 ± 0,00^{A}	28,50 ± 0,10^{B}	21,37 ± 0,00^{B}	28,50 ± 0,10^{B}
CMP 2 % p/p + MC A	17,8 ± 1,04^{A}	33,20 ± 0,78^{B}	22,29 ± 1,08^{A}	26,7 ± 0,00^{A}	21,01 ± 1,69^{B}	28,74 ± 0,06^{B}
MC A	0,45 ± 0,08*	1,16 ± 0,46*	0,35 ± 0,30*	10,05 ± 4,25*	13,37 ± 1,30^{A}	16,67 ± 0,00^{A}
CMP 2 % p/p	21,37 ± 0,00^{a}	28,50 ± 0,10^{a}	21,37 ± 0,00^{a}	28,50 ± 0,10^{a}	21,37 ± 0,00^{b}	28,50 ± 0,10^{b}
CMP 2 % p/p + MC B	25,63 ± 0,02^{b}	29,56 ± 0,62^{a}	23,94 ± 0,09^{a}	29,65 ± 0,32^{b}	26,51 ± 0,89^{b}	31,14 ± 0,27^{c}
MC B	0,10 ± 0,00*	0,55 ± 0,00*	0,61 ± 0,23*	0,36 ± 0,09*	13,38 ± 2,70^{a}	9,20 ± 0,60^{a}

Letras mayúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna entre CMP, CMP + MC A, y MC A. Letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna entre CMP, CMP + MC B, y MC B ($p < 0,05$). Los valores con asterisco (*) no se consideran en el ANOVA debido a los diferentes métodos de determinación utilizados para su cálculo.

Tabla II.7. Velocidad de penetración (k_{pen})(s^{-1}) de soluciones de CMP, MC y sus mezclas a pH 7 y 3.

	k_{pen} (s^{-1}) (10^{-4})					
	MC 0,1 % p/p		MC 0,2 % p/p		MC 0,5 % p/p	
	pH 7	pH 3	pH 7	pH 3	pH 7	pH 3
CMP 2 % p/p	4,16 ± 0,00^{A}	4,76 ± 0,54^{A}	4,16 ± 0,00^{A}	4,76 ± 0,54^{A}	4,16 ± 0,00^{A}	4,76 ± 0,54^{B}
CMP 2 % p/p + MC A	3,11 ± 0,47^{A}	4,59 ± 0,65^{A}	4,29 ± 0,68^{A}	4,30 ± 0,62^{A}	3,15 ± 0,19^{A}	4,89 ± 0,23^{B}
MC A	3,89 ± 0,07^{A}	4,16 ± 0,02^{A}	3,24 ± 0,25^{A}	4,11 ± 0,73^{A}	4,0 ± 0,59^{A}	2,89 ± 0,77^{A}
CMP 2 % p/p	4,16 ± 0,00^{a}	4,76 ± 0,54^{b}	4,16 ± 0,00^{b}	4,76 ± 0,54^{a}	4,16 ± 0,00^{b}	4,76 ± 0,54^{a}
CMP 2 % p/p + MC B	3,83 ± 0,68^{a}	4,96 ± 0,13^{b}	3,33 ± 0,47^{ab}	5,17 ± 0,32^{a}	3,30 ± 0,36^{ab}	4,19 ± 0,37^{a}
MC B	2,96 ± 0,37^{a}	2,54 ± 0,10^{a}	2,53 ± 0,03^{a}	4,07 ± 0,15^{a}	3,03 ± 0,00^{a}	3,81 ± 0,08^{a}

Letras mayúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna entre CMP, CMP + MC A, y MC A. Letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna entre CMP, CMP + MC B, y MC B ($p < 0,05$).

Por el contrario, a una concentración de 0,5 % p/p, el valor de k_{dif} para la solución pura de MC fue significativamente menor que para el CMP y las mezclas. Esta menor velocidad de difusión del MC, en comparación con el CMP y las mezclas, puede atribuirse a su baja concentración efectiva o al menor contenido de componentes superficialmente activos. Además, la mayor viscosidad de las soluciones podría reducir la movilidad de las moléculas y, en consecuencia, la constante de difusión. Aunque en algunos casos las mezclas mostraron una velocidad de difusión mayor que CMP y MC, no se observó una tendencia clara para ambos mucílagos y todas las concentraciones evaluadas.

En cuanto a la velocidad de penetración, que corresponde a la segunda etapa del proceso de adsorción, si bien no se encontraron diferencias significativas en todos los casos, hay una tendencia general que muestra una mayor velocidad de penetración para la solución de CMP a pH 7 respecto a las mezclas y al MC solo; en cambio, a pH 3 en general la velocidad de penetración fue similar entre CMP y las mezclas o en algunos casos incluso fue superior en los sistemas mixtos. En todos los casos, la velocidad de penetración de la solución pura de MC fue inferior al resto. (**Tabla II.7**).

2.3.4.2. Reología interfacial

El conocimiento de la reología superficial en sistemas dispersos es relevante debido a su implicancia en la estabilidad de espumas y a su extrema sensibilidad a la naturaleza de las interacciones intermoleculares de biopolímeros en la interfase aire-agua (Rodríguez Patino et al., 2008).

La **Figura II.11** muestra la elasticidad dilatacional de las películas superficiales formadas por soluciones de CMP, MC A y sus mezclas a lo largo del tiempo de medición (2 h). A pH 7 (**Figura II.11 I, II** y **III**), las películas interfaciales formadas por MC A a concentraciones de 0,1 % y 0,2 % p/p, si bien inicialmente mostraron un comportamiento diferente a las películas de CMP, alcanzaron valores finales similares de elasticidad; sin embargo, a la mayor concentración de MC A evaluada (0,5 % p/p) el film interfacial exhibió un valor final de E más bajo que el de CMP. Las películas mixtas inicialmente (los primeros 40 minutos) mostraron una evolución del módulo elástico similar al CMP, pero luego su evolución fue más lenta e incluso disminuyó con la máxima concentración de MC, alcanzando valores máximos mucho menores que los

componentes individuales. Este comportamiento sugiere un efecto antagónico, indicando que la formación de una película elástica se ve negativamente afectada por la presencia simultánea de CMP y MC A. De manera similar, como se observó en el presente estudio, la adición de λ-carragenina al 1,0 % p/p a soluciones de proteína de suero (WPC), a pH neutro, llevó a una disminución significativa en el módulo elástico en comparación con WPC puro; sin embargo, se observó un comportamiento opuesto con la adición de ácido algínico al 1,0 % p/p (Perez et al., 2009). Las interacciones entre proteínas y polisacáridos están fuertemente influenciadas por las propiedades intrínsecas de los polisacáridos, como su carga eléctrica, peso molecular y ramificación (Narchi et al., 2009). Por lo tanto, los resultados podrían ser diferentes dependiendo del tipo de polisacárido utilizado.

Por otro lado, a pH 3 (**Figura II.11 IV, V** y **VI**), se observó un importante efecto sinérgico, ya que las películas mixtas CMP-MC A mostraron un módulo elástico significativamente mayor, con valores finales de E entre 45 y 55 mN/m, en comparación con las películas puras de CMP y MC A. Por otro lado, las películas de CMP mostraron una evolución intermedia del módulo elástico y las películas de MC A presentaron los valores más bajos.

Comparando los valores de E a diferentes valores de pH, es posible observar que el módulo elástico de las películas mixtas a pH 3 (valores finales entre 45 y 55 mN/m) fue significativamente mayor que a pH 7 (valores inferiores a 25 mN/m). Las películas de CMP en ambos pH mostraron valores similares, cercanos a 30-35 mN/m, mientras que el módulo elástico de las películas de MC A a pH 7 fue más alto que a pH 3.

De manera similar, la **Figura II.12** muestra la elasticidad superficial dilatacional para películas formadas por soluciones de CMP, MC B y sus mezclas. Contrariamente a lo observado para los sistemas mixtos con MC A, las mezclas con MC B mostraron un módulo elástico similar a las soluciones de CMP en todas las concentraciones y en ambos pH evaluados, alcanzando valores máximos de entre 30 y 35 mN/m. Por su lado, las películas formadas por el MC B puro mostraron valores máximos de E similares o menores al CMP y los sistemas mixtos, excepto a la menor concentración de MC B (0,1 % p/p) a pH 7 que mostró el valor máximo de E más alto (**Figura II.12 I**).

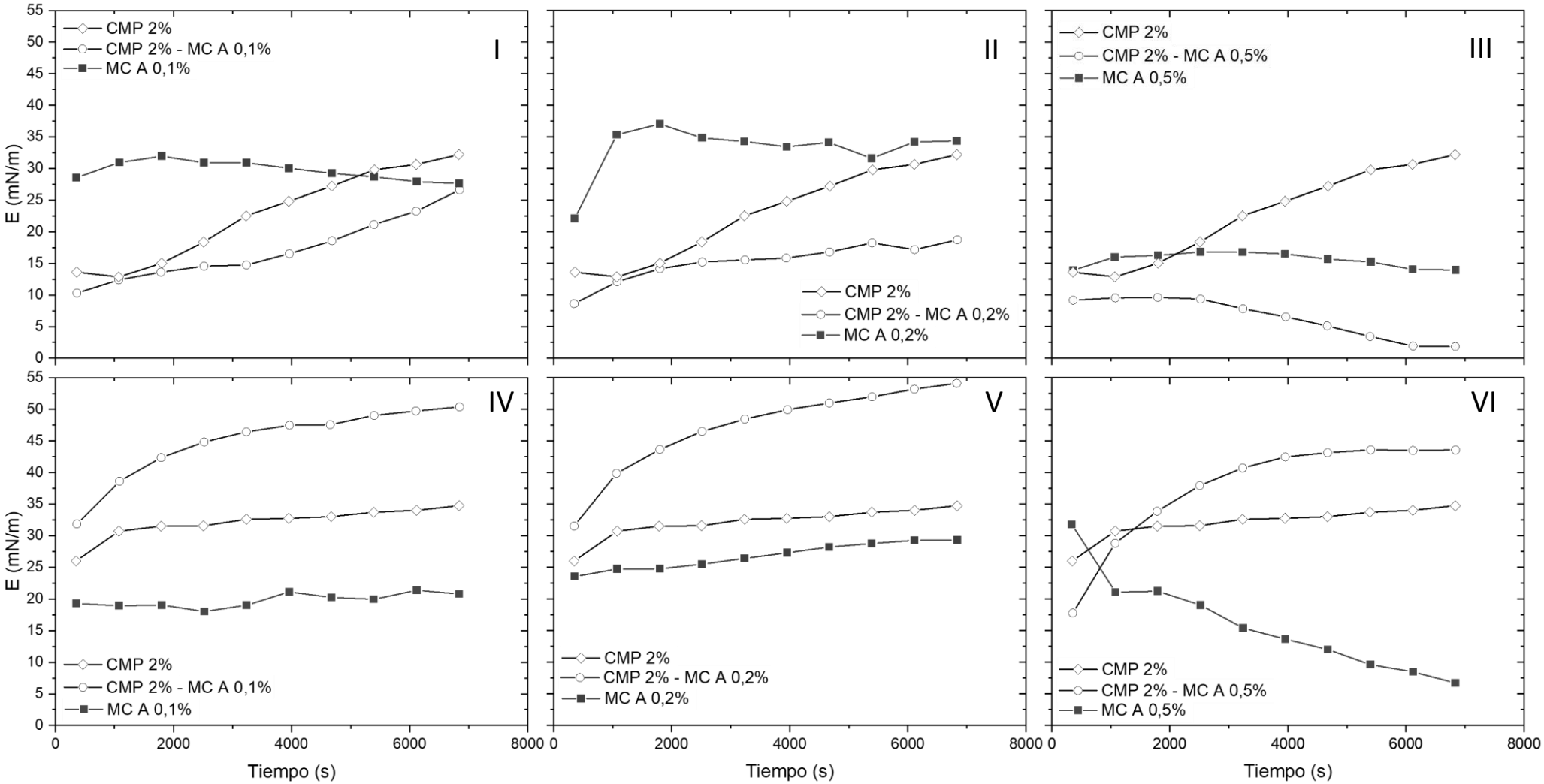


Figura II.11. Evolución de la elasticidad dilatacional superficial E (mN/m) a lo largo del tiempo, para ambos componentes individuales CMP (2 % p/p) y MC A (0,1 %, 0,2 % y 0,5 % p/p), y soluciones mixtas de CMP-MC A (2 % p/p - 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p) a pH 7 (I, II y III) y 3 (IV, V y VI).

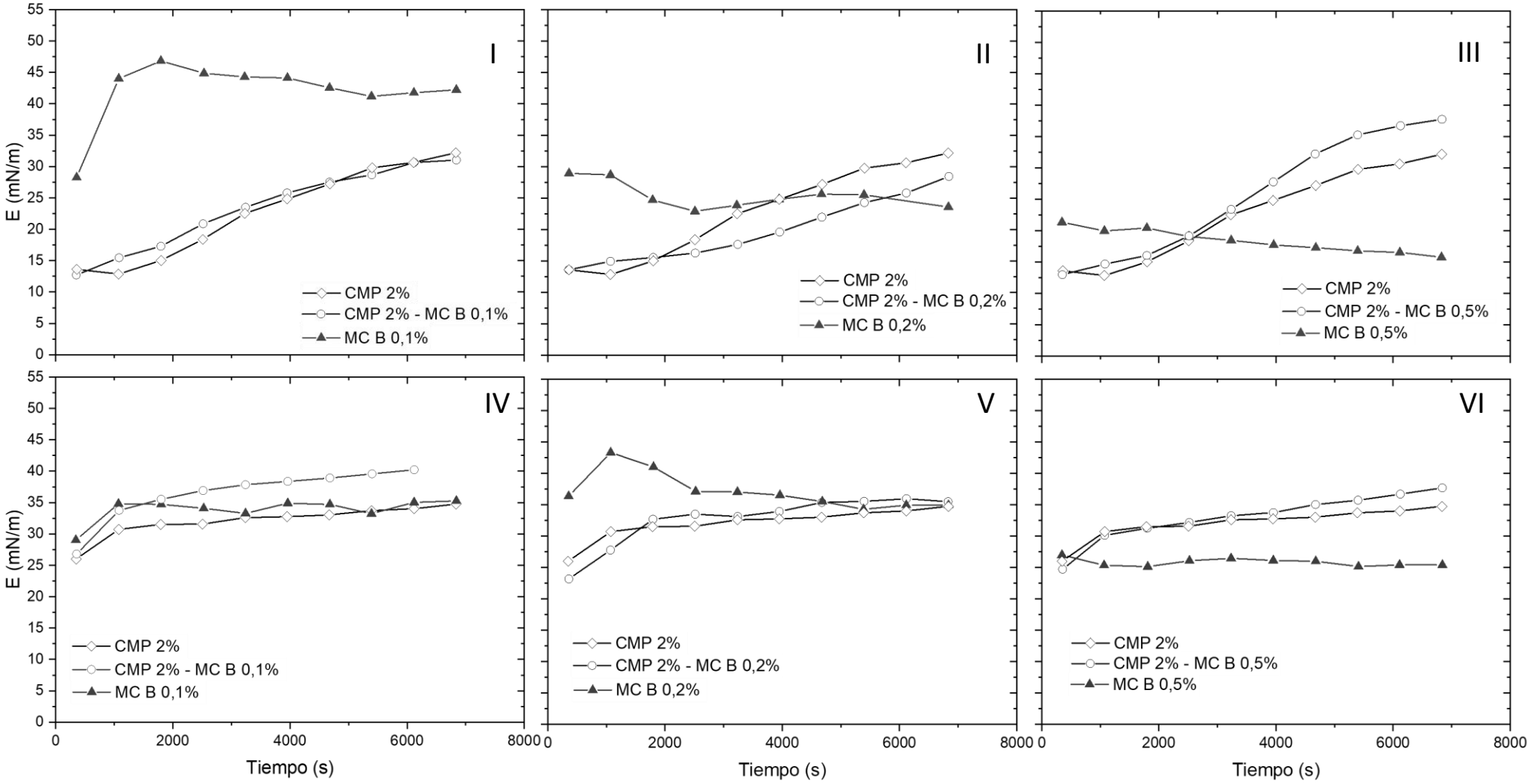


Figura II.12. Evolución de la elasticidad dilatacional superficial E (mN/m) a lo largo del tiempo, para ambos componentes individuales CMP (2 % p/p) y MC B (0,1 %, 0,2 % y 0,5 % p/p), y soluciones mixtas de CMP-MC B (2 % p/p - 0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p) a pH 7 (I, II y III) y 3 (IV, V y VI).

Finalmente, la **Figura II.13** muestra una curva maestra del módulo de elasticidad dilatacional superficial en función de la presión superficial π para películas adsorbidas de CMP, MC y películas mixtas a pH 7 y 3.

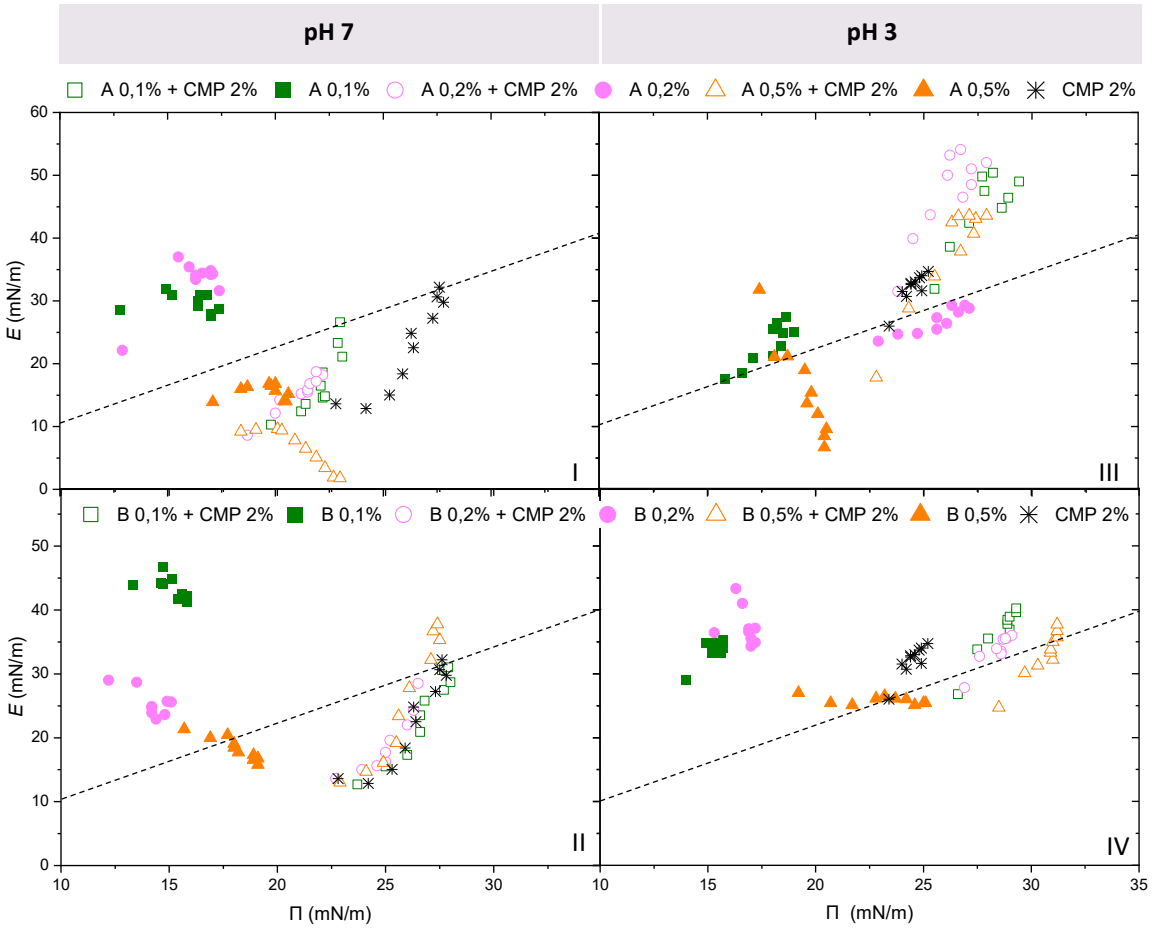


Figura II.13. Evolución de la elasticidad dilatacional superficial E (mN/m) en función de la presión superficial (π) para películas adsorbidas de CMP (2 % p/p), MC (0,1 %, 0,2 % y 0,5 % p/p) y películas mixtas de CMP-MC (2 % p/p-0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p) a: pH 7 para MC A y B (I y II, respectivamente), pH 3 para MC A y B (III y IV, respectivamente).

El aumento de E con π refleja la cantidad de material adsorbido a la interfase y/o el grado e interacciones macromoleculares. Si el módulo E dependiera únicamente del número de macromoléculas adsorbidas en la interfase aire-agua, todos los datos de E deberían normalizarse en una curva lineal con pendiente = 1 (línea punteada en la **Figura II.13**) (Martinez et al., 2009). Sin embargo, la **Figura II.13** revela que esta normalización no fue posible para todos los sistemas estudiados. En las películas mixtas CMP-MC a ambos valores de pH, excepto en CMP-MC A 0,5 % p/p a pH 7, la pendiente del

incremento del módulo E con la presión superficial fue mayor a 1, indicando que el incremento de E no es directamente proporcional al aumento de π, como se esperaría en sistemas ideales. Este comportamiento no ideal, sugiere la existencia de interacciones moleculares más intensas entre los componentes de las películas en comparación con un comportamiento ideal (Martinez et al., 2009). A medida que se acumulan más proteínas en la interfase, éstas no sólo ocupan espacio, sino que también establecen interacciones cooperativas entre las moléculas adsorbidas. Dichas interacciones se vuelven más fuertes con tiempos de adsorción más largos, lo que coincide con la teoría de Lucassen-Reynders et al. (1974). Estas fuertes interacciones macromoleculares entre los segmentos de proteína adsorbidos pueden incluir puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrofóbicas e incluso entrelazamientos físicos entre dominios de proteínas parcialmente desenrollados. A medida que estas interacciones se intensifican, la película interfacial se vuelve más elástica, resistiendo en mayor medida las deformaciones dilatacionales. Este fenómeno es característico de sistemas en los que las proteínas, una vez adsorbidas, no permanecen como unidades aisladas, sino que se reorganizan y forman una red cohesiva y estructurada en la interfase aire–agua (Rodríguez Patino y Rodríguez Niño, 1999). De manera similar, Perez et al. (2009) encontraron que las pendientes de las gráficas E-π para mezclas de WPC y WPC-polisacáridos eran mayores a uno y no se normalizaron en una única curva, lo que indica que la presencia del polisacárido tuvo un efecto diferente sobre la estructuración molecular y/o la condensación (empaque) de los segmentos de WPC adsorbidos en la interfase aire-agua.

Por otro lado, tanto MC al 0,5 % p/p en ambos niveles de pH como las mezclas con MC A al 0,5 % p/p a pH 7 mostraron un comportamiento diferente, donde la elasticidad dilatacional superficial permaneció constante o incluso tuvo una pendiente negativa. Esto sugiere que, en estos casos, la estructura de la película podría debilitarse o cambiar con el tiempo.

En resumen, los datos E-π para las películas mixtas fueron similares a los de las películas de CMP, y sus pendientes fueron mayores que las de MC solo; sin embargo, a pH 3, las películas mixtas alcanzaron valores E y π más altos que las películas CMP, lo que sugiere el establecimiento de interacciones intermoleculares más robustas que resultan en una estructura de película más resistente.

2.3.4.3. Viscosidad de soluciones mixtas CMP-MC

Debido a que en el estudio interfacial algunos resultados podrían estar vinculados a la viscosidad que aporta el MC en la mezcla, y lo mismo puede esperarse en el estudio de las propiedades espumantes, se decidió evaluar la viscosidad de las mezclas CMP-MC a pH 7 y 3 y compararla con los componentes individuales.

Las curvas de flujo para las soluciones de CMP mostraron un comportamiento newtoniano, mientras que para las mezclas CMP-MC se observó un comportamiento pseudoplástico, ya que la viscosidad aparente disminuyó a medida que aumentó la velocidad de cizalla (datos no mostrados). La viscosidad aparente, determinada a partir de las curvas de flujo a una velocidad de cizalla de 149 s^{-1}, se reporta en la **Tabla II.8**.

Tabla II.8. Viscosidad aparente de soluciones de CMP, MC y sistemas mixtos CMP-MC a pH 7 y 3.

	Conc. MC (% p/p)	Viscosidad aparente a 149 s^{-1} (mPa.s)	
		pH 7	pH 3
CMP 2 % p/p	0	1,36 ± 0,08^{a}	1,32 ± 0,02^{a}
CMP 2 % p/p + MC A	0,1	3,72 ± 0,10^{d*}	2,70 ± 0,23^{d*}
	0,2	7,60 ± 0,21^{h*}	4,49 ± 0,11^{g*}
	0,5	23,33 ± 0,15^{l*}	19,37 ± 0,83^{k*}
MC A	0,1	5,10 ± 0,05^{g*}	2,42 ± 0,01^{c*}
	0,2	8,88 ± 0,37^{i*}	4,03 ± 0,02^{f*}
	0,5	25,78 ± 0,37^{m*}	12,96 ± 0,01^{j*}
CMP 2 % p/p + MC B	0,1	2,61 ± 0,01^{c*}	2,71 ± 0,01^{d*}
	0,2	4,53 ± 0,06^{e*}	3,46 ± 0,25^{e*}
	0,5	10,17 ± 0,17^{j*}	7,57 ± 0,16^{i*}
MC B	0,1	2,11 ± 0,02^{b*}	1,84 ± 0,03^{b*}
	0,2	4,74 ± 0,06^{f*}	2,39 ± 0,14^{c*}
	0.5	11,27 ± 0,04^{k*}	5,19 ± 0,13^{h*}

Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas para cada muestra entre pH 7 y 3 ($p < 0,05$).

La solución de MC A mostró una viscosidad mayor a la solución de MC B a cada concentración y a ambos pH, lo que puede explicarse por la mayor proporción de fase opaca presente en MC A, como fue previamente discutido en el Capítulo 1 y en la sección 2.3.1 de este capítulo.

El CMP presentó los menores valores de viscosidad, sin mostrar diferencias por efecto del pH, mientras que para las mezclas CMP-MC, la viscosidad a pH 7 fue mayor que a pH 3 en todas las proporciones estudiadas.

Sin embargo, el efecto más importante de este estudio se observa con el aumento en la concentración de MC en las mezclas, ya que, para ambos MC y en ambos pH, se observa que una mayor concentración de MC induce un incremento significativo en la viscosidad del sistema mixto.

Comparando las soluciones de MC con las soluciones mixtas, se puede observar un efecto diferente dependiendo del pH: a pH 7, los valores de viscosidad aparente de las soluciones de MC fueron mayores que los de las mezclas, mientras que a pH 3 las mezclas mostraron mayor viscosidad aparente que las soluciones de MC a todas las concentraciones evaluadas. Este efecto sinérgico sobre la viscosidad observado a pH 3 podría estar vinculado a la existencia de interacciones entre el CMP y el MC a este pH, que será evaluado más adelante mediante la determinación de tamaño de partícula.

2.3.4.4. Capacidad de espumado

Como se mencionó al principio de este apartado de propiedades espumantes, en primer lugar, se evaluó la capacidad del MC solo para formar espumas, pero no se lograron resultados relevantes, ya que ambos mucílagos no fueron capaces de formar espumas a ninguna de las concentraciones evaluadas. Por tal razón, se evaluó la capacidad del mismo de estabilizar espumas proteicas, en particular espumas de caseinoglicomacropéptido. En la **Tabla II.9** se presentan los resultados de capacidad de espumado (CE) de las soluciones de CMP y CMP-MC para ambos MC (A y B) a pH 7 y 3.

A ambos pH, las espumas de CMP exhibieron la mayor CE, cuyo alto valor puede atribuirse a su menor tamaño, lo que facilita una rápida migración a la interfase en formación (Martinez et al., 2013; Morales et al., 2017). La CE de las soluciones mixtas CMP-MC, para ambos MC y ambos pH estudiados, disminuyó a medida que aumentó la

concentración de mucílago en la mezcla, excepto en la mezcla CMP-MC B a pH 3, donde no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de MC.

Tabla II.9. Capacidad de espumado (CE) de CMP y mezclas CMP-MC a pH 7 y 3.

		CE (%)	
	Conc. MC (% p/p)	pH 7	pH 3
CMP 2% p/p	0	$530 \pm 7,1^{e*}$	$435 \pm 8,0^{c*}$
CMP 2 % p/p + MC A	0,1	$364 \pm 0,0^{cd}$	$372 \pm 11,3^{b}$
	0,2	$303 \pm 4,2^{b}$	$324 \pm 11,3^{a}$
	0,5	$212 \pm 8,3^{a*}$	$296 \pm 5,7^{a*}$
CMP 2 % p/p + MC B	0,1	$392 \pm 17,0^{d}$	$380 \pm 0,0^{b}$
	0,2	$341 \pm 8,3^{c}$	$368 \pm 5,7^{b}$
	0,5	$306 \pm 6,0^{b*}$	$396 \pm 11,3^{b*}$

Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas para cada muestra entre pH 7 y 3 ($p < 0,05$).

Además, al comparar entre mucílagos, las soluciones mixtas con MC B mostraron mayor CE que las soluciones mixtas con MC A a la misma concentración. Esto podría explicarse por dos razones:

1. Las soluciones mixtas con MC A mostraron una mayor viscosidad que las soluciones mixtas con MC B (**Tabla II.8**), lo que podría ralentizar la migración de las mezclas CMP-MC A a la interfase aire-agua.
2. El MC B mostró una mayor concentración de proteínas que el MC A (11,4 % vs. 5,8 % p/p), como se mostró al inicio de este capítulo, por lo que las proteínas del MC también podrían migrar a la interfase aire-agua y contribuir a la CE de la mezcla.

No se observaron diferencias significativas en la CE de los sistemas mixtos debido al efecto del pH a la misma concentración y tipo de MC, lo que indica que la disminución del pH no influyó en el proceso general de formación de espumas, excepto en la concentración más alta (0,5 % p/p), donde la CE fue significativamente mayor a pH 3 para ambos tipos de MC.

Se han reportado diferentes resultados sobre las propiedades de formación de espumas de sistemas mixtos proteína-polisacáridos. Narchi et al. (2009) también encontraron que la CE se redujo en mezclas de aislado de proteína de suero (WPI) y goma xántica en

comparación con el valor obtenido con WPI solo, atribuyendo esta reducción a las tendencias viscoelásticas de la matriz, que dificultan la dispersión de gas. Sin embargo, los mismos autores no observaron diferencias significativas en la CE con la adición de otros polisacáridos (pectina y goma guar). Makri y Doxastakis (2007) también evaluaron la formación de espumas de aislados proteicos de poroto común (*Phaseolus vulgaris L*.) y poroto escarlata (*Phaseolus coccineus L*.) con la adición de 0,1 % o 0,25 % p/v de goma arábiga, goma garrofín, goma xántica y una mezcla de goma xantana/goma garrofín, y reportaron una mejora en la CE, excepto para las mezclas con polisacáridos que producen soluciones más viscosas, como es el caso de la goma xántica que mostraron una CE similar a las espumas con proteína sola.

2.3.4.5. Estabilidad de espumas

Como se explicó en la sección de materiales y métodos, la estabilidad de las espumas se evaluó a través de dos fenómenos: la estabilidad frente al drenaje del líquido de la espuma y la estabilidad frente al colapso de la espuma. La **Figura II.14** muestra dos parámetros relacionados con el fenómeno de estabilidad frente al drenado: el volumen máximo de drenado (%) y el tiempo de retraso del drenado (t_{lag}, en minutos).

Aunque el CMP demostró una notable capacidad para formar espumas, estas resultaron muy inestables frente al drenado en ambos niveles de pH, alcanzando un volumen máximo de drenado de entre 85 y 88 % del líquido (**Figura II.14**). A pH 7, todas las espumas mixtas con MC A (**Figura II.14 I**) y MC B (**Figura II.14 II**) presentaron un volumen máximo de drenado similar al de la espuma de CMP, excepto la espuma CMP-MC A con la mayor concentración de MC (0,5 % p/p), donde el volumen máximo de drenado fue significativamente menor (50 %).

Por otro lado, a pH 3, el volumen máximo de drenado disminuyó significativamente al aumentar la concentración de MC en las espumas mixtas, especialmente en las concentraciones más altas de MC, indicando una mayor estabilidad en presencia de MC a este valor de pH. Además, todas las espumas mixtas a pH 3 mostraron una estabilidad al drenado significativa mayor que las mismas a pH 7.

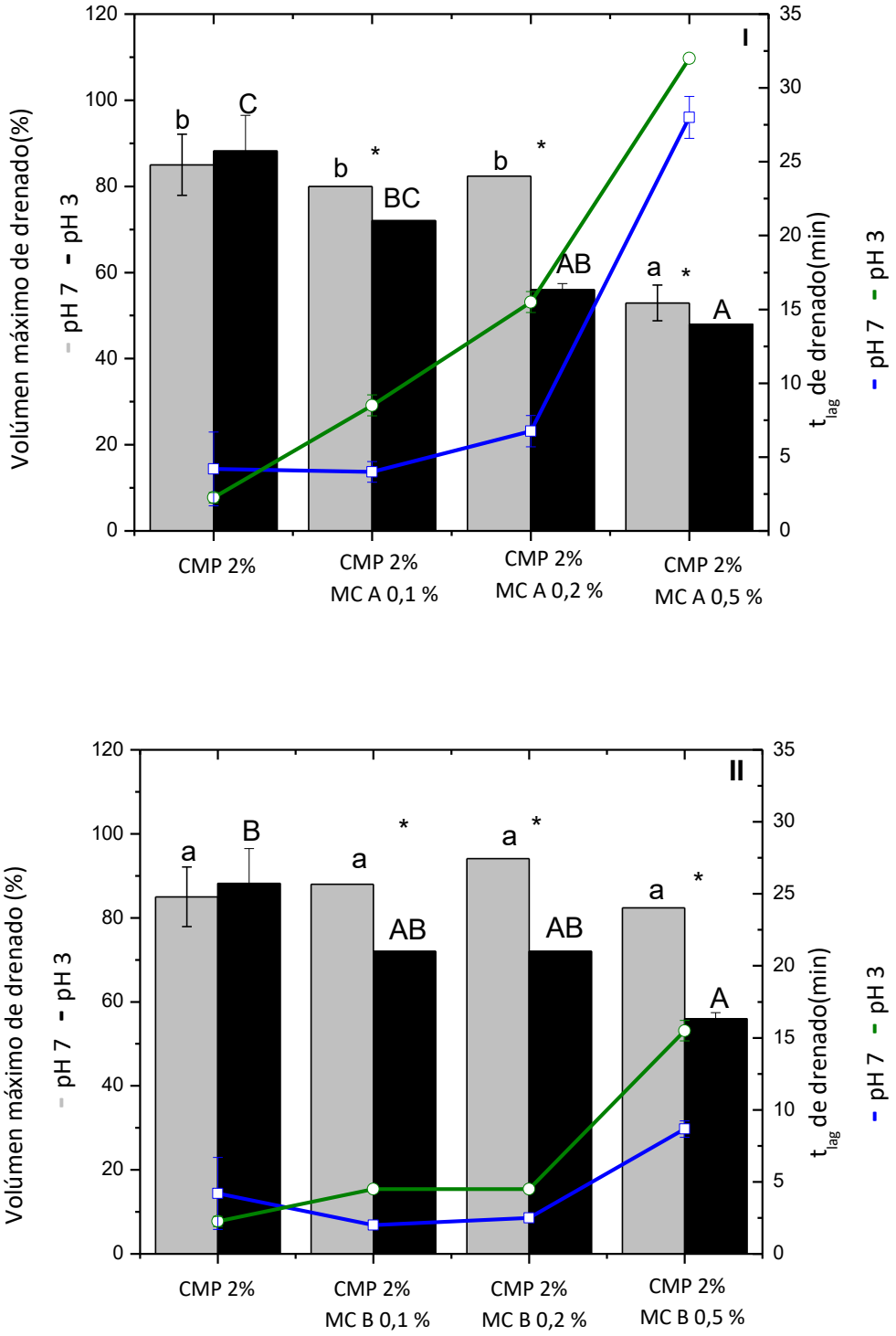


Figura II.14. Drenado máximo de volumen de líquido (%) (barras) y tiempo de retraso del drenado (min) (líneas) para espumas de CMP (2 % p/p), CMP-MC A (I) y CMP-MC B (II) (2 % p/p-0,1 %, 0,2 %, 0,5 % p/p) a pH 7 y 3. Letras minúsculas indican diferencias significativas a pH 7, mientras que letras mayúsculas indican diferencias significativas a pH 3. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas para cada muestra entre pH 7 y 3 ($p < 0,05$).

Este comportamiento no se puede explicar únicamente por el aumento de la viscosidad de las soluciones del sistema mixto en comparación con la solución de CMP, particularmente en las concentraciones más altas de MC en la mezcla (**Tabla II.8**). Si bien una mayor viscosidad de la fase continua en la espuma podría mejorar la estabilidad frente al drenaje, evitando el escurrimiento del líquido desde el borde de Plateau, no se observó una mejora similar a pH 7 en ambos mucílagos, donde también se observó una alta viscosidad. Por lo tanto, estos resultados sugieren la existencia de interacciones entre CMP y MC a pH 3 que, junto con el efecto de la viscosidad, provocaría esta mejora en la estabilidad de las espumas mixtas a pH 3.

Otros autores han reportado la relación entre la viscosidad de la fase continua y las interacciones proteína-polisacárido en condiciones donde cada biopolímero presenta cargas opuestas, en la estabilidad de espumas. Xu et al. (2020) evaluaron las propiedades espumantes de complejos de aislado de proteína de suero (WPI) y ácido algínico en diferentes proporciones y valores de pH, y observaron, de forma similar a este estudio, que la velocidad de drenado de las espumas disminuía en condiciones que favorecían la formación de complejos (pH 4 y proporciones proteína/polisacárido de 1 y 2). En estas condiciones, también se observaron valores máximos de elasticidad en la interfase aire-agua, lo que evidencia la formación de una película interfacial más gruesa y viscoelástica.

La **Figura II.14** también muestra el tiempo que demora la espuma en comenzar a drenar (t_{lag}). A pH 7, las espumas de CMP y las espumas mixtas con las concentraciones más bajas de MC (0,1 y 0,2 % p/p) mostraron los valores más bajos de t_{lag} (< 5 minutos). Al aumentar la concentración hasta 0,5 % p/p, el t_{lag} aumentó significativamente hasta 27 y 9 minutos para los MC A y B, respectivamente. A pH 3, la espuma de CMP presentó un t_{lag} de aproximadamente 2 minutos, y se observó un aumento gradual de t_{lag} con el incremento de la concentración de MC en las mezclas, principalmente para MC A, alcanzando 32 y 16 minutos para espumas mixtas con 0,5 % p/p de MC A y B, respectivamente. Estos resultados respaldan el comportamiento observado en el volumen máximo drenado y resaltan la diferencia entre los MC A y B, siendo MC A más efectivo en promover la estabilidad de las espumas mixtas con CMP que MC B, lo que podría atribuirse a la mayor viscosidad que aporta el primero. Por otro lado, también se

observa un mayor retardo, para el comienzo del drenado, en las espumas mixtas a pH 3 que a pH 7.

La **Figura II.15** ilustra la dinámica del colapso de las espumas a lo largo del tiempo. Las espumas de CMP colapsaron rápidamente, perdiendo casi todo el aire incorporado a los 35 minutos a pH 7 y a los 60 minutos a pH 3. A pH 7, únicamente las espumas mixtas con la mayor concentración de MC evaluada (0,5 % p/p) mejoraron significativamente la estabilidad frente al colapso (**Figura II.15 I** y **II**), principalmente en las espumas mixtas con MC A. A concentraciones más bajas de MC A (0,1 y 0,2 % p/p) en espumas mixtas a pH 7 no se observó volumen de colapso durante los primeros diez minutos, pero después de este tiempo ocurrió un colapso rápido.

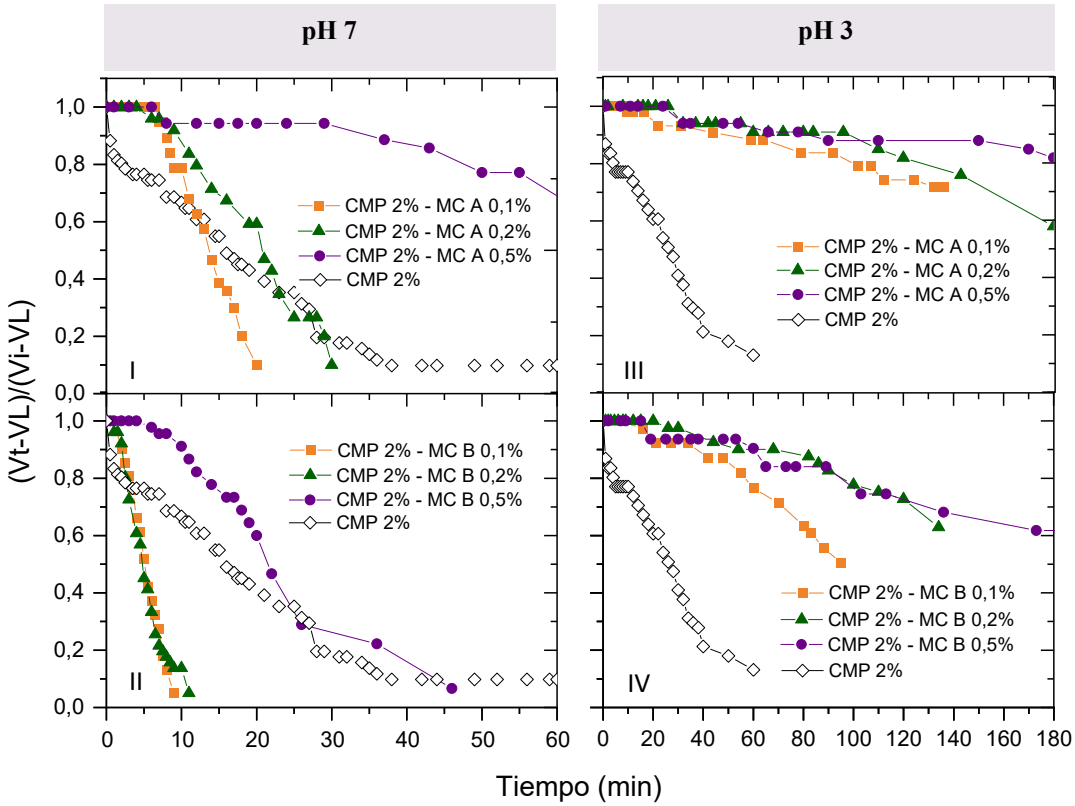


Figura II.15. Colapso de espumas en función del tiempo para espumas de CMP al 2 % p/p (◇) y espumas mixtas de CMP (2 % p/p) con MC A (I, III) y MC B (II, IV) a diferentes concentraciones de MC (0,1 % p/p (■), 0,2 % p/p (▲), 0,5 % p/p (●)) y diferentes valores de pH: 7 (I, II) y 3 (III, IV).

En cambio, a pH 3, la presencia de MC en las espumas mixtas generó una mayor estabilidad en comparación con las espumas de CMP (**Figura II.15 III** y **IV**) a todas las

concentraciones de MC evaluadas, manteniendo al menos el 80 % del volumen inicial después de 60 minutos (en comparación con el 12 % del volumen inicial en el mismo tiempo para la espuma de CMP), e incluso la mayoría de las espumas mixtas conservaron un volumen considerable aún después de 180 minutos.

También relacionado con el colapso de la espuma, en la **Figura II.16** se presenta, a modo de ejemplo, fotografías de la columna de espumas a lo largo del tiempo, comparando una espuma de CMP a pH 7, una espuma CMP-MC A a pH 7 y otra espuma CMP-MC A a pH 3, a los tiempos de 0, 5, 10 y 15 min. En dicha figura, se puede observar el colapso inicial progresivo de cada tipo de espuma, resultando el proceso más rápido en la espuma de CMP, seguido por la espuma mixta a pH 7, mientras que la espuma obtenida con la mezcla a pH 3 mostró la mayor estabilidad. El mismo comportamiento fue observado para las espumas mixtas CMP-MC B (imágenes no mostradas).

El aumento de la estabilidad frente al colapso en las espumas mixtas a pH 3 (**Figura II.16 III** y **IV**) podría atribuirse a posibles interacciones entre CMP y MC debido a la diferencia de cargas en este pH, que será evaluado a continuación mediante la determinación del tamaño de partícula.

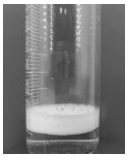
ESPUMA	Tiempo (min)			
	0	5	10	15
CMP 2 % pH7				
CMP 2% + MC pH7				
CMP 2% + MC pH3				

Figura II.16. Imágenes ejemplo de la evolución del colapso de espumas de CMP al 2 % p/p y espumas mixtas de CMP (2 % p/p) con MC A (0,2 % p/p) a diferentes valores de pH: 7 y 3, a lo largo del tiempo (0, 5, 10 y 15 minutos).

Además, los mayores valores de módulo elástico (**Figura II.11**) obtenido a pH 3 para las soluciones mixtas, principalmente para las mezclas con MC A, también podrían explicar la mayor estabilidad de las espumas mixtas CMP-MC a pH 3, en comparación con las espumas mixtas a pH 7. Varios estudios relacionan la estabilidad de las espumas con las propiedades interfaciales, principalmente con la elasticidad de la película interfacial, esperando obtener una mayor estabilidad en los sistemas que mostraron una mayor componente elástica de la película, pero algunos sugieren que esta conexión puede ser más compleja y no siempre significativa (Álvarez Gómez y Rodríguez Patino, 2007; Murray, 2020; Rodríguez Patino et al., 2008).

2.3.4.6. Tamaño de partícula

Finalmente, con el objetivo de poder explicar el comportamiento observado, sobre todo en la estabilidad de las espumas mixtas CMP-MC y en la reología interfacial, se evaluó el tamaño de partícula de las soluciones mixtas CMP-MC para ambos MC, tanto a pH 7 como a pH 3, con el objetivo de determinar si existen interacciones entre estos biopolímeros.

La **Figura II.17** muestra las distribuciones de tamaño de partícula por volumen de la solución de CMP al 2 % p/p, las soluciones de MC A y MC B al 0,2 % p/p y sus mezclas. Con el objetivo de evaluar las poblaciones más relevantes de las diferentes soluciones se muestran los resultados de las distribuciones en volumen. A ambos valores de pH, el CMP mostró un tamaño pequeño, alrededor de 2-5 nm, como fue reportado previamente por investigadores de nuestro grupo (Farías et al., 2010; Martinez et al., 2013). Las soluciones de MC a pH 7 mostraron un tamaño de partícula mucho mayor que el CMP, con dos poblaciones con valores máximos alrededor de 100 y 1000 nm. Las mezclas de CMP-MC a pH 7 (**Figura II.17 I** y **II**), para ambos MC A y B, presentaron una distribución de tamaño similar a las soluciones de MC, lo que sugiere que el tamaño de las mezclas CMP-MC estuvo dominado por el tamaño del MC.

Por el contrario, a pH 3 (**Figura II.17 III** y **IV**), las soluciones de MC mostraron un tamaño de partícula menor que a pH 7, con valores máximos alrededor de 35 y 20 nm para MC A y B, respectivamente, pero mayores que los observados para el CMP. Además, ambos mucílagos mostraron otra población de mayor tamaño, alrededor de 800 y 600 nm para MC A y B, respectivamente. Esta diferencia en el tamaño de partícula en comparación

con las soluciones de MC a pH 7 podría explicarse por los cambios en la carga del mucílago causados por la variación del pH como fue previamente explicado (**Figura II.5**),lo que podría modificar el estado de asociación en solución. Finalmente, las soluciones mixtas a pH 3 mostraron un tamaño de partícula mucho mayor que las soluciones puras. La mezcla CMP-MC A presentó dos poblaciones con valores máximos alrededor de 800 y 5000 nm, mientras que la mezcla CMP-MC B mostró un tamaño menor que la mezcla con MC A, con poblaciones en 50 y 800 nm. Estos resultados sugieren una posible asociación entre CMP y MC a pH 3. De hecho, a pH 3, el CMP tiene una carga positiva, aunque baja (Kreuß et al., 2009), ya que su pI está en el rango de 3,15-4,15 dependiendo de la fracción de CMP glicosilada y no glicosilada, mientras que el MC tiene todavía carga negativa (**Figura II.5**). Por lo tanto, podrían ocurrir interacciones electrostáticas o hidrofóbicas entre ellos, promoviendo la formación de un complejo de mayor tamaño, incluso favoreciendo múltiples asociaciones.

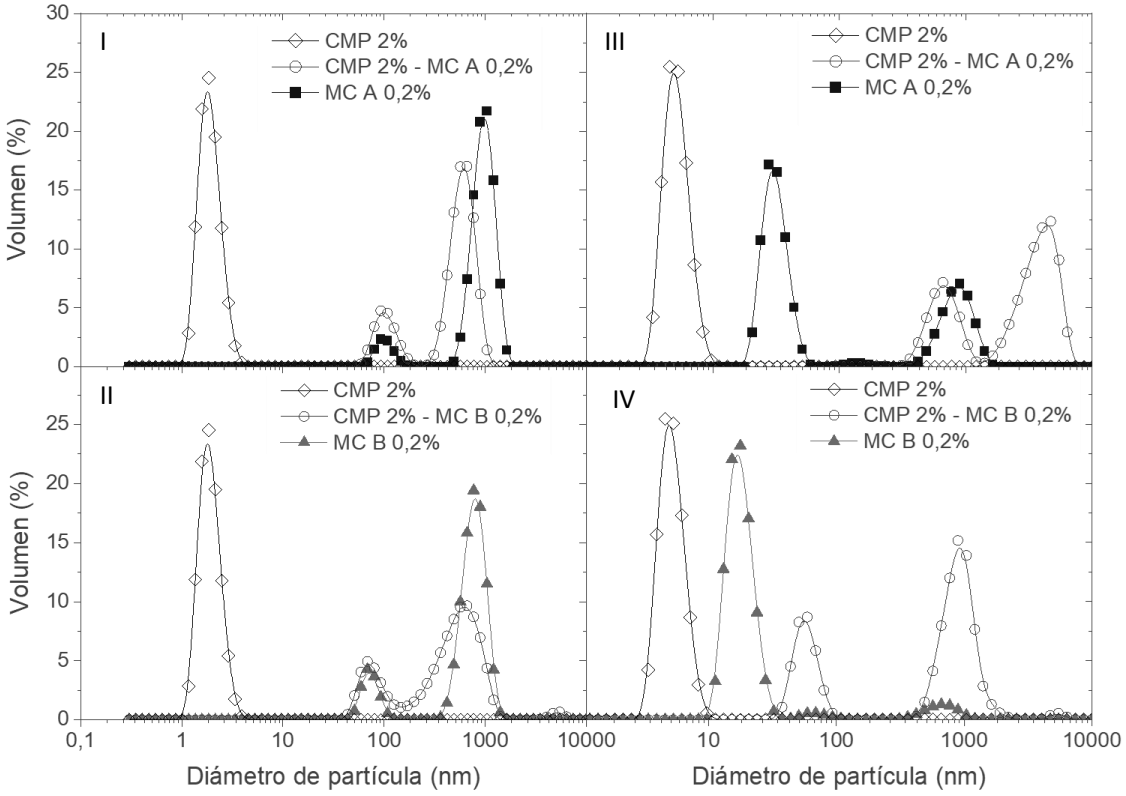


Figura II.17. Distribuciones de tamaño de partículas en volumen para soluciones de MC A y MC B a 0,2 % p/p, CMP a 2 % p/p, y mezclas CMP-MC (2 %-0,2 % p/p): pH 7 (I y II), pH 3 (III y IV).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo en relación al tamaño de partícula, viscosidad y estabilidad de las espumas son consistentes con estudios previos que destacan el impacto positivo de la viscosidad y las interacciones electrostáticas en la estabilidad de las espumas. En el trabajo de Xu et al. (2020), previamente mencionado, los autores demostraron que el tiempo de vida media (el tiempo en el que la altura de la espuma se reduce a la mitad de su altura inicial) de espumas mixtas WPI/ácido algínico (relación 1:2) a pH 4 fue el doble que para las espumas de WPI. Ellos sugirieron que la mejora en la estabilidad de la espuma se debió a la complejación electrostática entre el WPI y el ácido algínico bajo estas condiciones específicas; sin embargo, las demás proporciones y pH evaluados no mostraron una mejora en la estabilidad frente al colapso de la espuma (Xu et al., 2020).

Por su parte, Jarpa-Parra (2016) estudió las propiedades espumantes de una proteína leguminosa similar a la de lentejas en presencia de goma guar, goma xántica y pectina bajo diferentes condiciones de pH (3,0, 5,0 y 7,0). Aunque la capacidad espumante de la proteína no se vio significativamente afectada por la adición de polisacáridos, la estabilidad de la espuma mejoró notablemente a pH 3 (en mezcla con goma xántica) y, principalmente, a pH 5 (con todos los polisacáridos evaluados), resultando en la formación de espumas mucho más estables. Los autores también explicaron la mejora en la estabilidad de las espumas mixtas a pH 5 en términos de la existencia de interacciones proteína-polisacárido y la posibilidad de que estos agregados se adsorban en la interfase aire-agua para formar películas interfaciales más rígidas, evitando el colapso de las burbujas e incluso debido a la presencia de estos agregados en los bordes de Plateau, ralentizando el drenaje del líquido. Por otro lado, la estabilidad de la mezcla de proteína y goma xántica a pH 3 se atribuyó a un fenómeno de coacervación debido a interacciones asociativas, que estabilizan las espumas frente al colapso mediante la formación de una película interfacial electrostáticamente entrecruzada Jarpa-Parra (2016).

2.3.4.7. Relación entre viscosidad y drenado de la espuma

Finalmente, con el objetivo de entender la relación entre la viscosidad de las soluciones y los fenómenos de desestabilización de las espumas, se evaluó la relación entre la viscosidad aparente de las soluciones mixtas y el tiempo de retardo del drenado (t_{lag}) de

las espumas mixtas obtenidas a partir de estas soluciones, tanto a pH 7 como a pH 3. Los resultados se muestran en la **Figura II.18**, donde se observan dos efectos claros:

1. El tiempo de retardo del drenado aumenta con el incremento de la viscosidad de las soluciones.
2. Sin embargo, se pueden observar dos líneas de tendencias diferenciadas según el pH, que demuestra un fuerte impacto en esta relación, siendo en todos los casos t_{lag} a pH 3 mayor que a pH 7, incluso con el mismo valor de viscosidad aparente.

El hecho de que el pH afecte la relación entre la viscosidad aparente y el tiempo de retardo del drenado reafirma la relevancia de las interacciones entre CMP y MC a pH 3 sobre la estabilidad de las espumas. Si el t_{lag} dependiera únicamente de la viscosidad de la solución inicial (**Tabla II.8**), todos los puntos seguirían una sola tendencia; sin embargo, esto no se observa en la **Figura II.18**.

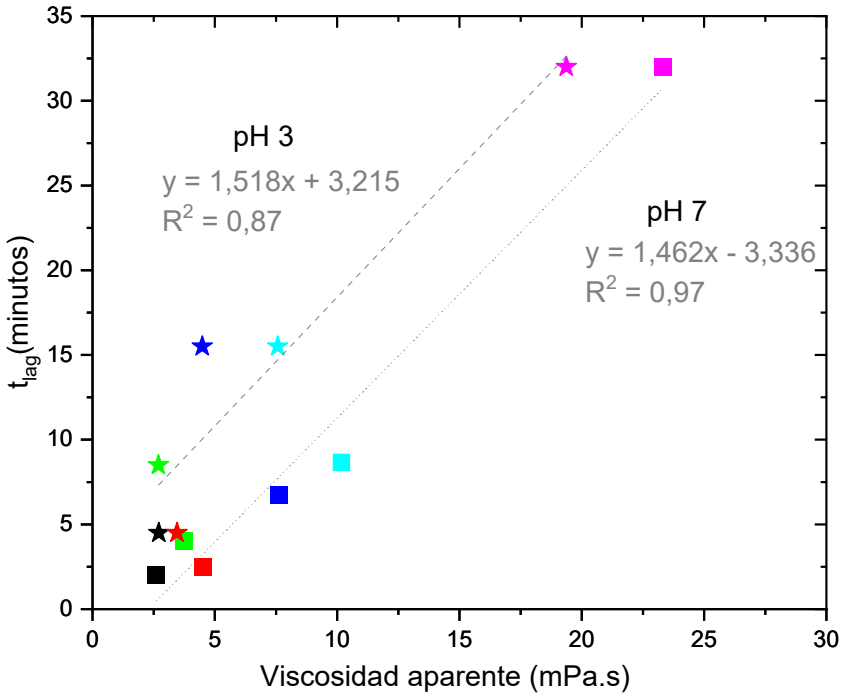


Figura II.18. Relación entre la viscosidad aparente (mPa.s) y el tiempo de retraso del drenaje (min) para espumas mixtas de CMP (2 % p/p) con: MC B 0,1 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3), MC B 0,2 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3), MC B 0,5 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3), MC A 0,1 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3), MC A 0,2 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3), MC A 0,5 % w/w (■ pH 7, ★ pH 3). Se indican las regresiones lineales para cada pH con líneas punteadas, y las ecuaciones correspondientes están incluidas en la gráfica.

Con base en todos los resultados obtenidos en este trabajo, se propone un modelo para explicar la estabilización de las espumas CMP y CMP-MC a pH 7 y pH 3 (**Figura II.19**). En las espumas de CMP, tanto a pH 7 como a pH 3, el pequeño tamaño y la flexibilidad de las moléculas de CMP facilitan la migración y adsorción en la interfase aire-agua, promoviendo así una alta capacidad espumante (**Tabla II.9**); sin embargo, la fase continua de estas espumas, también con la presencia de las pequeñas moléculas de CMP, no es capaz de estabilizar las burbujas de aire, lo que hace que estas espumas sean muy inestables (**Figura II.14, Figura II.15** y **Figura II.16**).

En las espumas CMP-MC, a pH 7, debido a su menor tamaño, el CMP migra y se reorganiza más fácilmente en la interfase aire-agua que el MC (**Figura II.9** y **Tabla II.6**). Por lo tanto, es posible suponer que más moléculas de CMP, con carga negativa, están presentes en la interfase aire-agua, mientras que el MC, también con carga negativa, se mantiene mayoritariamente en la fase continua, aumentando la viscosidad. Además, al incrementar la concentración de MC en la mezcla, más moléculas de MC contribuirían a un mayor aumento de la viscosidad de la fase continua (**Tabla II.8**), lo que incrementa la estabilidad de las espumas a este pH respecto a la espuma de CMP (**Figura II.14, Figura II.15** y **Figura II.16**). Cuando el pH disminuye a 3, por debajo del punto isoeléctrico (pI) del CMP, podrían ocurrir interacciones electrostáticas entre CMP y MC, con cargas opuestas, como se verificó por el mayor tamaño de la mezcla (**Figura II.17**). Así, el complejo CMP-MC estabilizaría de manera más eficiente las espumas, no sólo por su contribución a la viscosidad de la fase continua (de forma similar que a pH 7), sino también por la migración del complejo a la interfase aire-agua, promoviendo la formación de una película más elástica que la generada por los componentes individuales, sobre todo para las mezclas con MC A (**Figura II.11**), y mejorando así la resistencia de las espumas a los fenómenos de desestabilización.

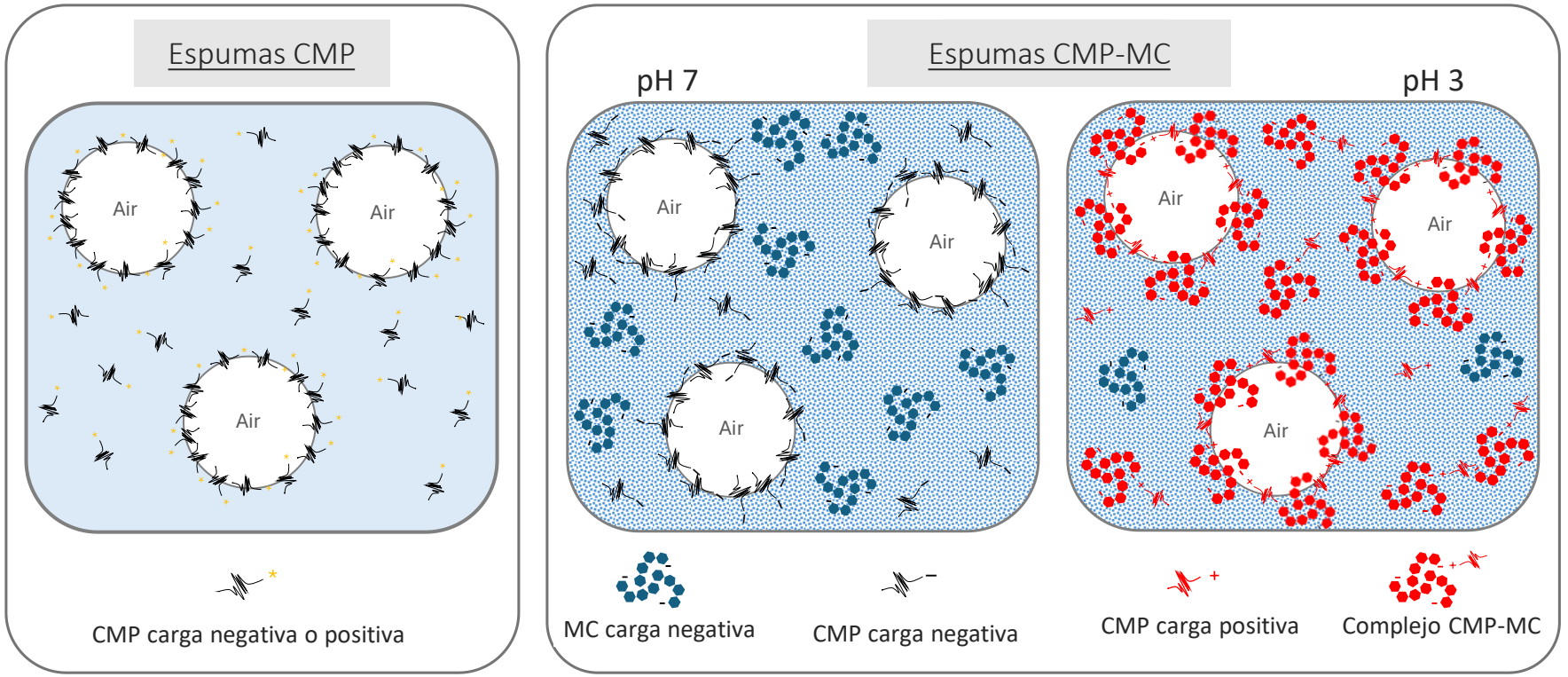


Figura II.19. Esquema del modelo propuesto para explicar la mejora de las propiedades espumantes de las espumas mixtas CMP-MC.

Los resultados obtenidos en esta sección permiten comprender el comportamiento de ambos biopolímeros (MC y CMP), tanto individualmente como en soluciones mixtas, lo que resulta un factor crítico para optimizar las condiciones de uso (pH y concentración) y ampliar sus aplicaciones en espumas, proporcionando un nuevo ingrediente para mejorar la estabilidad de las espumas proteicas.

2.3.5. Capacidad emulsionante

Algunos autores han evaluado las propiedades emulsionantes del MC (Capitani et al., 2016; Timilsena et al., 2016), que resultan de interés para alimentos como aderezos, salsas, yogures, salchichas, helados, etc. Además, se ha reportado también el efecto que tiene la presencia de MC en la bioaccesibilidad de ácidos grasos durante la digestión gastroduodenal (Tamargo, 2020), reduciendo de manera significativa la liberación de ácidos grasos. Esto último tiene gran importancia para el control de enfermedades no trasmisibles como la obesidad, problemas cardiovasculares, etc. Por ello, y debido a que en el siguiente capítulo se pretende evaluar el efecto en la lipólisis, es que resulta esencial primero poder evaluar las propiedades emulsionantes de los mucílagos obtenidos en este trabajo (MC A y B) para luego evaluar el impacto que su incorporación puede tener sobre la salud de los consumidores.

De manera adicional, se estudiaron también las propiedades emulsionantes de sistemas mixtos de proteína y MC, en particular se evaluó su combinación con β-lactoglobulina. Para luego determinar también, si la presencia del MC modifica también la liberación de ácidos grasos en emulsiones mixtas con proteína.

En este estudio no se incluyeron los MC HPH, ya que se buscó trabajar con las soluciones más viscosas, es decir sin tratamiento HPH, con el interés de formular emulsiones más estables. Aunque una viscosidad alta puede disminuir en parte la eficacia del proceso de emulsificación, o requerir mayor energía para formarla, luego el tamaño de gota se mantiene estable por más tiempo. Un aumento en la viscosidad de la fase continua de una emulsión reduce la tasa de coalescencia y sedimentación de las gotas, lo cual contribuye a una mayor estabilidad de la emulsión (McClements, 2015).

2.3.5.1. Propiedad emulsionante del MC

Se prepararon emulsiones aceite-agua en una relación 20-80 partiendo de soluciones de MC A y B a distintas concentraciones (0,2, 0,5 y 1,0 % p/p) y aceite de girasol. Se evaluó el tamaño de gota inicial de las emulsiones y durante su almacenamiento a una temperatura de 25 °C mediante dispersión estática de luz (SLS) y también la estabilidad de las mismas mediante un analizador de estabilidad de dispersiones coloidales.

2.3.5.1.1. Determinación del tamaño de gota por dispersión estática de luz

La **Figura II.20** muestra las distribuciones de tamaño de gota de emulsiones iniciales estabilizadas con distintas concentraciones (0,2 %, 0,5 % y 1 % p/p) de MC A (**Figura II.20 I**) y MC B (**Figura II.20 II**). En la misma figura se incluyó también la distribución de tamaño de gota de una emulsión formulada con goma xántica al 0,5 % p/p con fines comparativos.

Los resultados muestran que las emulsiones presentaron inicialmente una distribución polimodal para ambos MC con una población mayoritaria entre 3-6 µm para el MC A y 4-10 µm para el MC B en el rango de concentraciones evaluadas. Si bien dichos tamaños de gota son relativamente grandes, son menores que los observados para la emulsión con goma xántica, la cual presentó un pico principal con valores máximos alrededor de 40 µm. En las emulsiones formuladas con ambos MC, A (**Figura II.20 I**) y B (**Figura II.20 II**), a medida que aumentó la concentración de mucílago en la emulsión, se observó una tendencia a obtener emulsiones con diámetros de gota menores. De manera similar, Timilsena et al. (2016) observaron que el aumento de la concentración de mucílago en emulsiones da como resultado gotas de aceite más pequeñas, observado poblaciones de tamaño de gota entre 30 y 200 µm en emulsiones formuladas con concentraciones bajas de MC (0,025 y 0,05 % p/p), y entre 1 y 10 µm en emulsiones formuladas con 0,2 % p/p de MC, en el mismo rango de tamaño que el reportado en la **Figura II.20**; y relacionaron esa reducción de tamaño con una reducción apreciable en la tendencia a la coalescencia. En dicho trabajo los autores evaluaron diferente relación mucílago:aceite, con concentraciones máximas de mucílago de 0,4 % p/p; sin embargo, no incluyeron la evaluación del tamaño de gota de las emulsiones más concentradas.

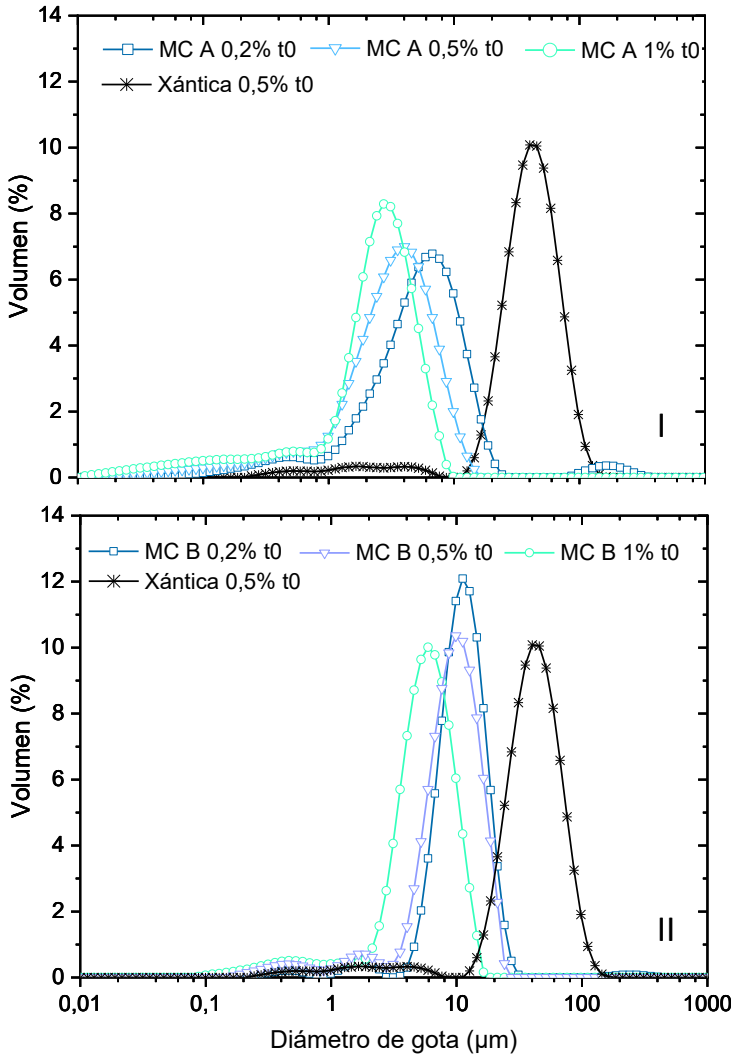


Figura II.20. Distribución de tamaño de gota inicial (t0) expresada en volumen (%) para las emulsiones de MC A (I) y de MC B (II) al 0,2, 0,5 y 1 % p/p y de goma xántica al 0,5 % p/p. Temperatura: 25 °C.

La **Figura II.21** muestra los perfiles de distribución de tamaño de gota de las emulsiones estabilizadas con MC (A y B), evaluadas a distintas concentraciones (0,2, 0,5 y 1 % p/p) y durante diferentes tiempos de almacenamiento (de 0 a 60 días). El objetivo fue analizar el efecto del tipo y concentración del mucílago sobre la estabilidad coloidal de las emulsiones a lo largo del tiempo. Como se verá en el siguiente apartado (2.3.5.1.2.) algunas emulsiones se desestabilizaron rápidamente en 24 h, otras duraron 15 días y las más concentradas se mantuvieron estables durante por al menos 2 meses. Por tal razón, en la **Figura II.21** se muestran resultados de distribuciones a diferentes tiempos según la emulsión.

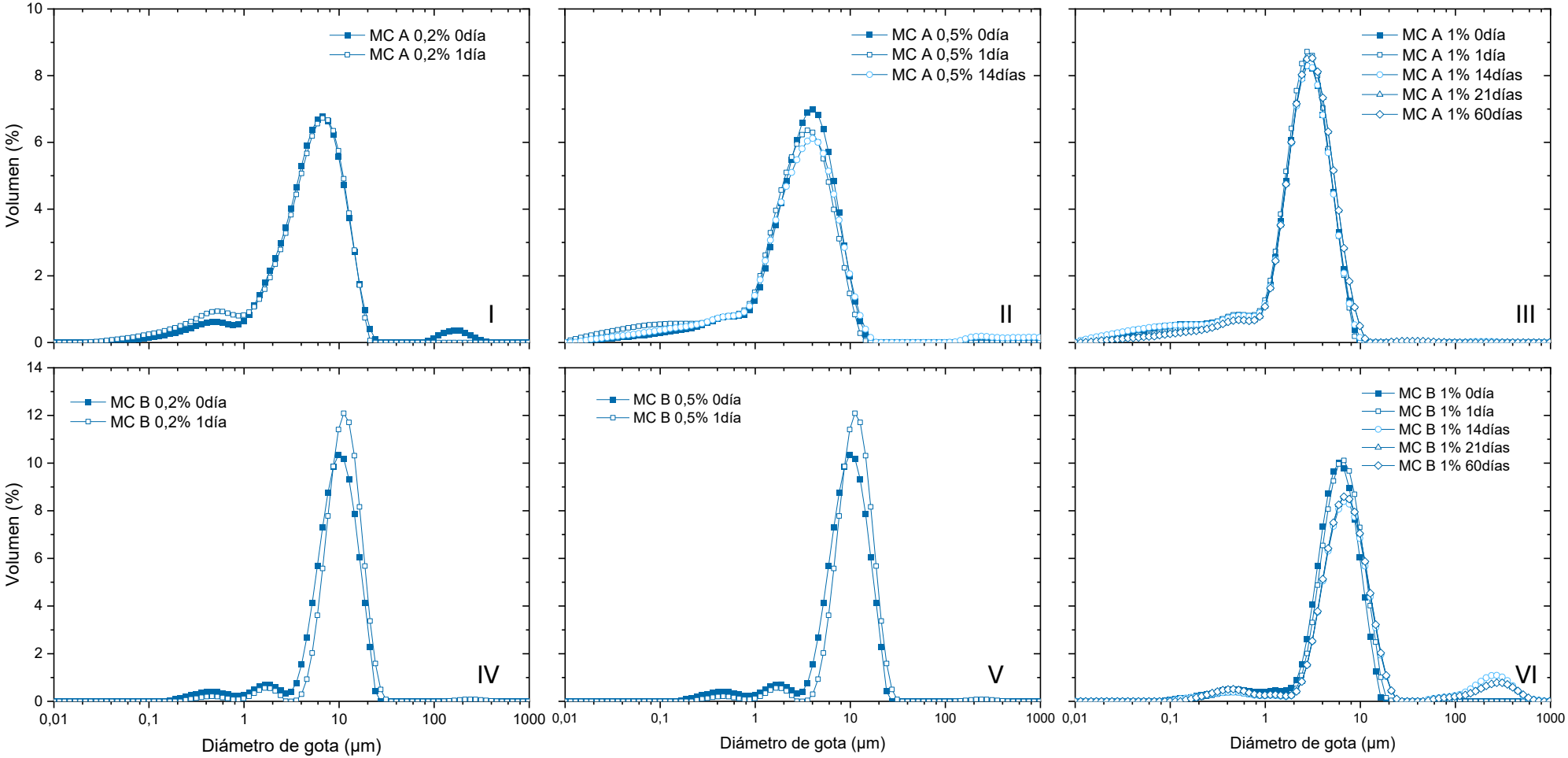


Figura II.21. Distribución de tamaño de gota expresada en volumen (%) para las emulsiones estabilizadas por MC A (I, II y III) y MC B (IV, V y VI) al 0,2, 0,5 y 1 % p/p a lo largo del tiempo. Temperatura: 25 °C.

En general, se observó que los tamaños de gota obtenidos inicialmente (**Figura II.20**) se mantuvieron durante el almacenamiento. Si bien se observa en algunos casos la aparición de pequeños picos a tamaños más grandes, no hay un cambio relevante en este parámetro durante el almacenamiento. Sin embargo, sí es posible observar que el aumento en la concentración de MC, además de permitir obtener tamaño de gota inicial más pequeño, como se discutió en la **Figura II.20**, permitió una mejor estabilización de la emulsión, ya que las emulsiones más concentradas, con tamaño de gota inicial más pequeño, se pudieron evaluar por un tiempo de almacenamiento superior (60 días).

En particular, en la distribución de tamaño de gota de la emulsión de MC A al 0,5 % p/p, luego de 14 días de almacenamiento se observó la aparición de un pico a tamaños más grandes (200-300 µm), que explican su posterior desestabilización. De manera similar, en la emulsión de MC B al 1 % p/p también se observó dicha población a tamaños mayores a partir de los 14 días de almacenamiento.

La emulsión estabilizada con MC A al 1 % p/p mostró la distribución de tamaño más homogénea durante todo el almacenamiento, manteniéndose en todo el período de evaluación en tamaños menores a 10 µm, sugiriendo ser una emulsión más estable.

En la **Figura II.22** se muestra la distribución de tamaño de gota de una emulsión estabilizada con goma xántica al 0,5 % p/p. Esta emulsión sólo pudo evaluarse a tiempo inicial y a las 24 h, ya que, como se verá en la siguiente sección, durante este período ya se desestabilizó por completo. El tamaño de gota se mantiene durante el primer día pero evidentemente el gran tamaño de gota inicial promueve su desestabilización posterior.

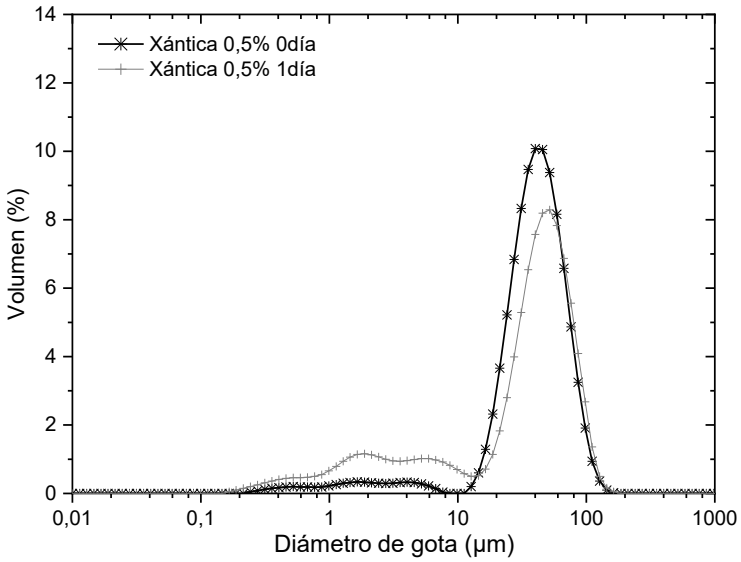


Figura II.22. Distribución de tamaño de gota expresada en volumen (%) para la emulsión estabilizada por goma xántica al 0,5 % p/p a lo largo del tiempo. Temperatura: 25 °C.

En la **Tabla II.10** se muestran los diámetros $D_{3,2}$, $D_{4,3}$ que surgen del análisis de las distribuciones de tamaño. El valor de $D_{3,2}$ de las emulsiones a tiempo 0 reflejan lo que se observa en las distribuciones, que se obtienen tamaños de gota significativamente menores a medida que aumenta la concentración de mucílago en la emulsión. Esto se observa para ambos mucílagos; sin embargo, los diámetros $D_{3,2}$ de las emulsiones de MC B fueron superiores a los del MC A, a las tres concentraciones evaluadas.

A medida que avanza el tiempo de almacenamiento, en algunas muestras, se observa un aumento del $D_{3,2}$; sin embargo, dicho aumento no es de gran magnitud, lo que se condice con lo observado en las distribuciones en las que el tamaño de gota, en general, se mantiene a lo largo del tiempo sin grandes cambios.

Tabla II.10. Diámetros promedio ($D_{3,2}$ y $D_{4,3}$) obtenidos para las emulsiones de MC A y MC B a diferentes concentraciones (0,2, 0,5 y 1 % p/p) a pH natural, a tiempo inicial y durante el almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C).

	MC	Conc. (%)	0 días	1 día	14 días	21 días
$D_{3,2}$ (µm)	A	0,2	$2,03 \pm 0,35^{bA}$	$2,49 \pm 0,13^{bA}$	-	-
		0,5	$0,91 \pm 0,21^{aA}$*	$0,90 \pm 0,11^{aA}$	$1,02 \pm 0,09^{bA}$	-
		1,0	$0,51 \pm 0,22^{aAB}$	$0,73 \pm 0,11^{aB}$	$0,48 \pm 1,10^{aA}$	$0,87 \pm 0,15^{AB}$
	B	0,2	$5,09 \pm 0,06^{b}$	-	-	-
		0,5	$4,71 \pm 0,09^{bA}$*	$7,35 \pm 0,10^{bB}$	-	-
		1,0	$2,88 \pm 0,08^{aA}$	$3,85 \pm 0,06^{aB}$	$3,66 \pm 0,23^{B}$	$3,76 \pm 0,08^{B}$
	Goma Xántica	0,5	15,05 ± 2,80*	-	-	-
$D_{4,3}$ (µm)	A	0,2	$10,25 \pm 0,97^{cA}$	$6,16 \pm 0,11^{cB}$	-	-
		0,5	$3,98 \pm 0,06^{bA}$*	$3,45 \pm 0,09^{bA}$	$4,66 \pm 0,67^{bA}$	-
		1,0	$2,75 \pm 0,05^{aA}$	$2,92 \pm 0,08^{aA}$	$3,10 \pm 0,03^{aA}$	$3,38 \pm 0,32^{A}$
	B	0,2	$15,71 \pm 1,06^{c}$	-	-	-
		0,5	$10,36 \pm 0,18^{bA}$*	$12,33 \pm 1,64^{bA}$	-	-
		1,0	$2,88 \pm 0,03^{aA}$	$6,63 \pm 0,20^{aB}$	$7,68 \pm 0,87^{B}$	$6,95 \pm 0,28^{B}$
	Goma Xántica	0,5	44,75 ± 4,10*	-	-	-

Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna y para cada mucílago ($p < 0,05$). Valores seguidos por letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($p < 0,05$). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas dentro de una misma columna, entre goma xántica y cada MC a 0,5%.

El $D_{4,3}$, es un diámetro más sensible a la aparición de picos más grandes, por ello en las distribuciones (**Figura II.21**) donde se observó la aparición de poblaciones a mayores tamaños, también se observó un cambio significativo en este diámetro. En particular, en las emulsiones formuladas con MC A 0,5 % p/p y MC B al 1 % p/p, ambas a los 14 días de formada la emulsión, la aparición del pico en el rango de tamaño 200-300 µm, provocó un aumento del $D_{4,3}$ desde 3,98 µm a 4,66 µm para la emulsión de MC A 0,5 % p/p y un aumento significativo desde 2,88 µm a 7,68 µm para la emulsión de MC B al 1 % p/p.

Estos resultados destacan la importancia de seleccionar no sólo la concentración adecuada, sino también el tipo de mucílago, en función del tiempo de vida útil relacionado con la estabilidad deseada para el sistema emulsionado.

2.3.5.1.2. Determinación de estabilidad de emulsiones por dispersión de luz múltiple estática

Como se mostró en la sección 2.4.6.3. de materiales y métodos, para entender de qué trata este estudio y cómo se observan los distintos fenómenos de desestabilización, se muestran a continuación los perfiles de retrodispersión (Backscattering, BS) de emulsiones de MC A (I, II y III) y MC B (IV, V y VI) al 0,2, 0,5 y 1 % p/p, en función de la altura del tubo que la contiene y a distintos tiempos (**Figura II.23**). El primer perfil obtenido es considerado siempre el perfil correspondiente al tiempo cero (**Figura II.23**, curva negra, definida como 0 días). Si el valor de BS se mantiene constante a lo largo del tubo se puede considerar que no presenta fenómenos de desestabilización. Realizando sucesivos barridos a lo largo del tiempo es posible registrar cambios en el perfil (Ejemplo: MC 0,2% p/p **Figura II.23 I** y **IV**, curva naranja, definida como 1 día) que permiten la evaluación de los mecanismos de desestabilización que prevalecen, la cinética de los mismos y el grado de desestabilización de una emulsión (Buron et al., 2004). Las zonas de variación de retrodispersión a lo largo de la altura del tubo indican las áreas donde se produce estos procesos.

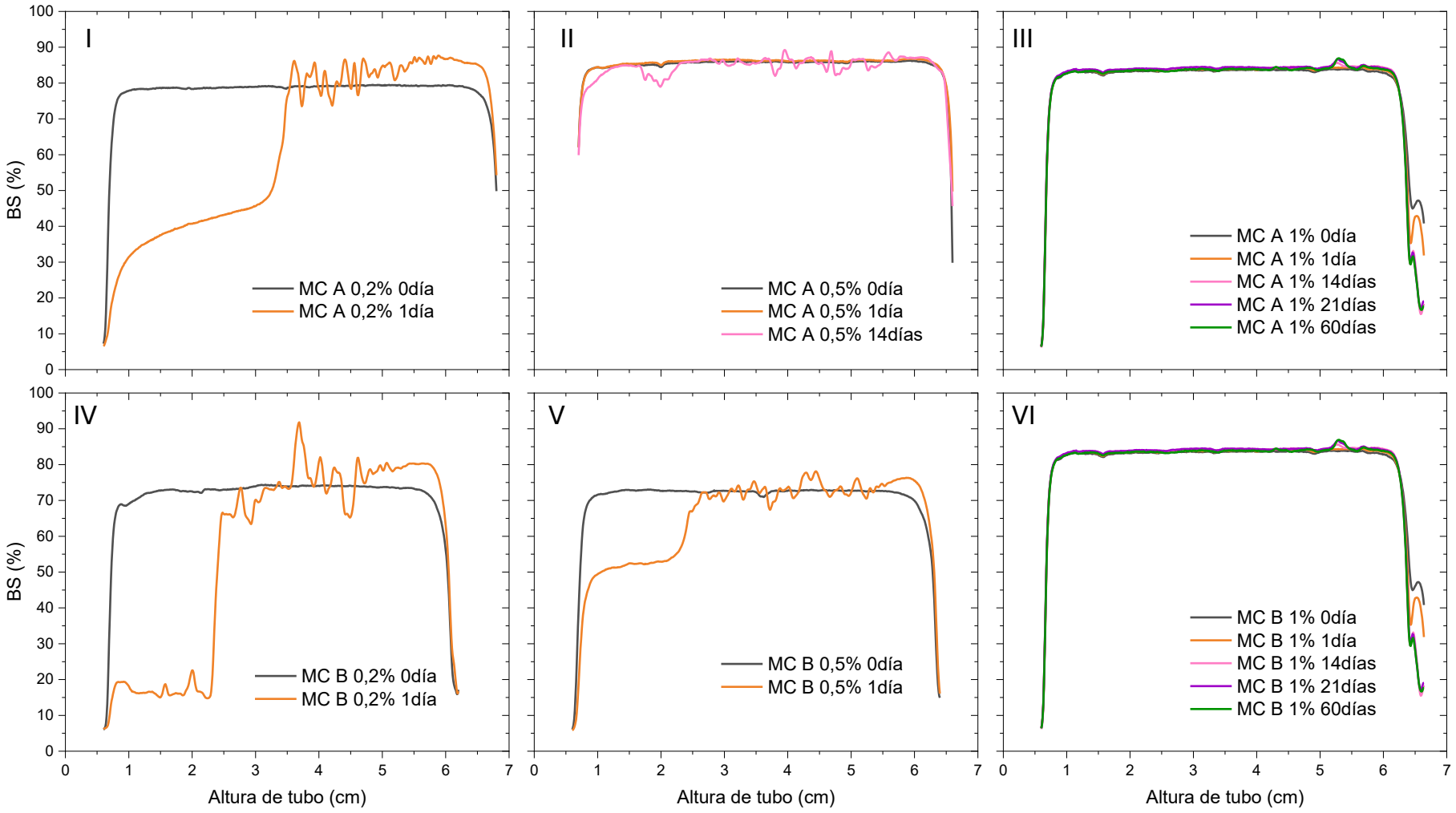


Figura II.23. Perfiles de backscattering (BS %) de emulsiones de MC A (I, II y III) y MC B (IV, V y VI) a 0,2, 0,5 y 1% p/p a lo largo del tiempo de almacenamiento a 25 °C, en función de la altura de tubo en cm (eje X).

Con el objetivo de explicar cómo es posible determinar los fenómenos de desestabilización mediante esta técnica, en la **Figura II.24 I**, se muestran a modo de ejemplo, curvas modelos donde se observa una disminución del BS en el fondo de la celda (0-20 mm) y un aumento del mismo en la parte superior (50-65 mm) a medida que transcurre el tiempo, y la existencia de un punto isosbéstico. Este tipo de comportamiento refleja la migración de las gotas de aceite desde la parte inferior hacia la superficie, generando una disminución progresiva de la concentración de partículas dispersas en el fondo de la celda (clarificación) y consecuentemente una disminución en la retrodispersión. Lo contrario se observa en la parte superior de la muestra, donde se concentran las partículas y aumenta el BS. Este tipo de perfiles se corresponden con fenómenos de cremado. La existencia del punto isosbéstico indica que no existe cambio en el tamaño de partícula/gota (Mengual et al., 1999). Se obtienen perfiles análogos en el análisis de muestras que sedimentan, pero dado que la migración de partículas es hacia abajo, el BS disminuye en la parte superior del tubo y aumenta en el fondo.

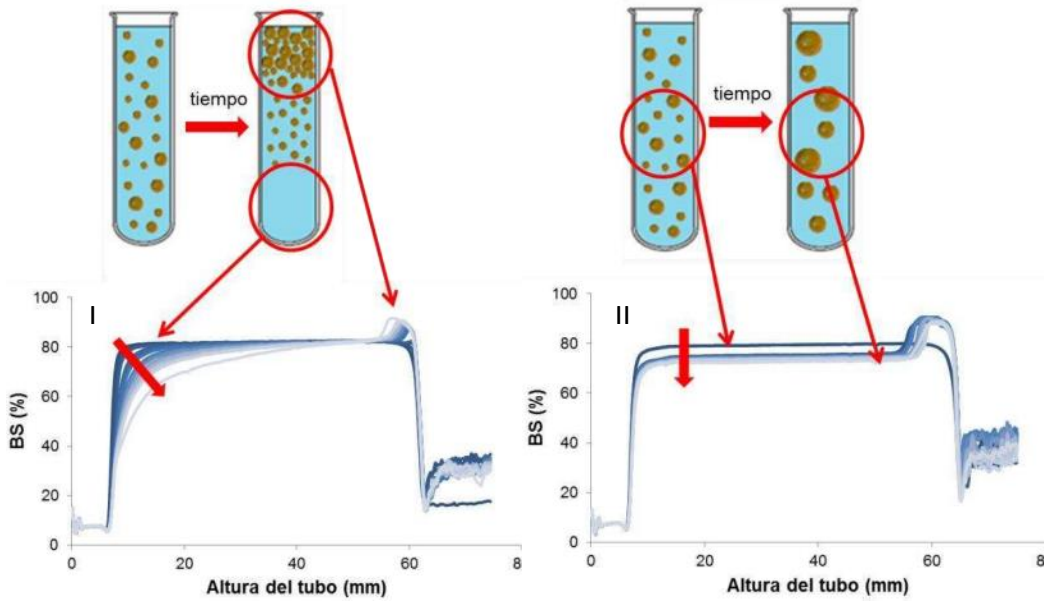


Figura II.24. Perfiles de retrodispersión (backscattering (BS), %) en función de la altura de tubo (mm) una emulsión ejemplo obtenidos a distintos tiempos.

En el caso de emulsiones que se desestabilizan por floculación o coalescencia, los perfiles obtenidos con el Turbiscan revelan una disminución del valor de BS en la parte central del tubo (intervalo 20-50 mm) en el tiempo, sin existencia de punto isosbéstico

(**Figura II.24 II**). Este comportamiento implica cambios en el tamaño de las gotas, ya que el BS cambia al cambiar el tamaño de gota. Como fue demostrado por Mengual et al. (1999), el BS disminuye cuando crece el tamaño de gota (cuando es mayor que la longitud de onda de la luz incidente, λ = 850 nm) o aumenta con el tamaño de gota (si es menor que la λ de la luz incidente).

Al evaluar los perfiles de BS obtenidos en el presente estudio (**Figura II.23**), se observó que las emulsiones de MC A y B al 1 % p/p exhibieron una notable estabilidad a lo largo del tiempo, sin presentar signos visibles de desestabilización durante el período de 60 días en que se llevó a cabo el estudio (**Figura II.23 III** y **VI**). Sin embargo, a concentraciones menores el comportamiento fue diferente. En las emulsiones estabilizadas por MC A al 0,2 % p/p y MC B al 0,2 y 0,5 % p/p, se observó una marcada disminución en el BS en sólo 24 horas, lo que sugiere un rápido proceso de desestabilización, observándose clarificación y cremado (**Figura II.23 I**, **IV** y **V**). Por otro lado, las emulsiones del MC A al 0,5 % p/p mostraron una estabilidad intermedia, manteniéndose estables durante 14 días (**Figura II.23 II**). En general, se observó que el aumento en la concentración de MC mejora la estabilidad de las emulsiones, reflejándose en perfiles más homogéneos y planos, sin fluctuaciones abruptas que indiquen procesos de desestabilización. Estos resultados sugieren que, si bien ambos mucílagos presentan capacidad emulsionante, el MC A exhibe un mejor desempeño en mantener la emulsión estable a largo plazo, especialmente a concentraciones más elevadas. En cambio, MC B parece más sensible a fenómenos de desestabilización cuando se emplea en concentraciones bajas.

Para evaluar el desempeño de los MC en términos de estabilidad emulsionante, se realizó un análisis comparativo con goma xántica (**Figura II.25**). Los perfiles de BS muestran que, en la emulsión estabilizada con goma xántica (al 0,5 % p/p), se observaron cambios significativos en apenas 1 hora, con una disminución del BS que indica inestabilidad temprana. A las 24 horas, la emulsión presentó una desestabilización evidente, aunque sin separación de aceite, sugiriendo una menor capacidad estabilizante en comparación con los mucílagos evaluados.

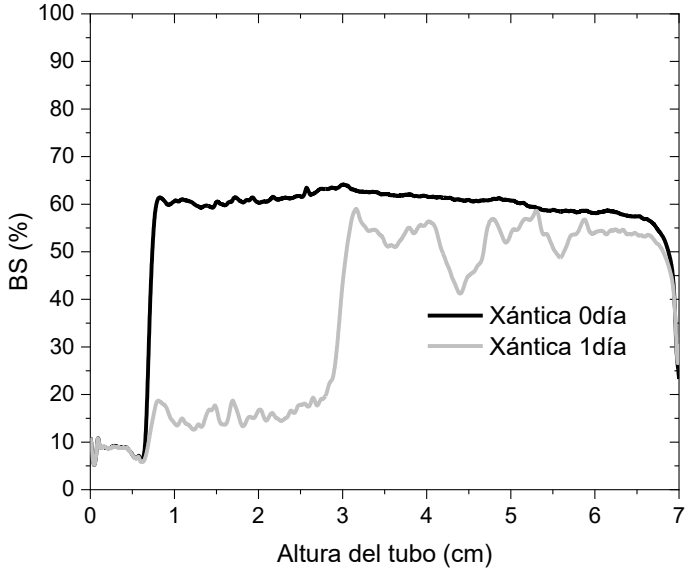


Figura II.25. Perfil de backscattering (BS %) de una emulsión de goma xántica al 0,5 % p/p a tiempo inicial y luego de 1 día de almacenamiento a 25 °C.

De manera adicional, a partir de la comparación de los perfiles de BS en el tiempo, es posible calcular un Índice de Estabilidad (TSI) (tal como se explicó en la sección de Materiales y Métodos), relacionando la variación del perfil en relación al tiempo inicial. Por lo tanto, el TSI a tiempo 0 es 0 y a medida que la emulsión se desestabiliza el valor de TSI aumenta; dicho índice permite determinar la magnitud de la desestabilización. Los valores de TSI correspondientes a las emulsiones estabilizadas por MC y también la estabilizada por goma xántica se muestran en la **Tabla II.11**.

En general, los resultados confirmaron que, a mayor concentración de mucílago, se observa un mejor comportamiento estabilizante, evidenciado por valores de TSI más bajos y con menor variación a lo largo del tiempo. Para MC A, la emulsión al 0,2 % p/p luego de 1 h de preparada la emulsión presentó un valor de TSI inicial de 1,0, y experimentó una rápida desestabilización luego de 24 horas (20,1), por lo que no se continuó su evaluación. En cambio, al 0,5 % p/p, la emulsión mantuvo valores bajos de TSI hasta los 14 días, aunque aumentó de forma considerable en ese punto (15,6). Finalmente, a 1 % p/p, los valores de TSI permanecieron estables y bajos (0,2) durante todo el período analizado (60 días), lo cual indica una buena estabilidad a largo plazo.

Tabla II.11. Índice de Estabilidad (TSI) obtenidos para las emulsiones de MC A y MC B a diferentes concentraciones (0,2, 0,5 y 1 % p/p) y de goma xántica (0,5 % p/p) durante el almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C).

		TSI*				
MC	**Conc. (%)**	**1 hora**	**1 día**	**14 días**	**21 días**	**60 días**
A	0,2	$1,0 \pm 0,2^{bA}$	$20,1 \pm 0,1^{bB}$	-	-	-
	0,5	$0,1 \pm 0,1^{aA}$*	$0,5 \pm 0,0^{aB}$*	$15,6 \pm 0,9^{bC}$	-	-
	1,0	$0,2 \pm 0,0^{aA}$	$0,5 \pm 0,3^{aA}$	$2,0 \pm 0,8^{aB}$	$2,2 \pm 0,9^{B}$	$2,9 \pm 0,6^{B}$
B	0,2	$5,3 \pm 0,0^{b}$	-	-	-	-
	0,5	$2,4 \pm 1,7^{aA}$	$21,5 \pm 0,3^{bB}$*	-	-	-
	1,0	$0,2 \pm 0,1^{aA}$	$1,0 \pm 0,3^{aB}$	$2,6 \pm 0,8^{C}$	$2,9 \pm 0,9^{C}$	$4,2 \pm 1,8^{C}$
Goma xántica	0,5	1,2 ± 0,2*	35,4 ± 0,1*	-	-	-

*Índice de Estabilidad Turbiscan. Valores seguidos por letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna para cada mucílago difieren significativamente. Valores seguidos por letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($p < 0,05$). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas dentro de una misma columna, entre goma xántica y cada MC a 0,5% p/p.

En cuanto a la emulsión estabilizada con el MC B, el comportamiento fue algo diferente; al 0,2 % p/p, el valor luego de 1 hora de preparada la emulsión fue 5,3, valor más alto que para la emulsión formulada con el MC A, lo cual sugiere una menor eficiencia estabilizante en comparación con MC A. Al 0,5 % p/p, se observó una marcada desestabilización luego del primer día (21,5). No obstante, a 1 % p/p, el sistema mostró una evolución más controlada, con valores de TSI similares a los observados con MC A al 1 % p/p, aunque levemente más elevados hacia el día 60 (4,2).

En comparación, la emulsión con goma xántica al 0,5 % p/p mostró una mayor inestabilidad desde etapas tempranas, el TSI fue relativamente bajo al inicio (1,2), pero se incrementó abruptamente luego de 1 día de almacenamiento (35,4), lo cual indica una menor eficacia para estabilizar la emulsión.

Los valores de TSI evidencian que ambos MC A y B son eficaces estabilizando emulsiones a concentraciones superiores a 0,5 % p/p. Además, el MC A resultó ser más eficiente en comparación con MC B y la goma xántica. Esto es consistente con el hecho de que las emulsiones de MC A presentaron un menor tamaño de gota por lo cual experimentan una velocidad de separación gravitacional más lenta y en consecuencia una mayor

estabilidad. La rápida desestabilización observada en la emulsión estabilizada con goma xántica sugiere que, al menos en este tipo de sistema y concentración, el MC representa una alternativa natural más robusta para el diseño de emulsiones estables en el tiempo. Timilsena et al. (2016) definen que la relación mínima goma/aceite necesaria para una cobertura suficiente de las gotas de aceite se conoce como índice de cobertura (Rc) y, a partir de esto, concluyen que en comparación con otras gomas comúnmente utilizadas, como la goma de algarrobo (Rc ≥ 20), la goma guar (Rc ≥ 18) y la goma de fenogreco (Rc ≥ 12), el MC presenta un valor de Rc significativamente más bajo (Rc > 3,3) y, por ende, puede actuar como un estabilizante más eficaz en emulsiones aceite:agua. Al igual que Timilsena et al. (2016), el Rc (goma/aceite * 100) obtenido en el presente trabajo ronda entre 2,5 y 5 para 0,5 % y 1 % p/p de MC, respectivamente.

En general, los resultados sugieren que el MC A posee una mejor capacidad emulsionante que el MC B, ya que genera tamaños de gota más pequeños y emulsiones más estables a concentraciones menores. En cambio, el MC B requiere concentraciones más altas para lograr una estabilidad similar, lo que puede explicarse por la mayor viscosidad que presenta el MC A, ya que, el principal mecanismo mediante el cual los polisacáridos hidrofílicos estabilizan emulsiones es mediante el aumento de la viscosidad de la fase continua, lo que reduce la movilidad cinética de las gotas de aceite y, por ende, disminuye la coalescencia de partículas (Garti y Leser, 2001). Sin embargo, a la concentración del 1,0 % p/p, ambos mucílagos lograron un comportamiento estable y comparable, indicando que, en concentraciones elevadas, las diferencias entre ellos se reducen y ambos pueden utilizarse como estabilizantes eficientes en emulsiones. Estos hallazgos resaltan la importancia de optimizar la concentración del biopolímero en función de la estabilidad deseada en sistemas emulsionados y destacan el potencial del MC como alternativa a estabilizantes comerciales como la goma xántica, ofreciendo una estabilidad incluso superior en condiciones óptimas.

2.3.5.2. Mucílago de chía como estabilizante de emulsiones proteicas

La β-lactoglobulina (Blg) es una proteína ampliamente utilizada como referencia en términos de emulsificación debido a su capacidad para adsorberse en la interfase aceite-agua y formar películas protectoras alrededor de las gotas, contribuyendo a la estabilidad de las emulsiones. Sin embargo, en ciertos sistemas, su desempeño puede

verse afectado por la agregación proteica o la coalescencia de las gotas a lo largo del tiempo. Dado que el MC ha demostrado poseer propiedades emulsionantes y estabilizantes (Timilsena et al., 2016), se evaluó si su incorporación en diferentes concentraciones (0,1 y 0,3 % p/p) podría mejorar la estabilidad de emulsiones formuladas con Blg al 2 % p/p.

Si bien la emulsión de Blg es suficientemente estable, este estudio tenía como objetivo evaluar si la presencia de MC alteraba dicha estabilidad, mejorándola o disminuyéndola, ya que posteriormente se pretendía evaluar el efecto de la presencia del MC en la liberación de ácidos grasos de emulsiones durante la digestión gastroduodenal. Además de evaluar dicho proceso en emulsiones de MC solo, se buscaba estudiar si la presencia de MC en emulsiones proteicas alteraba el proceso de lipólisis, como se verá más adelante en el Capítulo 3. Por ello, antes de evaluar cómo el MC afecta el proceso de lipólisis, debíamos entender si alteraba de algún modo la estabilidad de la emulsión.

A continuación, se presentan las figuras correspondientes a las distribuciones de tamaño de gota inicial (**Figura II.26)** y durante el tiempo de almacenamiento (**Figura II.27**) y el perfil de BS a lo largo del tiempo (**Figura II.28**), con el objetivo de analizar el impacto del MC sobre la estabilidad del sistema mixto. En particular se evaluaron emulsiones mixtas con MC A teniendo en cuenta la mayor viscosidad que aporta este mucílago respecto al MC B, y el sabido impacto que tiene la viscosidad sobre la estabilidad de las emulsiones, corroborado además en la sección anterior.

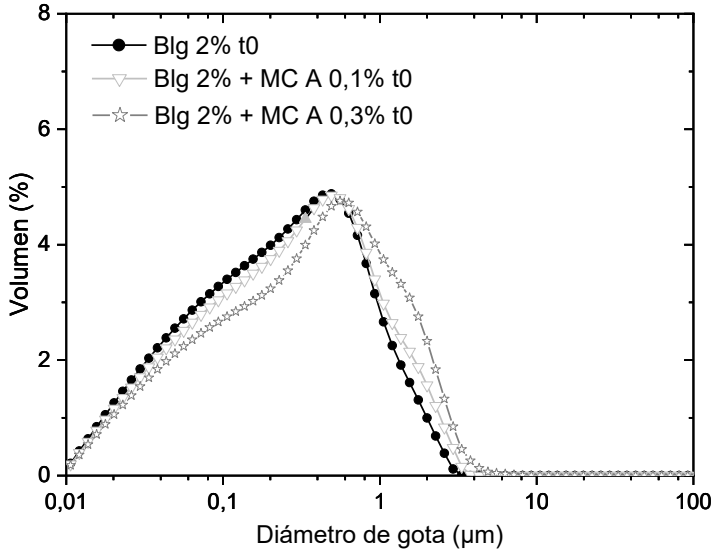


Figura II.26. Distribución de tamaño de gota expresada en volumen (%) de la emulsión de Blg 2 % p/p, Blg 2 % + MC A 0,1 % p/p y Blg 2 % + MC A 0,3 % p/p a tiempo 0 (t_0).

Los resultados de la distribución de tamaño de gota inicial (**Figura II.26**) mostraron en general tamaños de gotas muy pequeños, con diámetros de gota menores a 2 µm. La incorporación de MC indujo un leve desplazamiento hacia diámetros mayores cuanto mayor era la concentración de mucílago.

La **Figura II.27** muestra la evolución en el tiempo de la distribución de tamaño de gota de las emulsiones formuladas con Blg al 2 % p/p sola y combinada con MC A a 0,1 % y 0,3 % p/p.

El análisis se realizó durante 60 días de almacenamiento. En el caso de la emulsión con Blg al 2 % p/p sin MC, no se observan cambios notables en el tamaño de gota a lo largo del tiempo. De igual manera, cuando se incorporó MC A al 0,1 % p/p, el perfil de tamaño de gota se mantuvo prácticamente invariable durante los 60 días, sin desplazamientos notables ni ensanchamiento del pico principal. Este resultado evidencia que, el MC A al 0,1 % p/p no altera la estabilidad de la emulsión proteica. Sin embargo, en el caso de la mezcla con MC A al 0,3 % p/p, se observó, aunque levemente, la aparición de un hombro en la distribución en poblaciones con diámetros entre 3 y 10 µm a lo largo del tiempo, lo que indica una posible tendencia a la coalescencia y un aumento en el tamaño medio de gota que resulto significativo (**Tabla II.12**). Este comportamiento es característico de una desestabilización paulatina del sistema emulsionado, posiblemente por el debilitamiento de la película interfacial con el tiempo, o incluso una incompatibilidad física entre la Blg y el MC a mayores concentraciones.

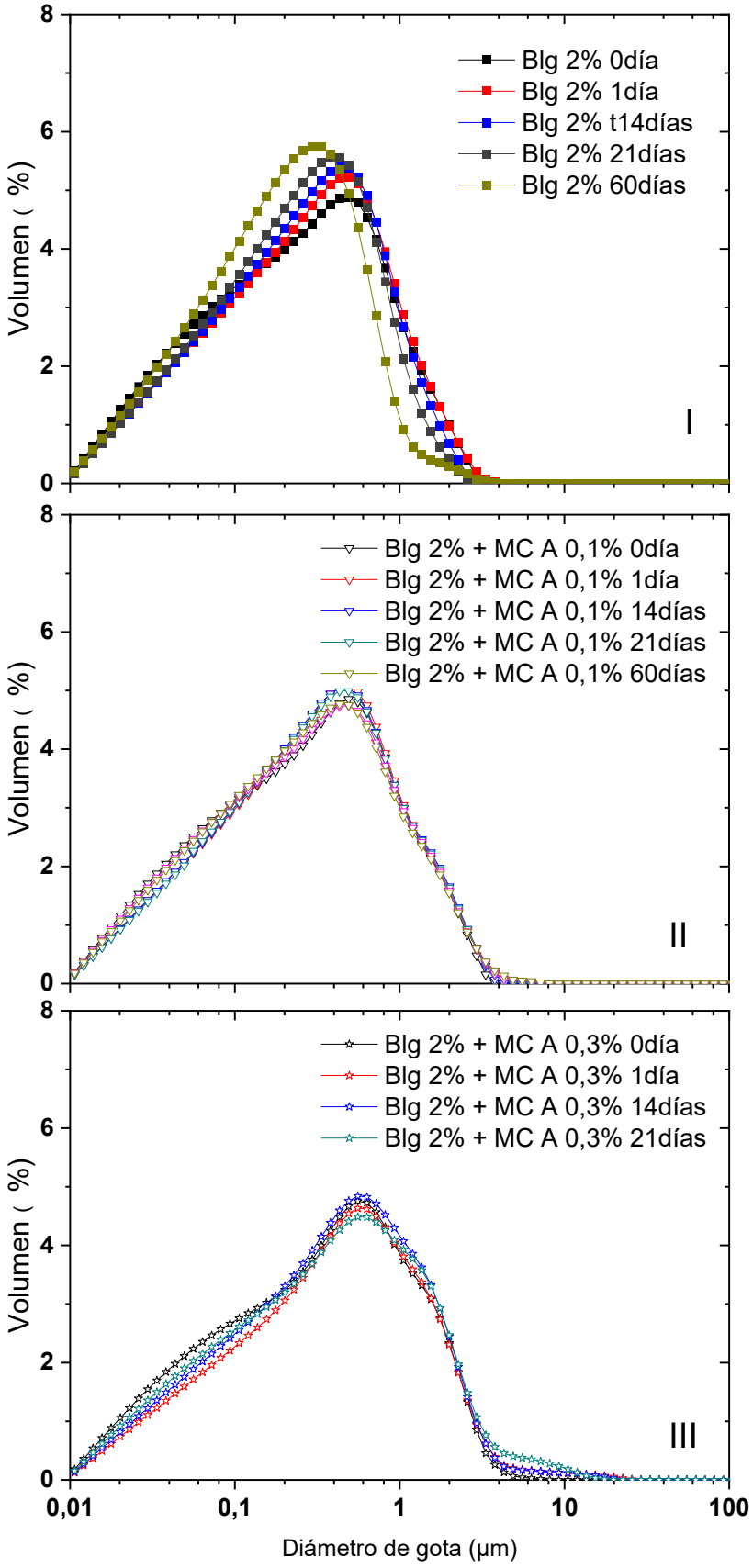


Figura II.27. Distribución de tamaño de gota expresada en volumen (%) de la emulsión de Blg 2 % p/p (I), Blg 2 % p/p + MC A 0,1 % p/p (II) y Blg 2 % p/p + MC A 0,3 % p/p (III) a lo largo del tiempo.

La **Tabla II.12** presenta los valores de diámetro promedio de gota obtenidos por volumen superficial ($D_{3,2}$) y volumen medio ($D_{4,3}$) para emulsiones formuladas con Blg al 2 % p/p, solas o combinadas con MC a dos concentraciones (0,1 % y 0,3 % p/p).

Los valores de $D_{3,2}$ para las tres emulsiones se mantuvieron estables y por debajo de 0,2 µm durante el período analizado. No se observaron diferencias significativas para una misma emulsión durante el almacenamiento (letras mayúsculas iguales), lo que indica que no se produjeron fenómenos marcados de coalescencia o desestabilización que afecten a la emulsión. Sin embargo, al comparar entre emulsiones (letras minúsculas en cada columna), se evidenció que la incorporación de MC A al 0,3 % p/p generó un ligero aumento inicial en el tamaño promedio de gota (0,16 µm), respecto a la emulsión con Blg sola (0,11 µm).

Tabla II.12. Diámetros promedio ($D_{3,2}$ y $D_{4,3}$) obtenidos para las emulsiones de Blg 2 % p/p y las mezclas con MC A al 0,1 y 0,3 % p/p a pH natural, inicial y durante el almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C).

	Emulsión	0 días	1 día	14 días	21 días
$D_{3,2}$ (µm)	Blg 2 % p/p	$0,11 \pm 0,00^{aA}$	$0,12 \pm 0,00^{aA}$	$0,11 \pm 0,00^{aA}$	$0,12 \pm 0,00^{aA}$
	Blg 2 % p/p-MC A 0,1 % p/p	$0,12 \pm 0,00^{abA}$	$0,12 \pm 0,00^{aA}$	$0,10 \pm 0,00^{aA}$	$0,13 \pm 0,00^{aA}$
	Blg 2 % p/p-MC A 0,3 % p/p	$0,16 \pm 0,02^{bA}$	$0,14 \pm 0,00^{bA}$	$0,14 \pm 0,00^{bA}$	$0,13 \pm 0,00^{aA}$
$D_{4,3}$ (µm)	Blg 2 % p/p	$0,44 \pm 0,00^{aA}$	$0,41 \pm 0,00^{aA}$	$0,40 \pm 0,00^{aA}$	$0,51 \pm 0,00^{aB}$
	Blg 2 % p/p-MC A 0,1 % p/p	$0,51 \pm 0,01^{bA}$	$0,50 \pm 0,01^{bA}$	$0,47 \pm 0,00^{bA}$	$0,55 \pm 0,01^{aA}$
	Blg 2 % p/p-MC A 0,3 % p/p	$0,62 \pm 0,00^{cA}$	$0,89 \pm 0,02^{cB}$	$0,85 \pm 0,00^{cB}$	$0,88 \pm 0,02^{bB}$

Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna y para cada mucílago ($p < 0,05$). Valores seguidos por letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($p < 0,05$).

En contraste con $D_{3,2}$, los valores de $D_{4,3}$ mostraron mayor sensibilidad al tiempo de almacenamiento, especialmente en la emulsión con MC A al 0,3 % p/p, donde se registraron aumentos significativos entre el día 0 y los días 1 a 21 (de 0,62 a 0,88–0,89 µm). Esto indica una redistribución de las gotas hacia tamaños más grandes. Este comportamiento contrasta con la emulsión control (Blg sola), que mantuvo valores estables en los primeros 14 días y sólo presentó un aumento significativo a los 21 días (de 0,44 a 0,51 µm) pero que se mantuvo dentro del orden. La emulsión mixta con MC A al 0,1 % p/p mostró un comportamiento intermedio, con un $D_{4,3}$ levemente mayor al de Blg sola, pero más estable a lo largo del tiempo que la emulsión mixta con 0,3 % p/p de MC A. Esto sugiere que concentraciones más elevadas de MC podrían afectar la

eficiencia del proceso de emulsificación inicial o favorecer interacciones que comprometan la estabilidad a largo plazo. De hecho, como se mencionó previamente, una mayor viscosidad puede dificultar o disminuir la eficiencia del proceso de emulsificación. La viscosidad es una medida cualitativa de las interacciones moleculares, por lo tanto, cuanto mayor es la viscosidad, mayores son las fuerzas atractivas entre las moléculas del polisacárido y mayor debe ser la energía entregada por el sistema para obtener gotas de menor diámetro (Behrend y Schubert, 2000).

Es importante aclarar que el efecto de desestabilización de la emulsión no se reflejó de manera muy marcada en la distribución de tamaño de gota, como sí se observó en los perfiles de BS (**Figura II.28**). Esto se debe a que, una vez desestabilizada la emulsión, la muestra tomada para el análisis deja de ser representativa del sistema completo, a pesar de que el tubo donde se coloca la emulsión se invierte previo a la toma de muestra.

El análisis de BS a lo largo del tiempo (**Figura II.28**) permitió evaluar la estabilidad de las emulsiones. Se observó que la emulsión Blg al 2 % p/p fue la más estable, aunque se observó cierta desestabilización en el tiempo. Esto puede atribuirse a la migración parcial de las gotas desde la parte inferior hacia la superficie, provocando una incipiente clarificación en la parte inferior del tubo (como se explicó anteriormente, en la **Figura II.24 I**). La adición de MC a 0,1 % p/p no mostró una mejora significativa en la estabilidad, ya que por el contrario las curvas de BS mostraron mayores variaciones con el tiempo. A partir de los 15-21 días, se evidencia una disminución del valor de retrodispersión en la parte central del tubo, lo que indica floculación o coalescencia (como se explicó anteriormente, en la **Figura II.24 II**). Siguiendo con dicha tendencia, la emulsión con MC al 0,3 % p/p mostró una importante clarificación y un cremado muy marcado, evidenciado por una disminución drástica en el BS en la parte inferior de la emulsión y un aumento en la parte superior, respectivamente. Esto sugiere una mayor inestabilidad en comparación con las otras emulsiones. De hecho, cuando se evalúa la evolución en el tiempo de los valores de TSI (**Tabla II.13**) se puede observar que dicha emulsión presenta un TSI significativamente mayor desde el día 1 (1,92) en comparación con las otras emulsiones.

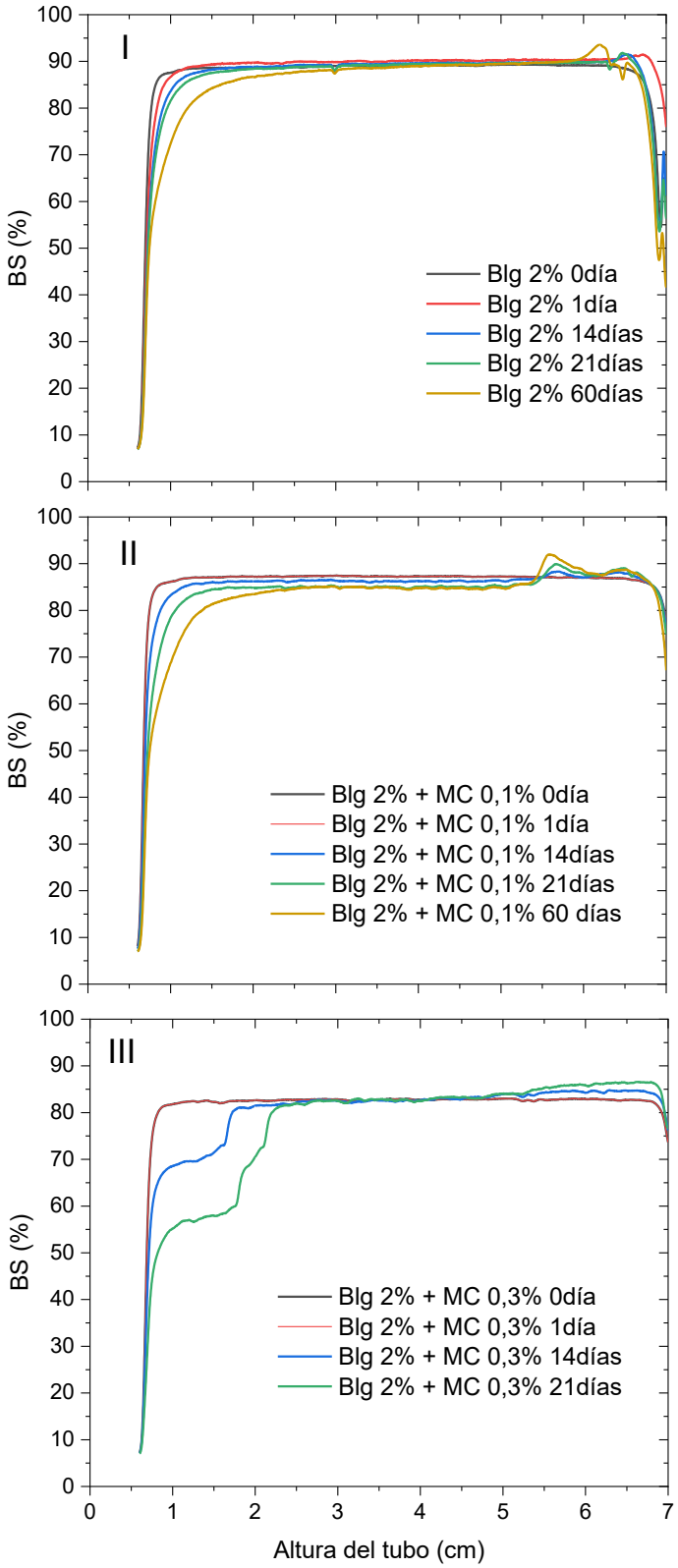


Figura II.28. Perfiles de backscattering (BS %) en el tiempo de emulsiones de Blg 2 % p/p (I), y emulsiones mixtas de Blg 2 % p/p con MC A al 0,1 % p/p (II) y al 0,3 % p/p (III).

En la **Tabla II.13** también se observa que la emulsión Blg 2 % p/p mostró el TSI inicial más bajo (0,27). Sin embargo, el índice aumentó progresivamente a lo largo del almacenamiento, alcanzando 4,17 al día 60, con diferencias significativas en cada etapa, lo que evidencia una desestabilización gradual del sistema. En el caso de la mezcla Blg 2 % p/p + MC A 0,1 % p/p, se registraron valores de TSI más elevados desde el inicio (0,83); sin embargo, la evolución del TSI en el tiempo fue similar a la del sistema con Blg sola, alcanzando 4,73 a los 60 días, sin diferencias significativas entre ambas emulsiones en ese punto. Por otro lado, la mezcla con MC A al 0,3 % p/p presentó el comportamiento más inestable de los tres sistemas evaluados. El TSI fue significativamente mayor desde el día 1 (1,92) y mostró un incremento marcado durante el almacenamiento, alcanzando 6,89 a los 21 días, lo que representa una desestabilización muy notable.

Tabla II.13. Índice de Estabilidad (TSI) obtenidos para las emulsiones de Blg 2 % p/p, Blg 2 % p/p con MC al 0,1 % y al 0,3 % p/p, durante el almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C).

	TSI*			
Emulsión	**1 día**	**14 días**	**21 días**	**60 días**
Blg 2 % p/p	$0,27 \pm 0,02^{aA}$	$1,37 \pm 0,27^{aB}$	$1,91 \pm 0,24^{aB}$	$4,17 \pm 0,46^{aC}$
Blg 2 % p/p + MC 0,1 % p/p	$0,83 \pm 0,06^{bA}$	$2,48 \pm 0,29^{bB}$	$3,09 \pm 0,37^{bB}$	$4,73 \pm 0,42^{aC}$
Blg 2 % p/p + MC 0,3 % p/p	$1,92 \pm 0,05^{cA}$	$5,01 \pm 0,71^{cB}$	$6,89 \pm 1,29^{cB}$	-

*Índice de Estabilidad Turbiscan. Las letras minúsculas indican diferencias significativas dentro de la misma columna y para cada mucílago ($p < 0,05$). Valores seguidos por letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila difieren significativamente ($p < 0,05$).

En conclusión, a concentraciones bajas (0,1 % p/p), el MC podría actuar como un estabilizante secundario sin alterar significativamente la estructura de la emulsión, pero no mostró mejoras respecto a la emulsión con Blg sola. En paralelo, a concentraciones más altas (0,3 % p/p), el MC podría aumentar excesivamente la viscosidad del medio, afectando la movilidad de las proteínas en la interfase de las gotas de aceite. Esto podría dificultar la formación de una película interfacial eficiente y reducir la estabilidad del sistema, favoreciendo el cremado y la coalescencia.

Si bien estos resultados muestran que el uso del MC en las emulsiones de Blg no imparten una mejora en su estabilidad, su incorporación podría implicar un beneficio

sobre la salud, lo que justificaría su uso considerando las condiciones de concentración que no alteren sustancialmente la estabilidad de la emulsión proteica.

2.4. Conclusiones

El MC demostró ser un polielectrolito aniónico altamente versátil, que puede utilizarse como ingrediente en diversas aplicaciones tecnológicas en la industria alimentaria para mejorar la textura, viscosidad y estabilidad de productos procesados. El tratamiento con HPH redujo el tamaño de partícula y la viscosidad del MC; sin embargo, no se observaron cambios significativos en otras propiedades fisicoquímicas.

Todos los estudios previos encontrados en la literatura sobre el uso del MC en alimentos se limitan a sus capacidades como espesante o estabilizante, que son, de hecho, las principales propiedades que este tipo de hidrocoloides aporta en las formulaciones alimentarias. Sin embargo, los hallazgos novedosos demostrados en el presente trabajo proponen la utilización de HPH como una alternativa eficiente para extender el uso de este mucílago a productos donde el control de la viscosidad pueda ser un desafío, sin detrimento de las buenas propiedades tecnofuncionales.

La capacidad de absorción y retención de agua del MC lo convierte en un ingrediente valioso para formular alimentos con mejor capacidad de hidratación, lo que puede contribuir a mejorar la jugosidad y la retención de agua en productos como panificados y carnes.

Por otro lado, en el presente estudio se confirmó que el MC puede ser utilizado como estabilizante de espumas proteicas, en este caso CMP, bajo diferentes condiciones mediante dos mecanismos: i) la contribución al aumento de la viscosidad de la fase continua, que fue mayor a concentraciones más altas de MC, tanto a pH 7 como a pH 3; ii) la mejora de las propiedades reológicas de la película interfacial gracias al desempeño sinérgico del complejo CMP-MC en la interfase aire-agua, que ocurre en condiciones donde los biopolímeros tienen cargas opuestas.

Estos hallazgos pueden ser aprovechados para un mejor diseño de espumas estables en productos reales, como productos lácteos espumosos: helados, postres, mousses, entre otros. Así, dependiendo de las condiciones, uno o ambos mecanismos mencionados anteriormente actuarán para mejorar la estabilidad de estas espumas alimentarias.

Por último, el MC también resultó un buen agente emulsionante, siendo capaz de formar emulsiones aceite-agua tanto de MC solo como combinado con una proteína, que se mantuvieron estables durante al menos dos meses.

Por todo esto, el MC se presenta como un ingrediente con gran potencial en la industria de alimentos, con características similares y en algunos casos superiores a gomas de referencia.

2.5. Bibliografía

Alfredo, V. O., Gabriel, R. R., Luis, C. G., y David, B. A. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT*, *42*(1), 168–173. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.012

Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., Hesarinejad, M. A., Mortazavi, S. A., y Mohebbi, M. (2017). Plantago major seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. *Carbohydrate Polymers*, *155*, 68–77. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.051

Álvarez Gómez, J.M. y Rodríguez Patino, J.M. (2007). Viscoelastic properties of diglycerol ester and protein adsorbed films at the air-water interface. Industrial and Engineering Chemistry Research, 46, 2693–2701. https://doi.org/10.1021/ie061451g

Behrend, O. y Schubert, H. (2000). Influence of continuous phase viscosity on emulsification by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 7, 77-85.

Buron, H., Mengual, O., Meunier, G., Cayré, I., y Snabre, P. (2004). Optical characterization of concentrated dispersions: Applications to laboratory analyses and on-line process monitoring and control. *Polymer International*, *53*(9), 1205–1209. https://doi.org/10.1002/PI.1231

Câmara, A. K. F. I., Okuro, P. K., Cunha, R. L. da, Herrero, A. M., Ruiz-Capillas, C., y Pollonio, M. A. R. (2020). Chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage as a new fat substitute in emulsified meat products: Technological, physicochemical, and rheological characterization. *LWT*, *125, 109193*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109193

Campos, B. E., Dias Ruivo, T., da Silva Scapim, M. R., Madrona, G. S., y de C. Bergamasco, R. (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT*, *65*, 874–883. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.09.021

Capitani, M. I., Nolasco, S. M., y Tomás, M. C. (2016). Stability of oil-in-water (O/W) emulsions with chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Food Hydrocolloids*, *61*, 537–546. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.008

Dhull, S. B., Bamal, P., Kumar, M., Bangar, S. P., Chawla, P., Singh, A., Mushtaq, W., Ahmad, M., y Sihag, S. (2023). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) gum: A functional ingredient with promising properties and applications in food and

pharmaceuticals—A review. *Legume Science*, *5*(3), 176. https://doi.org/10.1002/LEG3.176

Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, *17*(1), 25–39. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(01)00120-5

Dickinson, E. (2017). Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, *68*, 219–231. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.06.024

Farhadi, N. (2017). Structural elucidation of a water-soluble polysaccharide isolated from Balangu shirazi (Lallemantia royleana) seeds. *Food Hydrocolloids*, *72*, 263–270. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.028

Farías, M. E., Martinez, M. J., y Pilosof, A. M. R. (2010). Casein glycomacropeptide pH-dependent self-assembly and cold gelation. *International Dairy Journal*, *20*(2), 79–88. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2009.09.002

Fathi, M., Mohebbi, M., y Koocheki, A. (2016). Introducing Prunus cerasus gum exudates: Chemical structure, molecular weight, and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, *61*, 946–955. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.07.004

Ferraro, G., Fratini, E., Sacco, P., Asaro, F., Cuomo, F., Donati, I., y Lopez, F. (2022). Structural characterization and physical ageing of mucilage from chia for food processing applications. *Food Hydrocolloids*, *129*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107614

García-Salcedo, Á. J., Torres-Vargas, O. L., del Real, A., Contreras-Jiménez, B., y Rodriguez-Garcia, M. E. (2018). Pasting, viscoelastic, and physicochemical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) flour and mucilage. *Food Structure*, *16*, 59–66. https://doi.org/10.1016/j.foostr.2018.03.004

Garti, N., y Leser, M. E. (2001). Emulsification properties of hydrocolloids. *Polymers for Advanced Technologies*, *12*(1–2), 123–135. https://doi.org/10.1002/1099-1581(200101/02)12:1/2<123::AID-PAT105>3.0.CO;2-0

Gheybi, N., Pirouzifard, M. K., y Almasi, H. (2021). Ornithogalum cuspidatum mucilage as a new source of plant-based polysaccharide: Physicochemical and rheological characterization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(3), 2184–2201. https://doi.org/10.1007/S11694-021-00814-Z

Han, Y., Zhu, L., Zhang, H., Liu, T. y Wu, G. (2024). Understanding the foam stability mechanisms of complex formed by soy protein isolate and different charged polysaccharides: Air/water interfacial behavior and rheological characteristics. *International Journal of Biological Macromolecules*, 268, 131583. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131583.

Jarpa-Parra, M., Tian, Z., Temelli, F., Zeng, H., y Chen, L. (2016). Understanding the stability mechanisms of lentil legumin-like protein and polysaccharide foams. *Food Hydrocolloids*, *61*, 903–913. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.017

Kreuß, M., Krause, I. y Kulozik, U. (2009). Influence of glycosylation on foaming properties of bovine caseinomacropeptide. International Dairy Journal, 19 (12), 715-720. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.012

Lin, K. Y., Daniel, J. R., y Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carbohydrate Polymers*, *23*(1), 13–18. https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90085-X

Lucassen-Reynders, E. H., Lucassen, J., Garrett, P. R., Giles, D., y Hollway, F. (1974). Dynamic surface measurements as a tool to obtain equation-of-state data for soluble monolayers. *Adv Chem Ser*, *144*, 272–228. https://doi.org/10.1021/BA-1975-0144.CH021;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Ma, F., Wang, D., Zhang, Y., Li, M., Qing, W., Tikkanen-Kaukanen, C., Liu, X., y Bell, A. E. (2018). Characterisation of the mucilage polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb. with enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, *245*, 13–21. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.080

McClements, D.J. (2015). Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques. Third Edition (3rd ed.). CRC Press, pp 714. https://doi.org/10.1201/b18868

MacRitchie, F. (1989). Protein adsorption/desorption at fluid interfaces. *Colloids and Surfaces*, *41*(C), 25–34. https://doi.org/10.1016/0166-6622(89)80038-1

Makri, E. A., y Doxastakis, G. I. (2007). Surface tension of *Phaseolus vulgaris* and coccineus proteins and effect of polysaccharides on their foaming properties. *Food Chemistry*, *101*(1), 37–48. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.12.051

Manhivi, V. E., Venter, S., Amonsou, E. O., y Kudanga, T. (2018). Composition, thermal and rheological properties of polysaccharides from amadumbe (*Colocasia*

esculenta) and cactus (*Opuntia* spp.). *Carbohydrate Polymers*, *195*, 163–169. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.062

Marineli, R. da S., Moraes, É. A., Lenquiste, S. A., Godoy, A. T., Eberlin, M. N., y Maróstica, M. R. (2014). Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology*, *59*(2P2), 1304–1310. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.014

Martinez, M. J., Carrera Sánchez, C., Rodríguez Patino, J. M., y Pilosof, A. M. R. (2012). Interactions between β-lactoglobulin and casein glycomacropeptide on foaming. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *89*(1), 234–241. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2011.09.022

Martinez, M. J., Pizones Ruiz-Henestrosa, V. M., Carrera Sánchez, C., Rodríguez Patino, J. M., y Pilosof, A. M. R. (2013). Foaming and surface properties of casein glycomacropeptide–gelatin mixtures as affected by their interactions in the aqueous phase. *Food Hydrocolloids*, *33*(1), 48–57. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.02.016

Martinez, M. J., Sánchez, C. C., Patino, J. M. R., y Pilosof, A. M. R. (2009). Bulk and interfacial behaviour of caseinoglycomacropeptide (GMP). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *71*(2), 230–237. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2009.02.006

Mengual, O., Meunier, G., Cayre, I., Puech, K., y Snabre, P. (1999). Characterisation of instability of concentrated dispersions by a new optical analyser: the TURBISCAN MA 1000. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *152*(1–2), 111–123. https://doi.org/10.1016/S0927-7757(98)00680-3

Morales, R., Martinez, M. J., y Pilosof, A. M. R. (2017). Synergistic effect of casein glycomacropeptide on sodium caseinate foaming properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *159*, 501–508. https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2017.08.017

Muñoz, L. A., Cobos, A., Diaz, O., y Aguilera, J. M. (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*, *108*(1), 216–224. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.06.037

Murray, B. S. (2020). Recent developments in food foams. *Current Opinion in Colloid y Interface Science*, *50*, 101394. https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2020.101394

Narchi, I., Vial, C., y Djelveh, G. (2009). Effect of protein–polysaccharide mixtures on the continuous manufacturing of foamed food products. *Food Hydrocolloids*, *23*(1), 188–201. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2007.12.010

Narsimhan, G., y Xiang, N. (2018). Role of Proteins on Formation, Drainage, and Stability of Liquid Food Foams. *Annual Review of Food Science and Technology*, *9*(Volume 9, 2018), 45–63. https://doi.org/10.1146/ANNUREV-FOOD-030216-030009/CITE/REFWORKS

Perez, A. A., Carrara, C. R., Sánchez, C. C., Santiago, L. G., y Rodríguez Patino, J. M. (2009). Interfacial dynamic properties of whey protein concentrate/polysaccharide mixtures at neutral pH. *Food Hydrocolloids*, *23*(5), 1253–1262. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2008.08.013

Pongjanyakul, T., y Puttipipatkhachorn, S. (2007). Sodium alginate-magnesium aluminum silicate composite gels: characterization of flow behavior, microviscosity, and drug diffusivity. *AAPS PharmSciTech*, *8*(3), E158–E165. https://doi.org/10.1208/PT0803072

Punia, S., y Dhull, S. B. (2019). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) mucilage (a heteropolysaccharide): Functional, thermal, rheological behaviour and its utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, *140*, 1084–1090. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.205

Razavi, S. M. A., Cui, S. W., Guo, Q., y Ding, H. (2014). Some physicochemical properties of sage (*Salvia macrosiphon*) seedgum. *Food Hydrocolloids*, *35*, 453–462. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.022

Rodríguez Patino, J. M., Carrera Sánchez, C., y Rodríguez Niño, M. R. (2008). Implications of interfacial characteristics of food foaming agents in foam formulations. *Advances in Colloid and Interface Science*, *140*(2), 95–113. https://doi.org/10.1016/J.CIS.2007.12.007

Rodríguez Patino, J. M., y Rodríguez Niño, M. R. (1999). Interfacial characteristics of food emulsifiers (proteins and lipids) at the air-water interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *15*(3–4), 235–252. https://doi.org/10.1016/S0927-7757(99)00012-6

Silva, S. H., Neves, I. C. O., Oliveira, N. L., de Oliveira, A. C. F., Lago, A. M. T., de Oliveira Giarola, T. M., y de Resende, J. V. (2019). Extraction processes and characterization

of the mucilage obtained from green fruits of Pereskia aculeata Miller. *Industrial Crops and Products*, *140, 1 11716*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111716

Soares, A. de C. C., Tavares, M. B. F. B., Ortega, E. de P. M., Vidigal, M. C. T. R., y Santana, R. de C. (2024). Rheological and sensorial evaluation of fruit nectar with chia mucilage. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *35, 100849*. https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2023.100849

Tamargo, A., Martin, D., Del Hierro, J. N., Moreno-Arribas, M. V., y Muñoz, L. A. (2020). Intake of soluble fibre from chia seed reduces bioaccessibility of lipids, cholesterol and glucose in the dynamic gastrointestinal model simgi®. *Food Res. Int. 137*, 109364. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109364

Tavares, L. S., Junqueira, L. A., de Oliveira Guimarães, Í. C., y de Resende, J. V. (2018). Cold extraction method of chia seed mucilage (Salvia hispanica L.): effect on yield and rheological behavior. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(2), 457–466. https://doi.org/10.1007/S13197-017-2954-4

Tha Goh, K. K., Matia-Merino, L., Chiang, J. H., Quek, R., Soh, S. J. B., y Lentle, R. G. (2016). The physico-chemical properties of chia seed polysaccharide and its microgel dispersion rheology. *Carbohydrate Polymers*, *149*, 297–307. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2016.04.126

Thoma-Worringer, C., Siegert, N., y Kulozik, U. (2007). Foaming properties of caseinomacropeptide -I. Impact of concentration and interactions with whey proteins. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, *62*(3), 249-252.

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2015). Rheological and microstructural properties of the chia seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, *81*, 991–999. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.040

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2016a). Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 128–136. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.035

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Kasapis, S., y Adhikari, B. (2016b). Molecular and functional characteristics of purified gum from Australian chia seeds. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 128–136. https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.09.035

Vázquez Ovando, A., Rosado Rubio, G., Chel Guerrero, L., y Betancur Ancona, D. (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (Salvia hispanica L.). *LWT - Food Science and Technology*, *42*(1), 168–173. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.012

Villay, A., Lakkis de Filippis, F., Picton, L., Le Cerf, D., Vial, C., y Michaud, P. (2012). Comparison of polysaccharide degradations by dynamic high-pressure homogenization. *Food Hydrocolloids*, *27*(2), 278–286. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.10.003

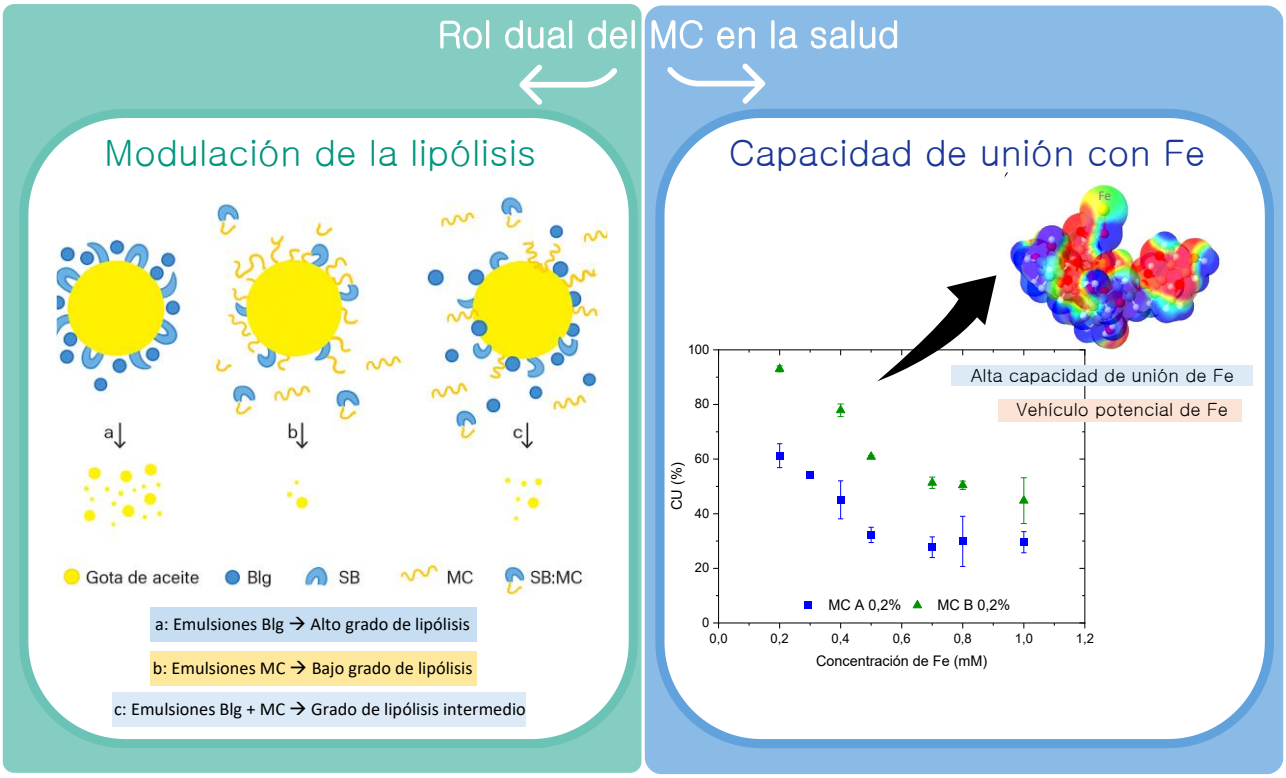
Wang, Q., Ellis, P. R., y Ross-Murphy, S. B. (2003). Dissolution kinetics of guar gum powders - II. Effects of concentration and molecular weight. *Carbohydrate Polymers*, *53*(1), 75–83. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00009-2

Xu, Y., Yang, N., Yang, J., Hu, J., Zhang, K., Nishinari, K., Phillips, G. O., y Fang, Y. (2020). Protein/polysaccharide intramolecular electrostatic complex as superior food-grade foaming agent. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105474. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.105474

Zettel, V., y Hitzmann, B. (2018). Applications of chia (Salvia hispanica L.) in food products. *Trends in Food Science and Technology*, *80*(July), 43–50. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.011

CAPÍTULO III

3 "Impacto del mucílago de chía en la salud"



Como se ha visto en los capítulos anteriores, el mucílago de chía ha demostrado poseer propiedades tecnofuncionales que lo posicionan como un ingrediente de interés para la industria de alimentos. Además de dichas propiedades, el MC presenta un potencial uso en la promoción de la salud. Su alta concentración de fibra soluble permite la formación de una matriz viscosa en el tracto gastrointestinal, que provoca saciedad. Además, se le atribuyen beneficios sobre la salud como la reducción de los niveles de triglicéridos y colesterol plasmático, contribuyendo a la mejora del perfil lipídico, y reduciendo así el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Tamargo et al, 2020; Theuwissen y Mensink, 2008), reducción del riesgo de enfermedades de la mucosa gastrointestinal (Brownlee, 2014), beneficios sobre la microbiota intestinal (Singh et al., 2025; Tamargo et al., 2018); entre otras (Cakmak et al., 2023).

Por otro lado, su estructura rica en ácidos urónicos le confiere un carácter aniónico en un amplio rango de pH lo que le proporcionaría una potencial capacidad de interacción con minerales, como el hierro, lo que sugiere su utilidad como carrier o vehículo en sistemas de liberación controlada. No existe, hasta el momento, información sobre la capacidad del mucílago de chía para unir minerales y ser utilizados como posible vehículo para la fortificación de alimentos. Ganie et al. (2021) estudió la formación de complejo entre goma guar y hierro para fortificar alimentos. El resultado más importante fue que el complejo goma guar–hierro demostró una liberación controlada del mismo en un modelo animal, evidenciando su potencial como agente fortificante en alimentos.

Este potencial dual —como modulador de la lipólisis y como sistema de liberación de hierro— hace del mucílago de chía un candidato interesante en el diseño de alimentos funcionales o suplementos dirigidos al control metabólico y a la prevención de deficiencias nutricionales.

3.1. Rol del mucílago de chía en la digestión de lípidos

3.1.1. Evaluación de la capacidad del mucílago de chía para modular la digestión de lípidos emulsionados

Para este estudio se seleccionaron las emulsiones de MC que presentaron mayor estabilidad (1 % p/p), según lo evaluado en el Capítulo 2 y también las emulsiones mixtas de Blg + MC. Como se detalló en el apartado de materiales y métodos, las emulsiones se sometieron a una digestión gastroduodenal *in vitro* bajo el protocolo INFOGEST 2.0 (Brodkorb et al., 2019) que constó de una etapa gástrica (1 hora a pH 2,5) y una etapa duodenal (2 horas a pH 7,0). Durante la etapa duodenal de la digestión *in vitro*, la acción de la lipasa pancreática sobre los triglicéridos, presentes en el aceite emulsionado, da lugar a la liberación progresiva de ácidos grasos libres (FFA, por sus siglas en inglés). Para cuantificar el grado de lipólisis alcanzado, se registra el volumen de NaOH añadido asumiendo que dicho volumen corresponde mayoritariamente a la neutralización de los FFA generados por la acción enzimática. De este modo, el perfil de neutralización permite obtener no sólo una medida del contenido total de FFA, sino también información sobre la cinética de la lipólisis a lo largo del tiempo (Naso, 2021; Okuro et al., 2023; Zhang et al., 2023).

En la **Figura III.1** se muestran los resultados de la liberación de ácidos grasos durante la etapa duodenal de la digestión de emulsiones estabilizadas por MC A y B al 1 % p/p, emulsiones mixtas Blg 2 % p/p y MC A (0,1 y 0,3 % p/p) y también se incluye los resultados de la liberación de ácidos grasos de una emulsión de Blg 2 % p/p (sin MC) como control.

En todos los ensayos, la liberación de ácidos grasos mostró una misma tendencia característica: al inicio de la digestión, se evidenció una fase de lipólisis acelerada, con un incremento lineal sostenido, lo que indica una actividad enzimática constante. Posteriormente, esta velocidad comenzó a disminuir, dando paso a una fase de liberación más lenta y progresiva. Esta etapa continuó hasta que se alcanzó un punto de estabilización, donde la cantidad de FFA tendió a mantenerse constante, reflejando un estado cercano al equilibrio en el proceso digestivo, correspondiente al máximo valor de liberación de ácidos grasos.

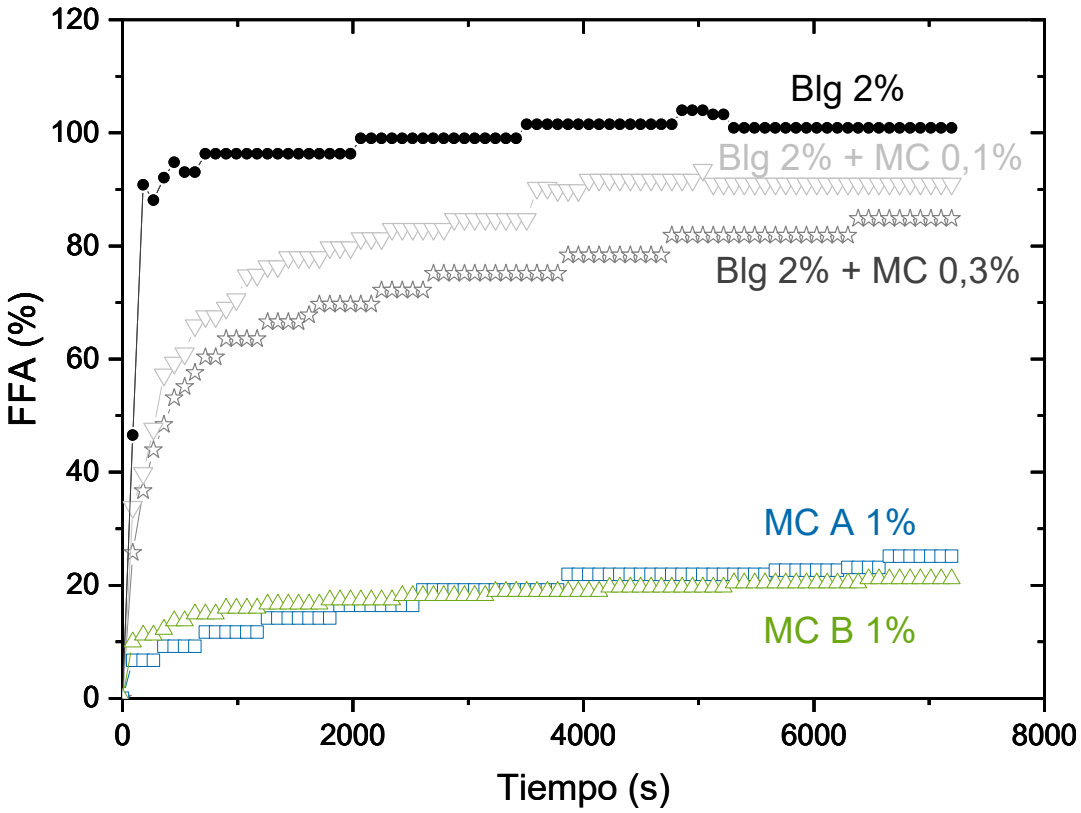


Figura III.1. Evolución de la liberación de ácidos grasos libres (FFA %) en función del tiempo de digestión duodenal *in vitro* para emulsiones estabilizadas por Blg 2 % p/p (●), MC A 1 % p/p (□), MC B al 1 % p/p (△) y las mezclas de Blg 2 % + MC A 0,1 % p/p (▽) y 0,3 % p/p (☆).

Esta reducción en la velocidad de lipólisis podría explicarse por la acumulación progresiva de los productos generados (ácidos grasos) en la interfase de las gotas lipídicas. Estos compuestos, al poseer afinidad superficial, tienden a concentrarse en dicha zona, interfiriendo con el acceso de la lipasa a su sustrato y, en consecuencia, reduciendo su eficiencia catalítica. Esta inhibición puede ser parcial o incluso completa, dado que los productos de la reacción pueden actuar como moduladores negativos de la misma (Infantes-Garcia et al., 2021; Naso, 2021). En este contexto, y como se explicó en la Introducción, las sales biliares desempeñan un papel fundamental, ya que permiten la remoción continua de estos productos de la interfase al incorporarlos dentro de micelas mixtas. Esta función no sólo libera la interfase para que continúe la actividad enzimática, sino que también favorece el avance de la reacción al desplazar el equilibrio hacia la producción de nuevos ácidos grasos (Infantes-Garcia et al., 2021; Okuro et al., 2023).

Los resultados mostraron que las emulsiones estabilizadas únicamente con mucílago de chía (MC A o MC B) presentaron un grado de lipólisis significativamente menor que la emulsión control de proteína sola y que las emulsiones mixtas. Se registró una liberación máxima de ácidos grasos entre 25 % y 21 % para las emulsiones estabilizadas por MC A y B, respectivamente, luego de 2 h de digestión duodenal, en comparación con la emulsión control formulada sólo con Blg, que alcanzó un valor cercano al 100 % (**Figura III.1**), es decir liberó la totalidad de los ácidos grasos. La Blg es una proteína que es parcialmente hidrolizada durante la etapa gástrica por acción de la pepsina, dicha hidrólisis promueve la desestabilización de la emulsión exponiendo las gotas de aceite a la acción de las lipasas en el intestino delgado (Naso, 2021), donde además actúan las proteasas presentes en el duodeno (tripsina y quimotripsina) terminando de hidrolizar la proteína.

Las emulsiones mixtas Blg 2 % p/p y MC A 0,1 y Blg 2 % p/p y MC A 0,3 % p/p, por su parte, alcanzaron una liberación de ácidos grasos del 91 % y 84 %, respectivamente, evidenciando una reducción mayor con la mayor concentración de MC en la mezcla. Teniendo en cuenta que la concentración proteica en la muestra control y en las emulsiones mixtas es la misma (2 % p/p), la menor liberación de ácidos grasos, respecto al control, se puede atribuir a la presencia del MC.

Si bien se observó una menor liberación de ácidos grasos en las emulsiones mixtas, respecto a la emulsión de Blg sola, esta disminución fue menos pronunciada en comparación con las emulsiones estabilizadas por MC solo; sin embargo, es importante resaltar que la concentración de MC en las emulsiones mixtas (0,1 y 0,3 % p/p) fue entre tres y diez veces menor que en las emulsiones de MC solo (1 % p/p). Estas concentraciones se definieron a partir de los resultados del Capítulo 2, donde se observó que la emulsión mixta con 0,3 % p/p de MC mostró una estabilidad levemente menor que la de Blg sola por lo que no se evaluaron mayores concentraciones. Teniendo en cuenta esto, es importante resaltar entonces que la menor liberación de ácidos grasos en las emulsiones mixtas no debe considerarse como un efecto limitado del MC por la presencia de Blg, sino que debe tenerse en cuenta también la diferente concentración de MC presente en el medio duodenal.

Dado que la lipólisis ocurre en la interfase entre el aceite y el agua, es lógico suponer que la extensión de dicha interfase juegue un papel determinante en la eficiencia del proceso digestivo. Esta área interfacial está directamente relacionada con el tamaño de las gotas lipídicas: cuanto más pequeñas son, mayor es la superficie total disponible para la interacción enzimática (Borreani et al., 2019). Esta mayor disponibilidad de superficie facilita la adsorción de la lipasa, favoreciendo su acción catalítica y, por ende, potenciando la degradación de los triglicéridos. Diversos estudios han demostrado que las emulsiones con gotas de menor tamaño tienden a presentar tasas de lipólisis más elevadas, precisamente por este aumento en el área interfacial accesible a la enzima (Borreani, 2019; Macierzanka et al., 2019). Si evaluamos los tamaños de gota de las emulsiones estudiadas, discutidos en el Capítulo 2, podemos observar que el tamaño de gota que presentó la emulsión de Blg fue similar al de las emulsiones mixtas Blg-MC (**Figura II.26** y **Tabla II.12** del Capítulo 2), mientras que el tamaño de gota observado para las emulsiones de MC solo fue significativamente mayor (**Figura II.20** y **Tabla II.10** del Capítulo 2). Por lo tanto, si el grado de lipólisis estuviera sólo relacionado con el área interfacial o el tamaño de gota de la emulsión, las emulsiones de Blg sola y las mixtas deberían haber alcanzado un grado de lipólisis similar; sin embargo, si bien el grado de lipólisis de las emulsiones mixtas no fue tan bajo como los de las emulsiones de MC solo, se observó una reducción significativa respecto a la liberación de ácidos grasos alcanzada por la emulsión de Blg sola.

Naso (2021) estudió emulsiones estabilizadas con Blg, polisorbato (tween 80) y lecitina y reportó una mayor liberación de ácidos grasos en las emulsiones estabilizadas con tween 80 (68 %) y con Blg (67 %) en comparación con la emulsión estabilizada con lecitina (34 %). Ellos discutieron estos resultados en relación al tamaño de gota de la emulsión (que da como resultado diferente área interfacial disponible para la acción de la lipasa), tanto inicial como luego de finalizada la etapa gástrica, ya que los diferentes emulsionantes tienen diferente susceptibilidad a las condiciones gástricas; sin embargo, la relación del área interfacial de dichas emulsiones tampoco explicaba por completo los resultados observados en la liberación de ácidos grasos, por lo que la naturaleza del emulsionante resultó ser también un factor clave para entender estos resultados.

La evidencia actual indica que las fibras solubles incrementan la viscosidad del quimo, lo que disminuye la difusión de solutos y obstaculiza la interacción eficiente entre los

nutrientes y los agentes digestivos, como las enzimas pancreáticas y las sales biliares. Este fenómeno conduce a una reducción de la hidrólisis enzimática y, en consecuencia, en la absorción de compuestos a nivel intestinal (Amyoony et al., 2017; Chen et al., 2020; Langhoout et al., 2020; Santamaria et al., 2022). Tamargo et al. (2020) evaluaron el efecto del consumo de fibra soluble proveniente de semillas de chía sobre la digestión y absorción de compuestos clave como lípidos, colesterol y glucosa. Para ello, utilizaron un modelo gastrointestinal dinámico (simgi®), que simula de manera más realista las condiciones del aparato digestivo humano. En su estudio, reportaron que la incorporación de fibra soluble extraída de semillas de chía (MC) en un modelo alimentario redujo de manera significativa la bioaccesibilidad de lípidos (56 %), colesterol (56 %), sales biliares (64 %) y glucosa (66 %), en comparación con el control sin fibra. En particular, el modelo alimentario con 0,95 % de fibra soluble de chía fue el más eficaz. Zacherl, Eisner y Engel, (2011) evaluaron el efecto de otras fibras solubles sobre la capacidad de unión a las sales biliares y reportaron una correlación entre el aumento de la viscosidad en el medio de digestión con dicha capacidad de unión, atribuyendo dicho efecto a una limitación de la difusión de las sales biliares en el medio acuoso. Espina-Ruiz et al. (2014) estudiaron la interacción de fibra dietaría soluble (pectinas) con componentes de la digestión gastroduodenal, y en relación al estudio con SB, reportaron como resultado del análisis por diferentes técnicas como potencial zeta, turbidez y microscopia óptica, la formación de grandes agregados en las soluciones de SB y pectina. Los autores indicaron que dicha interacción tuvo importantes implicaciones sobre la digestión de lípidos, encontrando una menor lipólisis a medida que aumentan la concentración de la fibra. Concluyeron que si las SB interaccionan con la pectina es posible que no estén disponibles para absorberse en las superficies de las gotas lipídicas ni para solubilizar los productos de la digestión lipídica.

También se ha descripto un efecto físico por atrapamiento o adsorción de sales biliares y colesterol por la presencia de fibra soluble lo que podría aumentar la excreción de dichos componentes en las heces (Mudgil, 2017). De manera similar, Silva et al. (2021) reportaron que la fibra soluble presente en los mucílagos podría contribuir a la mejora del perfil lipídico mediante distintos mecanismos fisiológicos, como la estimulación de la eliminación de ácidos biliares, la reducción de la absorción intestinal de colesterol y la

modulación de la síntesis hepática de lípidos, lo que favorecería una disminución de los lípidos circulantes.

Los resultados observados en la **Figura III.1**, de la menor liberación de ácidos grasos en las emulsiones tanto de MC solo como en las mixtas, sumado a los antecedentes reportados para otras fibras, sugerirían que el MC podría interferir con la digestión lipídica mediante mecanismos como la interacción con sales biliares o la formación de barreras físicas alrededor de las gotas lipídicas, limitando el acceso de las lipasas. Como se mencionó anteriormente, las SB tienen un rol fundamental para que la acción de las lipasas sea eficiente, por tal razón, si las sales no son capaces de cumplir dicho rol, o no lo son de manera tan eficiente, podría reducirse de forma significativa la eficiencia de la digestión lipídica.

Timilsena et al. (2017) evaluaron la liberación de ácidos grasos durante la digestión *in vitro* a partir de aceite de chía encapsulado (µESCO) y emulsionado con proteína, con MC y con un complejo proteína-MC y reportó que el sistema compuesto únicamente por proteína presentó una desestabilización significativa durante la digestión gástrica, evidenciando floculación de gotas y cierto grado de coalescencia. Los autores atribuyeron esta inestabilidad principalmente a la desnaturalización e hidrólisis de la capa proteica que recubre las gotas lipídicas, durante la etapa gástrica, lo que reduce su estabilidad electrostática y estérica. La capa proteica remanente fue posteriormente hidrolizada en su totalidad en la etapa intestinal, lo que condujo a la hidrólisis completa del material lipídico (100 % FFA), fenómeno también observado en el presente trabajo (**Figura III.1**). En el mismo trabajo, la emulsión mixta, estabilizada por el aislado de proteína de chía y mucílago de chía, presentó una menor liberación de ácidos grasos alcanzando valores similares a los obtenidos en el presente trabajo (80 % FFA), sugiriendo que la matriz mixta proteína-MC ofreció una mayor resistencia a la liberación del aceite emulsionado. Los autores concluyeron que estos sistemas mixtos pueden ser preferentemente utilizados como emulsionantes para la administración de ingredientes alimentarios y farmacéuticos sensibles (por ejemplo, ácidos grasos esenciales) hasta la etapa de digestión intestinal, minimizando los efectos adversos del entorno gástrico (Timilsena et al., 2017).

Por otro lado, en relación con los resultados obtenidos en este trabajo, es posible afirmar que si se tratara de aceites que no fuera deseable que sean liberados, sería

posible utilizar emulsiones estabilizadas puramente por MC, lo que reduciría en mayor medida la lipólisis.

El interés en el MC como emulsionante responde a la creciente demanda de soluciones sostenibles y ecológicas en la industria alimentaria, lo que puede convertirlo en una alternativa viable a emulsionantes sintéticos o derivados de fuentes animales, alineándose con las tendencias de consumo responsable de origen vegetal. Estos hallazgos resaltan el potencial del MC como un aliado en el desarrollo de alimentos funcionales dirigidos al control de la absorción de lípidos. Su capacidad para estabilizar emulsiones y modular la digestión de los lípidos lo posiciona como un ingrediente clave en la formulación de productos saludables, ofreciendo una alternativa natural para quienes buscan mejorar su perfil lipídico a través de la alimentación.

La modulación de la digestión lipídica es una estrategia emergente en el desarrollo de alimentos funcionales dirigidos a la prevención o tratamiento de enfermedades metabólicas. En este contexto, reducir la lipólisis intestinal, es decir, limitar la liberación y absorción de ácidos grasos en el intestino delgado, se ha convertido en un objetivo deseado en el diseño de emulsiones alimentarias. Este enfoque busca generar una liberación controlada o restringida de los lípidos, favoreciendo su pasaje hacia el intestino grueso sin ser absorbidos, con potenciales efectos sobre la saciedad, el perfil lipídico plasmático y la microbiota intestinal.

La marcada inhibición de la lipólisis alcanzada por el MC representa una propiedad funcional destacada. A diferencia de los emulsionantes proteicos como la Blg, que se hidrolizan fácilmente en el ambiente gástrico, el MC mantiene su integridad durante la digestión y puede formar barreras que dificultan la acción enzimática (Timilsena et al., 2017).

En resumen, el MC actúa como un modulador efectivo de la digestión lipídica, siendo capaz de reducir significativamente la liberación de ácidos grasos . Además, su combinación con proteínas en emulsiones mixtas, aunque no fue posible evaluarlo con la misma concentración de MC por limitaciones con la estabilidad de la emulsión (Capítulo 2), permite reducir también, al menos parcialmente, la liberación de ácidos grasos.

3.1.2. Interacción del mucílago de chía con las sales biliares

Recientemente, Bellesi y Pilosof (2021) realizaron una revisión bibliográfica de la literatura existente sobre las interacciones que puede ocurrir entre proteínas/péptidos y las SB durante el proceso de digestión y cómo dichas interacciones pueden alterar ciertos procesos fisiológicos y analizaron los ensayos *in vitro* más utilizados para evaluar dichas interacciones. Los estudios *in vitro* relevaron que las proteínas/péptidos hidrolizados son capaces de alterar la capacidad de las micelas de SB para solubilizar moléculas hidrofóbicas como el colesterol, reduciendo, en consecuencia, su absorción.

En otro trabajo reciente, Naso (2021) investigó el papel clave de las sales biliares (SB) en la modulación de la digestión lipídica de emulsiones estabilizadas no sólo por proteínas, sino por otros emulsionantes, como lecitina y polisorbato (tween 80), destacando su influencia en distintas etapas del proceso de lipólisis. En su estudio, se observó que la alteración de alguno de los mecanismos mediados por las SB puede comprometer significativamente la eficiencia digestiva. Naso (2021), postuló que una disfunción en la acción de las SB puede afectar una o más de las tres etapas involucradas en el proceso de lipólisis que ocurre en la interfase, descriptas previamente por Golding y Wooster (2010): (i) la capacidad de la lipasa pancreática para reconocer y unirse a la interfase O/W, (ii) la velocidad y el grado de hidrólisis de los triglicéridos, y (iii) la remoción efectiva de los productos generados durante la lipólisis, cuya acumulación en la interfase puede actuar como barrera física o inhibidora de la actividad enzimática; dicha remoción ocurre por medio de la solubilización de los productos de la lipólisis en micelas mixtas de SB y fosfolípidos.

La etapa i) involucra la acción surfactante de las SB que, debido a su fuerte actividad superficial, compite con los emulsionantes previamente adsorbidos en la interfase O/W y permiten la unión del complejo SB-lipasa/colipasa en la interfase (Pilosof, 2017). Si las SB no fueran capaces de ubicarse en la interfase para facilitar el acceso de la lipasa, o si dicho proceso se retardara o limitara, la eficiencia de la digestión lipídica se vería directamente afectada.

Por eso, teniendo en cuenta los antecedentes que sugieren la potencial interacción entre las fibras y las SB, y los resultados obtenidos en la reducción de la liberación de ácidos grasos en presencia de MC (**Figura III.1**) se decidió evaluar la existencia de interacciones entre el MC y las SB en solución (en un medio gastroduodenal simulado

(SIF)), en las mismas concentraciones en las que están presentes durante la digestión gastroduodenal *in vitro*.

Para ello, se realizaron en primera instancia mezclas de ambos tipos de MC al 0,25 % p/p (en su forma nativa y tratada por homogeneización a alta presión, HPH) con SB a dos concentraciones fisiológicamente relevantes (5 mM y 15 mM), ya que la concentración de SB en el duodeno en el estado postprandial oscila entre 5 y 15 mM, dependiendo el tiempo que haya pasado después de la ingestión de la comida, alcanzando valores máximos de hasta 40 mM (Zangenberg et al., 2001). La concentración de MC, en este estudio, surge de la dilución que se produce durante la digestión gastroduodenal *in vitro* a partir de la emulsión de MC al 1 % p/p (se diluye a la mitad en la fase gástrica y luego nuevamente a la mitad en la fase duodenal que es cuando entra en contacto con las SB). Se midió la evolución del tamaño de partícula y la turbidez de soluciones de MC solo, SB solas y sus mezclas durante 120 minutos (tiempo que simula la etapa duodenal de la digestión *in vitro*), así como el potencial zeta, con el objetivo de identificar posibles cambios en estos parámetros durante el tiempo de contacto en la etapa duodenal de la digestión.

En este punto del estudio decidimos incluir también las soluciones de MC tratadas por HPH porque, si bien no se estudiaron emulsiones con estos MC por las razones que fueron detalladas en el capítulo 2, resultó de interés conocer si el MC modificado también puede interactuar con las SB, ya que más allá del uso del MC en sistemas emulsionados, se podría pensar también que la presencia de MC en el medio duodenal podría actuar interaccionando con las SB y, de esta manera, limitar igualmente el procesos de lipólisis, aún sin estar presente emulsionando gotas de aceite.

En un primer análisis se evaluaron las soluciones de SB solas en SIF a 5 mM y 15 mM durante 120 minutos (**Figura III.2**). A ambas concentraciones, las SB mostraron un cambio notable en la distribución de tamaño de partícula a lo largo del tiempo.

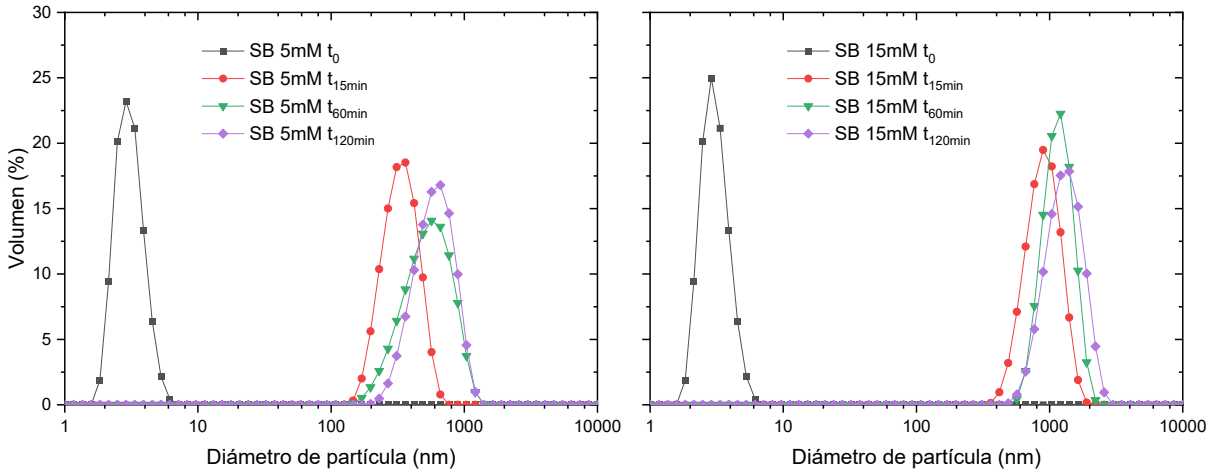


Figura III.2. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) de soluciones de SB 5 mM (I) y 15 mM (II) a distintos tiempos (0-120 min).

Inicialmente (t_0), se observó un pico definido por debajo de 10 nm. Sin embargo, a partir de los 15 minutos, se observó un desplazamiento hacia tamaños mayores, donde se mantuvo relativamente estable durante las 2 h de medición. Esto sugiere una autoasociación progresiva de las SB, posiblemente hacia la formación de micelas más grandes o estructuras supramicelares cuando entran en contacto con el medio duodenal. Esto fue previamente reportado por Calabresi et al. (2007) quien reportó que, por encima de una concentración micelar crítica, micelas primarias de SB más pequeñas, se asocian para formar agregados de mayor tamaño. La fuerza iónica del medio y la concentración de SB tienen gran influencia sobre el crecimiento de estas estructuras asociadas (Madenci y Egelhaaf, 2010; Maldonado-Valderrama et al., 2011; Markina et al., 2017).

Si bien se observaron algunas diferencias entre 5 y 15 mM en cuanto al tamaño final de esas “superestructuras”, se observó que luego de 15 minutos de entrar en contacto con medio duodenal, esa evolución del tamaño se estabiliza, por ello, para las sucesivas comparaciones se tomó el t_{15min} como el tiempo más representativo de lo que ocurre en el duodeno. Valores similares de tamaño de soluciones de SB fueron observados por Naso (2021).

Ninomiya et al. (2003) analizaron la formación de micelas de diversas SB, y reportaron que el grado de asociación de las micelas aumenta con la concentración total de la sal,

aunque este incremento tiende a estabilizarse o saturarse a concentraciones elevadas, dependiendo de la especie de SB considerada.

Naso (2021) también evaluaron el tamaño de los agregados formados por las SB en SIF a concentraciones similares a las utilizadas en este trabajo y reportaron poblaciones similares a observadas en la **Figura III.2,** con leves diferencias que pueden ser atribuidas a la diferente composición de las SB utilizadas y también a la composición específica del SIF empleado para el estudio.

En segundo lugar, se evaluaron las distribuciones de tamaño de partícula de las soluciones de los MC A y B (0,25 % p/p) durante 120 minutos. En la **Figura III.3**, se muestran los resultados obtenidos al inicio del estudio (t_0) y en el tiempo final (t_{120}), antes y después del tratamiento de HPH. Las distribuciones que se muestran son expresadas en volumen (%) con el objetivo de evaluar los picos predominantes en cantidad, como fue explicado en los capítulos anteriores. Si bien ya se evaluó previamente el tamaño de partícula de soluciones de MC a una concentración similar a la de este estudio, el estudio previo fue en agua, mientras que esta evaluación se hizo en SIF, por lo que debía corroborarse si la presencia de sales del medio duodenal mostraba algún efecto sobre la distribución de tamaño de los mucílagos solos.

Los resultados mostraron que ambos mucílagos (A y B) presentan una distribución bimodal, con un pico principal bien definido en la región de menor diámetro y una cola secundaria más dispersa hacia tamaños mayores. Es importante destacar que no se observaron cambios significativos entre t_o y t_{12o} en ninguno de los dos MC. Las curvas se superponen casi por completo, lo que indica que ambos MC son estables en el tiempo, sin evidencia de agregación, despolimerización o degradación estructural. En los mucílagos tratados por HPH (**Figura III.3 abajo**), se observó un pico principal más estrecho y definido, desplazado ligeramente hacia diámetros menores, en comparación con los MC sin tratamiento. Al igual que los MC nativos, las distribuciones se mantienen prácticamente inalteradas a lo largo de las 2 h de evaluación. Tal como se observó en el capítulo 2, el tratamiento por HPH redujo el tamaño de las partículas. Sin embargo, se observan pequeñas diferencias en la distribución del tamaño con respecto a lo reportado anteriormente. Estas discrepancias podrían deberse a que, como el MC es un polielectrolito aniónico, la presencia de estas sales (presentes en el SIF) puede influir en la interacción entre las partículas, afectando así su distribución de tamaño de partícula.

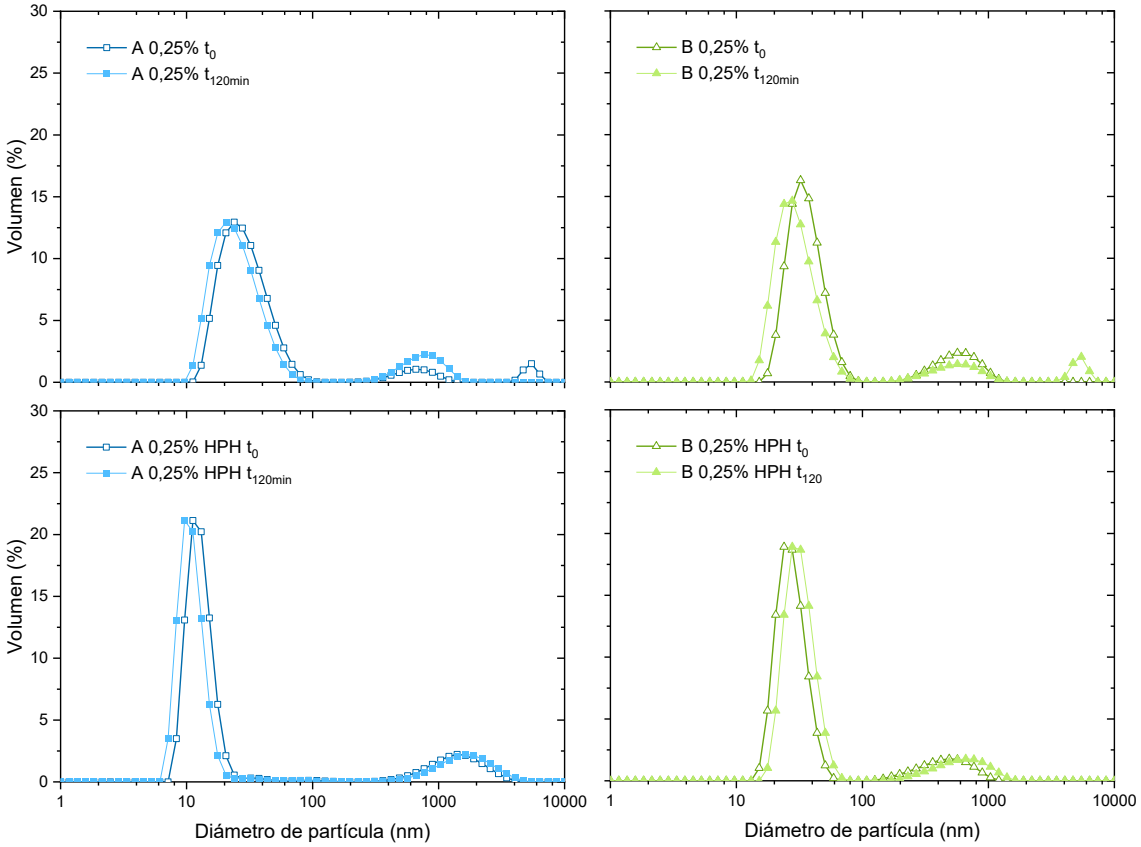


Figura III.3. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) del MC A y B (0,25 % p/p) durante 120 minutos, pudiéndose observar el tiempo inicial (t_0) y el tiempo final (t_{120}). MC sin tratamiento (arriba) y MC modificado por HPH (abajo).

Estos resultados confirman que los MC, tanto en su estado nativo original como modificado por HPH, se comportan como sistemas estables en el tiempo. El análisis individual de los MC y las SB es clave para establecer una línea de base y poder interpretar los cambios en el comportamiento del tamaño de partícula de las mezclas MC-SB, ya que cualquier alteración en el tamaño observada posteriormente podría atribuirse a interacciones específicas entre ambos.

Por último, se evaluaron las interacciones entre las SB (5 y 15 mM) y los MC A (**Figura III.4**) y MC B (**Figura III.5**) (0,25 % p/p, nativos y tratados con HPH) durante 120 minutos, con mediciones al tiempo 0, 15, 60 y 120 minutos (t_{min}). En ambos casos, los resultados mostraron cambios marcados en la distribución de tamaño de partícula al mezclarse con las SB, en ambas concentraciones. Desde el inicio del ensayo, se observó un desplazamiento del pico principal hacia tamaños mayores, tamaño que después se

mantuvo prácticamente constante a lo largo del ensayo. Este comportamiento sugiere una interacción entre el MC y las SB, probablemente mediante la formación de complejos o agregados que generan estructuras coloidales más grandes. Cuando la concentración de SB fue de 15 mM, el cambio también fue evidente y mantuvo la misma tendencia. Es importante destacar que estos efectos se mantuvieron tanto en el MC nativo como tratado por HPH, lo que indica que el procesamiento no inhibe su capacidad de interacción con las SB.

Si bien los agregados formados en las mezclas con MC B tienen tamaños de partícula levemente menores, la tendencia con los dos mucílagos es similar.

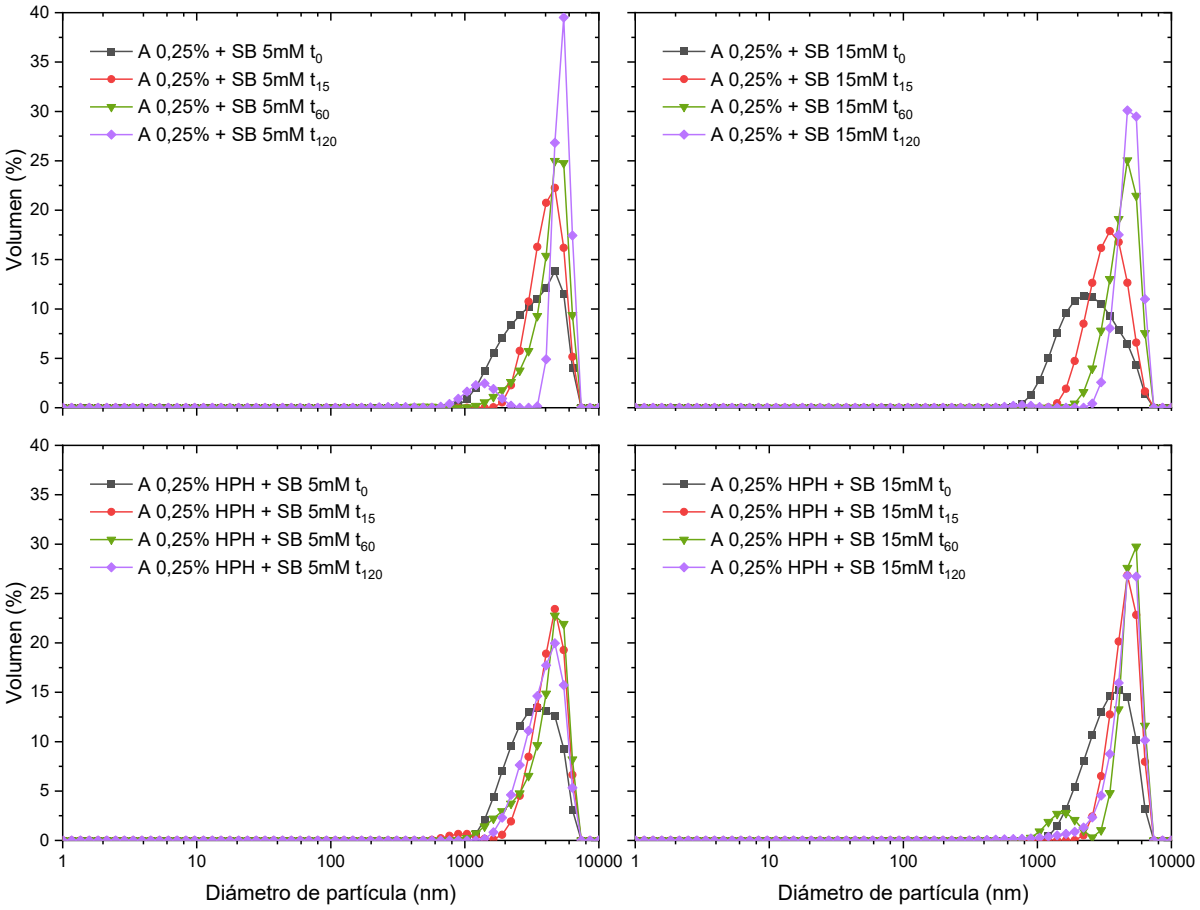


Figura III.4. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) de la interacción entre MC A (0,25 % p/p) + SB (5 y 15 mM) durante 120 minutos. MC sin tratamiento (arriba) y MC modificado por HPH (abajo).

Estos resultados permiten afirmar que el MC interactúa de forma específica con las SB, y que la intensidad de dicha interacción depende ligeramente del tipo de MC y de la concentración de SB. La formación de nuevas poblaciones coloidales y el

desplazamiento de los picos de tamaño de partícula hacia tamaños mayores reflejan una reorganización estructural compatible con un mecanismo de secuestro o complejación de SB. Esta propiedad es clave para explicar el comportamiento observado en la digestión lipídica, ya que la disponibilidad reducida de SB en la interfase O/W limitaría la acción de las lipasas, resultando en una menor liberación de ácidos grasos.

Además, si el complejo formado entre la SB y el MC es insoluble, no se reabsorbería en el intestino y se eliminaría por heces. Este fenómeno provoca una síntesis endógena adicional de SB a partir del colesterol en el hígado, lo que puede resultar en una reducción de los niveles de colesterol en sangre, con el beneficio que implica esto sobre la salud.

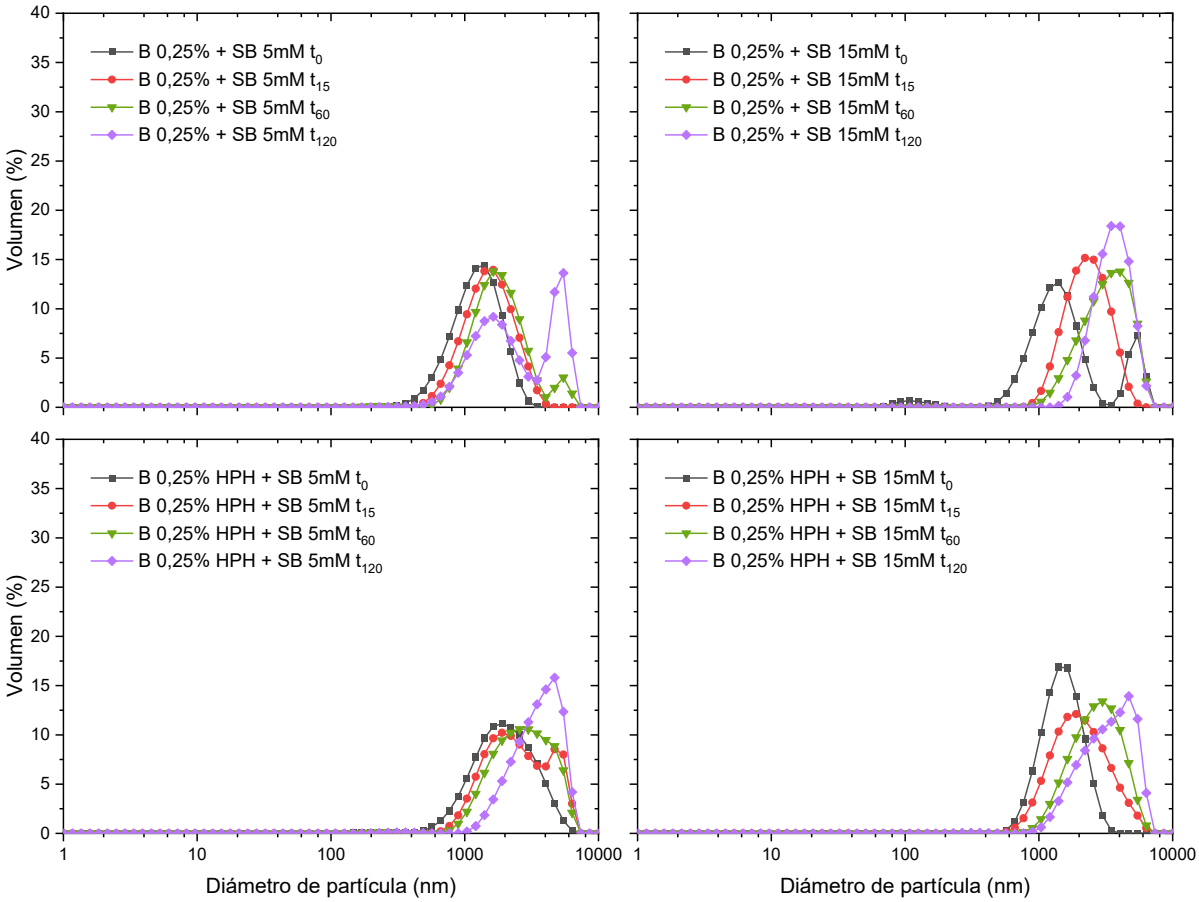


Figura III.5. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) de la interacción entre MC B (0,25%) + SB (5 y 15mM) durante 120 minutos. MC sin tratamiento (arriba) y MC modificado por HPH (abajo).

Se ha reportado un efecto similar de interacción con SB con hidrolizados proteicos de glicinina (Pak et al., 2005) y de semilla de apio (Zhang et al., 2012) y se vinculó dicha interacción con una disminución del colesterol debido a que la unión de las SB a los péptidos impidió su reabsorción intestinal y estimuló la conversión del colesterol plasmático en nuevos ácidos biliares.

A diferencia de los secuestrantes sintéticos actuales, como la colestiramina, cuyo uso puede generar efectos gastrointestinales adversos o incluso problemas asociados con la absorción de otros medicamentos, el uso de biopolímeros naturales como agentes secuestrantes de SB, como proteínas/péptidos o fibras, como el MC, ofrece una alternativa prometedora, más segura y funcional (Bellesi y Pilosof, 2021).

Con el fin de confirmar visualmente la interacción entre el MC y SB, se realizó una comparación directa entre las distribuciones de tamaño de partícula de los componentes individuales (MC y SB) y sus mezclas, todos evaluados al mismo tiempo de ensayo (15 minutos), que, como se dijo anteriormente, el t_{15min} se tomó como el tiempo más representativo de lo que ocurre con las SB en el duodeno. Esta estrategia permitió observar con mayor claridad si el comportamiento coloidal de la mezcla podía explicarse simplemente como la suma de sus partes o si, por el contrario, surgían nuevas estructuras, lo cual indicaría interacción molecular entre los compuestos. Tanto para la mezcla con el MC A (**Figura III.6**) como con el MC B (**Figura III.7**), al comparar el perfil de tamaño del MC 0,25 % p/p (nativo y tratado con HPH), de las SB (5 mM y 15 mM) y de su mezcla, se observó un nuevo pico claramente desplazado hacia diámetros mayores en la curva correspondiente a la mezcla. Este nuevo pico no coincide ni con el tamaño característico del MC A solo ni con el de las SB solas, lo que sugiere la formación de complejos o estructuras asociadas MC-SB.

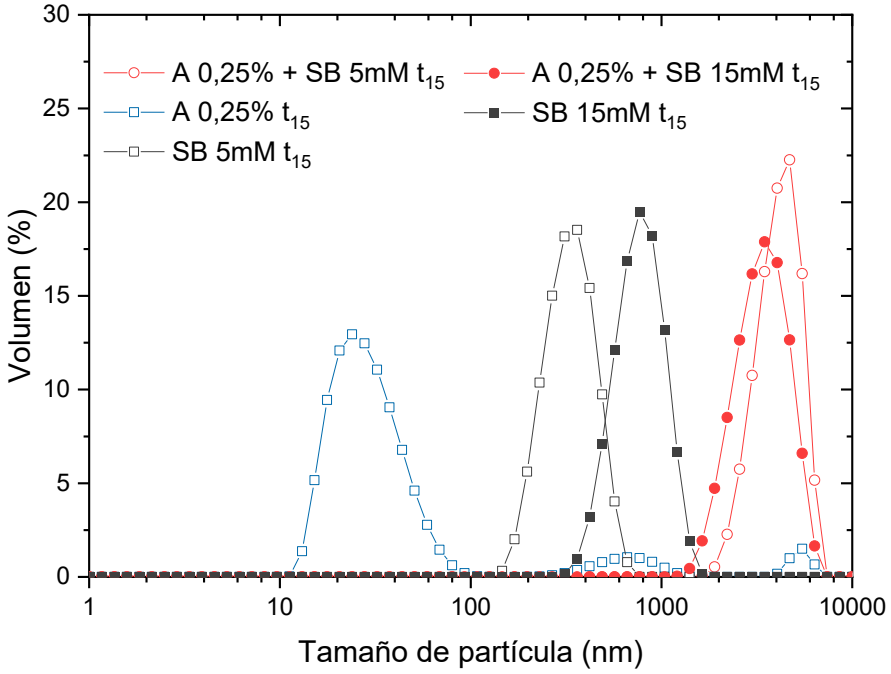


Figura III.6. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) de los componentes individuales (MC A y SB) y sus mezclas, evaluados al mismo tiempo de ensayo (t_{15}).

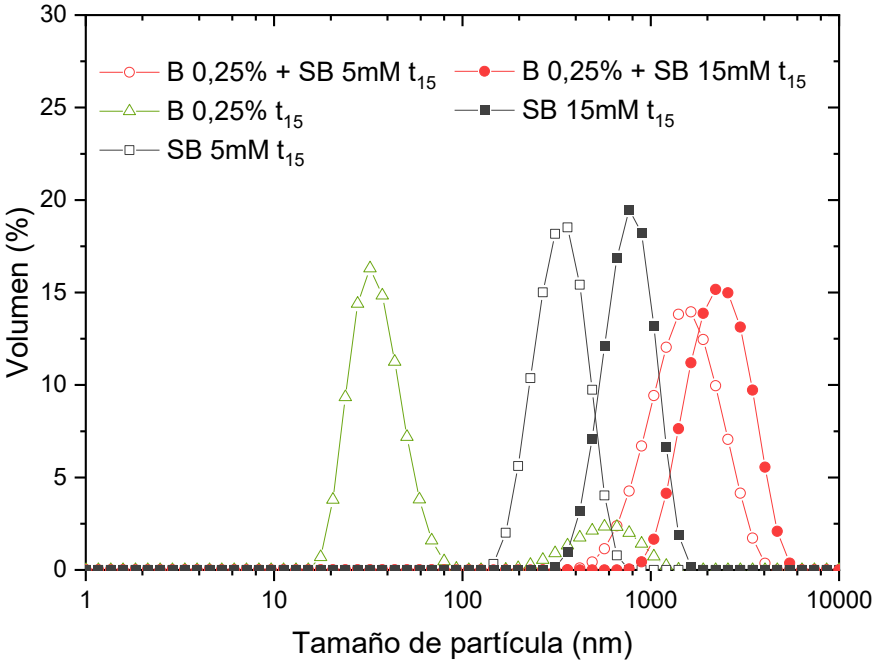


Figura III.7. Distribución de tamaño de partícula expresada en volumen (%) de los componentes individuales (MC B y SB) y sus mezclas, evaluados al mismo tiempo de ensayo (t_{15}).

Para complementar y reforzar la evidencia de interacción entre el MC y las SB, se realizaron mediciones de turbidez en simultáneo con las medidas de tamaño de partícula durante 120 minutos, evaluando las soluciones de MC (A y B, nativos y tratados por HPH), SB (5 y 15 mM) y sus mezclas correspondientes (**Figura III.8** y **Figura III.9**). El aumento de turbidez en soluciones coloidales suele estar relacionado con la formación de agregados o complejos de mayor tamaño, por lo que este parámetro es útil para detectar fenómenos de asociación entre biopolímeros y otras moléculas. Ambos MC (A y B), con y sin tratamiento HPH, mostraron valores de turbidez estables y bajos a lo largo del tiempo, confirmando la estabilidad coloidal individual de los mucílagos en solución. Esta observación concuerda con lo discutido previamente a partir de las distribuciones de tamaño de partícula, donde los MC no mostraron aumento de tamaño con el tiempo. Por otro lado, las SB solas, tanto a 5 mM como a 15 mM, mostraron una turbidez inicial más baja, que aumentó levemente a lo largo del tiempo, sin embargo, el aumento de turbidez fue mucho más marcada para la SB 15 mM. Esto indica que, a mayor concentración de SB, hay una mayor tendencia a la formación de complejos supramicelares o estructuras coloidales más grandes y densas, que dispersan menos la luz. Este comportamiento es coherente con lo observado en las curvas de tamaño de partícula, donde se vio un aumento progresivo en el tamaño de las micelas, obteniendo valores de mayor tamaño a 15 mM. A medida que las micelas crecen y se reorganizan, tienden a dispersar más luz por número de partículas, lo que explica el aumento de la turbidez.

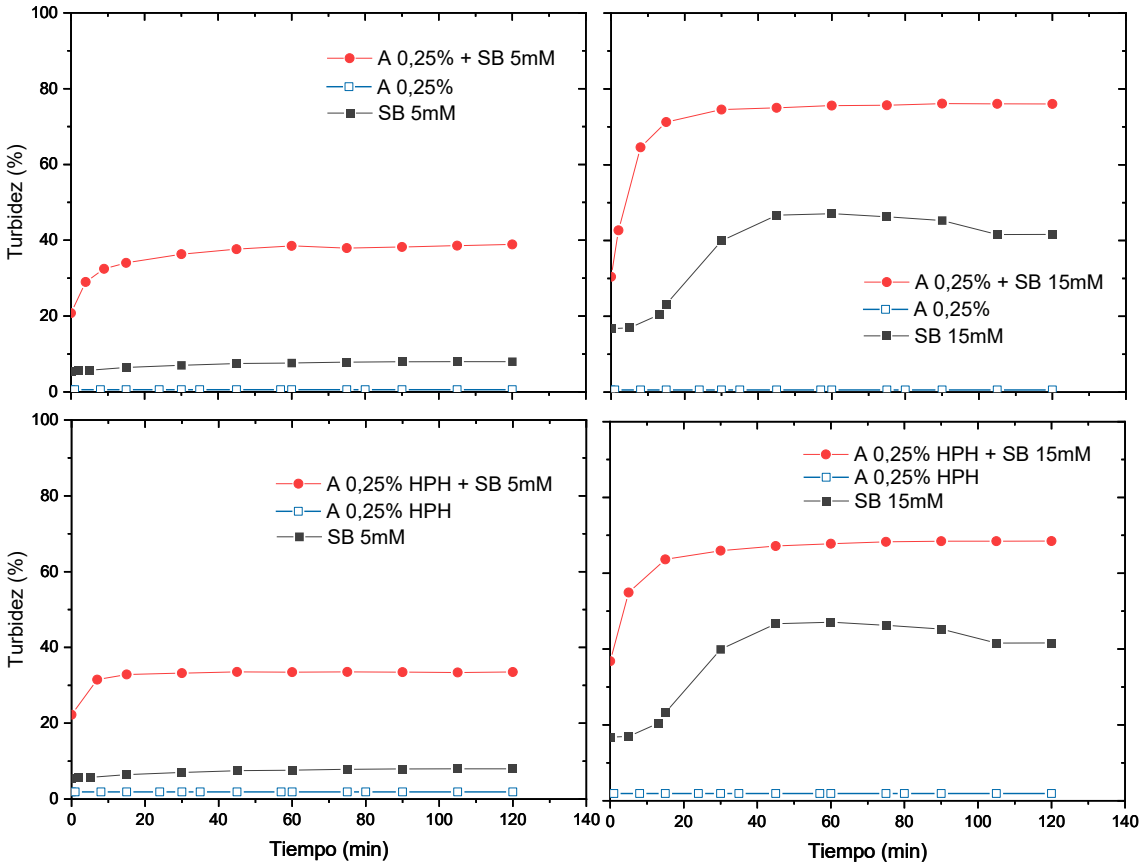


Figura III.8. Turbidez (%) de los componentes individuales (MC A y SB) y sus mezclas, evaluados durante 120 minutos.

Por último, las mezclas de MC con SB evidenciaron un aumento progresivo y sostenido de la turbidez, alcanzando valores de turbidez mayores que las SB solas. La turbidez de las mezclas MC-SB se estabilizó luego de los primeros 15–20 minutos. Este comportamiento fue consistente tanto en MC A como en MC B, y en sus formas nativa y tratada por HPH, sin observar diferencias sustanciales entre MC A y MC B. No obstante, la intensidad del cambio fue diferente según la concentración de SB, aumentando más la turbidez con la mayor concentración de SB. De esta manera, el aumento de turbidez se puede interpretar como una consecuencia directa de la formación de complejos MC-SB, que aumentan la dispersión de luz al generar estructuras de mayor tamaño y heterogeneidad.

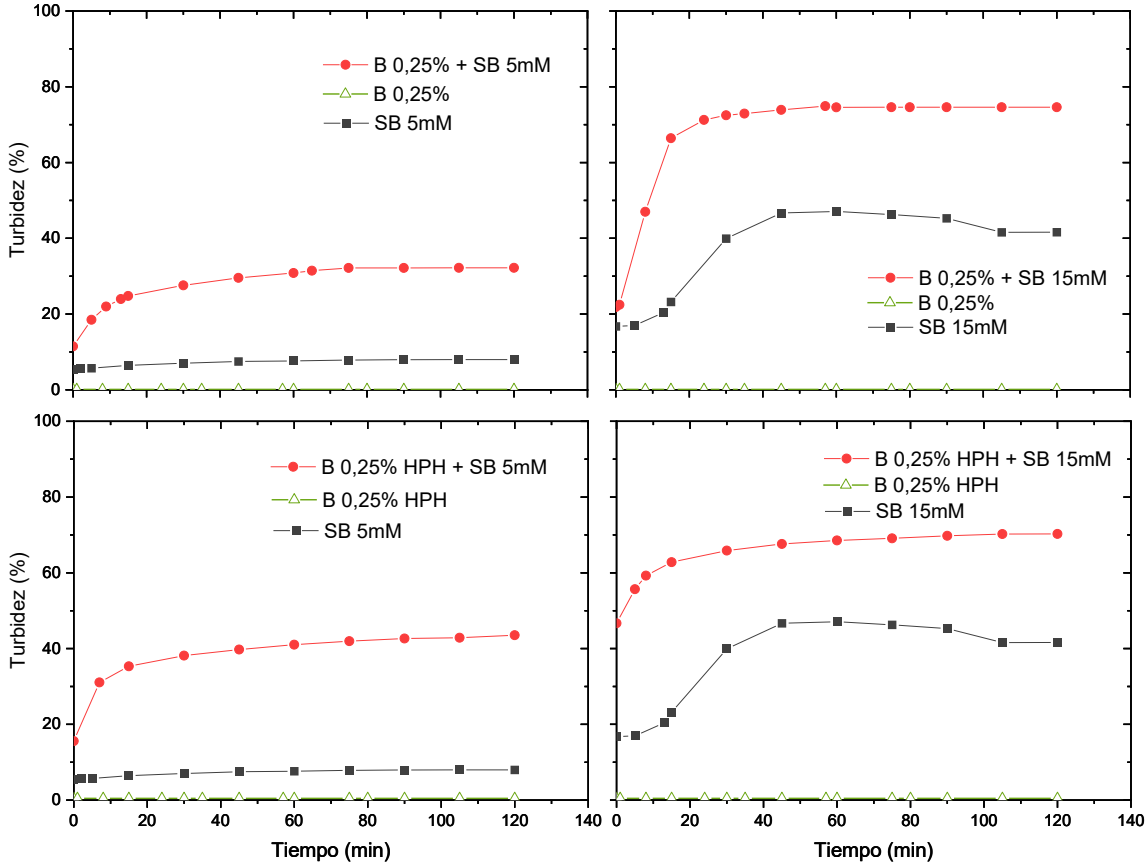


Figura III.9. Turbidez (%) de las soluciones de los componentes individuales (MC B y SB) y sus mezclas, evaluados durante 120 minutos.

Por último, los resultados de la determinación del potencial ζ de las soluciones de MC y SB solos y sus mezclas se muestran en la **Tabla III.1**.

Los resultados obtenidos del análisis estadístico mostraron que las mezclas de MC con SB, tanto en sus formas nativas como tratadas por HPH, presentaron valores intermedios de potencial zeta, ubicándose de forma consistente entre los valores correspondientes a los componentes individuales por separado (**Tabla III.1**). Por ejemplo, el MC A al 0,25 % p/p mostró un valor promedio de -29,7 mV, mientras que las SB 5 mM alcanzaron -58,1 mV. La mezcla MC A + SB 5 mM, en cambio, presentó un valor intermedio de -47,6 mV. Si no existiera tal interacción, sería esperable que el potencial zeta de la mezcla fuera mayor que el de los componentes individuales, es decir, que tuviera una mayor carga negativa. Sin embargo, el valor resultante es intermedio, lo que sugiere la interacción entre ellos, y ,como consecuencia de ello, una modificación de la carga debida quizás al bloqueo de algunos grupos ocupados en dicha unión.

Tabla III.1. Potencial ζ de los MC A y B (0,25 % p/p), antes y después del tratamiento HPH, las SB (5 y 15 mM) y sus mezclas, evaluados al mismo tiempo de ensayo (t_{15}).

Sistema	Potencial ζ (mV)
MC A 0,25%	-29,69 ± 1,44[a]
SB 5 mM	-58,09 ± 0,62[c]
MC A 0,25% + SB 5 mM	-47,60 ± 0,42[b]
MC A 0,25%	-29,69 ± 1,44[a]
SB 15 mM	-55,74 ± 0,58[c]
MC A 0,25% + SB 15 mM	-46,56 ± 1,19[b]
MC A 0,25% HPH	-26,89 ± 0,52[a]
SB 5 mM	-58,09 ± 0,62[c]
MC A 0,25% HPH + SB 5 Mm	-41,51 ± 1,71[b]
MC A 0,25% HPH	-26,89 ± 0,52[a]
SB 15 mM	-55,74 ± 0,58[c]
MC A 0,25% HPH + SB 15 mM	-46,00 ± 0,07[b]
MC B 0,25%	-29,92 ± 2,47[a]
SB 5 mM	-58,09 ± 0,62[c]
MC B 0,25% + SB 5 mM	-48,34 ± 2,17[b]
MC B 0,25%	-29,92 ± 2,47[a]
SB 15 mM	-55,74 ± 0,58[c]
MC B 0,25% + SB 15 mM	-50,11 ± 0,88[b]
MC B 0,25% HPH	-25,09 ± 0,33[a]
SB 5 mM	-58,09 ± 0,62[c]
MC B 0,25% HPH + SB 5 mM	-50,03 ± 0,06[b]
MC B 0,25% HPH	-25,09 ± 0,33[a]
SB 15 mM	-55,74 ± 0,58[c]
MC B 0,25% HPH + SB 15 mM	-48,96 ± 1,57[b]

Valores seguidos por letras diferentes para cada grupo de sistemas difieren significativamente ($p < 0,05$).

Desde el punto de vista fisicoquímico, esta modificación puede explicarse por la asociación electrostática o hidrofóbica entre el MC y las SB, lo cual da lugar a la formación de complejos coloidales híbridos. Estas estructuras pueden tener cargas superficiales y propiedades de dispersión diferentes a las del MC o SB por sí solos, reflejándose en una modificación del potencial zeta, tamaño de partícula y turbidez, como se observó también en los otros ensayos complementarios.

El hecho de que las mezclas presenten valores intermedios, pero significativamente diferentes a los de sus componentes confirma, junto con las demás pruebas, que la interacción es efectiva y tiene un impacto medible, y que no se trata de una simple coexistencia en solución. Además, la consistencia de este patrón en distintas

combinaciones (MC A o B, SB a 5 o 15 mM, con o sin HPH) refuerza la solidez de este comportamiento.

En conjunto, estos resultados consolidan la idea de que el MC tiene la capacidad de modificar el entorno coloidal de las SB mediante interacciones directas, lo que aporta una base para explicar su efecto funcional en la reducción de la lipólisis (**Figura III.1**) a través del secuestro fisicoquímico de las SB y su potencial como agente bioactivo en alimentos funcionales. Se puede decir, entonces, que los resultados consolidan la hipótesis de que el efecto del MC sobre la lipólisis se debe, al menos en parte, a su capacidad para interactuar y posiblemente secuestrar SB, limitando así su rol en la emulsificación y digestión de los lípidos.

En función de todo lo explicado, se podría decir, finalmente, que la interacción entre el MC con las SB impacta en la velocidad o extensión de la lipólisis, ya que podría afectar tanto el anclaje del complejo lipasa/colipasa en la interfase O/W, como también la solubilización y transporte de los productos de la lipólisis (ácidos grasos libres y monoglicéridos) hacia los enterocitos para su absorción.

Gracias a su carácter anfifílico, las SB tienen la capacidad de organizarse espontáneamente en medios acuosos formando estructuras agregadas conocidas como micelas mixtas, que incluyen también fosfolípidos y colesterol. Estas micelas se estabilizan mediante interacciones hidrofóbicas y enlaces de hidrógeno entre grupos funcionales polares, como los hidroxilos y carboxilatos (Madenci y Egelhaaf, 2010). Debido a esta naturaleza, las SB actúan como tensioactivos naturales con funciones fisiológicas esenciales, ya que participan activamente en la digestión de los lípidos y en procesos clave como el transporte, la absorción y la excreción de compuestos lipofílicos (Maldonado-Valderrama et al., 2011). Gracias a esta función, cumplen el rol de principales vehículos biológicos para nutrientes de baja solubilidad en medios acuosos facilitando el transporte de dichos nutrientes hacia la mucosa intestinal para su posterior absorción (Bellesi y Pilosof, 2021). Por otro lado, los ácidos biliares son generados en el hígado como resultado final del catabolismo del colesterol. La conversión del colesterol en ácidos biliares permite la eliminación continua de una fracción significativa del colesterol en el organismo humano, desempeñando un papel crucial en la regulación del metabolismo del colesterol. Este proceso resulta

especialmente relevante en la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras patologías asociadas (Chiang, 2013; Roger et al., 2011).

Dado este papel central, resulta fundamental profundizar en el conocimiento de la estructura de las sales biliares y su dinámica de interacción con los componentes de los alimentos, especialmente biopolímeros, ya que estas interacciones pueden tener efectos significativos sobre la biodisponibilidad de nutrientes y fármacos, con implicancias directas en el ámbito de la salud y la nutrición.

3.1.3. Modelo propuesto para la reacción de lipólisis

En este sentido, se propone un modelo (**Figura III.10**) para entender cómo las interacciones MC-SB podrían resultar fundamentales para el control de la digestión lipídica. En las emulsiones estabilizadas puramente por Blg (**Figura III.10 a**), las SB compiten y desplazan a la proteína de la interfase O/W lo que permite la eficiente unión del complejo lipasa/colipasa. Como consecuencia, se alcanza un alto grado de lipólisis, reflejado en la abundante generación de ácidos grasos libres y monoglicéridos, que posteriormente son solubilizados en micelas mixtas. Por el contrario, en las emulsiones estabilizadas por MC solo (**Figura III.10 b**), tanto el MC adsorbido en la interfase O/W como el MC que permanece remanente en la fase continua podría interaccionar con las SB, limitando su llegada a la interfase. Esto reduce la disponibilidad de SB en la superficie de las gotas y, por ende, restringe el acceso de la lipasa, resultando en una lipólisis mínima. Por último, en el caso de la emulsión mixta Blg-MC (**Figura III.10 c**), se observa una situación intermedia, las SB coexisten con ambos biopolímeros en la interfase, logrando desplazar parcialmente a la Blg, pero sin ejercer su función de manera tan eficiente como en la primera condición debido a que en parte interaccionan con el MC. Esto se traduce en una lipólisis moderada, con liberación intermedia de productos lipolíticos.

Como se mencionó previamente, el proceso interfacial de la lipólisis involucra tres pasos fundamentales (Golding y Wooster, 2010):

1) La unión del complejo lipasa/colipasa y las SB a la interfase O/W.

2) La hidrólisis del lípido emulsificado a 2-monoglicérido y dos FFAs.

3) La desorción de estos productos inhibitorios de la lipólisis mediante su solubilización en micelas mixtas de SB y fosfolípidos.

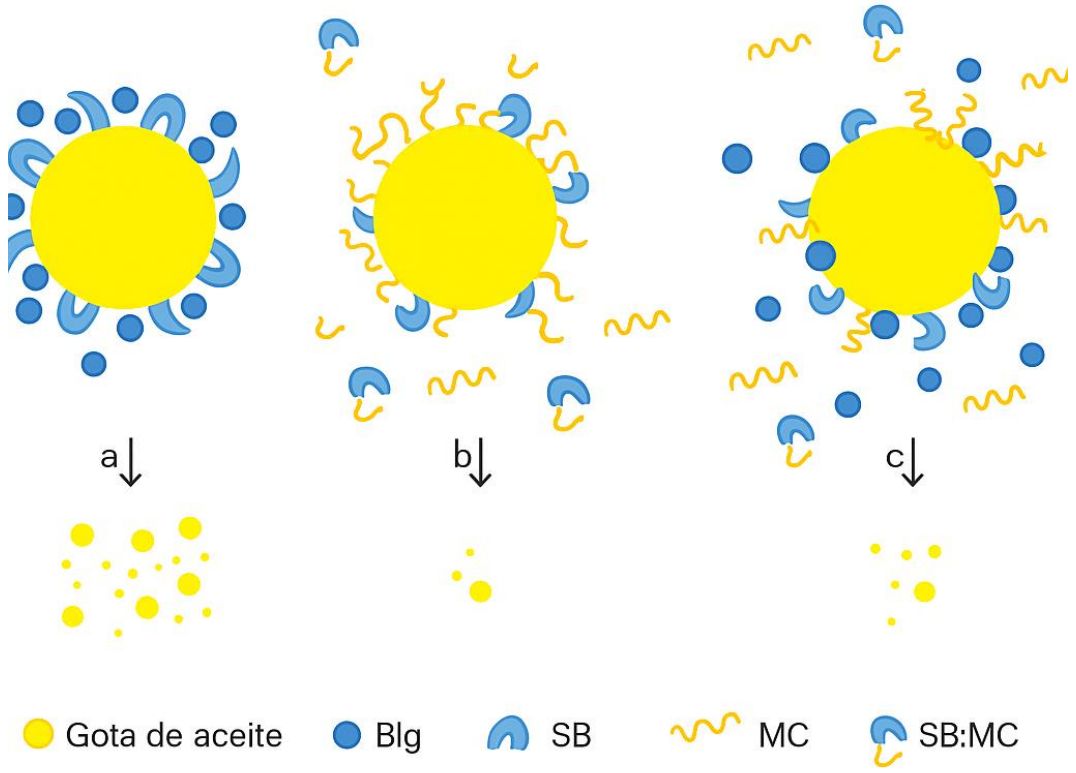


Figura III.10. Modelo de reacción de lipólisis de emulsiones de Blg (a), MC solo (b) y emulsiones mixtas Blg-MC (c). Efecto de la interacción con SB.

Una estrategia viable para reducir la digestión de las grasas no deseadas puede consistir en limitar la disponibilidad de SB para la solubilización de lípidos, considerando que la formación de micelas mixtas representa una etapa esencial para la absorción intestinal de grasas. En este sentido, la interacción entre las SB y compuestos secuestrantes, como el MC, podría alterar la conformación y/o el tamaño de las micelas, afectando así la incorporación de las grasas a la fase micelar y, por ende, su posterior digestión.

Por otro lado, el MC al unirse a las SB puede alterar su recirculación enterohepática. Si el complejo formado entre el MC y la SB es insoluble, no se reabsorbe en el intestino y, por lo tanto, se excreta en las heces. Esto resulta en un aumento de la síntesis de nuevas sales biliares a partir del colesterol endógeno, lo que puede disminuir los niveles de colesterol en sangre.

La evidencia sugiere que el MC, a través de su capacidad para interactuar con las sales biliares, no sólo puede modular la digestión lipídica, sino también contribuir a la reducción de los niveles de colesterol plasmático, posicionándose así como un

ingrediente funcional prometedor en estrategias dietéticas orientadas a la prevención de enfermedades cardiovasculares.

3.2. Estudio de la aptitud del mucílago de chía como carrier hierro

3.2.1. Capacidad de unión de hierro

Con el objetivo de evaluar la aptitud del MC para vehiculizar hierro, se determinó la capacidad de unión de hierro (CU) del MC por medio de un método colorimétrico utilizando ferrozina. Como se mencionó en Materiales y Métodos, la ferrozina es un cromógeno que reacciona con el Fe divalente en una relación de tres moléculas de ferrozina por una de hierro para formar un complejo estable color púrpura que absorbe a una longitud de onda máxima de 562 nm (Carter, 1971). Este método ha sido reportado ampliamente como una herramienta útil para estimar la capacidad de unión a hierro de biopolímeros (Chang et al., 2007; Oloughlin et al., 2015; Hidalgo et al., 2015; Smialowska et al., 2017), permitiendo determinar el hierro libre en solución luego de su unión con, por ejemplo, un biopolímero.

Se evaluaron dos concentraciones de MC A y B (0,2 y 0,4 % p/p) y concentraciones crecientes de hierro (0,2-1 mM). La **Figura III.11** muestra los resultados obtenidos de la CU en función de la concentración de hierro.

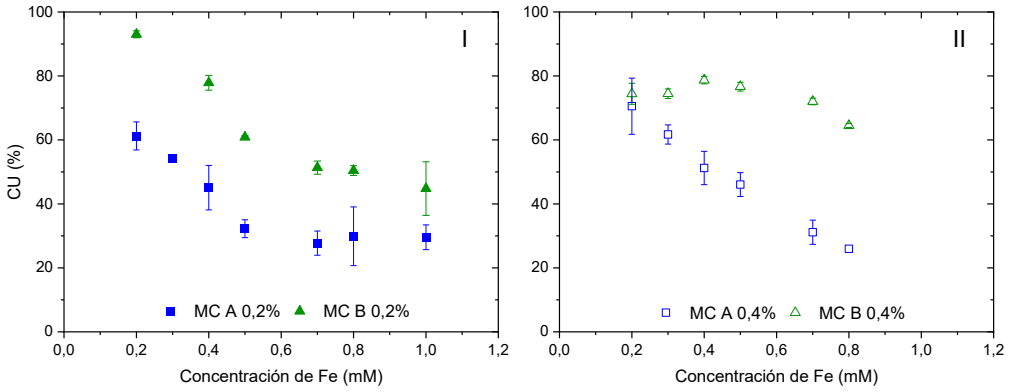


Figura III.11. Curva de capacidad de unión (%) en función de la concentración de hierro (mM), para el MC A y B al 0,2 % p/p (I) y 0,4 % p/p (II).

Para el MC al 0,2 % p/p se observó un valor máximo de CU con una concentración de hierro de 0,2 mM tanto para MC A como para MC B, mostrando una CU de 61 % y 93%,

respectivamente. A medida que se incorporó más hierro, el MC no fue capaz de unir más, disminuyendo su capacidad de unión gradualmente con el aumento de la concentración de hierro agregado. Para la solución de MC al 0,4 % p/p se observó también un valor máximo a partir del cual la CU comenzó a disminuir. A esta concentración, el MC A obtuvo un valor máximo de CU de 71 % con la adición de 0,2 mM de hierro, mostrando una disminución gradual de su CU con la adición de mayores concentraciones de hierro; mientras que el MC B, mantuvo una CU máxima de 75-80 % con la adición de hierro entre 0,2 y 0,5 mM, disminuyendo levemente (65 %) con concentraciones mayores de hierro (hasta 0,8 mM). La disminución del CU se relaciona con el aumento de la cantidad de iones hierro libres en solución. Estos resultados se explican con el hecho de que los posibles sitios de unión del MC alcanzan su saturación, alcanzando así la capacidad máxima de iones que pueden interaccionar con la molécula de MC.

También es posible observar que la CU del MC B, para ambas concentraciones, fue mayor que la obtenida para el MC A en cada concentración de hierro evaluada. Este resultado podría estar relacionado con la mayor viscosidad que presenta el MC A lo cual dificultaría las posibles interacciones entre el MC y los iones hierro. Además, es bien sabido que las proteínas tienen la capacidad de unir minerales, de hecho, han sido utilizadas diferentes proteínas/péptidos como carriers de minerales desde hace muchos años (Yang et al., 2025), por lo que también podría atribuirse la diferente CU de los mucílagos a la mayor concentración proteica del MC B respecto al A, que aportaría también sitios de unión disponibles para su unión con el hierro.

Observando la **Figura III.11**, se podría pensar que en los casos en que el valor máximo de CU no es extremadamente alto (60-70%), se podría haber explorado concentraciones de hierro menores, que permitan que el MC una todo el hierro presente, evitando que quede hierro libre que podría ser más susceptible a aportar características indeseables en un alimento. Sin embargo, evaluándolo con el objetivo de usarlo como vehículo de hierro para su aplicación en bebidas, utilizar menor concentración de dicho mineral implicaría que al momento de aplicarlo en el producto se requiera agregar mayor cantidad del complejo MC-hierro para lograr un determinado grado de fortificación. Y considerando tanto el costo de ello, como la modificación de las características que una mayor cantidad de MC podría impartir en un alimento, se decidió, por un lado,

seleccionar la concentración de MC 0,2 % p/p (teniendo en cuenta que no hay diferencias sustanciales con la concentración de 0,4 % p/p) y seleccionar la concentración de hierro de 0,2 mM como la óptima para la unión con ambos mucílagos. Se han realizado esfuerzos para fortificar alimentos vegetales con hierro mediante diversos métodos, incluyendo complejos de hierro-proteína vegetal, complejos de hierro-polisacárido, liposomas y microcápsulas con hierro (Hu et al., 2023). La incorporación de hierro en alimentos presenta varios desafíos tecnológicos que involucran la manera de vehiculizarlos porque interactúa con los componentes de los alimentos para producir cambios no deseados. La complejación de hierro con compuestos orgánicos se ha considerado una estrategia alternativa para mitigar estos problemas. Entre las alternativas que permiten su inclusión se encuentran el diseño de complejos entre el mineral y moléculas capaces de unirse a él. En la literatura, es posible encontrar numerosas referencias sobre la eficiencia de las proteínas y péptidos de origen animal como transportadores de hierro (Banjare et al., 2019; Caetano-Silva et al., 2018; Chunkao et al., 2020; Ryu y McClements, 2025; Zhang et al., 2022). Sin embargo, existe menos información sobre la formación de complejos de polisacáridos con hierro. Los polisacáridos naturales, extraídos de abundantes fuentes naturales, poseen múltiples ventajas, como su amplia disponibilidad, rentabilidad, facilidad de extracción lo que los hace atractivos para su utilización como vehículos de minerales. Se han evaluado las condiciones óptimas de formación de complejos entre algunos polisacáridos y hierro, y, entre las variables estudiadas se pueden mencionar temperatura, pH, relación polisacárido/hierro (Tang et al., 2013; Wang et al., 2007; Jing et al., 2022; Cui et al., 2018; Hu et al., 2023; Peng et al., 2022) que permiten obtener el mayor porcentaje de unión.

Algunas investigaciones demostraron que los complejos de polisacárido-hierro obtenidos con goma guar (Ganie et al., 2021) y el polisacárido obtenido de *Grifola frondosa* (Xu et al., 2018) permitieron controlar la liberación del Fe durante las condiciones de digestión gastroduodenal y además presentaron una alta actividad inmunoprotectora y actividad antianémica.

Por otra parte, para cualquier tipo de complejo biopolímero-hierro existen también diferentes métodos de evaluar esa capacidad de unión por la cual resulta dificultoso comparar dicha capacidad con la obtenida por otros polisacáridos evaluados en la

literatura. Sin embargo, la técnica empleada en el presente trabajo ha sido utilizada para reportar la CU de hierro de proteínas lácteas (Morales et al., 2020; Vidondo, 2020). Siendo estas proteínas ampliamente estudiadas por sus características estructurales que las posicionan como excelentes candidatas para la unión a minerales, resulta interesante evaluar su CU de hierro en comparación con la CU que presenta el MC. Si se compara la cantidad de hierro que es capaz de unir a 1 gramo de biopolímero (ya sea de estas proteínas lácteas que usaremos como control, o de nuestro MC) encontramos que se obtienen valores de: 10 mg de hierro / g de caseinomacropéptido, 5 mg de hierro / g de β-lactoglobulina, también 5 mg de hierro / g de MC B, y 4 mg de hierro / g de MC A (teniendo en cuenta para el cálculo de estos últimos dos los valores una concentración de MC 0,2 % p/p y de hierro de 0,2 mM). Estos resultados indican que la CU de hierro de los MC estudiados son adecuados y comparables con estas proteínas, posicionando al MC como un vehículo eficiente para este mineral.

Por último, teniendo en cuenta lo visto en el Capítulo 2, respecto a la alteración de la estructura del MC que provoca el tratamiento de HPH, se evaluó si dicho tratamiento modificaba la capacidad de unión a hierro. Para este fin, se estudió exclusivamente la concentración de MC de 0,2 % p/p con diferentes concentraciones de dicho mineral. Los resultados de CU de hierro de los MC HPH se muestran en la **Tabla III.2**. También se incluyeron en dicha tabla los datos correspondientes a los MC sin tratamiento al 0,2 % p/p (discutidos previamente en la **Figura III.11**) con fines comparativos.

Respecto a este estudio, no se observaron diferencias significativas en la CU para cada MC por efecto del HPH, manteniendo, además, la misma diferencia entre MC analizada en la **Figura III.11**. Por lo tanto, es posible concluir que el tratamiento con HPH no modificaría los sitos de unión del MC con hierro.

Tabla III.2. Capacidad de unión de hierro del mucílago de chía antes y después del tratamiento de homogenización a alta presión.

Mucilago de chía (0,2 % p/p)	Capacidad de unión de hierro (%)			
	Concentración de hierro (mM)			
	0,2 mM	0,4 mM	0,8 mM	1 mM
A	$61,2 \pm 4,4^{bA}$	$45,1 \pm 6,7^{abA}$	$29,9 \pm 9,2^{aA}$	$29,6 \pm 3,4^{a}$
A HPH	$63,6 \pm 1,1^{cA}$	$47,5 \pm 2,3^{bA}$	$34,0 \pm 2,1^{aA}$	-
B	$93,0 \pm 1,1^{bA}$	$77,9 \pm 2,3^{bA}$	$50,4 \pm 1,5^{aA}$	$44,8 \pm 8,3^{a}$
B HPH	$91,5 \pm 1,1^{cA}$	$76,6 \pm 1,7^{bA}$	$50,2 \pm 0,6^{aA}$	-

Letras minúsculas diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$) para el mismo mucílago a diferentes concentraciones de hierro. Letras mayúsculas diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas ($p<0,05$) para el mismo mucílago antes y después del tratamiento de homogenización a alta presión (HPH).

3.2.2. Interacción del mucilago de chía con hierro

Con el objetivo de evaluar la interacción entre el MC con el hierro, se realizaron determinaciones de tamaño de partícula, potencial zeta y espectro FTIR para intentar observar mediante estas técnicas la existencia de interacción e identificar los posibles sitios de unión del MC con el hierro.

Se determinó el tamaño de partícula de soluciones mixtas de MC 0,2 % p/p + hierro (en las figuras identificado como Fe) 0,2 mM, por dispersión dinámica de luz (**Figura III.12**), y se compararon los resultados con las distribuciones del MC solo evaluadas en el Capítulo 2 sección 2.2.3. Como se observó previamente, los MC A y B (sin hierro) presentaron una distribución multimodal y a partir de las distribuciones de tamaño de partícula por volumen fue posible deducir la proporción relativa de las poblaciones, con un pico principal con valores máximos entre 500 y 1000 nm y luego picos de menor tamaño con valores máximos menores a 80 nm, llegando incluso a valores menores a 10 nm (**Figura III.12 I y II**). Con el agregado de hierro se puede observar un marcado desplazamiento de la distribución hacia tamaños de partícula mayores, la desaparición de los picos de menor tamaño y la aparición de nuevas poblaciones a tamaños de partículas mayores a 1000 nm para ambos MC (**Figura III.12 III y IV**). Este aumento del tamaño de partícula del MC no puede atribuirse sólo a la interacción con iones hierro, ya que dicha unión no podría provocar por sí mismo un cambio de tamaño tal que sea evidente mediante esta técnica. Sin embargo, se observó un aumento muy marcado del tamaño, lo que sugeriría que la unión del MC con el hierro podría provocar un cambio

en la estructura de la molécula de MC que dé como resultado este aumento de tamaño, o incluso podría deberse a que la presencia de iones hierro provoque la asociación entre diferentes moléculas de MC.

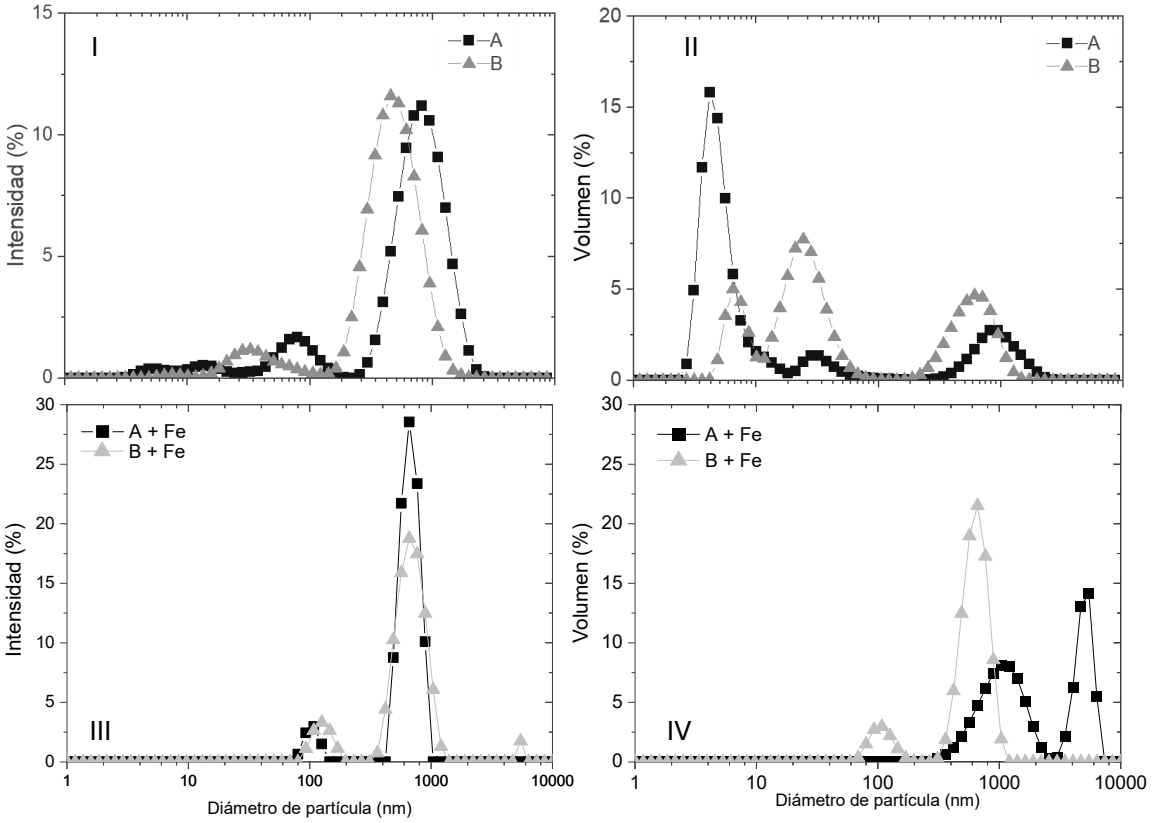


Figura III.12. Distribuciones de tamaño de partícula por intensidad (I y III) y por volumen (II y IV) para los MC A y B (0,2 % p/p) solos (datos de Figura II.3 del Capítulo 2) (I y II) y en presencia de hierro (0,2 mM) (III y IV).

Cuando se evaluó cómo afectaba el tratamiento con HPH las interacción entre el MC y los iones hierro, se obtuvieron los resultados mostrados en la **Figura III.13**. Para este análisis, si bien ambos mucílagos presentaron la misma tendencia, se tomó como ejemplo el MC A. En comparación con los resultados obtenidos para los MC A sin tratamiento, el tratamiento con HPH generó un perfil de tamaño menor, tal y como fue discutido previamente en el Capítulo 2, con una distribución bimodal en intensidad con un pico alrededor de 300 nm y otro alrededor de 6 nm, siendo este último el más importante expresado en volumen (**Figura III.13 II**). Con la incorporación de hierro a la muestra tratada con HPH, se evidenció nuevamente un marcado corrimiento hacia tamaños de partícula mayores, en el rango de 100 a 1000 nm, e incluso mayores, con la desaparición completa de las poblaciones de menor tamaño. Esta tendencia se alinea

con lo observado en la **Figura III.12** para los MC sin tratamiento. Estos resultados, en conjunto con los valores de CU vistos anteriormente, sugieren que el tratamiento por HPH no tiene efecto sobre la capacidad de unión del MC con los iones hierro.

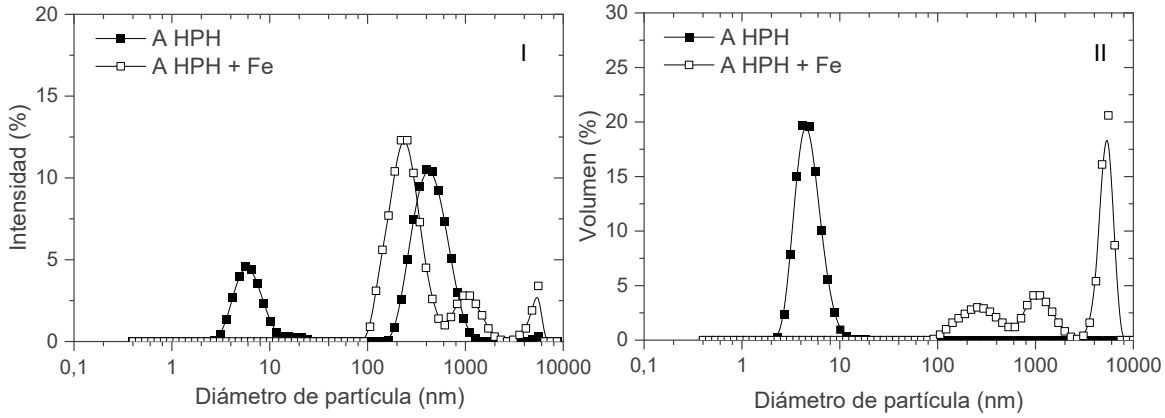


Figura III.13. Distribuciones de tamaño de partícula por intensidad (I) y por volumen (II) para el MC A (0,2 % p/p) con tratamiento HPH, solo (datos de Figura II.3 del Capítulo 2) y en presencia de hierro (0,2 mM).

Paralelamente se determinó el potencial ζ del MC en presencia de hierro y se lo comparó con el valor de potencial ζ del MC solo, ya sea tal cual como también tratado por HPH. Los resultados, presentados en la **Tabla III.3**, muestran una disminución de la carga negativa (potencial ζ) de la solución mixta de MC + hierro en comparación con las soluciones de MC solo, tanto para MC A como para MC B, tratado con HPH o sin tratar. Esta reducción de la carga negativa en presencia de hierro podría atribuirse al efecto neutralizador de dicho mineral sobre las cargas negativas del MC.

Tabla III.3. Potencial ζ del mucílago de chía solo y en presencia de hierro, antes y después del tratamiento de homogenización a alta presión.

	Potencial ζ (mV)	
Mucilago de chía (0,2 % p/p)	Sin hierro	Con hierro
A	-24,4 ± 0,1^{b}	-19,1 ± 0,5^{a}
A HPH	-27,2 ± 0,3^{b}	-20,1 ± 0,8^{a}
B	-30,1 ± 1,1^{b}	-20,8 ± 0,2^{a}
B HPH	-25,5 ± 2,7^{b}	-20,5 ± 0,7^{a}

Letras minúsculas diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

Finalmente, los sistemas mixtos MC + hierro (Fe en las figuras) fueron evaluados también mediante FTIR. Los espectros FTIR de los MC con y sin tratamiento HPH, pero sin hierro, ya analizados en el Capítulo 2 sección 2.2.6, y los espectros de los complejos MC + Fe se presentan en las **Figura III.14**. Tanto el MC como el complejo MC + Fe presentaron picos de absorción característicos de polisacáridos mencionados en la sección 2.2.6. Se observó el desplazamiento de algunas bandas de absorción en los espectros FTIR tras la unión del MC con el hierro. Las bandas de las vibraciones de estiramiento simétrico del grupo ácido carboxílico (COO^{-}) perteneciente a los grupos de ácidos urónicos en la estructura del mucílago de chía (1570–1448 cm^{-1}) (Soares et al., 2024) se desplazó de 1448 cm^{-1} a 1396 cm^{-1} en el MC A y de 1556 cm^{-1} a 1530 cm^{-1} en el MC B, lo que sugiere que este grupo funcional podría estar implicado en la unión con el hierro. Esta modificación de los espectros FTIR en complejos polímeros-hierro ha sido reportada por otros autores, con alteraciones también en la zona de 1400 cm^{-1} y en longitudes de onda menores (680-850 $cm^{-}1$)(Peng et al., 2022; Chi et al., 2018; Xu et al., 2018).

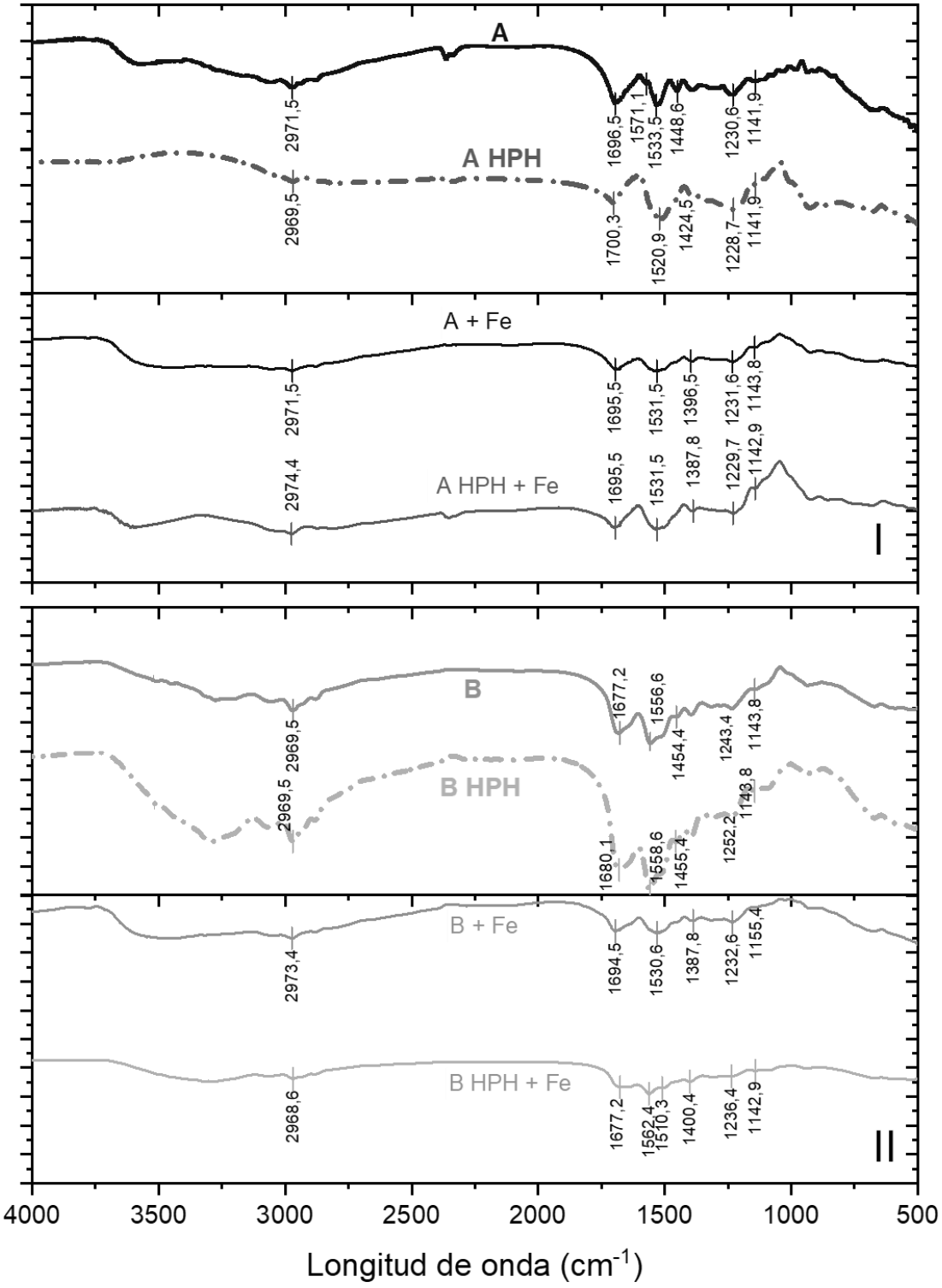


Figura III.14. Espectro FTIR del MC (0,2 % p/p) sin y con hierro (0,2 mM) A (I) y B (II) antes y después del tratamiento de homogenización a alta presión, en un rango de longitud de onda entre 4000 cm^{-1} y 500 cm^{-1}, con una resolución de 2 cm^{-1}.

Como se observó en el Capítulo 2, el tratamiento con HPH influyó en el espectro FTIR, principalmente en el MC A, justamente en la región correspondiente a los ácidos urónicos, con un desplazamiento del pico hacia longitudes de onda más bajas, de 1533 a 1520 cm^{-1}, sin y con tratamiento con HPH, respectivamente. Si bien existen diferencias de dichas bandas entre MC sin tratamiento y MC HPH, las observaciones respecto al hierro fueron similares, presentando desplazamientos en estas bandas correspondientes a los ácidos urónicos de 1520 a 1531 cm^{-1} en el MC HPH A y de 1558 a 1562 cm^{-1} en el MC HPH B, indicando que la modificación estructural producida por la aplicación de HPH no induce cambios significativos en los residuos que participan en la unión con el Fe.

La presencia de grupos carboxílicos en biopolímeros como polisacáridos y proteínas es fundamental para la formación de enlaces iónicos con cationes metálicos, como el hierro. Estos grupos funcionales actúan como sitios de unión, facilitando la formación de complejos que pueden influir significativamente en las propiedades fisicoquímicas y funcionales. En el caso de los polisacáridos, se ha demostrado que los grupos carboxílicos terminales pueden envolver la superficie de núcleos metálicos mediante enlaces covalentes, formando complejos estables. Se ha observado que los grupos carboxílicos interactúan con los iones hierro, resultando en una polimerización mutua de las cadenas de polisacáridos y en la formación de una red tridimensional estable denominada “caja de huevo” (egg-box), lo que conlleva un aumento de la asimetría molecular y cambios en la conformación de la molécula (Liu et al., 2019).

Un estudio reciente demostró que los polisacáridos extraídos de hojas de betel, ricos en ácidos galacturónicos y glucurónicos, forman complejos estables con hierro. La fuerte afinidad fue atribuida a los grupos carboxílicos cargados negativamente que se encuentran presentes en estos ácidos urónicos (Khan y Johri, 2025). Liu et al. (2024), estudiaron la unión del hierro a polisacáridos extraídos de hojas de *Eucommia ulmoides*, y mediante el análisis del espectro FTIR indicaron que los iones hierro se unieron a los sitios activos del polisacárido, incluyendo grupos carboxílicos, sin alterar su estructura fundamental.

Además, la interacción de iones metálicos con grupos carboxílicos puede afectar las propiedades estructurales de los biopolímeros. Por ejemplo, en estudios sobre la

interacción de diferentes iones metálicos con grupos de ácido carboxílico, se ha encontrado que la fuerza de unión varía significativamente según el tipo de ion, lo que puede influir en la estabilidad y funcionalidad de los complejos formados (Bala et al., 2007). En resumen, los grupos carboxílicos desempeñan un papel crucial como sitios de unión para enlaces iónicos con iones metálicos, lo que tiene implicancias importantes en la formación y estabilidad de dichos complejos.

3.2.3. Modelo estructural del complejo formado por el mucílago de chía y el hierro

La estructura química del MC fue propuesta por primera vez por Lin et al. (1994), quienes la describieron como un tetrasacárido lineal con residuos de 4-O-metil-α-D-glucuronopiranosilo como ramificaciones en O-2 de algunos residuos de β-D-xilopiranosilo en la cadena principal, que consiste en unidades de (1 → 4)-β-D-xilopiranosilo-(1 → 4)-α-D-glucopiranosilo-(1 → 4)-β-D-xilopiranosilo.

Considerando los resultados discutidos en este capítulo sobre la interacción del MC con el hierro comprobada por medio del ensayo con ferrozina y entendiendo que dicha interacción ocurre a través de los grupos carboxílicos de los ácidos urónicos, lo cual fue evidenciado por FTIR (**Figura III.14**) y respaldado por la disminución de la carga negativa del complejo MC-hierro (**Tabla III.3**), se propone un modelo de la estructura química del MC con el posible sitio de unión con el hierro (**Figura III.15 I** y **II** para la estructura 3D y 2D, respectivamente).

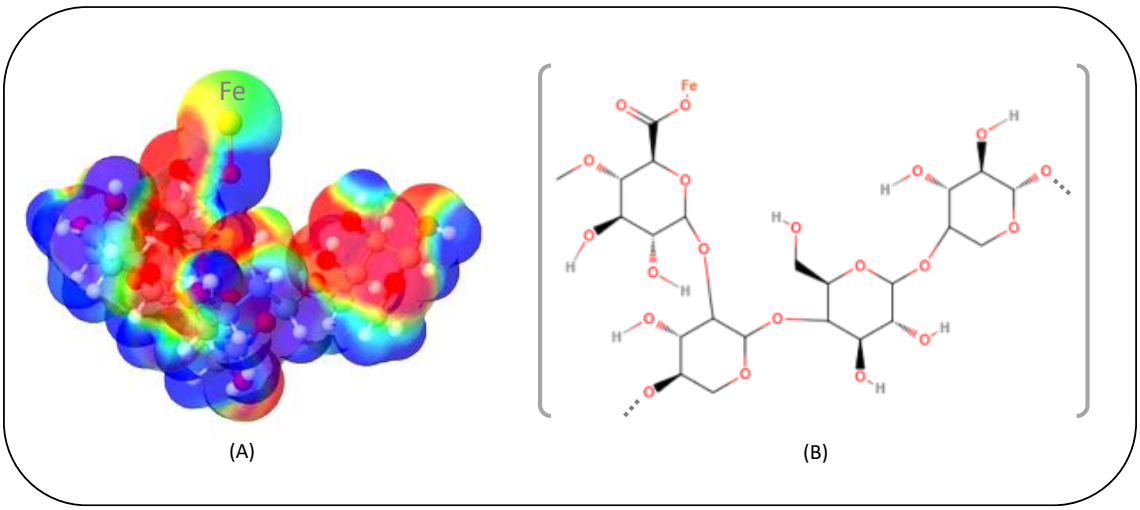


Figura III.15. Estructuras químicas 3D (I) y 2D (II) de la unidad del mucílago de chía con el sitio de unión propuesto con el hierro, predichas mediante el software MolView web-application.

Ambas estructuras propuestas se obtuvieron utilizando el software web MolView (MolView web-application, 2014), que permite generar la superficie de potencial electrostático molecular de la unidad de MC, la cual consiste como se mencionó anteriormente en un tetrasacárido lineal con dos residuos de D-xilopiranosilo y uno de D-glucopiranosilo, además de ramificaciones de ácido 4-O-metil-D-glucopiranosilurónico. El ion ferroso se uniría a los sitios $–COO^-$ en la rama del ácido urónico. Esta estructura propuesta refiere a una de las unidades formadas en la unión del MC con el hierro la cual podría asociarse en una estructura más compleja ya que el ion ferroso, cargado positivamente, también podría unirse a otro grupo carboxílico de un ácido urónico de otra rama de la misma molécula de MC o incluso de otra molécula de MC, formando así interacciones no sólo intramoleculares, sino también intermoleculares, resultando en una estructura más asociada con un tamaño de partícula mucho más grande, lo que está de acuerdo con los resultados encontrados en la determinación del tamaño de partícula del sistema mixto MC + hierro (**Figura III.12** y Figura **III.13**).

3.3. Conclusiones

A lo largo de este capítulo se abordó de manera integral el comportamiento funcional del MC, evaluando su efecto sobre la digestión lipídica incorporándolo como ingrediente en sistemas emulsionados y su capacidad de interactuar con las sales biliares (SB), componentes clave del proceso digestivo intestinal. Además, se estudió la capacidad del MC para unir hierro, otro potencial atributo del MC vinculado a la salud. Los resultados obtenidos permiten establecer un vínculo claro entre las propiedades fisicoquímicas del MC y su potencial bioactivo.

En primer lugar, se demostró el impacto del MC en la digestión lipídica. Las emulsiones formuladas con MC mostraron una reducción significativa en la liberación de ácidos grasos durante la lipólisis in vitro, con una inhibición de hasta un 75–80% en comparación con una emulsión control estabilizada con Blg. Esta modulación se explicó a través de la verificación de la interacción específica entre el MC y las sales biliares (SB), responsables de emulsificar lípidos y facilitar el acceso de las lipasas a la interfase. Los

resultados de tamaño de partícula mostraron que las mezclas MC-SB generaban nuevas poblaciones coloidales, distintas de las de sus componentes por separado. Estos cambios se observaron incluso a los pocos minutos de contacto. A su vez, las mediciones de turbidez respaldaron estos hallazgos, mostrando que las mezclas presentaban un aumento progresivo de la turbidez. Este comportamiento coincide con el aumento en el tamaño de partícula observado en las distribuciones de tamaño, lo cual sugiere la formación de complejos supramicelares o agregados MC-SB que dispersan más luz.

Este hallazgo es sumamente relevante por dos razones:

1) si se trata de un lípido que no es deseable que se absorba, la reducción de la liberación de ácidos grasos sería una funcionalidad deseada ya que disminuiría su bioaccesibilidad.

2) la interacción o "secuestro" que el MC hace con las SB podría provocar, además, una alteración de la recirculación enterohepática de las SB, ya que si el complejo MC:SB es insoluble es secretado por las heces promoviendo, así, la síntesis de nuevas SB a partir del colesterol, con la consecuente reducción del colesterol en sangre.

Por otro lado, los resultados del estudio de la capacidad del MC para unir hierro revelaron que el MC presenta la capacidad de unir iones hierro en su estructura y formar complejos MC-hierro. Se establecieron condiciones óptimas de unión para ambos tipos de MC (A y B) en presencia de hierro, siendo el MC B más eficiente alcanzando una capacidad de unión del 93 %. De manera adicional, se analizaron las interacciones entre el MC y el hierro mediante espectros de FTIR, demostrando modificaciones en las bandas correspondientes a los ácidos carboxílicos de los ácidos urónicos del MC en presencia de hierro. Dicha interacción también se verificó mediante un notorio aumento del tamaño de partícula en la mezcla MC+hierro comparada con la solución de MC solo. Finalmente, se propuso un modelo de interacción del MC con hierro respaldado por los estudios realizados en este capítulo. Teniendo en cuenta la capacidad de unión obtenida y el porcentaje de hierro necesario para designar un producto como "fortificado" (CAA, Cap. XVII, Art. 1363) se requeriría una concentración muy baja de MC, 0,02 % p/p y 0,03 % p/p para MC A y B, respectivamente, para alcanzar el objetivo de fortificación (20 % del valor diario de referencia para hierro, que en promedio es de 14 mg/día).

En conjunto, los resultados obtenidos en este capítulo destacan el potencial del MC como un ingrediente con rol dual en el desarrollo de alimentos funcionales. Por un lado, sus propiedades estructurales y tecnológicas le confieren la capacidad de interactuar con las sales biliares, modulando de forma natural el proceso digestivo de los lípidos. Por otro lado, se posiciona como un vehículo eficaz para la fortificación con hierro, gracias, además, a su versatilidad en diversas aplicaciones alimentarias. Esta doble funcionalidad convierte al MC en una alternativa valiosa tanto para mejorar el perfil nutricional de los alimentos como para contribuir al control de la absorción de grasas y/o reducir el colesterol otorgando un enfoque preventivo en la salud cardio metabólicas, de gran relevancia teniendo en cuenta que las enfermedades cardiovasculares son una de las principales enfermedades no transmisibles, y estas últimas la principal causa de muerte en Argentina y en el mundo, según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2025).

3.4. Bibliografía

Amyoony, A., Lin, X. y Wright, A.J. (2017). GG decreases in vitro digestive lipolysis and carotenoid bioaccessibility from a pre-formed protein-stabilized emulsion. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 9, pp 21-27. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2016.12.003.

Bala, T., Prasad, B. L. V., Sastry, M., Kahaly, M. U., y Waghmare, U. V. (2007). Interaction of different metal ions with carboxylic acid group: A quantitative study. Journal of Physical Chemistry A, 111(28), 6183–6190. https://doi.org/10.1021/JP067906X/SUPPL_FILE/JP067906XSI20070426_050616.PDF

Banjare, I. S., Gandhi, K., Sao, K., y Sharma, R. (2019). Optimization of spray-drying conditions for the preparation of whey protein concentrate–iron complex using response surface methodology. International Journal of Food Properties, 22(1), 1411–1424. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1651735

Bellesi, F. A., y Pilosof, A. M. R. (2021). Potential implications of food proteins-bile salts interactions. Food Hydrocolloids, 118, 106766. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106766

Borreani, J., Leonardi, C., Gemma, M., Quiles, A. y Hernando, I. (2019). How Do Different Types of Emulsifiers/Stabilizers Affect the In Vitro Intestinal Digestion of O/W Emulsions? Food Biophysics, 14(3), 313–325.

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., y Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. Nature Protocols 2019 14:4, 14(4), 991–1014. https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1

Brownlee, I. (2014). The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 4(2), 155–169. https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2014.09.005

Brownlee, I. A. (2011). The physiological roles of dietary fibre. Food Hydrocolloids, 25(2), 238–250. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2009.11.013

CAA. (2008). Capítulo XVII: Alimentos de Régimen o Dietéticos. Artículo 1363, Resolución Conjunta SPyRS N° 118/2008 y SAGPyA N° 474/2008.

Caetano-Silva, M. E., Cilla, A., Bertoldo-Pacheco, M. T., Netto, F. M., y Alegría, A. (2018). Evaluation of in vitro iron bioavailability in free form and as whey peptide-iron complexes. Journal of Food Composition and Analysis, 68, 95–100. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.010

Cakmak, H., Ilyasoglu-Buyukkestelli, H., Sogut, E., Ozyurt, V. H., Gumus-Bonacina, C. E., y Simsek, S. (2023). A review on recent advances of plant mucilages and their applications in food industry: Extraction, functional properties and health benefits. Food Hydrocolloids for Health, 3, 100131. https://doi.org/10.1016/J.FHFH.2023.100131

Calabresi, M., Andreozzi, P., y La Mesa, C. (2007). Supra-molecular association and polymorphic behaviour in systems containing bile acid salts. Molecules, 12(8), 1731–1754. https://doi.org/10.3390/12081731,

Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). Analytical Biochemistry, 40(2), 450–458. https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90405-2

Chang, C. Y., Wu, K. C., y Chiang, S. H. (2007). Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobin hydrolysates. Food Chemistry, 100(4), 1537–1543. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.12.019

Chiang, J. Y. L. (2013). Bile acid metabolism and signaling. Comprehensive Physiology, 3(3), 1191–1212. https://doi.org/10.1002/CPHY.C120023

Chen, M., Guo, L., Nsor-Atindana, J., Douglas Goff, H., Zhang, W. y Zhong, F. (2020). The effect of viscous soluble dietary fiber on nutrient digestion and metabolic responses Ⅱ: In vivo digestion process. *Food Hydrocolloids*, 107, 105908. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105908.

Chi., Y., Li, Y., Zhang, G., Gao, Y., Ye, H., Gao, J., y Wang, P. (2018). Effect of extraction techniques on properties of polysaccharides from Enteromorpha prolifera and their applicability in iron chelation. Carbohydrate Polymers, 181, 616-623. 10.1016/j.carbpol.2017.11.104.

Cho, S. J., Juillerat, M. A., y Lee, C. H. (2007). Cholesterol lowering mechanism of soybean protein hydrolysate. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55(26), 10599–10604. https://doi.org/10.1021/JF071903F,

Chunkao, S., Youravong, W., Yupanqui, C. T., Alashi, A. M., y Aluko, R. E. (2020). Structure and function of mung bean protein- derived iron-binding antioxidant peptides. Foods, 9(10), 101406. https://doi.org/10.3390/FOODS9101406,

Cui, J., Li, Y., Yu, P., Zhan, Q., Wang, J., Chi, Y. y Wang, P. (2018). A novel low molecular weight Enteromorpha polysaccharide-iron (III) complex and its effect on rats with iron deficiency anemia (IDA). International Journal of Biological Macromolecules, 108, 412-418. 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.033.

Espinal-Ruiz, M., Parada-Alfonso, F., Restrepo-Sánchez, L.P., Narváez-Cuenca, C.E. y McClements, D.J. (2014). Interaction of a dietary fiber (pectin) with gastrointestinal components (bile salts, calcium, and lipase): a calorimetry, electrophoresis, and turbidity study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 62 (52), 12620-12630. 10.1021/jf504829h.

Ganie, S. A., Naik, R. A., Ali, A., Mir, T. A., y Mazumdar, N. (2021). Preparation, characterization, release and antianemic studies of guar gum functionalized Iron complexes. International Journal of Biological Macromolecules, 183, 1495–1504. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.125

Golding, M., y Wooster, T. J. (2010). The influence of emulsion structure and stability on lipid digestion. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 15(1–2), 90–101. https://doi.org/10.1016/j.cocis.2009.11.006

Hu, S., Lin, S., He, X. y Sun, N. (2023). Iron delivery systems for controlled release of iron and enhancement of iron absorption and bioavailability. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 63 (29), 10197-10216. 10.1080/10408398.2022.2076652

Infantes-Garcia, M. R., Verkempinck, S. H. E., Gonzalez-Fuentes, P. G., Hendrickx, M. E., y Grauwet, T. (2021). Lipolysis products formation during in vitro gastric digestion is affected by the emulsion interfacial composition. Food Hydrocolloids, 110, 106163. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2020.106163

Jing, Y., Zhang, S., Li, M., Zhang, R., Zhang, H., Zheng, Y., Zhang, D., y Wu, L. (2022). Structural characterization and biological activities of polysaccharide iron

complex synthesized by plant polysaccharides: A review. Frontiers in Nutrition, 30 (9), 1013067. 10.3389/fnut.2022.1013067.

Khan, N., y Johri, S. (2025). Protective effects of betel leaf polysaccharide iron complex against hemolytic anemia: an in vitro and in vivo approach. Discover Plants 2025, 2(1), 1–10. https://doi.org/10.1007/S44372-025-00138-Y

Kongo-Dia-Moukala, J. U., Nsor-Atindana, J., y Zhang, H. (2011). Hypocholesterolemic activity and characterization of protein hydrolysates from defatted corn protein. Asian Journal of Biochemistry, 6(6), 439–449. https://doi.org/10.3923/AJB.2011.439.449

Langhout, D.J., Schutte, J.B., de Jong, J., Sloetjes, H., Verstegen, M.W. y Tamminga, S. (2000). Effect of viscosity on digestion of nutrients in conventional and germ-free chicks. *British Journal of Nutrition*, 83(5), 533-40.

Lin, K. Y., Daniel, J. R., y Whistler, R. L. (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. Carbohydrate Polymers, 23(1), 13–18. https://doi.org/10.1016/0144-8617(94)90085-X

Liu, M., Wang, Y., Wang, R., Zong, W., Zhang, L., y Wang, L. (2024). Preparation and Performance Evaluation of Polysaccharide–Iron Complex of Eucommia ulmoides. Foods, 13(14), 2302. https://doi.org/10.3390/FOODS13142302

Liu, T., Liu, T., Liu, H., Fan, H., Chen, B., Wang, D., Zhang, Y., y Sun, F. (2019). Preparation and Characterization of a Novel Polysaccharide-Iron(III) Complex in Auricularia auricula Potentially Used as an Iron Supplement. BioMed Research International, 2019(1), 6416941. https://doi.org/10.1155/2019/6416941

Macierzanka, A., Torcello-Gómez, A., Jungnickel, C., y Maldonado-Valderrama, J. (2019). Bile salts in digestion and transport of lipids. Advances in Colloid and Interface Science, 274, 102045. https://doi.org/10.1016/J.CIS.2019.102045

Madenci, D., y Egelhaaf, S. U. (2010). Self-assembly in aqueous bile salt solutions. Current Opinion in Colloid y Interface Science, 15(1–2), 109–115. https://doi.org/10.1016/J.COCIS.2009.11.010

Maestre, A., Guardado, P., y Moyá, M. L. (2014). Thermodynamic study of bile salts micellization. Journal of Chemical and Engineering Data, 59(2), 433–438. https://doi.org/10.1021/JE400903N

Maldonado-Valderrama, J., Wilde, P., Macierzanka, A., y MacKie, A. (2011). The role of bile salts in digestion. Advances in Colloid and Interface Science, 165(1), 36–46. https://doi.org/10.1016/J.CIS.2010.12.002

Markina, A. A., Ivanov, V. A., Komarov, P. V., Khokhlov, A. R., y Tung, S. H. (2017). Self-Assembly of Lecithin and Bile Salt in the Presence of Inorganic Salt in Water: Mesoscale Computer Simulation. Journal of Physical Chemistry B, 121(33), 7878–7888. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCB.7B04566/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JP-2017-04566F_0012.GIF

MolView webapplication software. (2014). Versión 2.4. Https://molview.org/

Morales, R., Martinez, M. J., y Pilosof, A. M. R. (2020). Iron-caseinglycomacropeptide complexes: Characterization and application in beverages. Food Research International, 138, 109772. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109772

Mudgil, D. (2017). Chapter 3 - The Interaction Between Insoluble and Soluble Fiber. En R. A. Samaan (Ed.). *Dietary Fiber for the Prevention of Cardiovascular Disease*, pp 35–59.

Naso, J. N. (2021). Estudio de las interacciones entre las emulsionantes: impacto en los mecanismos de lipólisis y bioaccesibilidad de ácidos grasos omega 3. Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6856_Naso.pdf

Ninomiya, R., Matsuoka, K., y Moroi, Y. (2003). Micelle formation of sodium chenodeoxycholate and solubilization into the micelles: comparison with other unconjugated bile salts. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 1634(3), 116–125. https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2003.09.003

Okuro, P. K., Viau, M., Marze, S., Laurent, S., Cunha, R. L., Berton-Carabin, C., y Meynier, A. (2023). In vitro digestion of high-lipid emulsions: towards a critical interpretation of lipolysis. Food y Function, 14(24), 10868–10881. https://doi.org/10.1039/D3FO03816E

Oloughlin, I. B., Kelly, P. M., Murray, B. A., Fitzgerald, R. J., y Brodkorb, A. (2015). Molecular characterization of whey protein hydrolysate fractions with ferrous chelating and enhanced iron solubility capabilities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(10), 2708–2714. https://doi.org/10.1021/JF505817A

Organización Mundial de la Salud. (2025). Recuperado de: https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-no-transmisibles

Pak, V. V., Koo, M., Lee, N., Kim, M. S., y Kwon, D. Y. (2005). Structure - Activity relationships of the peptide Ile-Ala-Val-Pro and its derivatives revealed using the semi-empirical AM1 method. Chemistry of Natural Compounds, 41(4), 454–460. https://doi.org/10.1007/S10600-005-0176-X

Peng, Y., Jiang, H., Wu, Y., Zhang, J., y Chen, Y. (2022). Preparation, characterization and antioxidant activity of a novel polysaccharide-iron (III) from Flammulina velutipes scraps. Arabian Journal of Chemistry, 15(10), 104190. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104190

Pilosof, A. M. R. (2017). Potential impact of interfacial composition of proteins and polysaccharides stabilized emulsions on the modulation of lipolysis. The role of bile salts. Food Hydrocolloids, 68, 178–185. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.08.030

Roger, V. L., Go, A. S., Lloyd-Jones, D. M., Adams, R. J., Berry, J. D., Brown, T. M., Carnethon, M. R., Dai, S., De Simone, G., Ford, E. S., Fox, C. S., Fullerton, H. J., Gillespie, C., Greenlund, K. J., Hailpern, S. M., Heit, J. A., Michael Ho, P., Howard, V. J., Kissela, B. M. y Wylie-Rosett, J. (2011). Heart disease and stroke statistics-2011 update: A report from the American Heart Association. Circulation, 123(4), 18-209. https://doi.org/10.1161/CIR.0B013E3182009701

Ryu, J., y McClements, D. J. (2025). Cellulose reinforcement of plant-based protein hydrogels: Effects of cellulose nanofibers and nanocrystals on physicochemical properties. Food Hydrocolloids, 158, 110541. https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2024.110541

Santamaria, M., Montes, L., Garzon, R., Moreira, R. y Rosell, C. (2022). Unraveling the impact of viscosity and starch type on the in vitro starch digestibility of different gels. *Food y Function*, 13, 10.1039.

Silva, L. D. A., Verneque, B. J. F., Mota, A. P. L., y Duarte, C. K. (2021). Chia seed (Salvia hispanica L.) consumption and lipid profile: A systematic review and meta-analysis. Food and Function, 12(19), 8835–8849. https://doi.org/10.1039/D1FO01287H,

Singh, V., Mahra, K., Klingate, J., y Shin, J. H. (2025). Seeds for gut health: Prebiotic potential of seed mucilages from Chia, Fenugreek, Basil, Mustard, and Flaxseed and their impact on adult and toddler's gut microbiome. Future Foods, 11, 100628. https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2025.100628

Smialowska, A., Matia-Merino, L., y Carr, A. J. (2017). Assessing the iron chelation capacity of goat casein digest isolates. Journal of Dairy Science, 100(4), 2553–2563. https://doi.org/10.3168/JDS.2016-12090

Soares, A., Tavares, M., Ortega, E., Vidigal, M. y Santana, R. (2024). Rheological and sensorial evaluation of fruit nectar with chia mucilage. International Journal of Gastronomy and Food Science, 35, 100849. https://doi.org/10.1016/J.IJGFS.2023.100849

Tamargo, A., Cueva, C., Laguna, L., Moreno-Arribas, M. V., y Muñoz, L. A. (2018). Understanding the impact of chia seed mucilage on human gut microbiota by using the dynamic gastrointestinal model simgi®. Journal of Functional Foods, 50(September), 104–111. https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.028

Tamargo, A., Martin, D., Navarro del Hierro, J., Moreno-Arribas, M. V., y Muñoz, L. A. (2020). Intake of soluble fibre from chia seed reduces bioaccessibility of lipids, cholesterol and glucose in the dynamic gastrointestinal model simgi®. Food Research International, 137, 109364. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109364

Tang, M., Wang, D., Hou, Y., Buchili, P., y Sun, L. (2013). Preparation, characterization, bioavailability in vitro and in vivo of tea polysaccharides-iron complex. European Food Research and Technology, 236(2), 341–350. https://doi.org/10.1007/S00217-012-1891-8

Theuwissen, E., y Mensink, R. P. (2008). Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. Physiology y Behavior, 94(2), 285–292. https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2008.01.001

Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., y Adhikari, B. (2017). Digestion behaviour of chia seed oil encapsulated in chia seed protein-gum complex coacervates. Food Hydrocolloids, 66, 71–81. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.017

Vidondo, V.S. (2020). Uso de proteínas del suero lácteo como carrier de hierro para la fortificación de bebidas. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

Wang, P. P., Zhang, Y., Dai, L. Q., y Wang, K. P. (2007). Effect of Angelica sinensis polysaccharide-iron complex on iron deficiency anemia in rats. Chinese Journal of Integrative Medicine, 13(4), 297–300. https://doi.org/10.1007/S11655-007-0297-0,

Xu, L., Meng, Y., Liu, Y., Meng, Q., Zhang, Z., Li, J., y Lu, Q. (2018). A novel iron supplements preparation from Grifola frondosa polysaccharide and assessment of antioxidant, lymphocyte proliferation and complement fixing activities. International Journal of Biological Macromolecules, 108, 1148–1157. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.163

Yang, R., Chen, R., Li, R., Liang, L. y Zhang, Y. (2025). Structure, properties and multifaceted food applications of four typical iron-binding proteins. Food Hydrocolloids, 163, 111080. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111080.

Zacherl, C., Eisner, P., y Engel, K.-H. (2011). In vitro model to correlate viscosity and bile acid-binding capacity of digested water-soluble and insoluble dietary fibres. *Food Chemistry*, 126(2), 423–428.

Zangenberg, N. H., Müllertz, A., Kristensen, H. G., y Hovgaard, L. (2001). A Dynamic in Vitro Lipolysis Model. I. Controlling the Rate of Lipolysis by Continuous Addition of Calcium. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(2), 115–122.

Zhang, H., Yokoyama, W. H., y Zhang, H. (2012). Concentration-dependent displacement of cholesterol in micelles by hydrophobic rice bran protein hydrolysates. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(7), 1395–1401. https://doi.org/10.1002/JSFA.4713,

Zhang, S., Murray, B. S., Holmes, M., Ettelaie, R., y Sarkar, A. (2023). Gastrointestinal Fate and Fatty Acid Release of Pickering Emulsions Stabilized by Mixtures of Plant Protein Microgels + Cellulose Particles: An In Vitro Static Digestion Study. Food Biophysics, 18(1), 120–132. https://doi.org/10.1007/S11483-022-09756-5

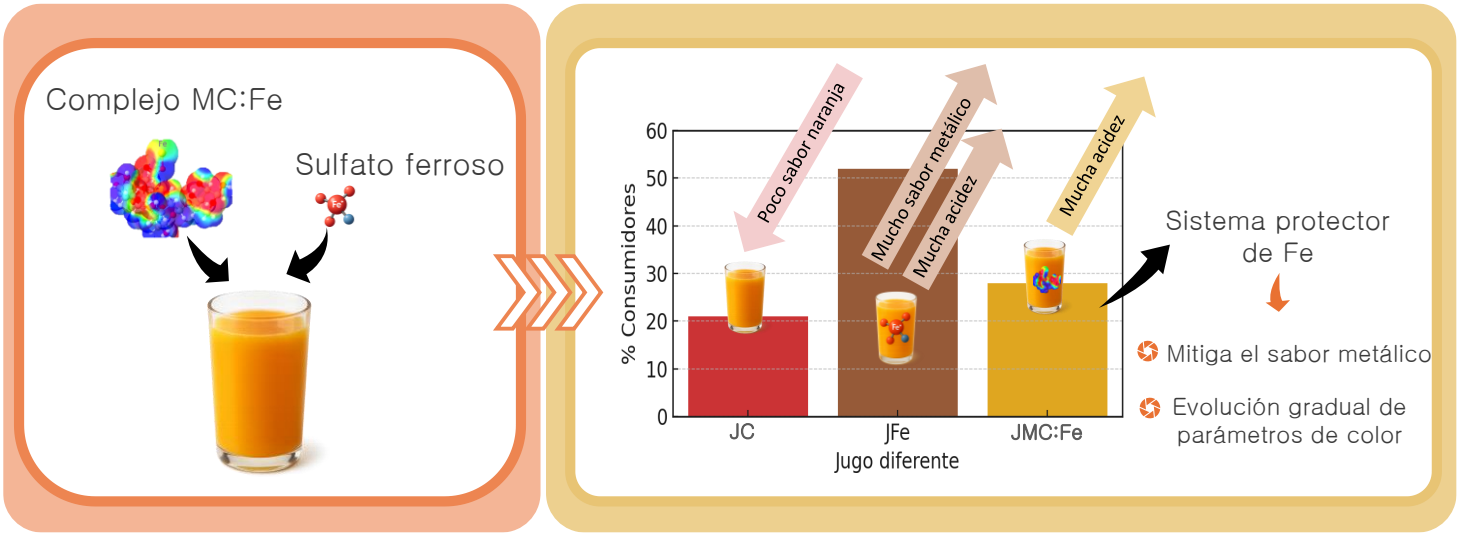
Zhang, Y. Y., Stockmann, R., Ng, K., Broadbent, J. A., Stockwell, S., Suleria, H., Shaik, N. K., Unnithan, R., y Ajlouni, S. (2022). Characterization of Fe (Iii)-Binding Peptides

from Pea Protein Hydrolysates Targeting Enhanced Iron Bioavailability. Food Chemistry, 405, 134887. https://doi.org/10.2139/SSRN.4225038

Zimmermann, M. B., y Hurrell, R. F. (2007). Nutritional iron deficiency. The Lancet, 370(9586), 511–520. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61235-5

CAPÍTULO 4

4 “Uso del mucílago de chía como vehículo de hierro para la fortificación de jugo de naranja”



La deficiencia de micronutrientes es una las principales causas de morbilidad global y en especial la de hierro es la deficiencia de mineral más común (Zimmermann y Hurrell, 2007). Frente a esta problemática, la fortificación de alimentos y bebidas con hierro se presenta como una estrategia clave para combatir la deficiencia de este micronutriente a nivel mundial (Hu et al., 2023). Sin embargo, la incorporación directa de compuestos como el sulfato ferroso, en matrices líquidas como el jugo de naranja puede conllevar problemas tecnológicos y sensoriales, incluyendo cambios de sabor, color, y estabilidad del producto. En este contexto, el uso de matrices naturales como carrier de hierro representa una alternativa prometedora para mejorar la eficiencia y estabilidad de la fortificación.

Como se vio en el Capítulo 3, el MC ha demostrado una alta capacidad de unión de iones hierro lo que da cuenta de su potencial como sistema carrier. En este estudio, se evaluó la eficacia del MC como vehículo de hierro en jugo de naranja, mediante la comparación de tres muestras: jugo de naranja sin fortificar (control, JC), jugo fortificado con sulfato ferroso (JFe), y jugo fortificado con un complejo MC B + Fe (JMC:Fe).

Para la formulación del complejo, se seleccionó exclusivamente el MC B debido a dos criterios fundamentales. En primer lugar, dado que se trata de una bebida, no sería deseable un incremento de la viscosidad, por lo que este MC sería el más adecuado debido a la menor viscosidad en comparación con el MC A. En segundo lugar, los estudios preliminares de capacidad de unión indicaron que, si bien ambos tipos de mucílago presentaron afinidad por el hierro, el MC B exhibió una capacidad de unión significativamente superior para formar complejos con sulfato ferroso, lo que lo posiciona como una mejor opción para aplicaciones en alimentos.

El uso del complejo MC:Fe permitiría no sólo estabilizar el hierro dentro de la matriz líquida, sino también potencialmente modular su liberación y biodisponibilidad, reduciendo efectos negativos asociados a la fortificación convencional. Esta aproximación representa un avance hacia el desarrollo de estrategias más eficientes y naturales de fortificación en bebidas funcionales, con un enfoque en la mejora de la calidad nutricional y sensorial del producto final.

La utilización del MC como ingrediente en alimentos presentó un desafío adicional debido a que, hasta el año pasado, el mucílago de chía no estaba incluido como tal en el

Código Alimentario Argentino. Por tal razón, y para otorgar un valor adicional a todo el estudio realizado sobre este nuevo ingrediente, se realizó el trámite de solicitud de inscripción del mucílago de chía ante la CONAL. Para ello, se inició el trámite elevando la solicitud con información sobre el mucílago de chía, respaldada por bibliografía nacional e internacional. Luego de cumplir con un pedido de ampliación de información, la Comisión Nacional de Alimentos, en su reunión ordinaria del 11 de septiembre de 2024 (Acta N° 155), acordó que a partir del informe presentado por el grupo de trabajo Aditivos Alimentarios (**Anexo 2**) y debido a la falta de legislación internacional sobre este ingrediente, no existe evidencia suficiente para incorporar a la sustancia como aditivo alimentario. No obstante, dado que el mucílago deriva de las semillas de chía ya incluidas en el CAA, concluyó que se permite la incorporación del mucílago de chía con otras alternativas de uso distintas a la función de aditivo (**Anexo 3** y **Anexo 4**).

Por ello, la Comisión acordó incorporar en el **Artículo 1417** del **Capítulo XXII "Misceláneos"** del **Código Alimentario Argentino**, en el **inciso 24**, a la ***Goma de Chía o Mucílago de Chía****: Hidrocoloide exudado obtenido luego de la hidratación de la semilla de chía (Salvia hispánica L.).*

Composición cualitativa y cuantitativa: Goma traslúcida, de consistencia, viscosa, inodora, incolora e insípida. Soluble en agua fría o caliente e insoluble en alcohol.

Composición fisicoquímica:

- *Contenido de carbohidratos: 35 – 60 % en base seca*
- *Contenido de fibras totales: 56 - 74 % en base seca*
- *Contenido de proteínas: 3 – 7 % en base seca*
- *Contenido de cenizas: 0,1 – 0,8 % en base seca*
- *Valor de pH de dispersiones acuosas: 6,1- 6,6*

Con esta aprobación lograda, se concretó el estudio de la incorporación del mucílago de chía a un jugo de naranja comercial con el fin de evaluar su capacidad como vehículo de hierro y determinar la estabilidad fisicoquímica del jugo fortificado y su aceptabilidad sensorial.

4.1. Estabilidad en el tiempo de jugos de naranja

4.1.1. Parámetros fisicoquímicos de los jugos de naranja en el tiempo

La **Tabla IV.1** presenta la evolución de los parámetros fisicoquímicos (pH, °Brix, acidez) y cromáticos de jugos de naranja almacenados durante 45 días a 37 °C bajo condiciones de ensayo acelerado.

Para todos los jugos evaluados el pH inicial fue de aproximadamente 3,04. El bajo pH en los productos cítricos se debe al contenido de ácido cítrico (ácido 2-hidroxi-1,2,3-propanotricarboxílico), que reduce el pH y produce el sabor ácido único de los jugos de cítricos (Penniston et al., 2008). El valor registrado se encuentra dentro del rango de 3-5 para jugos de frutas y verduras según lo informado por Harris et al. (1991) y Ndife et al., (2013).

El pH del jugo control se mantuvo constante (3,03 - 3,04) durante todo el período de almacenamiento, similar a lo reportado en estudios de estabilidad de jugo de naranja comercial para el cual no se observaron cambios en el pH durante 42 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración (Khairallah et al., 2016). En contraste, el jugo fortificado con hierro solo presentó una disminución significativa del pH, de 3,04 a 2,75, lo cual puede atribuirse a reacciones redox asociadas al hierro o a la formación de compuestos ácidos durante el almacenamiento. Cuando se utiliza sulfato ferroso para fortificar alimentos, si bien se logra un aporte de hierro de alta biodisponibilidad, esta forma de fortificación tiene la desventaja de permitir que el hierro libre iónico interactúe con los componentes del alimento, produciendo cambios en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales del mismo. Este metal actúa catalizando los procesos oxidativos, produciendo en consecuencia la oxidación de compuestos del alimento (Hurrel et al., 1997).

En el caso del jugo JMC:Fe, si bien también se observó una disminución del pH (de 3,05 a 2,84), esta fue menos pronunciada, lo que sugiere un efecto modulador del MC, posiblemente debido a la limitación de la interacción del hierro con otros compuestos.

Respecto a la acidez titulable, el jugo control se mantuvo estable al igual que el jugo JFe con valores promedio entre 0,50–0,51 %, mientras que en el jugo JMC:Fe se observó un aumento significativo de la acidez hasta alcanzar 0,94 % al final del período.

Tabla IV.1. Parámetros de estabilidad de jugos de naranja almacenados durante 45 días. Ensayo acelerado: 37°C

				Color		
Jugo (días)	**pH**	**Acidez (%)**	**°Brix**	**L***	**a***	**b***
Jugo de naranja control (0)	3,04 ± 0,02^{aA}	0,50 ± 0,00 ^{aA}	11,05 ± 0,07 ^{aA}	61,7 ± 1,1 ^{aA}	12,9 ± 0,8 ^{aA}	61,6 ± 1,6 ^{aA}
Jugo de naranja control (15)	3,04 ± 0,02 ^{aB}	0,51 ± 0,00 ^{aA}	11,15 ± 0,07 ^{aC}	61,7 ± 1,1 ^{aB}	12,9 ± 0,7 ^{aA}	60,6 ± 2,1 ^{aA}
Jugo de naranja control (30)	3,03 ± 0,01 ^{aB}	0,51 ± 0,00 ^{aA}	11,10 ± 0,00 ^{aB}	61,7 ± 1,1 ^{aC}	12,7 ± 0,5 ^{aA}	61,1 ± 2,2 ^{aA}
Jugo de naranja control (45)	3,03 ± 0,02 ^{aC}	0,51 ± 0,00 ^{aA}	11,10 ± 0,00 ^{aB}	61,7 ± 1,0 ^{aC}	12,6 ± 0,4 ^{aA}	61,0 ± 1,8 ^{aA}
Jugo de naranja + Fe (0)	3,04 ± 0,02 ^{cA}	0,50 ± 0,00 ^{cA}	10,95 ± 0,07 ^{bA}	62,9 ± 0,2^{dA}	11,7 ± 0,3^{aA}	73,4 ± 0,8^{dB}
Jugo de naranja + Fe (15)	3,01 ± 0,01 ^{cA}	0,45 ± 0,01 ^{aA}	10,95 ± 0,06 ^{bB}	51,2 ± 0,3^{cA}	14,4 ± 0,3^{bB}	61,3 ± 0,4^{cA}
Jugo de naranja + Fe (30)	2,91 ± 0,01 ^{bA}	0,48 ± 0,00 ^{bA}	10,03 ± 0,00 ^{aA}	40,3 ± 0,6^{bA}	16,5 ± 0,3^{cC}	51,7 ± 0,6^{bB}
Jugo de naranja + Fe (45)	2,75 ± 0,02 ^{aA}	0,51 ± 0,00 ^{cA}	10,00 ± 0,00 ^{aA}	35,0 ± 0,4^{aA}	18,4 ± 0,4^{dC}	42,5 ± 0,7^{aB}
Jugo de naranja + MC:Fe (0)	3,05 ± 0,03^{cA}	0,51 ± 0,01^{aA}	11,10 ± 0,14^{bA}	61,7 ± 1,1^{dA}	12,9 ± 0,7^{aA}	61,2 ± 4,2^{aA}
Jugo de naranja + MC:Fe (15)	3,01 ± 0,01^{cA}	0,63 ± 0,03^{bB}	10,03 ± 0,00^{aA}	59,7 ± 0,4^{cB}	12,9 ± 0,8^{aA}	61,1 ± 2,7^{aA}
Jugo de naranja + MC:Fe (30)	2,91 ± 0,01^{bA}	0,81 ± 0,00^{cB}	10,03 ± 0,00^{aA}	56,4 ± 0,2^{bB}	15,2 ± 0,6^{bB}	61,1 ± 1,4^{aA}
Jugo de naranja + MC:Fe (45)	2,84 ± 0,01^{aB}	0,94 ± 0,00^{dB}	10,01 ± 0,00^{aA}	53,4 ± 0,5^{aB}	15,2 ± 0,6^{bB}	61,1 ± 1,3^{aA}

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna, y para cada grupo de muestras, indican diferencias significativas ($p<0,05$). Letras mayúsculas diferentes dentro de una misma columna, entre jugos a un mismo tiempo, indican diferencias significativas ($p<0,05$).

En algunos jugos cítricos, los polisacáridos presentes pueden sufrir hidrólisis, liberando mono y disacáridos que, a su vez, pueden fermentar o descomponerse en ácidos orgánicos, generando aumento de acidez (Rehman et al., 2014).

La cantidad de sólidos solubles (°Brix) inicial para todos los jugos estudiados se encontró en valores alrededor de 11, similar a lo reportado por otros autores para este tipo de producto (Khairallah et al., 2016). Para el jugo control la cantidad de sólidos solubles se mantuvieron constantes durante el almacenamiento, mientras que en las formulaciones fortificadas se observó una disminución significativa. El jugo con Fe pasó de 10,95 a 10,00, y el jugo MC:Fe descendió de 11,10 a 10,01 en sólo 15 días, manteniéndose estable luego.

Por otro lado, se evaluó también la comparación de los parámetros estudiados, pero ahora entre los diferentes jugos, dentro de un mismo tiempo, para evaluar fundamentalmente si existe una diferencia entre el agregado de sulfato ferroso directamente o del mismo combinado con MC. En el día 0, no se observaron diferencias significativas entre los jugos para ninguno de los parámetros evaluados, indicando valores similares al inicio del almacenamiento. Sin embargo, durante el almacenamiento, comenzaron a evidenciarse diferencias significativas. A los 15 días las muestras fortificadas con hierro (JFe y JMC:Fe) mostraron un pH significativamente inferior al control; a los 30 días, el JFe presentó un pH significativamente menor que el control, y esta tendencia se acentuó a los 45 días, donde el pH del jugo JFe fue menor que del jugo control e incluso del jugo JMC:Fe.

Respecto a la acidez, no hubo diferencias significativas entre el control y el JFe, mientras que el jugo JMC:Fe comenzó a diferenciarse significativamente de ambos a partir del día 15. En este punto, el jugo JMC:Fe mostró un valor significativamente mayor y continuó incrementándose con el tiempo, como se mencionó anteriormente, alcanzando el mayor valor a los 45 días.

Por último, en la evaluación de los °Brix, apenas preparados no se observaron diferencias significativas entre jugos. Luego de 15 días de almacenamiento, se observaron diferencias significativas, el jugo control fue significativamente mayor que el JFe, mientras que el jugo JMC:Fe presentó el valor más bajo. A los días 30 y 45 de almacenados, los valores de °Brix disminuyeron en las muestras JFe y JMC:Fe, lo cual quedó reflejado en diferencias estadísticamente significativas respecto al control. El

hierro puede catalizar reacciones de oxidación de azúcares, dando lugar a compuestos de menor peso molecular o ácidos orgánicos, lo cual puede alterar el contenido total de sólidos solubles, especialmente en el caso del jugo con Fe, que presentó los valores más bajos al final del ensayo. Por otro lado, el hierro puede formar complejos con azúcares reductores reduciendo su disponibilidad libre en solución (Layrisse et al., 1977). Por otro lado, es importante indicar que el MC tiene alta capacidad de formar redes tridimensionales y retener compuestos solubles, por ende, esto podría provocar que parte de los azúcares no sean detectados por los métodos refractométricos convencionales utilizados para medir °Brix, subestimando así el valor real de sólidos solubles en la muestra.

4.1.2. Parámetros cromáticos de los jugos de naranja en el tiempo

El parámetro L* del sistema CIELAB representa la luminosidad del color y se expresa en una escala que va de 0 (negro) a 100 (blanco). En productos alimenticios como los jugos de naranja, un valor elevado de L* indica un color más claro o brillante, mientras que una disminución en L* sugiere un oscurecimiento del producto, que puede estar asociado a procesos de degradación, como el pardeamiento no enzimático. El pardeamiento es un fenómeno común durante la preparación, el procesamiento y el almacenamiento del jugo de cítricos, que influye directamente en la calidad y la aceptación del producto. En general, las reacciones de pardeamiento incluyen la caramelización, la reacción de Maillard y la degradación del ácido ascórbico. Debido a la alta acidez del jugo de cítricos, la reacción de Maillard, mediante la interacción azúcar-aminoácido, es de menor importancia (Koca et al., 2003).

Por lo tanto, el monitoreo de la luminosidad a lo largo del almacenamiento permite evaluar la estabilidad visual del producto y detectar posibles cambios de color que afecten su aceptación sensorial. Los valores de luminosidad (L*) en el jugo control se mantuvieron estables (61,7) durante los 45 días de almacenamiento (**Tabla IV.1**), lo que refleja la estabilidad visual del producto. Por el contrario, el jugo con Fe mostró una marcada disminución de L*, de 62,9 a 35,0, indicando un fuerte oscurecimiento, probablemente asociado a reacciones de pardeamiento no enzimático o bien debido a la misma oxidación del hierro. En el jugo JMC:Fe también se observó una disminución de L*, aunque mucho más atenuada (de 61,7 a 53,4), lo que evidencia el efecto protector

del mucílago sobre el color. Si bien muchos productos coloreados pierden brillo durante el almacenamiento, los efectos del calor durante el almacenamiento pueden causar un oscurecimiento del alimento. Los cambios de color también pueden surgir como resultado de interacciones entre ingredientes, aunque estas suelen estar asociadas con productos que contienen vitaminas añadidas y, especialmente, minerales como el hierro (Ashurst, 2016).

Comparando entre jugos, dentro de un mismo tiempo: inicialmente no hubo diferencias significativas para el parámetro L* entre los jugos,. Sin embargoa los 15 días, el jugo JFe mostró un valor de L* significativamente inferior al control y al jugo JMC:Fe. A los 30 y 45 días, estas diferencias se profundizaron, reflejando un deterioro visual notable en la muestra JFe, mientras que el jugo JMC:Fe mantuvo valores intermedios a los 30 y 45 días, más cercanos al control.

Los parámetros a* y b* del sistema CIELAB permiten describir la tonalidad del color de un producto. El valor a* representa la componente rojo-verde, donde valores positivos indican una tendencia hacia tonos rojizos y valores negativos hacia tonos verdosos. Por su parte, b* representa la componente amarillo-azul, siendo los valores positivos indicativos de tonalidades amarillas y los negativos de tonalidades azuladas. En el caso de los jugos de naranja, un incremento en a* puede reflejar un viraje hacia colores más rojizos, mientras que valores elevados de b* están asociados a una mayor intensidad del color amarillo, característico de los carotenoides presentes naturalmente en el jugo. En el parámetro a*, se detectó un incremento progresivo en las muestras fortificadas, especialmente en el jugo con Fe (de 11,7 a 18,4), lo que indica un viraje hacia tonos rojizos. Este cambio puede relacionarse con la oxidación del hierro. En el caso del jugo JMC:Fe, el valor de a* también aumentó, pero se estabilizó en torno a 15,2, evidenciando nuevamente el efecto modulador del mucílago, debido, probablemente, a que protege al hierro de la oxidación por el hecho de estar unido a él.

Comparando el parámetro a* entre jugos, al inicio del almacenamiento, no se observaron diferencias significativas entre los tres jugos, pero ya a los 15 días el jugo JFe presentó un aumento significativo en el valor de a*, indicando una tonalidad más rojiza/parda. Esta tendencia se acentuó a los 30 y 45 días. El jugo JMC:Fe también mostró un incremento leve pero significativo a partir del día 30, diferenciándose del jugo control con valores intermedios.

Finalmente, el valor de b* se mantuvo estable en el jugo control (61), mientras que en el jugo con Fe disminuyó drásticamente (de 73,4 a 42,5), reflejando la pérdida de tonos amarillos característicos del jugo fresco, posiblemente por degradación de carotenoides. En el jugo JMC:Fe, los valores de b* permanecieron estables (61), de manera similar que en el jugo de naranja control, lo cual sugiere que el mucílago contribuye a preservar los compuestos responsables del color amarillo evitando posibles oxidaciones.

La **Figura IV.1** muestra la evolución de la cromaticidad de los jugos de naranja en el espacio de color CIE, utilizando las coordenadas x e y derivadas del modelo CIELAB. Los puntos correspondientes al jugo control se agrupan estrechamente, indicando una alta estabilidad cromática durante el almacenamiento. En contraste, los puntos del jugo fortificado con hierro se desplazan significativamente hacia la derecha (indicando el avance del tiempo con números en orden consecutivo), fuera del área ocupada por las muestras frescas, lo que refleja un cambio perceptible en el color, asociado probablemente a procesos de oxidación y pardeamiento no enzimático, como se describió anteriormente.

Por su parte, las muestras de jugo JMC:Fe también presentaron cierto desplazamiento, aunque en menor medida que las fortificadas sólo con hierro, lo cual indica que el mucílago contribuye a mantener la estabilidad del color en la zona deseada del espacio cromático. En conjunto, este análisis evidencia que la fortificación con hierro altera notablemente la apariencia visual del jugo, mientras que el uso del MC como carrier modera este efecto, preservando en mayor medida las características cromáticas del producto original.

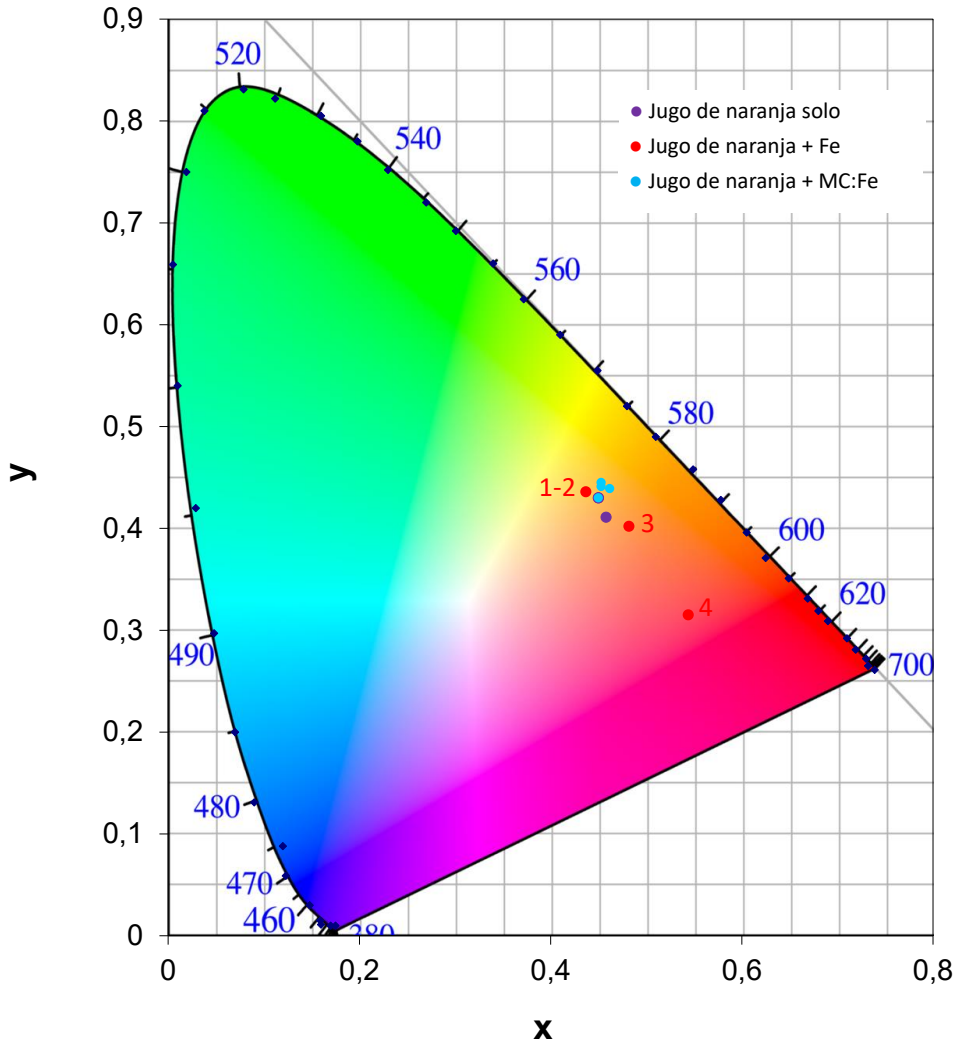


Figura IV.1. Representación en el diagrama CIE de los cambios cromáticos, en el tiempo, de jugos de naranja control (JC) y fortificados (JFe y JMC:Fe).

4.1.2.1. Evolución de la diferencia total de color (ΔE) en jugos de naranja durante el almacenamiento acelerado

Para poder evaluar de manera conjunta los tres parámetros de color se utilizó como herramienta el parámetro ΔE*, que es considerado como más representativo de los cambios visuales de color durante el almacenamiento e incluye los parámetros L*, a* y b*, se obtiene a partir de la siguiente **Ecuación (IV.1):**

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2} \qquad \textbf{(IV.1)}$$

Donde, L_1^*, a_1^*, b_1^* son los valores iniciales y L_2^*, a_2^*, b_2^* son los valores correspondientes del color al final del almacenamiento, de luminosidad, componente roja-verde y componente amarilla-azul, respectivamente.

La **Tabla IV.2** muestra la evolución de la diferencia total de color (ΔE) durante el almacenamiento acelerado (45 días a 37 °C) para las tres formulaciones de jugo de naranja. Se utilizó como referencia el valor de color de cada muestra en el día 0, y se comparó con los valores registrados a los días 15, 30 y 45. Valores de 2 < ΔE*< 3,5 se consideran diferencias detectables por un consumidor, mientras que valores de 3,5 < ΔE* < 5 muestran diferencias de color más evidentes (Habekost, 2013). Específicamente en jugos de naranja, Fernández-Vázquez et al., (2013), consideraron como valor crítico de percepción visual el umbral de *ΔE* ≈ 2,8*, valores de ΔE en jugos de naranja mayores a 2,8 indican cambios perceptibles por consumidores no entrenados. Por tratarse de jugos de naranja, se eligió dicho valor para la comparativa con los resultados del presente trabajo.

Tabla IV.2. Estabilidad visual de jugos de naranja almacenados durante 45 días, determinada por diferencia total de color (ΔE) en función del tiempo. Ensayo acelerado: 37 °C.

	ΔE*		
Tiempo (días)	**Jugo de naranja control**	**Jugo de naranja + Fe**	**Jugo de naranja + MC:Fe**
0	0,00 ± 0,00^{aA}	0,00 ± 0,00^{aA}	0,00 ± 0,00^{aA}
15	0,99 ± 0,56^{bA}	15,75 ± 0,21^{bB}	2,02 ± 0,49^{bA}
30	0,58 ± 0,61^{bA}	28,36 ± 0,49^{cC}	5,81 ± 0,22^{cB}
45	0,45 ± 0,54^{bA}	39,52 ± 0,29^{dC}	8,61 ± 0,32^{dB}

Letras minúsculas diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). Letras mayúsculas diferentes dentro de una misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

El jugo de naranja sin fortificar mostró valores de ΔE* menores a 1,0 durante todo el período de almacenamiento, lo que indica una alta estabilidad cromática y una

apariencia visual constante. De hecho, a los 45 días, el valor de ΔE* fue de 0,45, lo que confirma que no ocurrieron cambios visuales relevantes.

En contraste, el jugo fortificado con hierro presentó un aumento abrupto en ΔE* a partir del día 15 (15,75), alcanzando valores aún más elevados a los 30 (28,36) y 45 días (39,52). Estos resultados indican un deterioro visual significativo y progresivo, atribuible a reacciones de oxidación o a la formación de complejos coloreados que alteran la apariencia del jugo.

La formulación que incorporó MC como carrier de hierro mostró un comportamiento intermedio. Si bien el valor de ΔE* se elevó a lo largo del almacenamiento, y fue significativo, la magnitud del cambio fue significativamente menor que en la muestra fortificada sin protección. A los 15 días, el valor fue de 2,02, aún por debajo del umbral de percepción visual. A los 30 y 45 días, los valores alcanzaron 5,81 y 8,61, respectivamente, lo que indica un deterioro visual progresivo pero retardado respecto a la muestra fortificada sin mucílago.

El impacto negativo de la fortificación con sulfato ferroso en el color del jugo se podría deber, en gran parte, por la alta cantidad de polifenoles presentes en el jugo de naranja (Agcam et al., 2014) que reaccionan con el hierro. Los polifenoles son metabolitos secundarios presentes en muchas plantas, especialmente frutas y verduras, y son los principales responsables de conferirles color (Habeych et al., 2016). Los mecanismos químicos que provocan los cambios de color en productos que contienen polifenoles están bien documentados en la literatura. El mecanismo principal es la quelación de iones ferrosos o férricos con oxígeno fenólico rico en electrones, lo que resulta en productos de color azul/negro debido a fenómenos de transferencia de carga (Elhabiri et al., 2007; Espina et al., 2022; Habeych et al., 2016).

Estos resultados evidencian también que el uso de MC como carrier de hierro mitiga el impacto del hierro sobre el color del jugo, prolongando la estabilidad visual del producto y retrasando el momento en que los cambios cromáticos se vuelven perceptibles para el consumidor.

4.1.3. Cinética de reacción y tiempo de deterioro

En general se considera que uno de los parámetros que mejor describe la vida útil o cinética de deterioro en jugos de naranja es la luminosidad (Berliot et al., 2015; Koca et

al., 2003). Es por ello que se evaluó la evolución del parámetro L* en las tres formulaciones de jugo de naranja para describir la cinética de deterioro (**Figura IV.2**). Se ajustaron los datos obtenidos con modelos de cinética de reacción de orden 0 y orden 1, según corresponda, y se calcularon los coeficientes de determinación (R^2) para evaluar la calidad del ajuste.

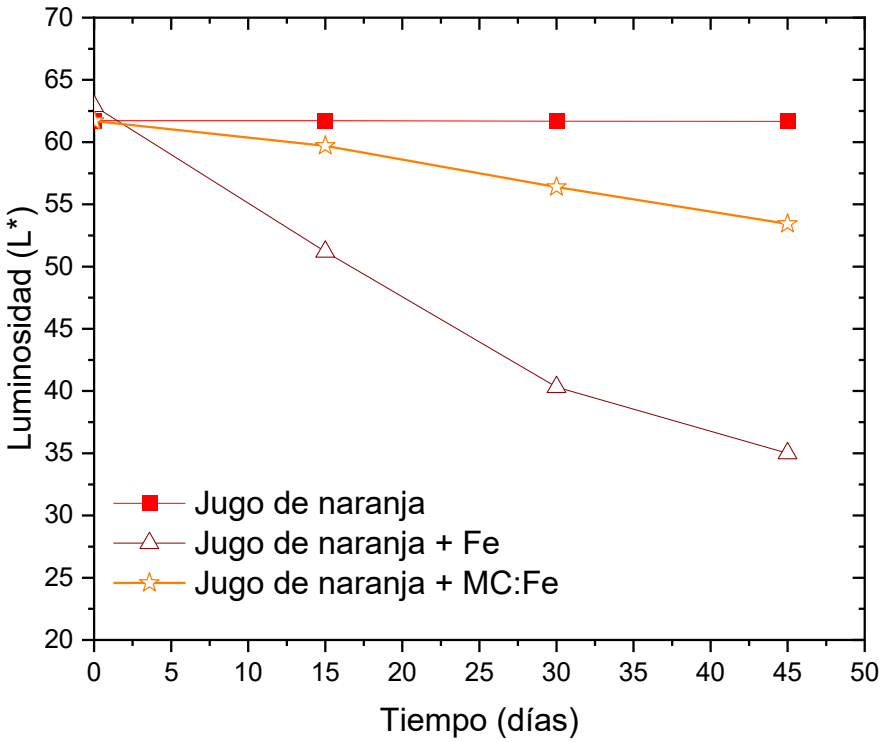


Figura IV.2. Evolución del parámetro L* en función del tiempo, para los tres jugos de naranja.

En el caso del jugo control (JC), los valores de L* se mantuvieron prácticamente constantes durante todo el período de almacenamiento (**Figura IV.2**). Ambos modelos cinéticos presentaron un ajuste similar (R^2 = 0,931), con una pendiente casi nula en el modelo de orden 0, lo que indica una estabilidad cromática elevada y sin pérdida significativa de luminosidad. El jugo fortificado con hierro (JFe), en cambio, mostró una marcada disminución de L* con el tiempo con una pendiente pronunciada desde los primeros 15 días. El mejor ajuste se obtuvo con el modelo de orden 1 (R^2 = 0,994), lo que indica una pérdida exponencial de luminosidad. Este comportamiento sugiere que el hierro catalizó procesos de oxidación o pardeamiento no enzimático, afectando negativamente la apariencia del jugo desde las primeras etapas del almacenamiento. Por

su parte, el jugo con MC como carrier de hierro (JMC:Fe) presentó una pérdida de L* más gradual. En este caso, el modelo de orden 0 mostró un mejor ajuste (R^2 = 0,991), lo que sugiere una degradación más uniforme en el tiempo.

Desde el punto de vista cinético, la pendiente de las curvas representa la velocidad de deterioro del color, cuantificada por el parámetro k en los modelos cinéticos ajustados. Debido a que los ajustes se realizaron con diferentes modelos, los valores de k obtenidos en las ecuaciones no serían comparables, sin embargo, en la **Figura IV.2** puede observarse, a simple vista, que el jugo con hierro mostró la mayor pendiente, indicando una degradación acelerada, mientras que el jugo JMC:Fe presentó una disminución de L* menos marcada en el tiempo, lo que indicaría que la velocidad de deterioro en este sistema sería intermedia. Por su parte, el valor de k en el jugo control fue prácticamente nulo, confirmando la estabilidad de su apariencia visual. Estos resultados reflejan, una vez más, el efecto protector del MC, que posiblemente actúa como barrera física o antioxidante. Esto probablemente ocurra, debido a que el hierro se encuentra unido al MC y, por ende, al tener sus grupos ocupados en la interacción con el MC no puede actuar con otros componentes como el oxígeno.

Estos resultados confirman que la incorporación de MC como carrier modula la cinética de deterioro visual en jugos fortificados con hierro, retrasando la pérdida de luminosidad y prolongando la estabilidad cromática del producto.

Debido a la imposibilidad de comparar los valores numéricos de las constantes k, como se discutió previamente, el tiempo estimado de deterioro es el indicador más adecuado para contrastar la estabilidad de las formulaciones. En función del modelo cinético que presentó mejor ajuste para cada muestra (según el coeficiente de determinación R^2) y de los valores de velocidad de deterioro (k), se seleccionó la ecuación correspondiente y se despejó el tiempo necesario para que L* alcanzara un valor equivalente al 90 % del valor inicial, considerando una reducción del 10 % como umbral de deterioro visual significativo. Como se explicó previamente en Materiales y Métodos, este umbral se estableció tomando como referencia el valor límite de L* reportado por Berliot (2015).

Como se mencionó anteriormente, en el caso del jugo control, no se observó un deterioro significativo del color a lo largo de los 45 días de almacenamiento, ya que la curva se mantuvo prácticamente constante. El valor de k fue extremadamente bajo, lo que indica una velocidad de deterioro prácticamente nula. Por lo tanto, no se estimó un

tiempo de deterioro dentro del período evaluado, ya que no alcanza a reducirse en un 10 % el valor de L* durante el período evaluado.

Por otro lado, el jugo fortificado con hierro presentó una pérdida acelerada de luminosidad, alcanzando una reducción del 10 % de L* en un período estimado de 8 días, reflejando el efecto negativo del hierro sobre la estabilidad del color. En contraste, la formulación con MC (JMC:Fe) mostró una cinética de deterioro más lenta, alcanzando la reducción del 10 % en un tiempo estimado de 33 días, lo que representa una mejora sustancial respecto a la fortificación directa con hierro, contribuyendo a prolongar la vida útil del producto fortificado. Esto sugiere que el mucílago no sólo atenúa la velocidad de deterioro visual, sino que también prolonga la vida útil cromática del producto, actuando como barrera física, antioxidante o agente de unión efectivo.

4.2. Análisis sensorial de jugos de naranja

Finalmente se realizó un análisis sensorial en consumidores de las tres muestras de jugos. Como se describió en la sección de Materiales y Métodos, este ensayo se dividió en tres partes: inicialmente una prueba de atributos sensoriales, seguida de una prueba de satisfacción global, para luego finalizar con una prueba de comparaciones múltiples.

El ensayo sensorial se realizó al día siguiente de preparado el jugo, por lo tanto es representativo de los tiempos iniciales de la evaluación realizada previamente.

4.2.1. Prueba de intensidad y preferencia de atributos sensoriales

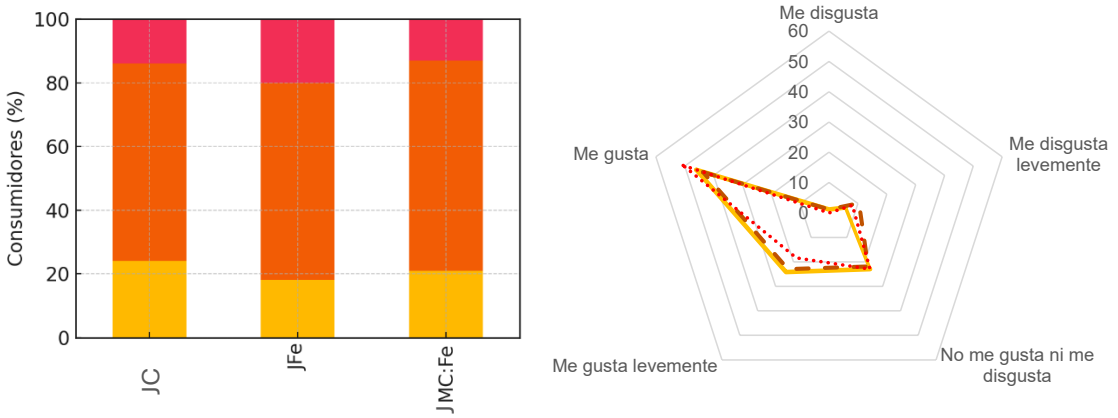
La **Figura IV.3** muestra los resultados del análisis sensorial de la prueba de intensidad (punto justo - JAR, por sus siglas en inglés) y de la prueba de preferencia (grado de satisfacción por atributo) de los jugos JC, JFe y JMC:Fe.

En la prueba JAR, la mayoría de los consumidores consideraron el color de los tres jugos como ideal, sin diferencias marcadas (**Figura IV.3 I** izquierda). No obstante, en el análisis de satisfacción, el jugo JFe mostró una leve disminución (**Figura IV.3 I** derecha) en la preferencia, alrededor del 10 % de los consumidores lo consideraron como "me disgusta levemente" lo que podría asociarse a una mayor variabilidad en la percepción visual.

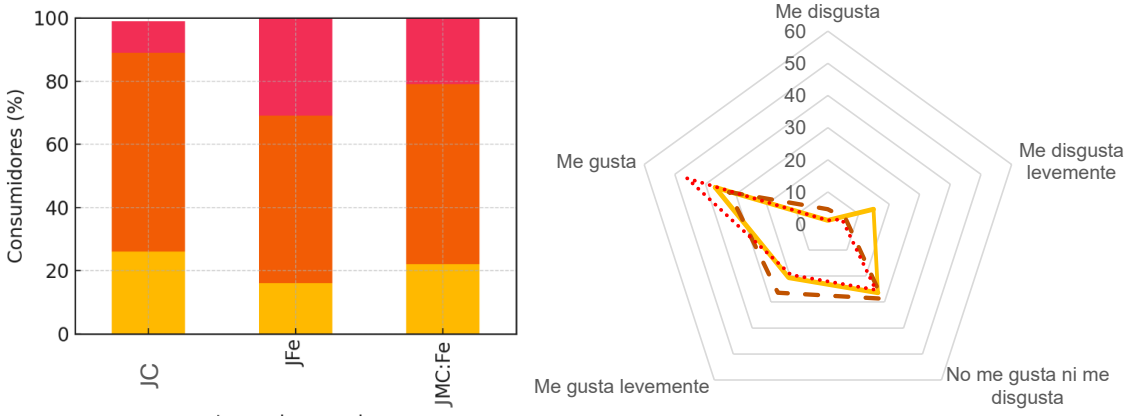
Las respuestas JAR mostraron una buena aceptación general del nivel de turbidez (**Figura IV.3 II** izquierda), predominando las respuestas "ideal" en las tres muestras. En la evaluación de satisfacción, las curvas se mantienen similares, con una ligera preferencia

por la muestra Control (**Figura IV.3 II** derecha), posiblemente debido a su aspecto más natural y homogéneo.

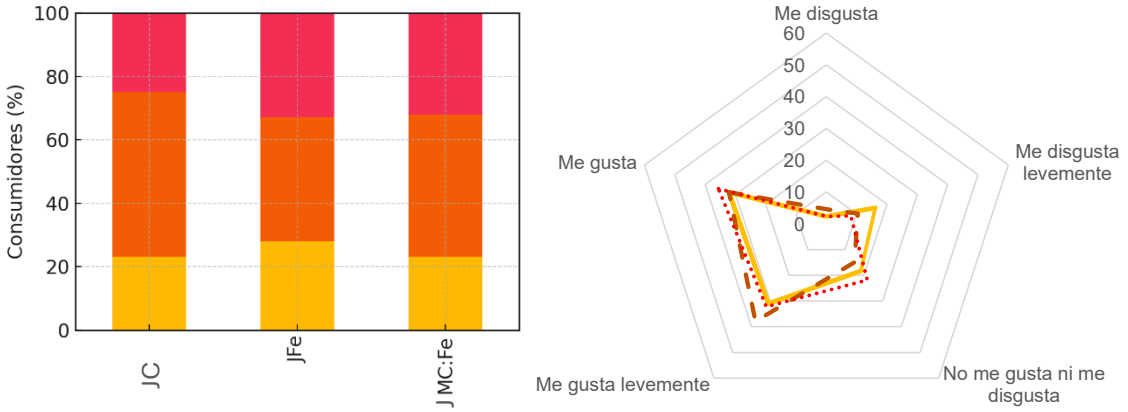
I. COLOR



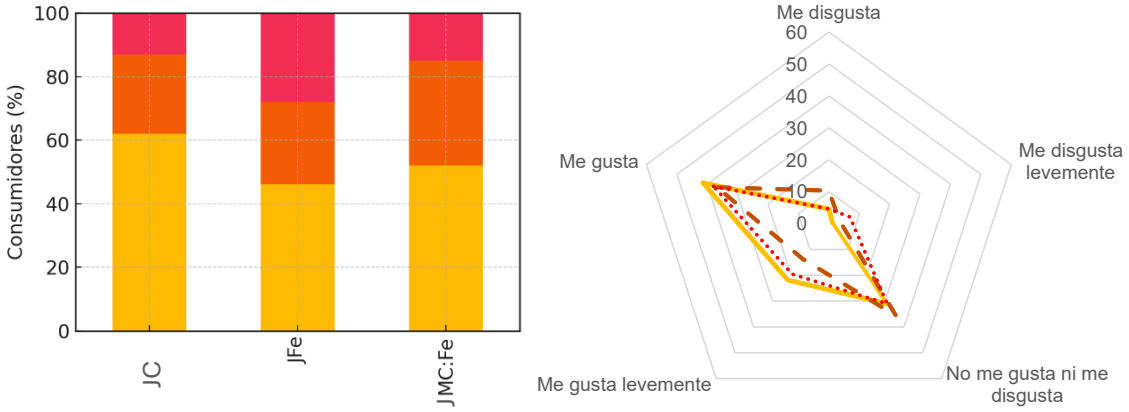
II. TURBIDEZ



III. ACIDEZ



IV. SABOR METÁLICO



V. SABOR NARANJA

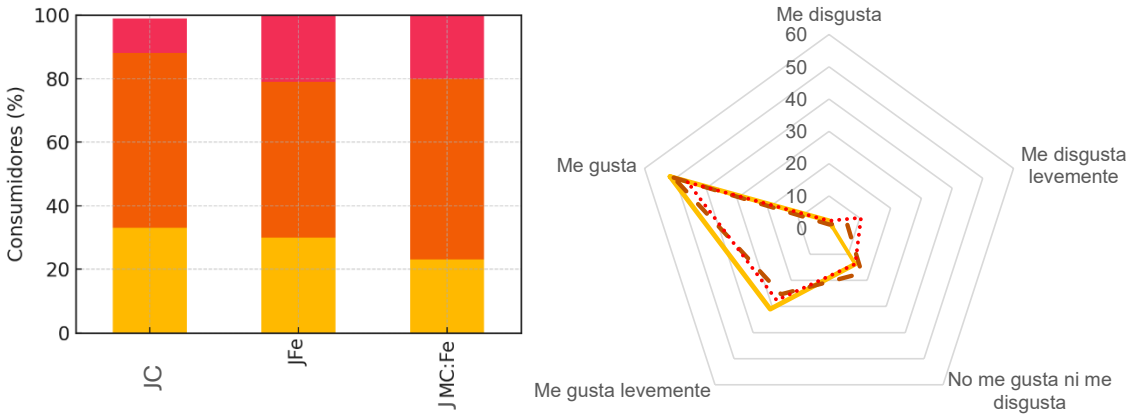


Figura IV.3. Análisis sensorial de atributos característicos para jugo control (JC), jugo fortificado con sulfato ferroso solo (JFe) y jugo fortificado con el complejo MC:Fe (JMC:Fe). Prueba JAR (izquierda), siendo Poco (●), Ideal (●) y Mucho (●); Prueba de Grado de satisfacción por atributo (derecha): JC (....), JFe (----) y JMC:Fe (—).

En el atributo acidez no se observaron diferencias muy marcadas. En la prueba JAR, JFe fue percibido con mayor frecuencia como "ideal" con un 39 % y el JMC:Fe con un 45 % (**Figura IV.3 III** izquierda). Esto se reflejó también en la prueba de satisfacción, donde dichos jugos mostraron valores similares entre 31 y 38 % consideraron los jugos como "me gusta levemente" y entre 32 y 36 % los consideraron como "me gusta" (**Figura IV.3 III** derecha).

El sabor metálico fue el atributo con mayor dispersión. En la prueba JAR, el jugo JFe presentó una mayor proporción de respuestas "mucho", asociadas a un sabor metálico pronunciado, lo cual fue penalizado en la satisfacción, registrando un 10 % de

consumidores que consideraron al atributo negativamente como “me disgusta levemente”. En cambio, el jugo JMC:Fe mostró valores más cercanos a la “idealidad” y mejor aceptación, indicando que el MC actuó como carrier mitigando el sabor metálico y mostrando un comportamiento muy similar al control. Este resultado es muy relevante porque uno de los desafíos de la fortificación con hierro, además del cambio de color, es el aporte de sabor metálico que la industria de alimentos debe enmascarar.

La percepción del sabor a naranja fue menos favorable en el JC, mientras que el JMC:Fe presentó un 57 % de respuestas “ideal”, el hecho de que el jugo con MC haya sido percibido con mayor sabor a naranja que el control puede deberse a un efecto sinérgico debido a la presencia del MC, el cual puede llegar a potenciar el sabor del mismo. Esto se reflejó en la satisfacción, donde el JMC:Fe obtuvo los valores más altos, destacándose por una mayor fidelidad al sabor característico del jugo de naranja, mientras que los jugos JFe y JC presentaron un pequeño porcentaje de consumidores que catalogaron al atributo como “me disgusta levemente”.

La formulación fortificada con sulfato ferroso unido a MC (JMC:Fe) mostró un mejor equilibrio sensorial, especialmente en atributos críticos como acidez y sabor metálico, en comparación con la muestra fortificada con sulfato ferroso solo (JFe). La muestra Control se mantuvo con altos niveles de aceptación, pero JMC:Fe logró acercarse a ese perfil.

4.2.1.1. Análisis de penalidades de atributos

A partir de los datos sensoriales del nivel de intensidad (poco, ideal, mucho) y el grado de preferencia percibido por los consumidores para las tres formulaciones de jugo, se aplicó el análisis de penalización (**Figura IV.4**). Este método se suele emplear en el análisis de datos sensoriales para identificar direcciones potenciales para la mejora de los productos (Cadot et al., 2010). En la **Figura IV.4** se muestra el impacto que tiene sobre la aceptación global el desajuste de cada atributo frente al porcentaje de consumidores que lo percibió de ese modo, para cada formulación.

Los atributos que tienen el mayor impacto negativo y sobre los cuales habría que realizar las mejoras, se encuentran en un "rincón crítico". Estos son generalmente los que afectan al 30 % o más de los encuestados y causan una caída mínima de 0,5 puntos en

el efecto sobre la media (Ares et al., 2014). Los signos + y – indican que el atributo se consideró “por encima” o “por debajo” del punto justo esperado, respectivamente.

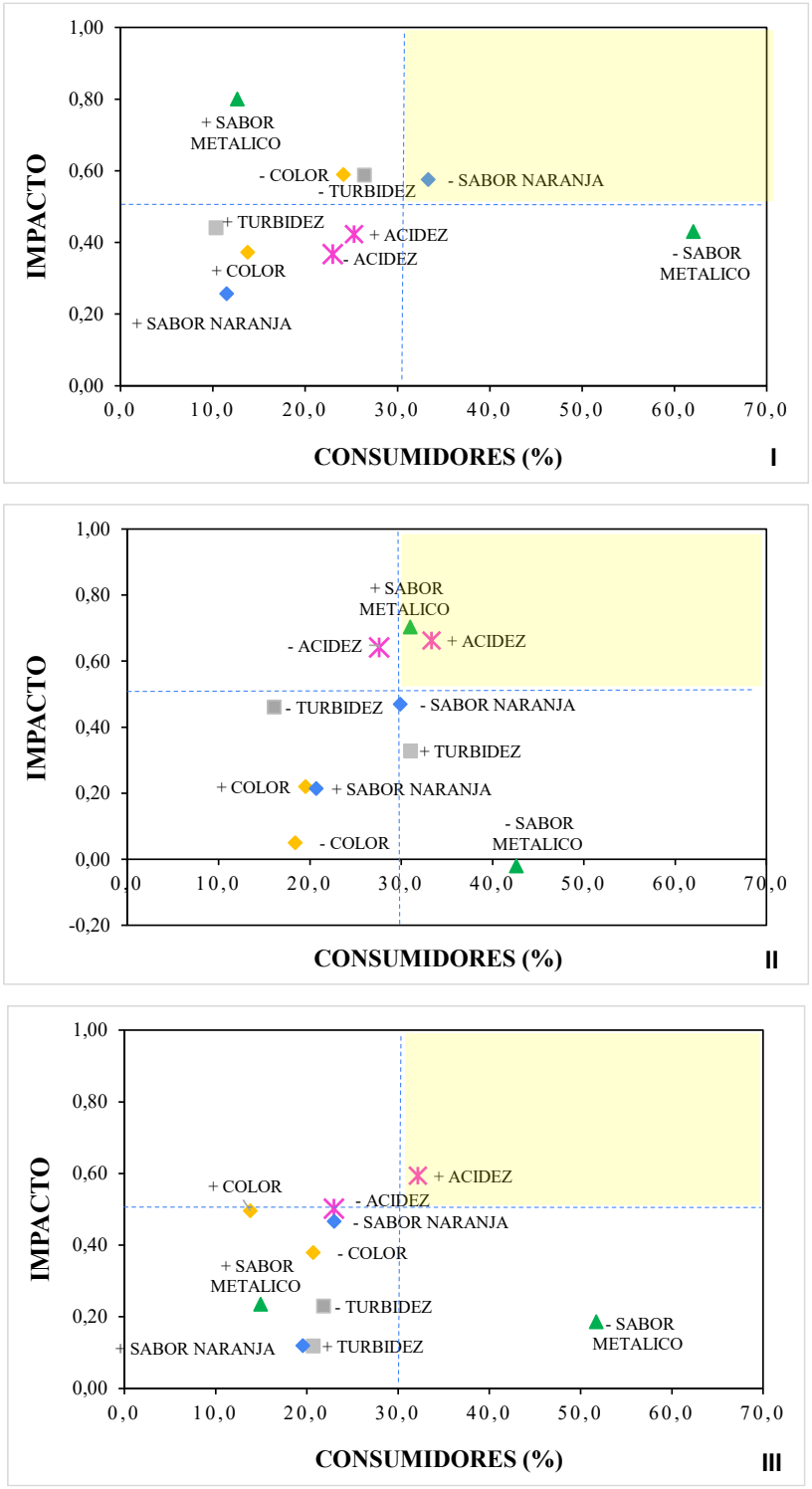


Figura IV.4. Penalización en las formulaciones de JC (I); JFe (II) y JMC:Fe (III) de diferentes atributos en función del porcentaje de consumidores que establecieron un desvío superior (+) o inferior (-) respecto del punto ideal. La zona sombreada corresponde al rincón crítico de penalización.

Para el jugo Control (**Figura IV.4 I**), de acuerdo con el umbral establecido (impacto > 0,5 y > 30 % de consumidores), el único atributo que se comportó como penalizador significativo fue la falta de sabor a naranja (– Sabor naranja), ya que fue percibido por una gran proporción de consumidores y tuvo un efecto negativo importante en la aceptación global.

Respecto al jugo JFe (**Figura IV.4 II**), el análisis de penalidades aplicado a esta muestra identificó dos atributos no ideales que cumplieron simultáneamente con los criterios del rincón crítico.

- Sabor metálico en exceso: percibido por aproximadamente el 35–40 % de los consumidores, generó una penalidad promedio cercana a 0,8 puntos en la aceptación global. Este fue el atributo más penalizado, evidenciando una fuerte aversión cuando este sabor se encuentra presente en exceso.
- Acidez en exceso: también percibida por cerca del 35 % de los consumidores, con una penalidad de aproximadamente 0,65 puntos. Esto sugiere que un nivel elevado de acidez también reduce considerablemente la aceptación del producto.

Por último, el análisis de penalidades realizado para el jugo JMC:Fe (**Figura IV.4 III**) evidenció que el atributo que más afectó negativamente la aceptación global fue la acidez en exceso, percibida por aproximadamente el 35 % de los consumidores, con una penalidad promedio cercana a 0,65 puntos. Esta se ubicó como la principal fuente de insatisfacción sensorial dentro de la muestra. En cuanto al sabor metálico, si bien el 60 % de los consumidores lo consideró “poco perceptible” (–Sabor metálico), el impacto sobre la aceptación fue bajo (~0,1), lo que sugiere que su baja intensidad no fue negativamente valorada. La percepción de sabor metálico excesivo (+Sabor metálico), presente en alrededor del 10 % de los encuestados, también mostró una penalidad leve.

La utilización de la microencapsulación para enmascarar las propiedades sensoriales de los compuestos ferrosos ha sido ampliamente estudiada, empleando generalmente paredes de recubrimiento poliméricas, obteniendo gran éxito en la reducción del sabor metálico (Muñoz-More et al., 2023; Böger et al., 2021; Gupta et al., 2014). En base a esto, los resultados obtenidos sugieren que el uso del MC como carrier pudo haber atenuado la percepción del sabor metálico, reduciendo tanto su frecuencia como su efecto negativo sobre la aceptación. Finalmente, los atributos vinculados a la turbidez y

al sabor a naranja en exceso presentaron baja frecuencia y escaso impacto, sin afectar significativamente la aceptación global.

Los resultados indican que la acidez fue el único factor penalizado de manera significativa en esta muestra, por lo que constituye el principal atributo a optimizar. El sabor a naranja seguido por el color, si bien no están dentro del cuadrante penalizable, se encuentran cercanos a la zona crítica y, como tal, podrían considerarse para una nueva reformulación con el fin de alcanzar una mayor aceptabilidad. La corrección de estos atributos podría contribuir a mejorar significativamente la aceptación del producto sin necesidad de modificar parámetros como la turbidez o el perfil metálico, que no resultaron determinantes en la evaluación sensorial de los consumidores.

En conclusión, el uso de MC como carrier/vehículo de hierro resultó ser una estrategia sensorialmente favorable, ya que permitió reducir la percepción del sabor metálico en comparación con la adición del sulfato ferroso solo, sin generar penalidades significativas en la aceptación global. Esto respalda su potencial como tecnología funcional para el desarrollo de alimentos fortificados mejor aceptados por los consumidores.

4.2.2. Prueba de satisfacción global

La evaluación de satisfacción global se muestra en la **Figura IV. 5**, en ella se observa que los tres jugos fueron mayoritariamente bien aceptados, con un alto porcentaje de consumidores ubicando su respuesta en los niveles de “me gusta levemente” y “me gusta”. Sin embargo, la formulación JFe presentó, a diferencia de los otros jugos, un cierto porcentaje de consumidores que catalogaron al jugo como “no me gusta ni me disgusta” e incluso algunos consumidores reportaron “me disgusta levemente”, lo que refleja una leve penalización sensorial respecto a las otras muestras, mientras que el jugo JMC:Fe presentó sus mayores valores en “me gusta” y “me gusta levemente” (**Figura IV.5**).

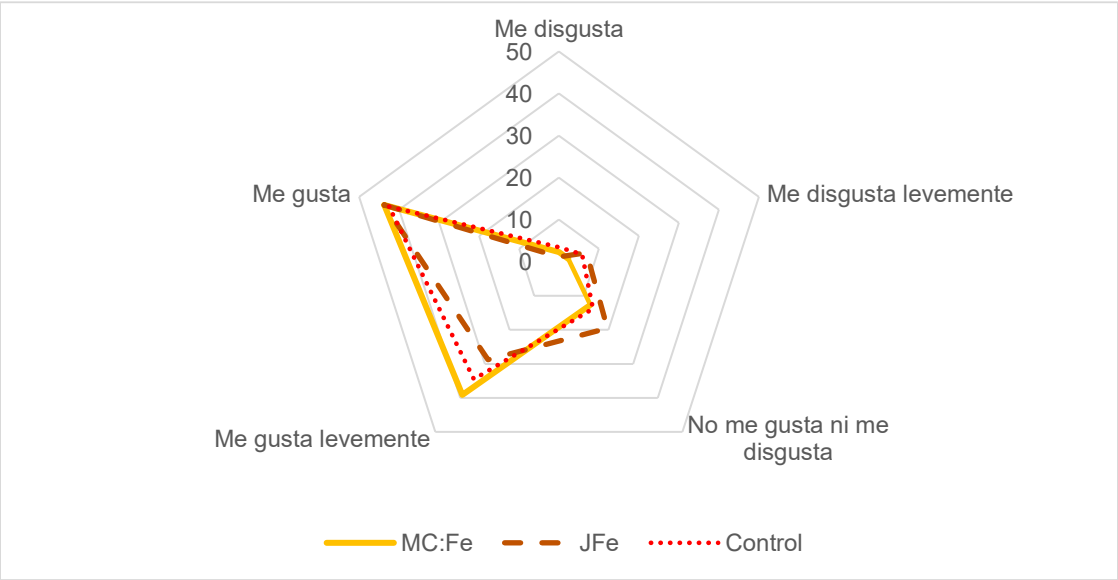


Figura IV.5. Satisfacción global de jugo control (JC ....), jugo fortificado con sulfato ferroso solo (JFe - - -) y jugo fortificado con el complejo MC:Fe (JMC:Fe —).

4.2.3. Prueba de comparaciones múltiples y de preferencia

Como se mencionó previamente en Materiales y Métodos (sección 2.6.3.1.2), en esta prueba, a los consumidores se les solicitó:

I. Indicar si percibían diferencias entre los jugos,

II. en caso afirmativo, seleccionar cuál jugo consideraban diferente, y, por último,

III. elegir cuál de los tres jugos preferían.

Para ello, las respuestas se analizaron de la siguiente forma:

Para la pregunta I, se aplicó una prueba binomial, considerando como hipótesis nula una proporción del 50 % para evaluar si un número significativo de consumidores percibió diferencias entre las muestras. Los resultados de este estudio mostraron que el 80 % de los consumidores expresaron que había diferencias entre los jugos, mientras que sólo 20 % expresaron que no había diferencias. En base a esto, el valor p resultó ser ≈ 8,35 × 10^{-9}, es decir, extremadamente pequeño. Lo que significa que es extremadamente improbable obtener un resultado tan desigual si realmente no hay diferencias, por eso se rechazó la hipótesis nula (H_0: no se perciben diferencias significativas), lo que significa que sí se perciben diferencias significativas entre las muestras de jugo evaluadas.

Respecto a la pregunta II, en la **Figura IV.6**, se observó que la muestra JFe (jugo de naranja fortificado con sulfato ferroso solo) fue señalada como diferente por el 52 % de los consumidores, una proporción notablemente mayor en comparación con el JC (21 %)

y el JMC:Fe (28 %). Esto sugiere que el agregado de hierro sin matriz de unión fue más fácilmente percibido como diferente por los participantes.

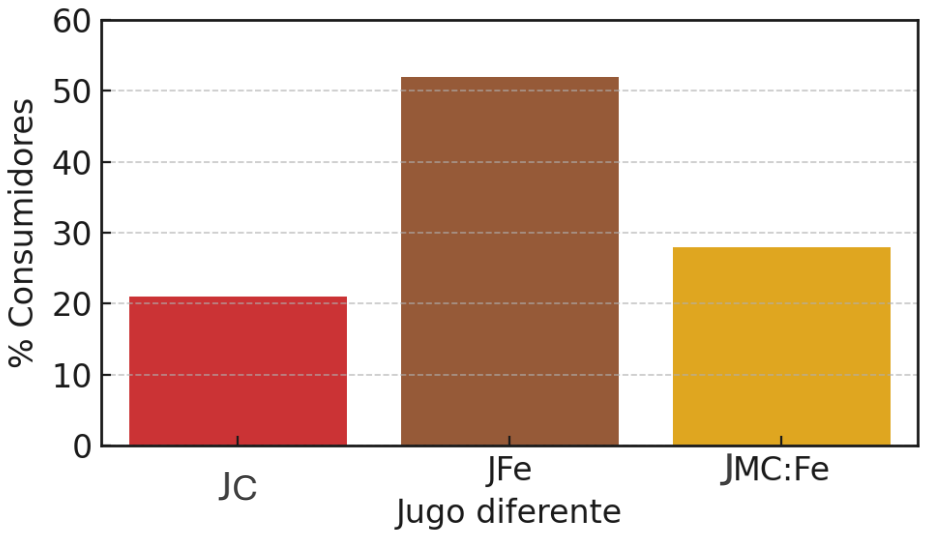


Figura IV.6. Porcentaje de consumidores que identificaron cada jugo como diferente. Jugo control (JC ●), jugo fortificado con sulfato ferroso solo (JFe ●) y jugo fortificado con el complejo MC:Fe (JMC:Fe ●).

Con el objetivo de evaluar si las diferencias sensoriales observadas por los consumidores resultaban significativas estadísticamente, se aplicó una prueba de chi-cuadrado y se evaluó si la distribución observada de respuestas (cuántos consumidores eligieron cada jugo como "diferente") difiere significativamente de una distribución esperada por azar (1/3 de los consumidores selecciona cada muestra al azar).

Los resultados mostraron diferencias significativas entre las proporciones observadas y las esperadas (χ^2 = 15,70; p = 0,00039), indicando que las muestras no fueron identificadas como diferentes de forma aleatoria. Para identificar qué muestras se diferenciaron significativamente, se realizaron comparaciones por pares mediante pruebas de diferencia de proporciones con corrección de Bonferroni (α ajustado = 0,0167). Los resultados se resumen a continuación:

- La muestra JFe fue señalada como diferente por un porcentaje significativamente mayor de consumidores en comparación con JC ($p = 5{,}6 \times 10^{-6}$) y JMC:Fe ($p = 5{,}5 \times 10^{-4}$).
- No se observaron diferencias significativas entre JC y JMC:Fe (p = 0,25).

Estos resultados también evidencian que la muestra JFe se percibió significativamente diferente respecto a las otras dos.

Por último, en cuanto a la pregunta III, los resultado (**Figura IV. 7)** indican que en primera instancia la muestra Control (jugo de naranja sin fortificar) fue la más preferida, seleccionada por el 39 % de los consumidores. Le siguieron el JMC:Fe (jugo con hierro unido al mucílago de chía) con 31 % de preferencia, y el JFe (jugo con sulfato ferroso solo) con 30 % (**Figura IV.7**).

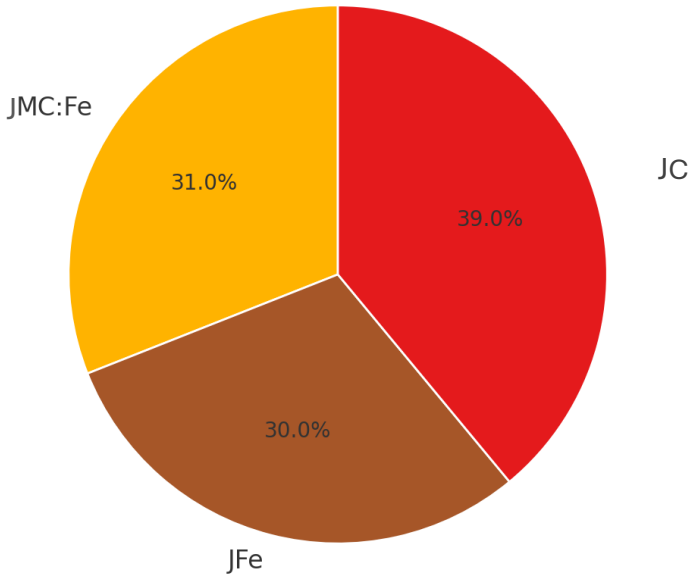


Figura IV.7. Prueba de preferencia de los consumidores por los jugos evaluados. Jugo control (JC ●), jugo fortificado con sulfato ferroso solo (JFe ●) y jugo fortificado con el complejo MC:Fe (JMC:Fe●).

Para evaluar estadísticamente la preferencia de los consumidores entre las tres muestras evaluadas, se analizó la distribución de respuestas mediante una prueba de chi-cuadrado de bondad de ajuste, considerando una distribución esperada uniforme (33,3 % para cada muestra) como hipótesis nula. Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones observadas y las esperadas (χ^2 = 1,46; p = 0,482), lo que indica que los consumidores no manifestaron una preferencia significativa por una muestra por sobre las demás. A fin de explorar posibles diferencias específicas entre pares de muestras, se realizaron pruebas de diferencia de proporciones con corrección de Bonferroni (α ajustado = 0,0167). Ninguna de las comparaciones fue

significativa: Control vs JFe (p = 0,181), Control vs JMC:Fe (p = 0,236), JFe vs JMC:Fe (p = 0,878).

Estos resultados sugieren que, si bien el 39 % de los consumidores prefirió la muestra Control, seguida por JMC:Fe (31 %) y JFe (30 %), las diferencias no fueron estadísticamente significativas y, por lo tanto, la aceptabilidad general de los jugos puede considerarse comparable entre las tres formulaciones.

El uso de polisacáridos y proteínas como vehículos de hierro ha sido ampliamente investigado para mejorar la estabilidad sensorial y nutricional de bebidas fortificadas. Por ejemplo, la microencapsulación de hierro con material de pared que incluye goma arábiga, maltodextrina y almidón modificado ha demostrado reducir el sabor metálico y preservar la aceptabilidad sensorial en leche fortificada, al mismo tiempo que mejora la bioaccesibilidad y la estabilidad antioxidante (Gupta et al., 2015). En el campo de la fortificación con hierro, se ha reportado que recubrimientos poliméricos como maltodextrina, goma arábiga, alginato y proteínas de suero son efectivos para enmascarar el sabor metálico y preservar la estabilidad de los compuestos ferrosos (Böger et al., 2021). Además, formulaciones de bebidas fortificadas con complejo caseinomacropéptido:hierro han mostrado que no se generan cambios perceptibles en el color ni sabor tras la fortificación respecto a una muestra sin fortificar, mientras que sí se observaron cambios significativos en una bebida fortificada con hierro solo (Morales et al., 2020). En comparación, el complejo MC:Fe que analizamos en el Capítulo 3, validado mediante distintas técnicas, ofrece una doble ventaja: actúa como vehículo funcional para micronutrientes y, al mismo tiempo, puede retardar la percepción del sabor metálico. Esto sugiere que la incorporación del complejo MC:Fe en bebidas representa un enfoque prometedor, que contribuye significativamente a disminuir el sabor metálico y preservar las cualidades sensoriales del jugo.

4.3. Conclusiones

Los resultados obtenidos subrayan un avance significativo en el diseño de estrategias de fortificación más inteligentes y sensorialmente aceptables. En este capítulo se puso en evidencia que la incorporación de hierro solo (sulfato ferroso) en jugos de naranja impacta negativamente en la estabilidad del producto durante el almacenamiento, tanto desde el punto de vista fisicoquímico como sensorial. El jugo fortificado con hierro (JFe) mostró una significativa pérdida de luminosidad (L*) y una marcada variación del color total ($\Delta E^* > 30$). Además, este jugo recibió penalizaciones sensoriales notables, principalmente por el aumento de acidez percibida y un intenso sabor metálico. En contraste, el jugo fortificado con el complejo MC:Fe (JMC:Fe) evidenció un comportamiento marcadamente superior, presentó una evolución más gradual de los parámetros de color, manteniéndose por debajo del umbral de deterioro visual hasta días más avanzados, extendiendo la vida útil visual del producto respecto al jugo con hierro solo. La matriz polimérica del MC parece haber actuado como sistema protector del hierro, atenuando su impacto sensorial, especialmente mitigando las percepciones sensoriales negativas como el sabor metálico.

Finalmente, el jugo control (JC) mostró una excelente estabilidad en todos los parámetros evaluados, con cambios mínimos durante los 45 días de almacenamiento. La comparación entre jugos fortificados y el control resalta la importancia de utilizar estrategias de vehiculización como la complejación con biopolímeros para lograr una fortificación eficiente, sin comprometer la calidad sensorial ni la aceptación del consumidor. En este contexto, la utilización del complejo MC:Fe no sólo preserva la calidad y estabilidad de los jugos, sino que la integra con una mejora nutricional sustentable. Así, el uso de MC como vehículo de hierro en bebidas se posiciona como una solución innovadora y prometedora, alineada con las tendencias de la nutrición personalizada, la salud pública y la demanda creciente de alimentos funcionales con alta aceptación sensorial.

4.4. Bibliografía

Agcam, E., Akyıldız, A., y Evrendilek, G. A. (2014). Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chemistry*, *143*, 354-361. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.115

Akusu, O.M, Kiin-Kabari, D. y Ebere, C. (2016). Quality Characteristics of Orange/Pineapple Fruit Juice Blends,4, 43-47. 10.12691/ajfst-4-2-3.

Ares, G., Dauber, C., Fernández, E., Giménez, A. y Varela, P. (2014). Penality análisis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. *Food Quality and Preference*, 32, 65-76.

Ashurst, P. (2016). The Stability and Shelf Life of Fruit Juices and Soft Drinks. Persis Subramaniam, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, The Stability and Shelf Life of Food (Second Edition), 347-374, https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100435-7.00012-5.

Berliot Bolaños, U. (2015). Estimación de la vida útil de jugo secundario concentrado de naranja (*Citrus sinensis*) almacenado en condiciones de refrigeración. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.

Böger, B. R., Acre, L. B., Viegas, M. C., Kurozawa, L. E. y Benassi, M. T. (2021). Roasted coffee oil microencapsulation by spray drying and complex coacervation techniques: characteristics of the particles and sensory effect. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 72:102739. doi: 10.1016/j.ifset.2021.102739.

Cadot, Y., Caillé, S. Samson, A., Barbeau, G. y Cheynier, V. (2010). Sensory dimension of wine typicality related to a terroir by Quantitative Descriptive Analysis, Just About Right analysis and typicality assessment. *Analytica Chimica Acta*, 660 (1), 53-62.

Elhabiri, M., Carrër, C., Marmolle, F., y Traboulsi, H. (2007). Complexation of iron (III) by catecholate-type polyphenols. *Inorganica Chimica Acta*, *360*(1), 353-359. https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.07.110

Espina, A., Cañamares, M. V., Jurasekova, Z., y Sanchez-Cortes, S. (2022). Analysis of iron complexes of tannic acid and other related polyphenols as revealed by spectroscopic techniques: Implications in the identification and characterization of iron gall inks in historical manuscripts. *ACS omega*, *7*(32), 27937-27949. https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01679

Fernández-Vázquez, R., Stinco, C. M., Hernanz, D., Heredia, F. J., y Vicario, I. M. (2013). Colour training and colour differences thresholds in orange juice. *Food Quality and Preference*, *30*(2), 320–327. https://doi.org/10.1016/J.FOODQUAL.2013.05.018

Muñoz-More, H. D., Nole-Jaramillo, J. M., Valdiviezo-Marcelo, J., Espinoza-Delgado, M. D. P., Socola-Juarez, Z. M., Ruiz-Flores, L. A., y Espinoza-Espinoza, L. A. (2023). Microencapsulated iron in food, techniques, coating material, efficiency, and sensory analysis: a review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *7*, 1146873. https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1146873

Gupta, C., Chawla, P., Arora, S., Tomar, S. K., y Singh, A. K. (2014). Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method - milk fortification. *Food Hydrocoll.* 43, 622–628. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.07.021

Gupta, C., Chawla, P., Sumit, A., Tomar, S.K. y Singh, A.K. (2015). Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method – Milk fortification, Food Hydrocolloids, 43, 622-628. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.021.

Habekost, M. (2013). Which color differencing equation should be used?. *International Circular of Graphic Education and Research, 6(6), 20-33.* https://doi.org/10.32920/28732934.v1

Habeych, E., van Kogelenberg, V., Sagalowicz, L., Michel, M., y Galaffu, N. (2016). Strategies to limit colour changes when fortifying food products with iron. *Food Research International*, *88*, 122-128. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.05.017

Harris, A., Key, J. y Silcocks, B. (1991). Dietary Carotene. 3rd ed. *Prenticehall Press, NY*. pp. 63-68.

Hu, S., Lin, S., He, X. y Sun, N. (2023) Iron delivery systems for controlled release of iron and enhancement of iron absorption and bioavailability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63:29, 10197-10216, DOI: 10.1080/10408398.2022.2076652

Hurrell RF. (1997). Preventing iron deficiency through food fortification. Nutrition Reviews, 55(6), 210-22. doi: 10.1111/j.1753-4887.1997.tb01608.x. PMID: 9279057.

Khairallah, M. yHettiarachchy, N. y Rayaprolu, S. (2016). Stability and quality of a bioactive peptide fraction incorporated orange juice. LWT - Food Science and Technology, 66,10013. 10.1016/j.lwt.2015.10.013.

Koca, Nuray yBurdurlu, H. y Karadeniz, F. (2003). Kinetics of nonenzymatic browning reaction in citrus juice concentrates during storage. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 27, 353-360.

Layrisse, M., Martinez-Torres, C., Renzi, M., Velez, F. y González, M. (1976). Sugar as a vehicle for iron fortification. The American Journal of Clinical Nutrition, 29(1), 8-18. doi: 10.1093/ajcn/29.1.8. PMID: 1246979.

Morales,R., Martinez, M.J. y Pilosof, A.M.R. (2020). Iron-caseinglycomacropeptide complexes: Characterization and application in beverages. *Food Research International*, 138, 109772. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109772.

Ndife, J., Awogbenja, D. y Zakari, U. (2013). Comparative evaluation of the nutritional and sensory quality of different brands of orange-juice in Nigerian market. *African Journal of Food Science,* 7(12), 479-484. https://doi.org/10.5897/AJFS2013.1060

Penniston, K. L.; Nakada, S. Y.; Holmes, R. P. y Assimos, D. G. (2008). Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-available Fruit Juice Products. *J. Endourol, 22*(3), 567–570.

Rehman, M., Khan, M.R., Sharif, M., Ahmad, S. y Shah, F.H. (2014). Study on the storage stability of fruit juice concentrates, 24, 101-107.

CONCLUSIONES GENERALES

Esta investigación demostró que las condiciones de extracción influyen significativamente en las propiedades fisicoquímicas y reológicas del MC, siendo el uso de técnicas como la extracción asistida por ultrasonido (USAI) y la relación semilla:agua, factores determinantes para optimizar el rendimiento y las características reológicas del producto, respectivamente. La comprensión del impacto de las variables de extracción permitió ajustar el proceso de extracción para obtener un MC con propiedades adaptadas a distintas aplicaciones, principalmente en términos de viscosidad, ampliando así su versatilidad.

Desde el punto de vista tecno-funcional, se confirmó que el MC posee notables capacidades como espesante, emulsionante y estabilizante de sistemas coloidales dispersos como espumas y emulsiones, lo que lo convierte en un hidrocoloide comparable a otros ampliamente utilizados en la industria alimentaria. Además, mediante el tratamiento con homogeneización a alta presión (HPH), fue posible alterar selectivamente su estructura modificando su viscosidad sin comprometer sus atributos tecnológicos, lo cual amplía su aplicabilidad en matrices alimentarias con requerimientos específicos de textura.

En cuanto a su potencial bioactivo, el MC se consolidó como un ingrediente funcional dual. Por un lado, mostró una capacidad destacada para modular la digestión lipídica mediante su interacción con sales biliares, lo que puede traducirse en beneficios para la salud cardio-metabólica. Por otro lado, se evidenció su capacidad de unión con iones hierro y la formación de complejos MC:hierro, lo cual no sólo permitiría desarrollar estrategias de fortificación eficientes, sino también sensorialmente aceptables, como se demostró en jugos de naranja. Este complejo demostró proteger al hierro en el jugo de naranja, mejorando la estabilidad visual y reduciendo, además, el impacto negativo que otorga el sabor metálico aportado por este mineral en productos fortificados. En relación a este rol como ingrediente con beneficios para la salud, se comprobó que los ácidos urónicos juegan un rol fundamental en la interacción del MC tanto con las sales biliares, como con el hierro.

Finalmente, a partir de los resultados obtenidos, se abre un camino prometedor para explorar con mayor profundidad el potencial del MC como ingrediente con impacto positivo sobre la salud. En este sentido, resultaría interesante realizar estudios *in vitro* de biodisponibilidad de lípidos emulsionados por MC, y también de hierro vehiculizado por MC, e incluso estudios *in vivo* que permitirían corroborar su eficacia como ingrediente saludable.

De forma integral, esta tesis ofrece evidencia científica sólida que posiciona al MC como un ingrediente innovador, natural y versátil, capaz de cumplir simultáneamente funciones tecnológicas y nutricionales en el diseño de alimentos funcionales. La integración de técnicas de extracción optimizadas, tratamientos físicos y estudios de interacción con componentes presentes en la digestión gastroduodenal y con minerales, sienta las bases para futuras aplicaciones del MC en el desarrollo de alimentos saludables, estables y de alta aceptación sensorial, alineados con las tendencias actuales de sostenibilidad y prevención de enfermedades no transmisibles.

"ANEXO 1"

ANALISIS SENSORIAL

JUGO DE NARANJA FORTIFICADO CON HIERRO

PLANILLA DE EVALUACION

1) Atributos sensoriales: frente a usted tiene dos muestras de jugo de naranja, marque con una X la categoría con la que identifica el nivel de intensidad y de preferencia de los siguientes atributos característicos de la bebida.

→**COLOR:** percepción visual que resulta de la reflexión o transmisión de la luz en una muestra.

Intensidad	Poco	Ideal	Mucho
N°			
N°			
N°			

Preferencia	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni disgusta	Me gusta levemente	Me gusta
N°					
N°					

→**TURBIDEZ:** opacidad o falta de claridad en un líquido, causada por la presencia de partículas suspendidas que dispersan la luz.

Intensidad	Poco	Ideal	Mucho
N°			
N°			

Preferencia	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni disgusta	Me gusta levemente	Me gusta
N°					
N°					

→**ACIDEZ:** medida del grado de acidez que una muestra presenta, generalmente detectada a través del sabor ácido.

Intensidad	Poco	Ideal	Mucho
N°			
N°			

Preferencia	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni disgusta	Me gusta levemente	Me gusta
N°					
N°					

→**SABOR METÁLICO:** percepción sensorial que recuerda a los metales y puede estar asociado con elementos como hierro o zinc en la muestra.

Intensidad	Poco	Ideal	Mucho
N°			
N°			

Preferencia	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni disgusta	Me gusta levemente	Me gusta
N°					
N°					

→**SABOR NARANJA:** percepción sensorial que recuerda al sabor característico de las naranjas, con notas cítricas, dulces y ácidas.

Intensidad	Poco	Ideal	Mucho
N°			
N°			

Preferencia	Me disgusta	Me disgusta levemente	No me gusta ni disgusta	Me gusta levemente	Me gusta
N°					
N°					

COMENTARIOS

_____

_____

2) Satisfacción global: frente a usted tiene dos muestras de jugo de naranja, marque con una X la categoría con la que identifica el grado satisfacción que percibe por cada bebida.

Preferencia	**Me disgusta mucho**	**Me disgusta**	**Me disgusta levemente**	**No me gusta ni disgusta**	**Me gusta levemente**	**Me gusta**	**Me gusta mucho**
N°							
N°							

COMENTARIOS

_____
_____
_____
_____
_____

3) Prueba de comparaciones múltiples y de preferencia: para finalizar, pruebe las dos muestras de izquierda a derecha. Determine si son idénticas o diferentes marcando con una X. En caso de percibir diferencia, indique utilizando el código de formulación cuál es diferente.

---------- Los jugos son iguales

---------- Los jugos son diferentes. El jugo diferente es ----------

Y, por último, indique utilizando el código de formulación cuál prefiere: ----------

¡Muchas gracias por su colaboración!

"ANEXO 2"

República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Informe

Número: IF-2024-85711046-APN-DLEIAER#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Martes 13 de Agosto de 2024

Referencia: Informe del Grupo Técnico de Trabajo de la CONAL sobre Aditivos Alimentarios - EX-2023-151622032- -APN-DLEIAER#ANMAT - Solicitud de incorporación de mucílago de Chía como aditivo

---

Informe del Grupo Técnico de Trabajo de la CONAL sobre

Aditivos Alimentarios

Atento al mandato que el Grupo de Trabajo *ad hoc* sobre Aditivos Alimentarios (GAA) recibió por parte de la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL), según Acta N°154, se informa que:

- EX-2023-151622032- -APN-DLEIAER#ANMAT - Solicitud de incorporación de mucílago de Chía como aditivo.

La particular interesada, María Julia Martínez, presentó ante la CONAL la propuesta de incorporación al Código Alimentario Argentino (CAA) de la goma de chía o mucílago de chía en el Capítulo XVIII del Código Alimentario Argentino. La solicitante pertenece a un grupo de docentes e investigadores de CONICET, que vienen trabajando con el mucílago de chía.

En su presentación destaca que, aunque actualmente se utilizan las semillas de chía y la harina de chía desgrasada (ambas incluidas en el CAA) por la connotación saludable que implica, su incorporación en los alimentos también aporta características funcionales como espesante, estabilizante y emulsionante, que son otorgadas por el mucílago o goma que se forma al poner dichos ingredientes en contacto con agua.

Fundamenta el pedido en el hecho que desde hace más de 10 años se está estudiando y caracterizando el mucílago de la semilla de chía, tanto en Argentina como en otras partes del mundo, y sostiene que su incorporación en el CAA implicaría un beneficio para las economías regionales fomentando la producción de semillas de chía y dándole además un valor agregado, considerando la importancia que tendría para nuestro país, por ser Argentina uno de los que más cultiva la semilla de chía.

La goma de chía o mucílago de chía es un hidrocoloide exudado luego de la hidratación de la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) y posterior separación de éstas por centrifugación o tamizado. En relación a la fuente de obtención y proceso de producción, el mucílago de chía puede obtenerse de la semilla en diferentes condiciones

de extracción (siempre en contacto con agua). Las variables más comunes que se utilizan son:

- temperatura (5-80°C),

- tiempo (30 a 210 minutos) y

- relación semilla/agua (1:10, 1:20, 1:30, 1:40).

La extracción del mucílago de chía se realiza poniendo en contacto semillas de chía con agua (en una relación semilla:agua entre 1:10 y 1:30) durante un tiempo determinado (por lo general 1,5 o 2 h) para promover la extracción del mucílago, que se encuentra en la cubierta seminal de la semilla. Posteriormente, se realiza la separación del mucílago de la semilla mediante centrifugación para luego proceder al secado. Como etapa opcional se puede aplicar ultrasonidos de alta intensidad luego de la extracción y antes de la centrifugación con el objetivo

de aumentar el rendimiento de extracción del mucílago porque dicha etapa permite separar lo más eficientemente de la semilla (Saporittis et al. 2023).

- Nombre científico: hidrocoloide exudado luego de la hidratación de la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.)
- Nombre común: Goma de chía o Mucílago de chía
- Composición cualitativa y cuantitativa: Goma traslúcida, de consistencia viscosa, inodora, incolora e insípida. Soluble en agua fría o caliente e insoluble en alcohol.
- Composición fisicoquímica:
    - Contenido de carbohidratos: 35 – 60 % en base seca
    - Contenido de fibras totales: 56 - 74 % en base seca
    - Contenido de proteínas: 3 – 7 % en base seca
    - Contenido de cenizas: 0,1 – 0,8 % en base seca
    - Valor de pH de dispersiones acuosas: 6,1- 6,6
- Usos propuestos: Agente espesante, estabilizante, y emulsionante.

La información técnica aportada al expediente pertenece al trabajo de investigación “Unraveling the relationship between conditions of ultrasonic-assisted extraction of chia mucilage and viscosity”. (2023). Karen Saporittis, Julieta Marasco, Rocío Morales, María J Martinez, Ana MR Pilosof. J Sci Food Agric, 103, 3860-3870. DOI 10.1002/jsfa.12300, del grupo ITAPROQ, UBA-CONICET, del que la solicitante forma parte.

En cuanto a estudios de metabolismo y/o toxicidad, la solicitante entiende que no corresponde su presentación dentro del expediente, ya que el mucílago de chía se obtiene (en presencia de agua) a partir de la semilla de chía ya incorporada en el CAA (Artículo 896 bis - (Res. Conj. SPReI N° 201/2008 y SAGPyA N° 567) del Cap. XI).

Actualmente el uso de la goma de chía o mucílago de chía como aditivo, con función espesante, estabilizante y/o emulsionante, no se encuentra permitido en el CAA, debido a que no es un aditivo que se encuentre contemplado en la Resolución GMC N°11/06 “REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE “LISTA GENERAL ARMONIZADA DE ADITIVOS Y SUS CLASES FUNCIONALES” (LGHA); ni tampoco en el artículo 1398, que establece las especificaciones de identidad y pureza a las que los aditivos alimentarios deben responder.

En el Codex Alimentarius, no hay disposiciones enumeradas para el uso del mucílago de chía dentro de la Codex Stan 192 – 1995 (Revisión 2023) Norma General para los Aditivos Alimentarios, para ninguna categoría de alimentos.

Tampoco se ha hallado referencia de evaluaciones realizadas a esta sustancia por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA - por sus siglas en inglés), ni se la puede encontrar en la lista de prioridades de sustancias propuestas para evaluación del JECFA.

De igual manera, no hay antecedentes de evaluación sobre la sustancia por parte de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) o de otros organismos internacionales especializados de reconocimiento internacional, que se utilizan para la evaluación de incorporación de nuevos aditivos.

En relevamiento realizado, en referencia a los antecedentes normativos para evaluar la aprobación de uso de este producto como aditivo, se observó que tanto las semillas de chía como la harina de chía, son productos que se encuentran ampliamente aprobados como alimentos, pero no se encontraron referencias normativas que permitan el uso de la goma de chía o mucílago de chía como aditivo, con función espesante, estabilizante y/o emulsionante.

La solicitante adjunta al expediente un anexo (Anexo I) donde presenta varios productos en donde se utiliza el mucílago de chía como ingrediente. Son todos productos líquidos (jugos) o semi-líquido/semi-sólido (yogures) que contienen semillas de chía.

Teniendo en cuenta el rápido exudado del mucílago de chía desde la semilla, cuando ésta se pone en contacto con una fase líquida, en todos los productos presentados en el Anexo 1, y en general en cualquier producto líquido o semilíquido al cual se adicione semilla de chía, estará presente el mucílago aportando a los productos características de espesante/estabilizante y siendo fuente de fibra

CONCLUSIÓN:

De acuerdo a la información relevada, y a la falta de antecedentes normativos elaborados y/o adoptados por organismos especializados de reconocimiento internacional, como JECFA y/o EFSA, el GAA entiende que al momento, no hay aval suficiente que permita la incorporación del uso de la goma de chía o mucílago de chía como aditivo alimentario, con función espesante, estabilizante y/o emulsionante; ya que el producto no cuenta con la evaluación del JECFA, por lo tanto, no posee una IDA establecida ni tampoco especificaciones de identidad y pureza.

De todas maneras, teniendo en cuenta que la sustancia solicitada deriva de las semillas de chía, ya incluidas en el Código Alimentario Argentino (al igual que la harina de chía desgrasada), este Grupo no ve inconvenientes en que se permita la incorporación del mucílago de chía, con otras alternativas de uso distintas a la función de aditivo.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.08.13 11:37:22 -03:00

Claudia Viano
Jefa

Dirección de Legislación e Información Alimentaria para la Evaluación de Riesgo
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.08.13 11:37:23 -03:00

"ANEXO 3"

CONAL
Comisión Nacional de Alimentos

COMISIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS

REUNIÓN ORDINARIA del 11 de septiembre de 2024.

CABA

ACTA Nº 155

En la CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, a los ONCE (11) días del mes de setiembre de 2024, con la participación Dr. Enrique RIFOURCAT; Dra. Enriqueta PEARSON; Ing. Manuel CHIAPPE BERISSO; Ing. Agr. Pablo CORTESE; Lic. Mónica LÓPEZ; Dr. Pablo MORÓN; Lic. Julia GERACI; Ing. Alim. Natalia DEL GRECO; Lic. Marcia PALAMARA; Lic. Viviana BRUNENGO; Ing. Alim. Elizabeth LEZCANO; Lic. Natalia GUERRA; Lic. Lucía JORGE; Lic. Andrea Marisa PÉREZ; Lic. Jorgelina AZAR; Med. Vet. Andrea CALZETTA RESIO; Ing. María Julia PALACÍN; Med. Vet. Silvia LOPEZ; Med. Vet. Valeria ONTIVEROS; Ing. Qca. Rocío LEIVA RODRIGUEZ; Lic. Claudia SORIA; Med. Vet. Pedro RIBEIRO; Lic. Diego SABAN; Lic. Anabella MARIANI; Ing. Alim Florencia PAVON; Bioq. Karina MEIER; Ing. Alim. José Francisco GONZÁLEZ; Med. Vet. Leticia Beatriz CÁCERES; Bioq. Sonia Beatriz GARCÍA; Sra. Linda Carolina LABORDE; Bioq. Esteban GIOVANINI; Lic. Gladis Antonia CACERES; Lic. Daniel RABINO; Bioq. Federico PAYES MONZÓN; Sergio PARAFIENIUK; Blga. Ianina del Carmen BASCUR; Lic. Lucía ROCHA; Med. Vet. Cinthia SEREBRINSKY; Lic. Karina HARITCHABALET; Ing. Agr. Juan Nestor GARAY; Med. Vet. Cecilia BELMONTE; Lic. Marta CHUCHUY; Lic. Anika Victoria TROPEA; Farm. Hector QUIROGA; Med. Vet. Eduardo ELIZALDE; Tca. Alicia ARCANGIOLI; Ing. Luciana ZAVALETA; Med.Vet. Jorge DAL BIANCO; Sra. Virginia Soledad PERALTA; Lic. Silvana RUARTE; Bioq. María Josefina CABRERA, Lic. Claudia VIANO; Lic. Sandra UCHA; Lic. Celina MORENO; Ing. Alim. Daniel FRANCO y Lic. Paula GÓMEZ se desarrolló la reunión ordinaria.

Siendo las 9:30 hs. la Directora Nacional del Instituto Nacional de Alimentos (INAL), Lic. Mónica LÓPEZ, dio inicio a la reunión otorgando la palabra a las autoridades presentes.

En primer lugar tomó la palabra el Presidente del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Ing. Agr. Pablo Cortese, quien calificó como fundamental el rol de la CONAL para garantizar la seguridad e inocuidad de los alimentos que consumen los argentinos. Además, comentó el proceso de optimización que está llevando a cabo el Senasa para brindar servicios más ágiles y eficientes. Detalló que se facilitan los procedimientos a los usuarios y se simplifican los sistemas de registro, sin que eso afecte los criterios técnicos ni las exigencias necesarias para asegurar la inocuidad de los productos agroalimentarios y sostener y/o aumentar los mercados internacionales.

Seguidamente tomó la palabra la Subadministradora de la ANMAT, Dra. Enriqueta PEARSON, quien saludó a las autoridades presentes y miembros de la Comisión Nacional de Alimentos y expresó que es un honor y un privilegio volver a presenciar este encuentro que tiene el propósito de asegurar la inocuidad, calidad y seguridad de los alimentos que consumen todos los argentinos, con bases en el análisis de riesgo, la actualización normativa, las nuevas tendencias internacionales y la vigilancia sanitaria.

Contó que en la última etapa, se han alcanzado importantes avances que fortalecen la capacidad de proteger la salud pública. Destacó las 10 resoluciones conjuntas firmadas en agosto, y la importancia de la incorporación de nuevos productos al Código Alimentario Argentino, como el kéfir de agua, colágeno hidrolizado, la sal marina argentina y la sal rosa, así como la actualización de los límites de arsénico en algas comestibles y los aditivos en fórmulas infantiles.

Indicó que cada paso en la reglamentación de estos productos refuerza el compromiso con la seguridad alimentaria y el desarrollo de un marco regulatorio adaptado a las nuevas realidades de consumo. También expresó que es motivo de satisfacción el abordaje de 30 temas, para los cuales ya se ha fijado posición, reflejando el compromiso por agilizar las decisiones y fortalecer la transparencia de las acciones de la Comisión.

Particularmente destacó la importancia en la incorporación al Código de flores comestibles, bebidas fortificadas y suplementos hidroelectrolíticos, entre otros.

IF-2024-99176952-APN-DIAER#ANMAT

productos. Asimismo, destacó que desde los grupos de trabajo *ad hoc* se alcanzaron importantes consensos para continuar con la regulación de innovaciones alimentarias, como el uso del mucílago de chía y nuevas enzimas, lo cual representa un ejemplo del dinamismo y la capacidad de adaptación de esta comisión.

Recalcó el trabajo conjunto con el Consejo Asesor (CONASE) para incorporar tres importantes resoluciones del Mercosur y la inclusión de aditivos en frutas deshidratadas, demostrando una vez más, el compromiso con la armonización regional y el fortalecimiento de la calidad de los productos que circulan en nuestra región.

Por otra parte comentó que, desde el INAL, se presentó una nueva guía sobre el etiquetado de alérgenos, alineada con las últimas modificaciones del Código Alimentario Argentino y que será, con el trabajo de todos ustedes, recomendada por la CONAL. Esta guía representa un gran avance en la protección de consumidores que sufren de alergias alimentarias, mejorando la claridad de la información ofrecida al público y garantizando mayor seguridad para un grupo vulnerable de la población.

Finalmente resaltó el total consenso de todos los representantes, respecto del trabajo realizado por el equipo del Departamento de Legislación Alimentaria para la Evaluación del Riesgo quienes han generado y planificado un reordenamiento en el Código Alimentario Argentino referido a los aditivos permitidos para alimentos en un único documento que facilitará la búsqueda de los mismos y actualizará varios capítulos y artículos actuales.

Concluyendo expresó su agradecimiento por la dedicación y el esfuerzo constante de todos en cada debate, cada regulación y cada avance normativo, construyendo así un futuro más seguro y saludable para todos. Destacó que los desafíos son continuos, pero con el trabajo conjunto de todos los sectores involucrados, se continúa fortaleciendo la inocuidad y calidad de los alimentos en el país.

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

Posteriormente, el Subsecretario de Producción Agropecuaria y Forestal Ing.

Manuel Chiappe dio la bienvenida a todos y ransmitió el saludo del Secretario de la SAGyP el Ing. Sergio Iraeta, quien por un compromiso asumido previamente no pudo estar presente.

Expresó el honor que es para él participar, junto al resto de las autoridades, en el inicio de estas sesiones de la reunión Nro. 155 de la Comisión Nacional de Alimentos.

Comunicó la importancia de la CONAL, como organismo federal fundamental para el desarrollo del sector productivo argentino, considerando que el sistema agroalimentario enfrenta múltiples desafíos, pero también oportunidades y que se requiere de políticas públicas integrales, donde la regulación alimentaria cumple un rol clave para lograr ese objetivo.

Expuso también que el objetivo de la SAGyP es contribuir al desarrollo del sector agroalimentario innovador, competitivo y responsable, que satisfaga las necesidades alimentarias de nuestra población, y que también impulse la economía nacional a través de la exportación de alimentos diferenciados y con valor agregado.

Que, en relación a ello, la agenda de trabajo de la CONAL N° 155 se enmarca decididamente en esta visión y en el abordaje federal que tiene la CONAL, señalando algunos temas en debate como la aplicación de aditivos glaseantes y antihumectantes/ antiaglomerantes solicitada por el Clúster de Ciruela para la Industria de Mendoza y el INTA, la inclusión de los frutos de la palmera Butia yatay por parte de la provincia de Entre Ríos, la Inclusión de Arropes y Harinas Vegetales impulsado por la provincia de Catamarca, la inclusión de la Harina de Orujo de Uva, presentado por La Universidad Nacional de Jujuy-Instituto IPAl y en la misma línea, la propuesta de inclusión en el CAA del Orujo de Manzana Deshidratado, presentada por la Universidad Nacional de Rio Negro (UNRN).

Expresó que esta Comisión Nacional de Alimentos tiene una tarea crucial: contribuir al desarrollo del sector agroalimentario, promoviendo la innovación, la calidad, la sostenibilidad en todas nuestras actividades y la importancia de la

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

agilización de los trámites para facilitar el crecimiento productivo.

Finalmente agradeció la atención y el compromiso con esta importante misión y auguro una excelente jornada de trabajo en esta nueva Plenaria.

Por último, tomó la palabra el Subsecretario de Institutos y Fiscalización del Ministerio de Salud, Dr. Enrique RIFOURCAT, quien dio la bienvenida en nombre del presidente de la CONAL, el Dr. Leonardo BUSSO, Secretario de Calidad en Salud del Ministerio de Salud de la Nación. Saludó y agradeció a los presentes como a quienes están participando de manera virtual y les dio la bienvenida a la 155° Reunión Ordinaria de la Comisión Nacional de Alimentos. Destacó la gran responsabilidad que recae sobre todos los representantes y sobre las autoridades sanitarias jurisdiccionales de todo el país, en garantizar que los alimentos que consumimos sean seguros, nutritivos y de alta calidad. Asimismo, indicó que los alimentos son la base de nuestra salud, y su manejo seguro es clave para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos que afectan a millones de personas en todo el mundo.

Resaltó que uno de los objetivos primordiales como Sistema Nacional de Control de Alimentos es garantizar la inocuidad de los mismos, lo que implica monitorear y supervisar toda la cadena alimentaria, desde la producción hasta el consumo final. Enfatizó que cada alimento que llega a nuestras mesas debe haber pasado por un proceso que permita asegurar que esté libre de patógenos, toxinas y cualquier otro contaminante físico, químico o biológico que pudiera poner en riesgo la salud de los consumidores.

Otro objetivo que resaltó es la educación y concienciación a la población dado que la seguridad alimentaria se basa en informar y educar sobre la manipulación adecuada de los alimentos, el control de temperaturas y la importancia de la higiene tanto en el ámbito industrial como en el ámbito doméstico. Explicó que todos en este sistema trabajamos juntos y en conjunto con la comunidad para crear conciencia sobre los riesgos asociados a los alimentos y las mejores prácticas para prevenirlos. Agradeció por el trabajo colaborativo y recalcó que no se debe olvidar el papel en la meta de reducción de la incidencia de

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

enfermedades transmitidas por alimentos. Como se sabe, esto se logra a través de la implementación de sistemas de vigilancia epidemiológica que nos permitan identificar y responder rápidamente a brotes de enfermedades relacionadas con los alimentos (y agradeció a las provincias que participaron del simulacro organizado por el INAL) y también el simulacro llevado adelante por INFOSAN con nuestro Centro Nacional de Enlace y el INAL.

Para finalizar, y para alcanzar los objetivos y metas hay que entender que se debe estar preparado para nuevos desafíos: Nuestro rol es crucial para garantizar un sistema alimentario seguro y saludable. A través de una combinación de regulación, educación, innovación y colaboración global, podemos trabajar juntos para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos y proteger la salud de la población.

La seguridad alimentaria es una responsabilidad compartida entre gobiernos, productores y consumidores, y juntos poder hacer que los alimentos que consumimos sean más seguros para todos.

A continuación, declaró formalmente inaugurada la 155ª Sesión Ordinaria de la Comisión Nacional de Alimentos.

Resoluciones Publicadas en el Boletín Oficial

La Secretaría Técnica Administrativa (STA) de la CONAL informó sobre las últimas resoluciones conjuntas que actualizaron el Código Alimentario Argentino (CAA) publicadas en el Boletín Oficial de la República Argentina (BORA) hasta el día de la fecha:

Resolución Conjunta SCS y SB N° 2/24: Modificación del artículo 1417 inc.14 del Capítulo XXII "Misceláneos" referido a Colágeno hidrolizado.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 3/2024: Derogación del artículo 840, Capítulo XI "Alimentos Vegetales" referido a la definición de Yacón.

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

Resolución Conjunta SCS y SB N° 4/2024: Incorporación del artículo 195 bis al Capítulo IV "UTENSILIOS, RECIPIENTES, ENVASES, ENVOLTURAS, APARATOS Y ACCESORIOS" referido a la GMC No 16/20 "Reglamento Técnico del Mercosur sobre disposiciones para envases, revestimientos, utensilios, tapas y equipamientos metálicos en contactos con Alimentos (Modificación Res. GMC N°46/06).

Resolución Conjunta SCS y SB N°5/2024: Modificación del artículo 1192 del Capítulo XV "Productos Estimulantes o Fruitivos", referido al listado de hierbas para infusión.

Resolución Conjunta SCS y SB N°6/2024: Incorporación del artículo 1264 tris al Capítulo XVI "Correctivos y Coadyuvantes", referido a Sal Marina Argentina.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 7/2024: Incorporación del artículo 1084 tris al Capítulo XIII "Bebidas Fermentadas", referido al Kéfir de agua (Water kefir o Sugary kéfir).

Resolución Conjunta SCS y SB N° 8/2024: Incorporación del artículo 1264 quater al Capítulo XVI "Correctivos y Coadyuvantes", referido a la Sal Rosa.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 9/2024: Modificación del artículo 1353 bis del Capítulo XVII "Alimentos De Régimen o Dietéticos", referido a la actualización de lista de aditivos que se utilizan como vehículos de vitaminas y otros nutrientes en las fórmulas infantiles.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 10/2024: Modificación del artículo 923 del Capítulo XI "Alimentos Vegetales", referido al límite de Arsénico en Algas comestibles.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 11/2024: Modificación del artículo 1249 del Capítulo XVI "Correctivos y Coadyuvantes", referido al listado de Hongos Comestibles.

Resolución Conjunta SCS y SB N° 12/2024: Modificación del artículo 1398 del Capítulo XVIII "Aditivos Alimentarios", referido a la actualización de especificaciones.

Temas que ingresan de CONSULTA PÚBLICA

EX-2023-148220853- -APN-DLEIAER#ANMAT – Ref. Inclusión de Arropes y Harinas Vegetales.

No se recibieron observaciones durante el período de Consulta Pública. Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC a Trámite Administrativo.

EX-2022-128053763- -APN-DLEIAER#ANMAT – Ref. Inclusión de Alpiste.

No se recibieron observaciones durante el período de Consulta Pública. Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC a Trámite Administrativo.

EX-2024-30902015- -APN-DLEIAER#ANMAT – Ref. Modificación de alimentos fortificados, incorporación de bebidas adicionadas y de suplemento hidroelectrolítico.

Durante el período de Consulta Pública se recibieron notas de:

- COPAL N° 9989-24 del 18 de julio de 2024
- CADIBSA del 19 de julio de 2024
- CIPA del 15 de julio de 2024

Los representantes de la CONAL tomaron conocimiento de los comentarios recibidos durante la consulta pública y acordaron no aceptar los comentarios recibidos referidos a cambiar la palabra "bebida" por "producto" y la incorporación de otros ingredientes a los suplementos hidroelectrolíticos, atento con lo acordado en la Reunión CONAL N° 154. Finalmente, se acordó ajustar el plazo de adecuación a veinticuatro (24) meses.

Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC ajustado a Trámite Administrativo.

EX-2022-136576887- -APN-DLEIAER#ANMAT (vinculado con EX-2022-136582462- -APN-DLEIAER#ANMAT) – Ref. Incorporación de Copolímero aniónico de metacrilato y Copolímero de metacrilato básico.

No se recibieron observaciones durante el período de Consulta Pública. Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC a Trámite Administrativo.

EX-2023-146749653- -APN-DLEIAER#ANMAT – Ref. Inclusión del fruto de la palmera *Butia yatay.*

Durante el período de Consulta Pública se recibieron notas de apoyo al proyecto de las siguientes instituciones:

- Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER) del 1 de julio de 2024
- Ministerio de Desarrollo Económico de Entre Ríos del 24 de junio de 2024
- Nota Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Concordia y Parque Nacional El Palmar del 3 de julio de 2024
- Facultad de Ciencias de la Alimentación - UNER del 4 de julio de 2024
- Colegio de Licenciados en Bromatología de Entre Ríos (COLBER) del 5 de julio de 2024
- Municipio de Ubajay del 19 de julio de 2024

Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC a Trámite Administrativo

EX-2024-18424982- -APN-DLEIAER#ANMAT (Vinculado con NO-2024-21954012-APN-INAL#ANMAT) – Ref. Incorporación de Flores Comestibles.

Durante el período de Consulta Pública se recibieron notas de apoyo al proyecto de:

- Ministerio de Producción Y Ambiente de Tierra del Fuego, Antártida e Islas de Atlántico Sur (Nota 62-2024) del 20 de julio de 2024
- Quinta Pionera Estancia Viamonte del 19 de julio de 2024

Los representantes de la CONAL acordaron remitir el PRC que consta como Anexo I a Trámite Administrativo.

EX-2024-63045112- -APN-DLEIAER#ANMAT - Inclusión del Glicinato Férrico y el Glicinato Ferroso.

No se recibieron observaciones durante el período de Consulta Pública. Asimismo, la CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE, el cual acordó con el PRC.
La Comisión acordó remitir el PRC a Trámite Administrativo.

Temas que ingresan del CONASE

La Lic. Silvana OTTONELLO como representante del CONASE, expuso los comentarios realizados por dicho consejo.

EX-2024-63045112- -APN-DLEIAER#ANMAT - Inclusión del Glicinato Férrico y el Glicinato Ferroso.
Ver lo acordado en CONSULTA PÚBLICA.

EX-2023-129487245- -APN-DLEIAER#ANMAT. Ref. Modificación art. 1381 y 235.

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE. En ese sentido, la Comisión acordó que se mantenga la redacción actual del proyecto ya que la lista de DPS autorizadas por la ANMAT (con la condición que se establezca para cada declaración y uso previsto) se publicará en el portal oficial de dicha Administración.

La Comisión acordó remitir el PRC sin modificaciones a la Consulta Pública por el plazo de 30 días corridos.

EX-2024-63042227- -APN-DLEIAER#ANMAT. Ref. Criterios microbiológicos en hierbas para infusión.

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE y acordó con la observación

referida a la incorporación de un plazo de adecuación de 12 meses. La Comisión acordó remitir el PRC ajustado a Consulta Pública por el plazo de 30 días corridos.

EX-2024-01784569- -APN-DLEIAER#ANMAT – Ref. Incorporación de la aplicación de aditivos glaseantes y antihumectantes/antiaglomerantes en frutas.

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE, el cual acordó con el PRC.
La Comisión acordó remitir el PRC a Consulta Pública por el plazo de 30 días corridos.

EX-2023-109063711- -APN-DLEIAER#ANMAT - Modificación del artículo 154 quater.

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE, el cual no acordó con el PRC.
Luego del análisis y debate la Comisión acordó continuar analizando el tema.

EX-2024-38468207- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de GMC 46/23

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE que se expidió sin observaciones.
La Comisión acordó remitir el PRC a Trámite Administrativo.

EX-2024-38472176- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de GMC 47/23

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE que se expidió sin observaciones.
La Comisión acordó remitir el PRC a Trámite Administrativo.

EX-2024-38477080- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de GMC 48/23

La CONAL tomó conocimiento del Acta del CONASE que se expidió sin observaciones.
La Comisión acordó remitir el PRC a Trámite Administrativo.

Temas en Tratamiento

EX-2022-108063528- -APN-DLEIAER#ANMAT - Orujo de uva deshidratado

Informe Mesa de Trabajo **NO-2024-84586404-APN-INAL#ANMAT**

Informe de GT Criterios Microbiológicos (GT CMO) **NO-2024-87472654-APN-INAL#ANMAT /IF-2024-86973396-APN-DFYC#ANMAT**

La CONAL tomó conocimiento del informe presentado por la mesa de trabajo de estudio específico que reunió a expertos en la materia, tal lo acordado en la RO N° 154, la cual concluyó que "...corresponde establecer criterios microbiológicos en el producto final, lo cual acompañado de un límite de humedad máxima acordado de 8%, conduce a asegurar que el orujo de uva seco sea un alimento inocuo...".

Por otra parte, el GT CMO presentó un informe que establece los criterios microbiológicos para el orujo de uva seco.

La Comisión acordó remitir el PRC ajustado que se adjunta como Anexo II al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos y simultáneamente el PRC a la CONSULTA PÚBLICA por un plazo de 30 días corridos.

EX-2024-63047449- -APN-DLEIAER#ANMAT - Inclusión del Vino parcialmente desalcoholizado y desalcoholizado.

La CONAL acordó incorporar al PRC la frase "Los productos cumplen con la Ley Nº 14878 -Ley General de Vinos" y en derogar el Artículo 1103 referido a prácticas enológicas permitidas, remitir el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos y simultáneamente el PRC ajustado a la CONSULTA PÚBLICA por un plazo de 30 días corridos.

EX-2023-88721791- -APN-DLEIAER#ANMAT - Harina de coco.

La CONAL acordó que, de la información aportada por el interesado, no se desprenden fundamentos para avanzar con la incorporación del producto al CAA. La Comisión acordó solicitar al interesado información sobre: evidencia de comercialización en otros países, aptitud para consumo humano, tipificación del

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

producto y usos previstos. La CONAL acordó otorgar un plazo de 30 días corridos para presentar la información y en caso de no cumplimentar se remitirá la solicitud a archivo.

EX-2019-112465863-APN-DERA#ANMAT - Aceite de Palta

Durante la RO de la CONAL N° 144 se acordó aguardar la resolución de CODEX en referencia a revisión de la norma CXA 210-199 para avanzar en la caracterización del aceite de palta. Considerando que durante la 28° REUNIÓN DEL COMITÉ DEL CODEX SOBRE GRASAS Y ACEITES se acordó remitir el proyecto de enmienda/revisión que contiene la inclusión del aceite de aguacate, para su adopción en el trámite 8, la STA CONAL/INAL ajustó el PRC a la norma CODEX. Por otra parte, se acordó incorporar el valor de Materia Volátil de acuerdo al CODEX STAN 210-1999 (Norma para Aceites Vegetales especificados: "Materia Volátil, en %m/m: 0,2") e incorporar el "índice de Peróxidos (meq. O_2/kg aceite): 10" para equiparar con el resto de los aceites descritos en el Código, como indicador de estado de conservación.

LA CONAL acordó remitir el PRC ajustado a Trámite Administrativo. Anexo III.

GRUPOS de TRABAJO ad hoc de la CONAL

Grupo de trabajo ADITIVOS ALIMENTARIOS (GT AA)

NO-2024-87473512-APN-INAL#ANMAT

EX-2023-151622032- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de mucílago de Chía.

IF-2024-85711046-APN-DLEIAER#ANMAT

En el informe presentado por el GT AA se expresó que no existe evidencia suficiente para incorporar a la sustancia como aditivo alimentario. No obstante, dado que el mucílago deriva de las semillas de chía ya incluidas en el CAA, concluyó que no encuentran inconvenientes en que se permita la incorporación del mucílago de chía con otras alternativas de uso distintas a la función de

IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

aditivo.

La Comisión acordó con el informe del GT AA, que la STA CONAL/INAL elabore un PRC para incorporar al mucilago en el Capítulo XXII "Misceláneos" y remita el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos.

EX-2023-96356341- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de goma exudada del algarrobo

IF-2024-85694222-APN-DLEIAER#ANMAT

En el informe presentado por el GT AA se expresó que, de acuerdo a la información relevada y debido a la falta de antecedentes normativos y de evaluación realizados por organismos especializados de reconocimiento internacional, como JECFA y/o EFSA, no hay aval suficiente que permita la incorporación del uso de la goma exudada del algarrobo blanco como aditivo alimentario, ya que el producto no cuenta con la evaluación del JECFA, por lo tanto, no posee una IDA establecida ni tampoco especificaciones de identidad y pureza.

Por otra parte, el grupo expresó que el solicitante propuso otras alternativas de uso distintas a la función de aditivo para las que no presentó estudios en cuanto a toxicología subaguda y crónica, ni antecedentes fehacientes de consumo ancestral en nuestro país que puedan permitir evaluarlas.

En este sentido, la Comisión acordó que la STA CONAL/INAL solicite al interesado estudios de toxicología subaguda y crónica para avanzar en la incorporación como aditivo así como antecedentes de consumo ancestral en México mencionados en el expediente, que permitan evaluar otros usos de esta sustancia; se otorgue un plazo de 30 días corridos y de no responder remitir el expediente al archivo.

EX-2023-95238844- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación del extracto de Fruto monje.

CONAL
Comisión Nacional de Alimentos

Informe IF-2024-85725499-APN-DLEIAER#ANMAT

La CONAL tomó conocimiento del informe presentado por el GT AA.

Atento a que el solicitante presentó normativa de México, Australia/Nueva Zelanda y Canadá, donde se especifica que dicho aditivo ya se encuentra aprobado para uso en alimentos con función edulcorante, la CONAL acordó avanzar con la petición, que la STA CONAL/INAL elabore el PRC, se circule durante 20 días entre los representantes y, de no recibir comentarios sustanciales, se remita el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos.

GT CAPÍTULO II

NO-2024-86651196-APN-INAL#ANMAT /
IF-2024-85885083-APN-DLEIAER#ANMAT

La Comisión acordó ajustar el proyecto presentado por el grupo. La CONAL acordó circular el PRC ajustado por 20 días corridos entre los representantes, y en caso de no recibir comentarios sustanciales remitir el proyecto al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos. En el caso que las observaciones sean sustanciales se remitirá el PRC al GT CAPÍTULO II para su evaluación. Se adjunta PRC como Anexo IV.

GT CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

NO-2024-87472654-APN-INAL#ANMAT/IF-2024-86973396-APN-DFYC#ANMAT

EX-2022-108063528- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de orujo de uva seco

Ver Temas en Tratamiento.

EX-2023-79803623 -APN-DLEIAER#ANMAT – Incorporación de orujo de manzana seco.

La CONAL acordó con la propuesta presentada por el GT referida a los criterios microbiológicos para orujo de manzana seco.

La Comisión acordó remitir el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos y simultáneamente el PRC ajustado a la CONSULTA PÚBLICA por un plazo de 30 días corridos.

GT ENZIMAS ALIMENTARIAS

NO-2024-87472894-APN-INAL#ANMAT/IF-2024-87373408-APN-DLEIAER#ANMAT

EX-2023-114699174- -APN-DLEIAER#ANMAT - Inc. de la enzima Glucoamilasa.

La CONAL acordó con el informe presentado por el GT EA y solicitar al interesado que adjunte el protocolo de evaluación en idioma español ya que la misma constituye la información que la Autoridad Sanitaria considera como declaración jurada a los efectos legales correspondientes. Complementariamente que adjunte las aprobaciones de Autoridades Sanitarias Competentes de países en los que el producto es comercializado, siempre traducidos en los términos que establece la Ley 19549, Decreto 1759/72 (traductor público nacional matriculado), u otros certificados de otros países en los que eventualmente ha sido aprobado el producto.

La comisión acordó otorgar 30 días de plazo y en caso de no cumplimentar lo solicitado, se remitirá el expediente al archivo.

EX-2022-129288323- -APN-DLEIAER#ANMAT Inc. de la enzima Xilanasa de Chryseobacterium sp-10696 expresada en Bacillus licheniformis.

La CONAL acordó con el informe presentado por el GT EA y solicitar al interesado que adjunte el protocolo de evaluación en idioma español ya que la misma constituye la información que la Autoridad Sanitaria considera como declaración jurada a los efectos legales correspondientes. Complementariamente que adjunte las aprobaciones de Autoridades Sanitarias Competentes de países en los que el producto es comercializado, siempre traducidos en los términos que establece la Ley 19549, Decreto 1759/72 (traductor público nacional

matriculado), u otros certificados de otros países en los que eventualmente ha sido aprobado el producto.

Finalmente el GT EA expresó que se deberán adjuntar estudios toxicológicos que determinen el NOAEL de la preparación enzimática y el cálculo del margen de seguridad del producto ante la exposición, según las recomendaciones de uso de la enzima para cada uso propuesto y la ingesta diaria teórica máxima (TMDI).

La Comisión acordó con lo expresado por el GT y otorgar 30 días de plazo para cumplimentar lo solicitado. Caso contrario, se remitirá el expediente al archivo.

Propuesta de INCORPORACIÓN DE OTRAS ENZIMAS.

La CONAL acordó con la propuesta del GT EA respecto a la incorporación de nuevas enzimas que fueron presentadas en el marco del "INSTRUCTIVO PARA LA APLICACIÓN DE LOS ARTÍCULOS 1263 Y 1263 BIS DEL CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO" (aprobado en la CONAL N° 125) las cuales se detallan a continuación:

- Fosfolipasa C (EC 3.1.4.3) producida a partir de una cepa modificada genéticamente del microorganismo *Bacillus licheniformis*
- Fosfoinositida fosfolipasa C producida a partir de una cepa modificada genéticamente del microorganismo *Bacillus licheniformis* (EC 3.1.4.11)
- Prolil endopeptidasa ácida producida a partir de una cepa modificada genéticamente del microorganismo *Pichia pastoris* (EC 3.4.21.26)
- Triacilglicerol lipasa, producida a partir de una cepa modificada genéticamente del microorganismo *Pichia pastoris* (EC 3.1.1.3)
- Prolil oligopeptidasa (Número EC 3.4.21.26) de Aspergillus niger expresado en Trichoderma reesei
- Prolil oligopeptidasa (EC 3.4.21.26) de *Aspergillus niger* expresado en *Aspergillus niger*

Por otra parte, la Comisión acordó que la STA CONAL/INAL elabore el PRC y remita el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos y simultáneamente a Consulta Pública por el plazo de 30 días corridos.

CONAL
Comisión Nacional de Alimentos

Notas ingresadas

NO-2024-79124970-APN-INAL#ANMAT - Directrices Alérgenos

La CONAL acordó con la actualización del documento: DIRECTRICES PARA LA DECLARACIÓN DE ALÉRGENOS Y SUSTANCIAS CAPACES DE PRODUCIR REACCIONES ADVERSAS EN INDIVIDUOS SUSCEPTIBLES presentado por el INAL. La comisión acordó recomendar el documento y publicarlo en la página web de la CONAL, reemplazando el existente.

EX-2024-77847233- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de materia prima para envases.

La CONAL acordó remitir la solicitud al SGT3 MERCOSUR, notificar al interesado y remitir el expediente al archivo.

EX-2024-76404563- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de Sake - Fernando Salgueiro

La CONAL acordó dar ingreso al tema, que la STA CONAL/INAL elabore el PRC, se circule durante 10 días corridos entre los representantes y en caso de no recibir comentarios sustanciales, remitir el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos.

EX-2024-35332562- -APN-DLEIAER#ANMAT - Incorporación de hoja de olivo - Diego Niembro.

La CONAL acordó dar ingreso al tema, que la STA CONAL/INAL elabore el PRC, se circule durante 10 días corridos entre los representantes y en caso de no recibir comentarios sustanciales, remitir el expediente al CONASE para que se expida en un plazo no mayor a 30 días corridos.

EX-2024-83487710- -APN-DLEIAER#ANMAT - Actualización de articulado de Jugo de limón - Yanina Centurión

La CONAL acordó dar ingreso al tema y continuar con el tratamiento.

EX-2024-83931866- -APN-DLEIAER#ANMAT - Inclusión de bicarbonato de potasio en harina leudante - Granotec Argentina SA

La comisión acordó dar ingreso al expediente, que la STA CONAL/INAL informe sobre la petición al SGT 3 MERCOSUR y que posteriormente remita las actuaciones a su archivo.

Notificaciones

EX-2024-88847308- -APN-DLEIAER#ANMAT – Incorporación de Resoluciones GMC referidas a Aditivos alimentarios.

En el marco de la incorporación al ordenamiento jurídico nacional (OJN) de las resoluciones Grupo Mercado Común (GMC) actualmente se encuentran en trámite administrativo varias GMC referidas a aditivos según el siguiente detalle:

*EX-2023-109062592- -APN-DLEIAER#ANMAT que tramita la incorporación al OJN de la Resolución GMC N° 15/23 "Reglamento Técnico MERCOSUR de asignación de aditivos alimentarios y coadyuvantes de tecnología para la categoría de alimentos 1. Productos lácteos, subcategorías leche en polvo y crema en polvo; leches fermentadas y quesos (Modificación de las Resoluciones GMC Nº 79/94, 29/96, 30/96, 31/96, 32/96, 34/96, 42/96, 78/96, 81/96, 82/96, 83/96, 134/96, 136/96, 145/96, 01/97, 47/97, 48/97 y 07/18)".

*EX-2023-107375715- -APN-DLEIAER#ANMAT que tramita la incorporación al OJN de la Resolución GMC N° 27/22 "Modificación de las Resoluciones GMC N° 50/97, 08/06, 09/06, 02/08 y 63/18 sobre ADITIVOS ALIMENTARIOS".

*EX-2022-102559847- -APN-DLEIAER#ANMAT que tramita la incorporación al OJN de la Resolución GMC N° 32/21 "MODIFICACIÓN DE LAS RESOLUCIONES GMC Nº 53/98, 09/07 y 34/10 SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS".

*EX-2024-38468207- -APN-DLEIAER#ANMAT que tramita la incorporación al OJN de la Resolución GMC N° 46/23 "MODIFICACIÓN DE LAS RESOLUCIONES GMC Nº 50/97 Y 09/07 SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS"

*EX-2024-38472176- -APN-DLEIAER#ANMAT que tramita la incorporación al OJN de la Resolución GMC N° 47/23 "MODIFICACIÓN DE LAS RESOLUCIONES GMC Nº 50/97 Y 09/07 SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS" IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

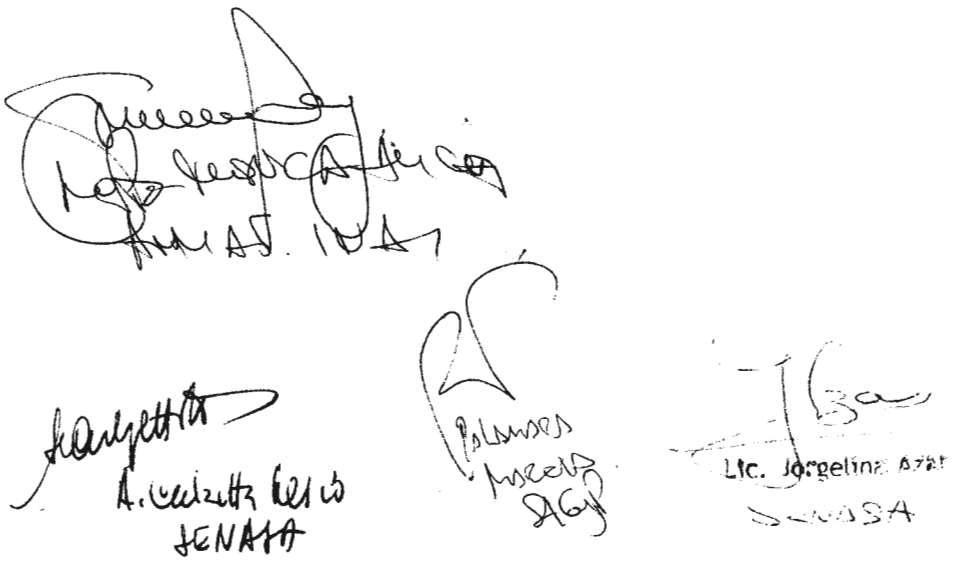
En ese sentido, desde el INAL se consideró oportuno recopilar todas las GMC sobre aditivos en el capítulo XVIII "Aditivos alimentarios" a fin de simplificar la búsqueda de aditivos permitidos, detalle de las especificaciones de los mismos, designaciones por categoría de alimentos y toda la información pertinente a estos compuestos. Con ese criterio el INAL ha elaborado un único PRC del capítulo mencionado que actualiza e incluye las últimas modificaciones en la materia.

La CONAL acordó con el PRC elaborado por el INAL y remitir el mismo a Trámite Administrativo el cual cursará por expediente EX-2024-88847308--APN-DLEIAER#ANMAT.

En ese sentido, la CONAL acordó remitir al archivo los expedientes detallados anteriormente.

En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, siendo las 15:00 hrs. del día 11 de septiembre de 2024 se da por finalizada la REUNIÓN ORDINARIA N° 155 de la COMISIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS.

Son VEINTE (20) folios.-



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número: IF-2024-99176952-APN-DLEIAER#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Jueves 12 de Septiembre de 2024

Referencia: Acta CONAL 155

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 20 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.09.12 13:21:17 -03:00

Viviana Teresita Brunengo
Asistente técnico

Dirección de Legislación e Información Alimentaria para la Evaluación de Riesgo
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.09.12 13:21:18 -03:00

"ANEXO 4"

VISTO el expediente EX-2024-63045112- -APN-DLEIAER#ANMAT; y

CONSIDERANDO:

Que la Dra. María Julia Martínez solicitó ala Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) la incorporación de la goma de chía o mucílago de chía en el Capítulo XVIII del Código Alimentario Argentino (CAA).

Que las semillas de chía y la harina de chía son ampliamente utilizados como alimentos y , se encuentran ya autorizados para su uso en el Artículo 896 bis del Capítulo XI – Alimentos Vegetales, y Artículo 1407 bis del Capítulo XIX "Harinas, Concentrados, Aislados y Derivados Proteínicos" respectivamente, del CAA.

Que la incorporación en el CAA de la goma o mucílago de chía implicaría un beneficio para las economías regionales fomentando la producción de semillas de chía y otorgándole un valor agregado.

Que se han encontrado evidencia de comercialización del producto en México y Estados Unidos.

Que Grupo de Trabajo *ad hoc* "Aditivos Alimentarios" (GTA) de la CONAL, coordinado por el Instituto Nacional de Alimentos (INAL), analizó el tema y se expidió con la propuesta de incorporar al Capítulo XXII "Misceláneos" del CAA a la Goma de Chía o Mucílago de Chía .

Que en el proyecto de resolución conjunta tomó intervención el Consejo Asesor de la Comisión Nacional de Alimentos (CONASE) y se sometió a la Consulta Pública.

Que la CONAL ha intervenido expidiéndose favorablemente. Que los Servicios Jurídicos permanentes de los Organismos involucrados han tomado la intervención de su competencia.

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por los Decretos Nros. 815 del 26 de julio de 1999 y 50 del 19 de diciembre de 2019, sus modificatorios y complementarios.

Por ello;

EL SECRETARIO DE CALIDAD EN SALUD Y

EL SECRETARIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA

RESUELVEN:

ARTÍCULO 1º. - Incorpórase al Artículo 1417 del Código Alimentario Argentino el inciso 24 que quedará redactado de la siguiente manera:

"24- GOMA DE CHÍA O MUCÍLAGO DE CHÍA

Hidrocoloide exudado obtenido luego de la hidratación de la semilla de chía *(Salvia hispánica* L.).

Composición cualitativa y cuantitativa: Goma traslúcida, de consistencia viscosa, inodora, incolora e insípida. Soluble en agua fría o caliente e insoluble en alcohol.

Composición fisicoquímica:

○ Contenido de carbohidratos: 35 – 60 % en base seca

○ Contenido de fibras totales: 56 - 74 % en base seca

○ Contenido de proteínas: 3 – 7 % en base seca

○ Contenido de cenizas: 0,1 – 0,8 % en base seca

○ Valor de pH de dispersiones acuosas: 6,1- 6,6

ARTÍCULO 2º. - La presente Resolución entrará en vigencia a partir del día siguiente al de su publicación en el BOLETÍN OFICIAL DE LA REPÚBLICA ARGENTINA.

ARTÍCULO 3º. - Comuníquese, publíquese, dése a la DIRECCIÓN NACIONAL DEL REGISTRO OFICIAL y archívese.

República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Informe gráfico

Número: IF-2024-102351080-APN-DLEIAER#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Jueves 19 de Septiembre de 2024

Referencia: PRC a CONASE - Inc. de mucílago de Chía

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 2 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.09.19 15:08:35 -03:00

Viviana Teresita Brunengo
Asistente técnico

Dirección de Legislación e Información Alimentaria para la Evaluación de Riesgo
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.09.19 15:08:35 -03:00