

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA**

**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

---



---

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA**

**MICROENCAPSULACIÓN DE ARGININA PARA LA SUPLEMENTACIÓN EN  
BOVINOS Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE LA CARNE**

**POR:**

**M. C. GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ**

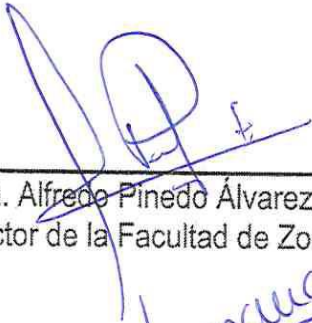
**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR IN PHILOSOPHIA**

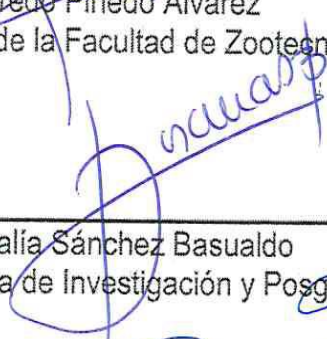
**CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO**

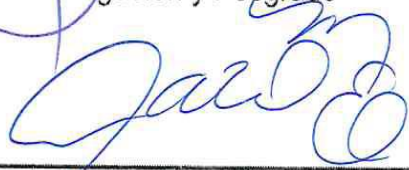
**JULIO DE 2024**

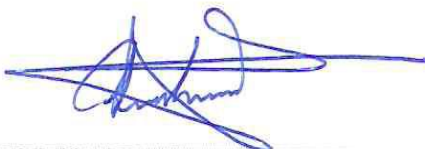


Microencapsulación de Arginina para la Suplementación en Bovinos y su Efecto en la Calidad de la Carne. Tesis presentada por Germán Contreras López como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Philosophia, ha sido aprobada y aceptada por:

  
\_\_\_\_\_  
D.Ph. Alfredo Pinedo Álvarez  
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Rosalía Sánchez Basualdo  
Secretaria de Investigación y Posgrado

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Lauro Manuel Espino Enríquez  
Coordinador Académico

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Manuel Carrillo López  
Presidente del Comité

2 de julio de 2024

\_\_\_\_\_  
Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
CHIHUAHUA

FECHA: 9 de mayo de 2024

DESPUÉS DE HABER REUNIDO LA REVISIÓN FINAL DEL TRABAJO DE TESIS A  
NIVEL DOCTORADO, TITULADO: Microencapsulación de arginina para la  
suplementación en bovinos y su efecto en la calidad de la carne

ELABORADO POR: Germán Contreras López  
ESTOY DE ACUERDO EN QUE DICHO TRABAJO SATISFACE LOS REQUISITOS  
PARA SU PUBLICACIÓN, DESDE EL PUNTO DE VISTA DE:

	FIRMA COMITÉ	CONTENIDO TECNICO	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	FORMATO
Luis Manuel Carrillo López ASESOR:		✓	✓	✓
Iván Adrián García Galicia REPRESENTANTE ÁREA MAYOR (CO-DIRECTOR)		✓	✓	✓
Lorenzo Buenabad Carrasco REPRESENTANTE ÁREA MENOR		✓	✓	✓
Nelson Aguilar Palma REPRESENTANTE ÁREA ESTADÍSTICA		✓	✓	✓
Agustín Corral Luna REPRESENTANTE ÁREA COORDINACIÓN		✓	✓	✓
Lauro Manuel Espino Enríquez COORDINADOR ACADEMICO				

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA  
Periférico Francisco R. Almada km 1  
C.P. 31453 Chihuahua, Chih.  
Tel. 52 (614) 434-0363, 434-0304, 434-0458 fax 434-0345  
www.fz.uach.mx

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS, por acompañarme en todo momento y permitirme vivir día a día, por darme la fuerza, la salud, la paciencia y el ánimo para concluir este paso tan importante en mi vida, GRACIAS.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología, por brindarme todo el apoyo en cuanto a conocimiento y laboratorios.

A la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por el apoyo económico que nos permitió realizar este programa de posgrado.

Al Colegio de Posgraduados (COLPOS), por brindarnos todas las facilidades para utilizar sus instalaciones.

Un agradecimiento muy especial al Ph.D. Iván Adrián García Galicia y Dr. Luis Manuel López Carrillo, por la confianza puesta en mí y el apoyo brindado al realizar el Doctorado. Por ser unos excelentes profesores e investigadores, sus enseñanzas y buenos mentores. Gracias por todo Drs.

## **DEDICATORIA**

A mis padres Germán Contreras Pérez y Ana María López Duarte, que gracias a sus valores inculcados he logrado todas estas metas. Y que gracias a todos sus consejos y regaños en la juventud, y su apoyo incondicional no sería la persona que soy en la actualidad. Por eso y muchas cosas más, MUCHAS GRACIAS LOS AMO.

## CURRICULUM VITAE

El autor nació el 21 de septiembre de 1991 en la ciudad de Culiacán, Sinaloa, México.

2012-2017	Estudios de licenciatura en la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.
Junio de 2018	Participación en la 45 <sup>a</sup> Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria, modalidad ponencia. Morelia, Michoacán.
Septiembre de 2018	Participación en el 54 <sup>a</sup> Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, modalidad cartel. Nuevo Vallarta, Nayarit.
2017-2019	Estudios de Maestría en Ciencias en la Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua.
Noviembre de 2022	Participación en el Congreso Latin Food, modalidad cartel. Puebla, Puebla.
2019-2023	Profesor en Universidad Autónoma de Sinaloa.

## **RESUMEN GENERAL**

### **MICROENCAPSULACIÓN DE ARGININA PARA LA SUPLEMENTACIÓN EN BOVINOS Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE LA CARNE**

POR:

**M. C. GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ**

Doctor In Philosophia en Producción Animal y Recursos Naturales

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

Se realizaron tres investigaciones, una documental y dos experimentales. El objetivo de la primera fue conocer los fundamentos para la encapsulación de aditivos alimentarios aplicados en la producción ganadera. A partir de la revisión documental, se seleccionaron dos técnicas potenciales para la encapsulación eficiente de arginina considerando las características químicas del ingrediente y el uso de materiales de pared apropiados para la suplementación de bovinos. Entonces, en el primer estudio experimental se realizó la microencapsulación de arginina en una matriz lipídica de cera de carnauba y polímero Eudragit® mediante los métodos de emulsificación fundida y nanoprecipitación, respectivamente. Ambos sistemas encapsulados presentaron morfologías tanto esféricas como polihédricas regulares e irregulares (cristales). En las formulaciones cera:arginina el contenido de nitrógeno (N) disminuyó conforme aumentó la proporción de cera. Las formulaciones Eudragit®:arginina con 1000 mg de arginina tuvieron mayor contenido de nitrógeno, comparadas con las

formulaciones con 500 mg de arginina. Las formulaciones cera:arginina 2:1 y 3:1 presentaron menor degradabilidad después de 5 h de digestibilidad *in vitro* (40.7 % y 21.26 %, respectivamente), en comparación con la degradabilidad de arginina no encapsulada, que tuvo 100 % de degradabilidad. Debido a la eficiencia encapsulante de la cera de carnauba para proteger la arginina de la degradación *in vitro*, en el segundo estudio experimental se incorporó arginina microencapsulada en la suplementación de bovinos durante 21 d. Esto con el objetivo de evaluar la calidad de la carne (*L. lumborum*) madurada (28 d) y colocada en simulación de anaquel durante 7 d. La inclusión de arginina microencapsulada protegida contra la degradación en rumen redujo el esfuerzo de corte de la carne hasta en 19.54 % en el día 0 (carne sin almacenar) y 12.38 % después de la simulación de anaquel. Además, aumentó el contenido de grasa intramuscular en 77.5 % respecto al control, mejoró la capacidad de retención de agua hasta en 10.9 % en el día 0, sin cambios en los parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ). La suplementación con arginina microencapsulada mejoró la calidad de la carne bovina en términos de ternura, jugosidad y sabor, al reducir el esfuerzo al corte y aumentar el contenido de grasa intramuscular y la retención de agua en la carne.



## ABSTRACT

### MICROENCAPSULATION OF ARGININE IN BOVINE DIETS AND ITS EFFECT ON MEAT QUALITY

BY:

GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ

Three investigations were carried out, one documentary and two experimental. The objective of the first was to know the fundamentals for the encapsulation of food additives applied in livestock production. From the documentary review, two potential techniques were selected for the efficient encapsulation of arginine considering the chemical characteristics of the ingredient and the use of wall materials appropriate for bovine supplementation. Then, in the first experimental study, the microencapsulation of arginine in a lipid matrix of carnauba wax and Eudragit® polymer was carried out using melt emulsification and nanoprecipitation methods, respectively. Both encapsulated systems presented both spherical and regular and irregular polyhedral morphologies (crystals). In the wax:arginine formulations, the nitrogen (N) content decreased as the wax proportion increased. The Eudragit®:arginine formulations with 1000 mg of arginine had higher nitrogen content, compared to the formulations with 500 mg of arginine. The 2:1 and 3:1 wax:arginine formulations presented lower degradability after 5 h of *in vitro* digestibility (40.7 % and 21.26 %, respectively), compared to the degradability of non-encapsulated arginine, which had 100 % degradability. Since carnauba wax was an efficient encapsulant to protect arginine from rumen degradation, in the second experimental study, microencapsulated arginine was incorporated into the supplementation of bovines

for 21 d. This aimed evaluating the quality of the meat (L. lumborum) aged (28 d) and placed on simulated retail display for 7 d. The inclusion of microencapsulated arginine protected against rumen degradation reduced meat shear force by up to 19.54 % on day 0 (unstored meat) and 12.38 % after display. In addition, the intramuscular fat content increased by 77.5 % compared to the control, and the water holding capacity improved by up to 10.9 % on day 0, without changes in the color parameters (L\*, a\* “and” b\*). Supplementation with microencapsulated arginine increased the quality of beef in terms of tenderness, juiciness and flavor, by reducing cutting effort and increasing intramuscular fat content and water holding capacity in the meat.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN GENERAL.....	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xiv
LISTA DE GRÁFICAS.....	xv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Producción de Carne Bovina en México y el Mundo.....	4
Consideraciones Fisiológicas en la Eficiencia de los Bovinos..	5
Encapsulado como Método de Protección.....	8
Composición de microcápsulas y esferas.....	9
Técnicas de microencapsulación.....	10
Secado por aspersion.....	12
Emulsificación.....	15
Aspersion por congelación.....	18
Coacervación.....	20
Emulsificación por evaporación de disolvente....	23
Nanoprecipitación.....	26
Materiales para encapsulación.....	28
Carbohidratos.....	29
Proteínas.....	30
Lípidos.....	32
Encapsulación de ingredientes de alimentos/piensos...	33
Suplementación de Aminoácidos Dietéticos en Rumiantes.....	40
Arginina en dietas de rumiantes.....	41
La arginina en el metabolismo del ganado.....	42
La arginina y la transformación del tipo de fibra.....	44
La arginina y la expresión de genes lipogénicos.....	45
La arginina y su relación con la calidad de la carne.....	45

LITERATURA CITADA.....	48
CARACTERIZACIÓN MORFOLOGICA Y QUÍMICA DE SISTEMAS ENCAPSULADOS PARA ARGININA.....	63
RESUMEN.....	64
ABSTRACT.....	66
INTRODUCCIÓN.....	67
MATERIALES Y MÉTODOS.....	69
Obtención de Microcápsulas.....	69
Caracterización Morfológica.....	69
Análisis Microelemental.....	70
Espectroscopía Infrarroja FTIR.....	70
Digestibilidad <i>In Vitro</i> .....	70
Análisis Estadísticos.....	72
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	73
Caracterización Morfológica.....	73
Caracterización Microelemental.....	85
Análisis Composicional.....	90
Digestibilidad <i>In Vitro</i> .....	95
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	99
LITERATURA CITADA.....	100
SUPLEMENTACIÓN CON ARGININA MICROENCAPSULADA EN DIETAS DE BOVINOS Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE LA CARNE.....	103
RESUMEN.....	104
ABSTRACT.....	106
INTRODUCCIÓN.....	107
MATERIALES Y MÉTODOS.....	109
Características de los animales y Obtención de Muestras.....	109
Tratamientos Evaluados.....	109
Características Productivas.....	110
Evaluaciones Fisicoquímicas.....	110

pH.....	110
Capacidad de retención de agua (CRA).....	112
Esfuerzo de corte.....	112
Color CIEL *a*b*.....	112
Extracción de lípidos totales.....	113
Análisis Estadísticos.....	113
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	114
Características Productivas.....	114
Evaluaciones Fisicoquímicas de <i>L. lumorum</i> .....	114
pH.....	116
Capacidad de retención de agua (CRA).....	119
Grasa intramuscular (IMF).....	119
Esfuerzo de corte.....	121
Color CIEL *a*b*.....	122
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	125
LITERATURA CITADA.....	126

## LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación de técnicas utilizadas para microencapsulación modificada de Ghosh.....	11
2	Selección de estudios sobre encapsulación de ingredientes alimentarios utilizando diferentes tecnologías.....	36
3	Cuantificación de nitrógeno en microcápsulas y microcristales de arginina producidos a partir de emulsión por fundición (cera de carnauba) y nanoprecipitación (Eudragit®), respectivamente.....	86
4	Digestibilidad in vitro de microcapsulas de las formulaciones cera:arginina y arginina.....	96
5	Composición (%) de la dieta durante el experimento.....	111
6	Comportamiento productivo (ganancia en peso) de novillas suplementadas con arginina microencapsulada.....	115
7	Efecto de la arginina microencapsulada sobre el esfuerzo de corte, el pH y la CRA del músculo de <i>L. lumbrorum</i> madurado 28 días.....	117
8	Efecto de la arginina microencapsulada sobre el esfuerzo de textura, el pH y la CRA del musculo <i>L. lumbrorum</i> en prueba de anaquel.....	118
9	Efecto de la arginina microencapsulada sobre el color del músculo <i>L. lumbrorum</i> madurado 28 días.....	123
10	Efecto de la arginina microencapsulada en el color del músculo de <i>L. lumbrorum</i> en la prueba de anaquel.....	124

## LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Diámetro de microesferas producidas a partir de cera de carnauba:arginina (n=15) por el método de emulsión por fundición. Letras diferentes indican diferencia estadística (medias de Tukey, $P < 0.05$ ) .....	82
2	Área superficial de caras polihédricas en los cristales de Eudragit®:arginina producidos a partir del método de nanoprecipitación (n=15). Letras diferentes indican diferencia estadística (medias de Tukey, $P < 0.05$ ).....	83

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 1:1 cera:arginina .....	74
2	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 2:1 cera:arginina .....	75
3	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 3:1 cera:arginina .....	76
4	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 4:1 cera:arginina .....	77
5	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 30:70 Eudragit RL:RS: 500 mg arginina .....	78
6	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 30:70 Eudragit RL:RS: 1000 mg arginina .....	79
7	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 40:60 Eudragit RL:RS: 500 mg arginina .....	80
8	Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 40:60 Eudragit RL:RS: 1000 mg arginina .....	81
9	Mapeo microelemental en las formulaciones cera:arginina con proporciones 1:1 (A), 2:1 (B), 3:1 (C) y 4:1 D).....	87
10	Mapeo microelemental en las formulaciones 1000 mg Eudragit® RL:RS con proporciones 30:70 y 500 mg (A) o 1000 mg de arginina (B), y 1000 mg Eudragit® RL:RS con proporciones 40:60 y 500 mg (C) o 1000 mg de arginina (D)...	89
11	Espectros infrarrojos de arginina, cera de carnauba y microcápsulas cera de carnauba:arginina en proporciones 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1, sintetizadas por el método de emulsión por fundición .....	91
12	Espectros infrarrojos de arginina, Eudragit® y microcápsulas de Eudragit® RS:RL 40:60 1000 y 500 mg de arginina, y Eudragit® RS:RL 30:70 1000 y 500 mg de arginina, sintetizadas por el método de nanoprecipitación.....	92





## INTRODUCCIÓN GENERAL

La demanda de carne de res como fuente de proteína está aumentando en todo el mundo, aunque en la mayoría de los países el consumo de carne de res representa menos de la mitad considerando la de otras especies (Smith, 2018). La carne de res también ofrece una experiencia gastronómica muy deseable en los países desarrollados y, cada vez más, en los países en desarrollo (Smith, 2018).

Aunque la industria ganadera proporciona suficientes alimentos de origen animal para la población mundial en la actualidad, es necesario mejorar la sostenibilidad ambiental de la producción ganadera y al mismo tiempo aumentar la productividad para satisfacer la demanda futura (Yoshimaru *et al.*, 2000). El incremento en el consumo de carne ha llevado a los productores ganaderos a mejorar y aumentar la producción de carne por animal mediante dietas con más grano y proteína. Sin embargo, la eficiencia de conversión alimenticia no se logra frecuentemente debido a factores que limitan la utilización de nutrientes (Yoshimaru *et al.*, 2000). Los principales factores que afectan la nutrición de los rumiantes son la calidad de las proteínas, la proporción de forraje, el tipo de alimento, la población de microbiota del rumen, la digestión del alimento, y la absorción y fuente de nutrientes (NRC, 2001).

La alta tasa de degradación de proteína en el rumen por los microorganismos origina pérdidas de nitrógeno en forma de urea en la orina. Es por esto que existe interés en proteger las proteínas de la dieta para evitar la degradación de proteínas de alta calidad y reducir la producción de amoníaco en el rumen (Kamalak *et al.*, 2005).



La protección de ingredientes como aminoácidos y ácidos grasos ayudaría a mejorar la productividad en rumiantes. Una alternativa de protección es el uso de la microencapsulación, que consiste en un grupo de procesos fisicoquímicos o mecánicos mediante los cuales una sustancia es embebida en otro material (Yang *et al.*, 2020). La encapsulación es un proceso para atrapar agentes activos dentro de un material de protección y es una herramienta útil para mejorar la entrega de moléculas bioactivas y células vivas en los alimentos. Los materiales utilizados para el diseño de la capa protectora de encapsulados deben cumplir determinadas propiedades para su uso en la industria alimentaria, deben ser biodegradables y capaces de formar una barrera entre la fase interna y su entorno (Nedovic *et al.*, 2011). Los procesos de encapsulación se han utilizado en la industria química, farmacéutica y alimentaria para proteger un compuesto activo de las condiciones ambientales (oxígeno, agua, ácido, interacciones con otros ingredientes), facilitando la liberación controlada, cambiando sus propiedades físicas o bien reduciendo la adherencia durante el almacenamiento o el transporte (Boonyai *et al.*, 2004; Fuchs *et al.*, 2005; Palzer, 2005; Werner *et al.*, 2007).

Pocas investigaciones incluyen estudios adicionales como la estabilidad durante el almacenamiento y la liberación controlada de materiales encapsulados, así como la cinética de degradación simulando condiciones del tracto gastrointestinal (Ahmad *et al.*, 2019). Estos estudios tienen relevancia cuando se busca que ciertos ingredientes encapsulados como probióticos o proteínas de sobrepeso cumplan su función al ser liberados en el intestino u otros órganos o compartimentos, soportando las condiciones del tracto gastrointestinal superior. A continuación se detallan algunos de estos estudios, los cuales son



escasos en rumiantes. De Carvalho-Neto *et al.* (2019) observaron que la formulación cera de carnauba:metionina en proporción 4:1 presentó la menor degradación ruminal *in situ* (16.3 % en comparación con la metionina pura, con valores de 97.2 %). En otro estudio, De Medeiros *et al.* (2019) microencapsularon urea en cera carnauba en proporciones 1:2, 1:3 y 1:4, respectivamente (U<sub>ME2</sub>, U<sub>ME3</sub> y U<sub>ME4</sub>) y dos tamaños de partícula (pequeña P<sub>S</sub> y grande P<sub>L</sub>), con el objetivo de obtener un sistema de liberación lenta de urea en el rumen, evitando posibles intoxicaciones y un mejor aprovechamiento del nitrógeno. Los resultados mostraron una liberación de urea de 5.57, 1.97 y 1.6 % para P<sub>S</sub>, y 6.67, 3.33 y 2.31 % para P<sub>L</sub>, respectivamente.

Bajo este panorama, el objetivo de la presente investigación fue la obtención de un sistema de encapsulación eficiente para la protección de arginina de la degradación ruminal, cuya inclusión para la suplementación de bovinos mejore la calidad de la carne (*L. lumbrorum*) después del proceso de maduración y almacenamiento en anaquel.



## REVISIÓN DE LITERATURA

### Producción de Carne Bovina en México y el Mundo

La demanda de carne de res como fuente de proteínas aumenta en todo el mundo. Aunque en la mayoría de los países la carne de res representa menos de la mitad del consumo total de carne, es altamente deseable en países desarrollados y, cada vez más, en países en desarrollo. La sostenibilidad de la producción de carne tiene diferentes significados en las diversas regiones geográficas y socioeconómicas del mundo (Smith *et al.*, 2018). Los recursos naturales y la solidez en la economía son los principales determinantes de la percepción de la sostenibilidad de la carne (Smith *et al.*, 2018). En países desarrollados y en vía de desarrollo está evolucionando en respuesta a un aumento en la demanda de productos ganaderos, en gran medida por el crecimiento de la población humana, el crecimiento de los ingresos y la urbanización, así como las desigualdades en salud como desnutrición (Thornton, 2010; Henchion *et al.*, 2021).

La producción de bovinos de carne es de gran importancia en el contexto socioeconómico de México, ya que proporciona 2,078,000 toneladas de alimentos, así como materias primas, divisas y empleos, ya que se realiza sin excepción en todas las regiones ecológicas del país (Tinoco *et al.* 2011). La producción de carne de bovino en México destaca como la principal actividad ganadera; su aportación al valor de la producción pecuaria internacional durante 2022 fue de 2,263 de millones de dólares (SIAP, 2022). Entre 2017-2022, creció a una tasa promedio anual de 2.5 %. En 2018, la producción de carne de bovino se ubicó en un máximo histórico, con 1.98 millones de toneladas, lo que significó



un incremento anual de 2.8 % (FIRA, 2019). En 2019, la producción nacional se ubicó en un nuevo máximo histórico de 2.03 millones de toneladas (crecimiento anual de 2.4 % (SIAP, 2019), y para 2022 hubo una producción máxima de 2.17 millones de toneladas (SIAP, 2022).

### **Consideraciones Fisiológicas en la Eficiencia de los Bovinos**

Tras la ingestión, los alimentos ingresan al rumen y son degradados por las poblaciones microbianas en diversos compuestos (Wang y McAllister, 2002). El ecosistema ruminal comprende una población diversa y simbiótica de bacterias, hongos y protozoos obligatoriamente anaerobios, que se han adaptado para la supervivencia (McDonald *et al.*, 2010).

La degradación de la proteína en el rumen es un proceso muy complejo, y su cuantificación es un desafío continuo para los nutricionistas de rumiantes (Edmunds, 2011). Las proteínas alimentarias se hidrolizan a péptidos y aminoácidos por microorganismos ruminales, pero algunos aminoácidos se degradan aún más hasta ácidos orgánicos, amoníaco y dióxido de carbono (McDonald *et al.*, 2010).

Los rumiantes requieren un racionamiento dietético de proteínas y carbohidratos para el mantenimiento y la síntesis de la biomasa microbiana, que es la principal fuente de proteínas necesaria para su crecimiento y desarrollo (Mohamed y Chaudhry, 2008). El valor nutricional de un alimento depende de su contenido de nutrientes, el nivel de degradación en rumen y la digestibilidad de los componentes alimenticios no degradados; especialmente las proteínas, que pasan al intestino delgado (Mohamed y Chaudhry, 2008).



Los rumiantes necesitan dos tipos de proteínas. La primera es una proteína degradable en rumen (RDP, por sus siglas en inglés), que es utilizada por los microorganismos para producir proteína microbiana (Kamalak *et al.*, 2005; Mohamed y Chaudhry, 2008). La síntesis de proteína microbiana representa hasta el 50% de la fuente total de aminoácidos para el rumiante (Koenig *et al.*, 2000). Para producir la proteína microbiana los microorganismos utilizan el amonio, péptidos pequeños y aminoácidos libres (McDonald *et al.*, 2010). El amonio en el líquido ruminal juega un papel importante en la degradación de carbohidratos y síntesis de proteína. Por lo tanto, una deficiencia en proteína provoca concentraciones bajas de amonio y un bajo crecimiento de los microorganismos y lenta degradación de carbohidratos (McDonald *et al.*, 2010).

La segunda fuente de proteína es la de sobrepaso, que se digiere en el intestino delgado y es utilizada por los propios animales. Esta proteína de sobrepaso resulta de importancia significativa para los rumiantes para una mayor eficiencia en el crecimiento (Abbasi *et al.*, 2018). La proteína degradable en el rumen se usa para sintetizar la proteína microbiana, que es una valiosa fuente de proteína metabolizable para el animal. La proteína metabolizable consiste en proteína de sobrepaso y proteína microbiana (Kamalak *et al.*, 2005).

La cantidad de proteínas y aminoácidos que escapan a la degradación del rumen varía demasiado dentro de los diferentes alimentos, dependiendo de su solubilidad y la velocidad de paso al intestino delgado (Kamalak *et al.*, 2005). Dentro de los diferentes tipos de proteínas, las proteínas más solubles en agua y soluciones salinas (albumina, globulinas) son degradadas más fácilmente por las bacterias ruminales que los componentes de proteínas menos solubles



(glutaminas) (Owens y Basalan, 2016). Otro factor que puede afectar la solubilidad de las proteínas es el pH del ambiente ruminal. Por ejemplo, la proteína de soya generalmente es más soluble a un pH neutro, mientras que la proteína del grano de maíz tiende a ser más soluble a un pH más bajo (Owens y Basalan, 2016).

Taghizadeh *et al.* 2005 midieron la degradabilidad de proteínas y aminoácidos de diferentes alimentos en rumen e intestino delgado. Ellos observaron que la proteína cruda (CP, por sus siglas en inglés) de la pasta de soya y grano de maíz se degradaba en rumen en un 33 % y 28 %, respectivamente, mientras que en intestino delgado la CP de la pasta de soya y grano de maíz se degradaron en 86 % y 89 %, respectivamente. Los aminoácidos esenciales (AAE) en la pasta de soya y grano de maíz se degradaron en rumen en 18 % y 57 %, respectivamente, mientras que en intestino delgado los AAE de la pasta de soya y grano de maíz se degradaron en 84 % y 70 %, respectivamente.

Algunos aminoácidos como la arginina, metionina y lisina, son nutrientes de importancia, por lo que debe evitarse su degradación en rumen. La suplementación con aminoácidos protegidos es recomendable para mantener el desempeño fisiológico, productivo y reproductivo en rumiantes (Abbasi *et al.*, 2018; Kamalak *et al.*, 2005). Un exceso de proteína cruda en las dietas de rumiantes conlleva a una excreción excesiva de nitrógeno (N), amonio y metano. La suplementación con aminoácidos limitantes (metionina y lisina) mejora la utilización de la proteína y reduce las emisiones de nitrógeno y amonio (Abbasi *et al.*, 2018).



## **Encapsulado como Método de Protección**

La microencapsulación está relacionada con procesos fisicoquímicos o mecánicos mediante los cuales una sustancia queda embebida en otro material (Yang *et al.*, 2020). Los factores ambientales (oxígeno, agua, pH e interacciones con otros ingredientes) pueden afectar la estabilidad de los compuestos activos (Kumari *et al.*, 2020). Por lo tanto, se han utilizado procesos de encapsulación para proteger compuestos activos y lograr una liberación controlada, reducir la adherencia durante el almacenamiento y el transporte, o evitar cambios en sus propiedades fisicoquímicas (Fuchs *et al.*, 2005; Palzer, 2005; Werner *et al.*, 2007). Los productos obtenidos de las diferentes tecnologías de encapsulación se pueden clasificar según el tamaño del producto final. Se denominan cápsulas o macrocápsulas cuando tienen un tamaño superior a 5,000  $\mu\text{m}$ , microcápsulas cuando el tamaño oscila entre 0.1 y 5,000  $\mu\text{m}$ , y nanocápsulas cuando tienen un tamaño inferior a 0.1  $\mu\text{m}$  (Murugesan y Orsat, 2012). En las últimas décadas, esta tecnología ha cobrado interés por su potencial para proteger principios activos y permitir su liberación controlada. Por ejemplo, la microencapsulación de nutrientes particulares (aminoácidos, ácidos grasos, aceites esenciales) ha permitido una mejor sincronización de la tasa de degradación ruminal, favoreciendo el transporte de aditivos alimentarios al intestino delgado (Nedovic *et al.*, 2011). Es importante indicar que existe controversia entre los límites de tamaño para definir el nivel micro y nano en la encapsulación, incluyendo en el nivel micro diámetros entre 1 a 1,000  $\mu\text{m}$  y en el nivel nano a partículas entre 0.01 y 1  $\mu\text{m}$ . No obstante, existe un traslape en los límites para definir el nivel micro y nano, pues a menudo el nivel nano incluye solamente partículas inferiores





a 100 nm (0.1  $\mu\text{m}$ ). Al igual que en la industria alimentaria, el proceso de encapsulación en la nutrición animal se ha introducido en los últimos años para lograr diferentes objetivos. Por ejemplo, para mejorar la entrega intestinal de moléculas bioactivas (por ejemplo, ácidos grasos, aminoácidos, antioxidantes, enzimas) o microorganismos vivos como los probióticos (De Vos *et al.*, 2010).

### **Composición de microcápsulas y microesferas.**

Las microesferas y microcápsulas son micropartículas esféricas con diámetros pequeños (micras o nanómetros). Generalmente están hechas de un polímero plástico biodegradable o reabsorbible y llenas de una sustancia (es decir, moléculas de fármaco o alimento) para su liberación controlada (Wang *et al.*, 2013). Las microesferas son de tipo matriz y se caracterizan por que la sustancia encapsulada y el polímero son una mezcla uniforme. En cambio, las microcápsulas son de tipo reservorio, y la sustancia encapsulada se dispersa en la cavidad del polímero, formando aglomerados con un núcleo bien definido (Wang *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2015). Las microcápsulas constan de dos componentes: el material del núcleo y el material de recubrimiento o envoltura. El material del núcleo contiene un ingrediente activo, mientras que el material de revestimiento o cobertura cubre o protege el material del núcleo (Jyothi *et al.*, 2010).

Existe una amplia variedad de materiales de recubrimiento para microencapsulación (Singh *et al.*, 2010). Numerosos materiales de revestimiento tradicionales parecen adecuados para su uso en la protección contra el tracto gastrointestinal. Estos materiales incluyen polímeros inertes y sensibles al pH, como carboxilatos y derivados amino, que pueden disolverse dependiendo del



grado de reticulación (Kyo *et al.*, 1995). Generalmente para el proceso de microencapsulación se utilizan polímeros hidrófilos e hidrófobos, o su combinación. En la industria se han utilizado con éxito varios materiales de recubrimiento, tales como gelatina, alcohol polivinílico, etilcelulosa, acetato de celulosa ftalato de celulosa y anhídrido maleico de estireno (Singh *et al.*, 2010). Los materiales de revestimiento deben aplicarse al material del núcleo para lograr un propósito específico. Además, el material del núcleo puede estar en forma sólida o en forma de gotas líquidas y dispersiones, según las necesidades de la aplicación.

### **Técnicas de microencapsulación.**

Las técnicas de encapsulación se pueden clasificar en químicas, fisicoquímicas y físico-mecánicas, según la base de la técnica de síntesis (Cuadro 1) (Jyothi *et al.*, 2010). Una de las técnicas más utilizadas para la encapsulación de compuestos orgánicos es el secado por aspersion, que se clasifica dentro de las técnicas físico-mecánicas. Entre las tecnologías de microencapsulación más utilizadas entre 2009 y 2019, en primer lugar, está el secado por aspersion, seguido de la emulsificación, liofilización y coacervación (Yang *et al.*, 2020). Otra clasificación de tecnologías de encapsulación es según el tamaño de las cápsulas, formando dos grupos: microencapsulación y nanoencapsulación. La microencapsulación consiste en recubrir partículas sólidas o líquidas del tamaño de una micra con un material de pared (Ghosh, 2006). El tamaño de partícula oscila entre 1 y 1000  $\mu\text{m}$  (Ozkan *et al.*, 2019).



Cuadro 1. Clasificación de técnicas utilizadas para microencapsulación modificada de Ghosh (2006)

<b>Químicas</b>	<b>Fisicoquímicas</b>	<b>Fisicomecánicas</b>
Polimerización interfacial	Coacervación y fase de separación	Secado y congelación por aspersion
Polimerización <i>in situ</i>	Sol-gel	Recubrimiento de lecho fluidizado
Poli condensación	Supercrítico CO <sub>2</sub>	Evaporación de solvente
Capa por capa	Supercrítico	Extrusión
Emulsificación	Electro-aspersion	
	Nano precipitación	



Las técnicas que se consideran en la definición de microencapsulación son el secado por aspersion, la emulsificación, la congelación por aspersion y la coacervación. Además, las técnicas de nanoencapsulación de sustancias de pequeña escala se consideran envases bioactivos a nivel de nanoescala (nanopartículas entre 10 a 1000 nm). Las técnicas más utilizadas para la nanoencapsulación son la emulsificación por evaporación de disolventes y la nanoprecipitación (Lopez-Rubio *et al.*, 2006; Pathak *et al.*, 2019).

*Secado por aspersion.* El secado por aspersion es la técnica más utilizada para la microencapsulación. Es un proceso continuo que produce partículas secas de calidad confiable y el equipo necesario para el proceso se adquiere fácilmente (Mahdavi *et al.*, 2016). El secado por aspersion es un proceso comercial de bajo costo, simple y flexible que se utiliza principalmente para la encapsulación de fragancias, aceites y sabores (Jyothi *et al.*, 2010; Morales, 2012). En general, las partículas del núcleo se dispersan en una solución polimérica y se pulverizan en una cámara caliente (Jyothi *et al.*, 2010). Los materiales de pared más comunes en el secado por aspersion son los polisacáridos (gomas o almidón) y proteínas (gelatina y proteína de leche) (Timilsena *et al.*, 2020). El tamaño de partícula obtenido habitualmente por este método oscila entre 10 y 100  $\mu\text{m}$  (Islas, 2002).

El proceso de secado por aspersion consta de cuatro etapas (Yañez *et al.*, 2002). La primera etapa consiste en preparar el fluido de alimentación; básicamente se mezcla el material a encapsular y el encapsulante. La segunda etapa es la homogeneización del fluido, mientras que la tercera etapa consiste



en la atomización mediante una boquilla o disco. Finalmente, la cuarta etapa es la deshidratación de las partículas atomizadas. Es decir, las gotas encuentran el aire a alta temperatura, posteriormente el agua o disolvente se evapora y se obtienen las macropartículas (Shahidi y Han, 1993). Un ejemplo es la caseína hidrolizada, la cual tiene importancia nutricional debido a su alto valor proteico como alimento. Sarabandi *et al.*, (2018) encapsularon caseína hidrolizada en maltodextrina (proporción 40:60, m/m) utilizando la técnica de secado por aspersion; estos investigadores realizaron medidas físicas como contenido de humedad, actividad de agua, solubilidad, higroscopicidad, así como actividad antioxidante, microestructura y sabor. Ellos encontraron que la higroscopicidad de la caseína se redujo después de la encapsulación, mientras que las propiedades de los antioxidantes permanecieron dentro de los rangos normales después del proceso de secado. Las micrográficas de barrido electrónico de las partículas mostraron la estructura similar a una matriz. El proceso de secado por aspersion se consideró efectivo debido a la reducción del mal sabor de la caseína hidrolizada (Sarabandi *et al.*, 2018).

La metionina es otro ingrediente que se ha encapsulado con la técnica de secado por aspersion, esta es un aminoácido esencial en los animales de granja que no se encuentra frecuentemente en las plantas ni en proteínas animales. Niu *et al.* (2015) encapsularon metionina mediante secado por pulverización utilizando una mezcla de 60 g de gelatina y alginato de sodio (40 y 20 g, respectivamente). Las proporciones de metionina:gelatina/alginato fueron 1:5, 1:1 y 1:1,5. El mayor rendimiento y eficiencia de microencapsulación se obtuvo con la proporción 1:1, cuyas microcápsulas tenían forma esférica regular. En el



estudio de liberación *in vitro* las microcápsulas regularon la liberación de metionina y estimularon la absorción de otros aminoácidos (Niu *et al.*, 2015)

Otro tipo de ingredientes con potencial de microencapsulación mediante secado por aspersión debido a sus potenciales beneficios sobre la salud animal son los probióticos, ya que mejoran la digestión y absorción de nutrientes en el tracto digestivo y previenen enfermedades bacterianas. Rajam y Anandharamakrishnan (2014) microencapsularon *Lactobacillus plantarum* utilizando una mezcla de fructooligosacáridos (FOS), aislado de proteína de suero (WPI) y aislado de proteína de suero desnaturalizado (DWPI). Los tratamientos y combinaciones evaluados fueron FOS, FOS + WPI y FOS + DWPI. Las raciones estudiadas de probiótico:polímero fueron 1:1 y 1:1.5. Las combinaciones FOS + WPI y FOS + DWPI tuvieron mayor eficiencia de encapsulación, menor humedad residual y un rango más corto de tamaño de partícula (mayor homogeneidad). Sin embargo, las proporciones de 1:1.5 aumentaron la estabilidad en almacenamiento y la tolerancia del probiótico a la simulación gástrica e intestinal. En otro estudio, Maciel *et al.*, (2014) microencapsularon *Lactobacillus acidophilus* utilizando suero dulce y leche desnatada como materiales de recubrimiento para el secado por aspersión. Estos investigadores evaluaron el rendimiento de encapsulación, la resistencia al paso gastrointestinal y la viabilidad de *L. acidophilus* durante el almacenamiento al vacío a 4 °C y 25 °C. La exposición gastrointestinal se realizó a pH 2,0 y 7,0 y las pruebas de viabilidad se realizaron a los 0, 7, 15, 30, 45, 60 y 90 d. El material de pared no afectó el rendimiento de encapsulación, el diámetro ni la humedad de las partículas. Ambos materiales de pared brindaron protección durante la



simulación gastrointestinal, e independientemente del material, la viabilidad se redujo después de 90 d de almacenamiento.

Sarteshnizi *et al.*, (2018) produjeron un aditivo alimentario a partir de los desechos de líquido ruminal obtenido tras el sacrificio de animales, a fin de evaluar el potencial enzimático para degradar carbohidratos. El contenido ruminal fue encapsulado tras la pulverización en combinación con alginato de sodio (RA), goma guar (RG), quitosano (RC) y maltodextrina (RM), en proporciones de 0.5 y 1 % (m/v). Los controles fueron el líquido ruminal fresco (RF) y el secado por aspersion sin hidrocoloides (RN). Las actividades residuales cambiaron de 68.6 % (RC0.5) a 92.5 % (RM1) con celulasa, de 53.4 % (RC1) a 73.2 % (RM1) con avicelasa, de 59.8 % (RA0.5) a 84.6 % (FM1) con amilasa, y de 63.7 % (RG0.5) a 95.8 % (RM1) con papelasa de filtro, en comparación con el líquido ruminal fresco. La actividad de las enzimas se expresa como porcentaje de actividad residual relevante para la hidrólisis de celulosa. El secado por aspersion en ausencia de un hidrocoloide produjo una actividad residual de 81.3% para la celulasa, 63.3 % para avicelasa, 68.6 % para amilasa y 73.0 % para paperasa filtrada. La adición de maltodextrina al 1% mostró la mayor retención de actividad enzimática.

*Emulsificación.* Una emulsión es una dispersión fina de dos o más líquidos inmiscibles, donde uno de los líquidos contiene una dispersión de pequeñas gotas del otro líquido (McClements, 2015). En la microencapsulación, un material central líquido se dispersa en una fase líquida inmiscible que puede contener un material de capa disuelto. Posteriormente, se realiza un cambio en el sistema



bifásico para inducir la formación de capas alrededor de las gotas de la fase dispersa (Arenas-Jal *et al.*, 2020).

La microencapsulación por emulsificación se ha desarrollado eficientemente para encapsular compuestos proteicos. De Carvalho *et al.* (2019) microencapsularon metionina utilizando cera de carnauba como material de pared, con el objetivo de depositar al aminoácido en el intestino luego del baipás ruminal. Compararon la degradación de aminoácidos de dos proporciones de cera de carnauba:metionina, 2:1 y 4:1, con metionina intacta sin encapsular. Los microorganismos ruminales no metabolizaron la metionina microencapsulada después de la evaluación *in situ* en ovejas. Además, la materia seca y la proteína cruda tuvieron mayor degradabilidad cuando se agregó metionina intacta en comparación con los tratamientos microencapsulados en cera. La proporción 4:1 tuvo la mayor protección ruminal de metionina y la menor pérdida de proteína cruda.

En otro estudio, De Medeiros *et al.* (2019) microencapsularon urea para obtener un sistema de liberación lenta en el rumen, a fin de evitar posibles toxicidades y lograr el uso eficiente del nitrógeno ruminal por los microorganismos. La urea se encapsuló con cera de carnauba en proporciones 1:2, 1:3 y 1:4, considerando dos tamaños de partícula para la urea (pequeña <500  $\mu\text{m}$  y grande < 850  $\mu\text{m}$ ). Todas las formulaciones tuvieron propiedades positivas, incluida la inhibición de la higroscopicidad de la urea. La proporción 1:2 tuvo el mejor rendimiento de encapsulación, eficiencia y liberación más lenta de urea en comparación con las otras formulaciones. La proporción 1:4 tuvo la mejor estabilidad térmica.





También se ha realizado microencapsulación por emulsificación para proteger componentes lipófilos, como los polifenoles. Lupo *et al.*, (2014) encapsularon polifenoles del cacao mediante emulsificación/gelificación interna en alginato. Se utilizaron sales de citrato y carbonato como fuente de calcio. Las emulsiones se formularon con diferentes concentraciones de tensoactivos (Span 80, Span 85, Span80-Tween 80 y polirricinoleato de poliglicerol (PGPR). La naturaleza viscoelástica de los geles mostró que existe una concentración mínima de calcio para la gelificación, en el rango de pH de 3.5 a 10.0. Se obtuvieron microesferas pequeñas y homogéneas con citrato de calcio como fuente de calcio en comparación con carbonato de calcio, debido a que no liberan CO<sub>2</sub> durante la gelificación. Las emulsiones preparadas con PGPR fueron más estables que con Span o Tween-Span. Con el uso de PGPR las gotas y las microesferas fueron más pequeñas y menos polidispersas. Se podría encapsular hasta un 60% del extracto de cacao para liberarlo en un medio adecuado con emulsificación/gelificación interna. En otro estudio, Davidov-Pardo y McClements (2015) encapsularon resveratrol en aceite de semilla de uva, a fin de liberarlo después de la ingestión. La proporción 1:1 de resveratrol:aceite de semilla de uva se preparó como una formulación única, con una cantidad máxima de resveratrol disuelto en la fase oleosa de 120 µg/mL. Se desarrollaron sistemas de diferentes diámetros de gotas ( $220 \pm 2$  nm,  $99 \pm 3$  nm y  $45 \pm 0.4$  nm) para evaluar el efecto del tamaño de las gotas sobre la estabilidad química del resveratrol encapsulado. Las emulsiones con un tamaño de gota más cercano a la longitud de onda de la luz ultravioleta dieron como resultado una mayor protección contra el resveratrol.



*Aspersión por congelación.* La aspersión por congelación, o liofilización, es el proceso de solidificar un líquido atomizado en partículas utilizando una cámara fría (Timilsena *et al.*, 2020). Esto significa que el material del núcleo se disuelve o dispersa en un soporte fundido y la mezcla resultante se inyecta en una boquilla para ser rociada en una cámara de enfriamiento (Alvim *et al.*, 2016). Las gotas fundidas que encuentran aire frío se solidifican. Esto conduce a la formación de micropartículas con el material del núcleo distribuido uniformemente (Gavory *et al.*, 2014; Okuro *et al.*, 2013). Esta técnica se utiliza frecuentemente para encapsular materiales centrales solubles en agua, como vitaminas solubles en agua, proteínas como enzimas, fertilizantes químicos, ingredientes farmacéuticos, acidulantes y algunos sabores (Desai y Park, 2005). Las ceras, ácidos grasos y polímeros que son sólidos a temperatura ambiente y que se funden a temperaturas razonables también pueden aplicarse a la liofilización (Jyothi *et al.*, 2010).

(Ma *et al.*, 2014) microencapsularon concentrados de proteína de suero hidrolizados (WPCH) con el objetivo de reducir el sabor amargo y aumentar su resistencia a la higroscopicidad, sin afectar su actividad inmunorreguladora. Mediante pulverización mezclaron concentrado de proteína de suero (WPC) con alginato de sodio (WPC/SA) como material de pared; entonces encapsularon WPCH con WPC o con la mezcla WPC/SA. Tanto el secado por aspersión como la liofilización, con o sin el material portador, no afectaron la actividad inmunomoduladora del WPCH. El sabor amargo del WPCH encapsulado en WPC o WPC/SA fue menor que el del WPCH no encapsulado. La liofilización no



encapsula eficientemente el WPCH en comparación con el secado por aspersión en términos de morfología.

Maity *et al.*, (2017) sintetizaron nanocápsulas de narigenina, una flavanona antiinflamatoria, antimicrobiana y antidiabética, en pomelos y otras frutas y hierbas. La narigenina se encapsuló con el quitosano o alginato del biopolímero. Se utilizaron  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y  $\text{CaCl}_2$  para producir nanopartículas dobles. Las nanoformulaciones tuvieron un contenido significativo de naringenina (>90%), cuya liberación lenta y sostenida dependía del pH. Se observó un efecto hipoglucemiante significativo tras la administración oral de nanopartículas en ratas diabéticas (inducida por estreptozotocina). La toxicidad libre de las nanopartículas se confirmó mediante histopatología y parámetros sanguíneos.

En otro estudio, Xu *et al.*, (2016) encapsularon *Lactobacillus casei* ATCC 393 con una matriz de hidrogel de proteína de guisante y alginato. El objetivo era encontrar un efecto protector en las bacterias durante la liofilización, el almacenamiento y las condiciones gastrointestinales. Los resultados mostraron compatibilidad entre la técnica, la matriz y el probiótico *L. casei*, con un rendimiento de  $85.69 \pm 4.82$  %. *L. casei* encapsulado tuvo la tasa de supervivencia más alta ( $59.9 \pm 17.4$  %) después de 84 días de almacenamiento ( $22$  °C,  $4$  °C y  $-15$  °C); este tratamiento también mostró un efecto amortiguador más débil bajo condiciones gástricas ácidas.

Quispe-Condori *et al.*, (2011) microencapsularon aceite de lino utilizando zeína como material de recubrimiento. La encapsulación se realizó mediante liofilización y secado por aspersión. Las eficiencias máximas de microencapsulación fueron  $93.26$  y  $59.63$  % para secado por aspersión y



liofilización, respectivamente. Sin embargo, las microcápsulas tenían malas propiedades de fluidez. La concentración de zeína tuvo una relación negativa con la densidad aparente a la misma concentración de aceite. La morfología, heterogeneidad y tamaño de las cápsulas dependen de la técnica de encapsulación y de la proporción de la matriz. Las microcápsulas de aceite de lino producidas mediante secado por aspersión y proporciones altas de zeína:aceite de lino tenían formas esféricas y tamaños heterogéneos.

*Coacervación.* En la técnica de encapsulación por coacervación el material de pared se mantiene separado de una solución polimérica; existe una capa homogénea alrededor de las partículas del núcleo, suspendidas en una fase líquida (Fang y Bhandari, 2010). El material del núcleo se emulsiona o suspende en la solución del material de la pared, luego se agrega otra sustancia o solvente para reducir la solubilidad del material de la pared. La sustancia o solvente se incorpora uniformemente para rodear el material del núcleo y formar microcápsulas (Yang *et al.*, 2020).

La coacervación se puede dividir en dos procesos: simple y complejo. El mecanismo de formación de microcápsulas para ambos procesos es idéntico, excepto en la separación de fases. En la coacervación simple se incorpora un agente de solvatación a la separación de fases, mientras que en la coacervación compleja se produce una interacción entre dos polímeros con cargas opuestas. Los pasos básicos para la coacervación compleja son los siguientes: 1) preparación de una solución de dos polímeros, 2) mezclar el núcleo lipófilo con una solución de polímero para formar una emulsión, 3) mezclar la otra solución de polímero, 4) cambio de pH y/o temperatura para inducir la formación de dos



fases inmiscibles, 5) deposición de los coacervados alrededor del núcleo, 6) rigidez del recubrimiento por reticulación o aplicación de calor (Jyothi *et al.*, 2010; Timilsena *et al.*, 2020). La coacervación compleja es una técnica que se utiliza principalmente para absorber ingredientes alimentarios liposolubles, aunque no se limita a esto (Yang *et al.*, 2020). La técnica de encapsulación por coacervación compleja se ha utilizado para diversos ingredientes o agentes activos y otros fines (protección de ingredientes sensibles al calor, alta eficiencia de encapsulación y enmascaramiento de sabores).

Mendanha *et al.*, (2009) utilizaron coacervación compleja para microencapsular hidrolizado de caseína utilizando aislado de proteína de soya/pectina como material de pared. Estos investigadores lograron atenuar el sabor amargo con la liberación controlada del hidrolizado de caseína, previamente encapsulado. Se estudiaron tres proporciones de material de pared:núcleo, 1:1, 1:2 y 1:3. La hidrofobicidad disminuyó inversamente con el contenido de hidrolizado en la microcápsula. Las muestras encapsuladas tuvieron menor higroscopicidad en comparación con el hidrolizado libre. La eficiencia de encapsulación osciló entre 91.62% y 78.8%. Las muestras encapsuladas se percibieron menos amargas ( $P < 0.05$ ) en comparación con el hidrolizado libre.

En otro estudio, Eratte *et al.*, (2015) encapsularon con éxito *Lactobacillus casei*, solo o en combinación con aceite de atún (ácidos grasos omega-3), formando un complejo coacervado de aislado de proteína de suero (WPI)-goma arábiga (GA). La viabilidad de *L. casei* fue significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) cuando se encapsuló con aceite de atún y el complejo WPI-GA, en comparación



con la encapsulación individual. La estabilidad oxidativa del aceite de atún mejoró notablemente en los coacervados del complejo WPI-GA, independientemente de la presencia de *L. casei*. Las microcápsulas secadas por aspersión tenían un alto contenido de proteínas en la superficie, pero las microcápsulas congeladas por aspersión tenían un alto contenido de carbohidratos cuando el aceite no estaba incorporado a la formulación.

Butstraen y Salaün (2014) sintetizaron microcápsulas de quitosano y goma arábica utilizando coacervación compleja. Las microcápsulas contenían una mezcla comercial de triglicéridos (Miglyol 812 N®) en el núcleo. Los parámetros óptimos para la formación de los complejos durante la coacervación fueron pH de 3.6 y proporción quitosano/goma arábica de 0.25.

Calderón-Oliver *et al.*, (2017) evaluaron el efecto de dos sistemas de matriz-pared (colágeno-alginato y colágeno-pectina), dos métodos de secado (congelación y secado por aspersión) y dos sistemas de dispersión (agua en emulsión de aceite o en suspensión) para la encapsulación de nisina (péptido) y extracto de piel de aguacate (antioxidante) mediante coacervación compleja. El método de dispersión de núcleo y el método de secado fueron las dos variables más importantes en las características finales de los microencapsulados. La interacción de los tres factores tuvo efecto sobre la humedad de las microcápsulas. La dispersión de núcleo tuvo efecto sobre la carga de encapsulación (cantidad de compuesto encapsulado por unidad de peso de la partícula final) de ambos compuestos bioactivos, mientras que el método de secado tuvo efecto significativo en la actividad del agua y el rendimiento de encapsulación. Se logró una mayor carga con el núcleo en suspensión, mientras



que la mayor eficiencia y rendimiento de encapsulación se obtuvieron combinando el secado por aspersión con el núcleo emulsionado. Además, se obtuvo mayor actividad de agua y humedad con el método de congelación y el núcleo emulsionado. Los métodos de secado modificaron la morfología y estructura final de las microcápsulas.

*Emulsificación por evaporación de disolvente.* Esta técnica consiste en la emulsificación de una solución polimérica en una fase acuosa, y la evaporación del solvente mediante la inducción de precipitación del polímero en forma de nanoesferas (Ghaderi *et al.*, 2014; Reis *et al.*, 2006). Las nanocápsulas son esféricas y el tamaño está determinado por varios factores, como la viscosidad de la fase orgánica/acuosa, la velocidad de agitación, la temperatura y el tipo y cantidad de agente dispersante (Tice y Gilley, 1985; Walia *et al.*, 2019). Las fases de esta técnica son: 1) formación de la fase orgánica mezclando el polímero con el solvente orgánico (etanol o acetona), 2) formación de la fase acuosa mezclando el ingrediente activo y el tensioactivo, y 3) mezclar las dos fases y calentar para evaporar el disolvente. Ejemplos de polímeros comúnmente utilizados en este método son el ácido poliláctico (PLA), el ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), el ftalato acetato de celulosa, la etilcelulosa, el  $\beta$ -hidroxibutirato y la policaprolactona (Cavallaro *et al.*, 2015; Ezhilarasi *et al.*, 2013; Fornaguera *et al.*, 2015).

Cao *et al.*, (2016) desarrollaron nanopartículas a base de proteínas alimentarias como sistema de administración, a fin de mejorar la dispersión del agua y la bioaccesibilidad de fitoesteroles (PS), utilizando el método de emulsificación- evaporación. Las proteínas analizadas fueron el aislado de



proteína de soja (SPI), el concentrado de proteína de suero (WPC) y el caseinato de sodio (SC). El caseinato de sodio fue la proteína más adecuada para la nanoformulación de fitoesteroles. El tamaño de partícula, la eficiencia de encapsulación (%) y la cantidad de carga de fitoesteroles en las nanopartículas cambiaron con la concentración de proteína aplicada en la fase acuosa y la fracción de volumen orgánico. Las nanopartículas liofilizadas de fitoesteroles a base de caseinato de sodio mostraron una alta redispersión en agua y una baja cristalinidad de los fitoesteroles. La carga de fitoesterol en las nanopartículas disminuyó durante el almacenamiento, sobretodo a temperaturas superiores a 25 °C. El fitoesterol en nanopartículas mostró mejor bioaccesibilidad en comparación con el fitoesterol libre.

En otro estudio, Wei *et al.*, (2018) produjeron nanopartículas con alginato de propilenglicol (PGA) y zeína para estudiar su potencial como vehículo de administración de  $\beta$ -caroteno. La relación PGA:zeína modificó las características estructurales, la estabilidad fisicoquímica y la digestión gastrointestinal *in vitro* de  $\beta$ -caroteno. Además, la interacción electrostática, los enlaces de hidrógeno y la atracción hidrofóbica desempeñaron papeles importantes en la formación de nanopartículas compuestas. El  $\beta$ -caroteno atrapado en las nanopartículas era amorfo, pero la estabilidad fisicoquímica mejorada y la liberación sostenida de  $\beta$ -caroteno en las nanopartículas lo convierten en un vehículo con potencial para administrar la vitamina al sistema alimentario. Las nanopartículas compuestas con una proporción 1:3 PGA:zeína liberaron de manera óptima y controlada al  $\beta$ -caroteno durante la digestión gastrointestinal simulada.





Lira-Casas *et al.*, (2019) encapsularon urea con Eudragit RS100® y materiales absorbentes (silicato de calcio, CS, y carbón activado, AC) como material de pared, mediante la técnica de emulsificación por evaporación de solvente. Se evaluaron las siguientes condiciones de microencapsulación: temperatura (35 y 45 °C), velocidad de agitación (500 y 600 rpm), volumen de solvente (15 y 20 ml) y concentración del agente encapsulante (1.5 y 2 g), a fin de determinar su efecto en las características físicas y cinética de liberación de las cápsulas. Con la combinación CSU (silicato de calcio + urea + Eudragit RS100® + diclorometano) se encapsuló el 69 % de la urea, mientras que con ACU (carbón activado + urea + Eudragit RS100® + diclorometano) se encapsuló el 71% de la urea. La flotabilidad (número de partículas que flotan en un líquido) en ambos grupos fue superior al 50% después de 12 h de agitación. La morfología de las microcápsulas no fue diferente entre tratamientos, pero la morfología mejoró a 35 °C. La urea desprotegida alcanzó un pico máximo durante la cinética de liberación después de 6 h, mientras que CSU y ACU tardaron más de 24 h en alcanzar la liberación máxima de amoníaco-N.

Romero-Pérez *et al.* (2010) encapsularon selenito de sodio en nanopartículas poliméricas mediante el método de evaporación en emulsión, con el objetivo de liberarlo a pH < 4.0 simulando el ambiente intestinal. El selenito de sodio puede prevenir la distrofia muscular o la enfermedad del músculo blanco en mamíferos, incluyendo seres humanos. Se consideraron dos proporciones de Eudragit RL y RS® (30:70 y 40:60) y diferentes solventes (etanol y acetona) para evaluar su efecto sobre los parámetros fisicoquímicos (atrapamiento del fármaco, índice de polidispersidad y potencial z) y morfológicos (morfología y tamaño de



partícula). El mayor tamaño de partícula (44.8 nm) y atrapamiento de selenio (26 %) se obtuvo con acetona y una proporción 30:70 de Eudragit RL:RS ®. Las nanopartículas producidas fueron esféricas y amorfas, con una distribución de tamaño homogénea. La liberación de selenio de las nanopartículas fue mayor a pH inferior a 4.0, por lo que es posible obtener una mejor disponibilidad del mineral en el intestino delgado.

Ospina-Villa *et al.*, (2019) encapsularon dos proteínas, LpanUA.27.1860 y LpanUA.22.1260, en polímero PLGA utilizando el método de evaporación de disolvente en emulsión para el tratamiento de leishmaniasis. Evaluaron la distribución de tamaño, la morfología, la eficiencia de encapsulación y la capacidad de liberación. Ellos utilizaron diferentes concentraciones de ambas proteínas (50, 100, 150, 200, 250, 500 y 750 µg/ml). Los resultados mostraron mejor eficiencia de encapsulación a una concentración de 750 µg/ml en ambas proteínas (94.66% 89.03% para LpanUA.22.1260 y LpanUA.27.1860, respectivamente). Los ratones inoculados con tres dosis de PLGp-rLpanUA.27.1860 e infectados con promastigotes de *L. panamensis* no mostraron lesiones después de ocho semanas.

*Nanoprecipitación.* El método de nanoprecipitación también se conoce como desplazamiento de solvente. Se basa en la emulsificación espontánea de la fase orgánica interna, que contiene al polímero, el ingrediente activo y el disolvente orgánico, todos ellos disueltos en una fase acuosa externa. La técnica de nanoprecipitación implica la precipitación del polímero de la solución orgánica y la difusión del solvente orgánico en el medio acuoso (Galindo-Rodríguez *et al.*, 2004). Este método de encapsulación es capaz de producir tanto nanocápsulas



como nanoesferas (Ezhilarasi *et al.*, 2013). En este método se utilizan polímeros biodegradables como policaprolactona (PCL), ácido poliláctico (PLA) y poliácido láctico-co-glicólico (PLGA), Eudragit y policianoacrilato de alquilo (PACA) (Bacinello *et al.*, 2015; Cauteruccio *et al.*, 2015; Mahalingam *et al.*, 2015; Vuddanda *et al.*, 2014). El método de nanoprecipitación incluye los siguientes pasos: 1) formación de la fase orgánica, para la cual se mezclan el polímero y el solvente orgánico (etanol o acetona) mediante ultrasonificación; 2) formación de la fase acuosa mezclando el ingrediente activo y el tensoactivo, y 3) mezcla de las dos fases.

Romero-Pérez *et al.* (2010) encapsularon selenito de sodio dentro de nanopartículas poliméricas mediante nanoprecipitación. Se evaluó la proporción 40:60 de polímeros Eudragit RL:RS utilizando etanol como disolvente. El tamaño de partícula obtenido fue de 213.86 nm, mientras que los valores de potencial Z (estabilidad coloidal) e índice de polidispersidad (distribución homogénea del tamaño de partículas) fueron de 31.8 y 0.494, respectivamente. El atrapamiento de selenio fue del 78 % y las nanopartículas producidas eran esféricas, con variación en tamaño. La liberación de selenio de las nanopartículas fue mayor a pH inferior a 4.0, lo que hace factible su disponibilidad en el intestino.

En otro estudio, Noronha *et al.*, (2013) produjeron nanocápsulas de policaprolactona (PCL) conteniendo  $\alpha$ -tocoferol. Se utilizó el diseño de Box-Behnken para optimizar la eficiencia de encapsulación (% EE), el tamaño de partícula (PS) e índice de polidispersidad (PDI), utilizando tres variables independientes ( $\alpha$ -tocoferol en 200, 300 o 400 mg; lecitina en 1.5, 2.5 o 3.5 mg/mL, y Pluronic F68® en 0.5, 1 o 1.5 % p/v). De acuerdo a la predicción del



diseño, las condiciones óptimas para la encapsulación de  $\alpha$ -tocoferol fueron 200 mg de  $\alpha$ -tocoferol, 2.5 mg/mL de lecitina y 1 % de Pluronic F68. Bajo estas condiciones, se predijo un 95.08 % de eficiencia de encapsulación, 187.91 nm para tamaño de partícula y 0.114 de índice de polidispersidad. Todas las formulaciones mostraron buena estabilidad (potencial  $z < -30$  mV) y altos valores de recuperación de  $\alpha$ -tocoferol (78.31-90.34 %). Las micrografías revelaron una estructura capsular esférica e irregular. Las nanocápsulas de tocoferol tienen aplicación en alimentos, como por ejemplo antioxidantes naturales.

Finalmente, Hedayati *et al.*, (2020) prepararon nanopartículas de almidón de tapioca (SNP) mediante nanoprecipitación, utilizando acetona y sonicación. La caracterización de nanopartículas se realiza comúnmente mediante dispersión dinámica de luz (DLS), microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía electrónica de transmisión (TEM), difracción de rayos X (XRD) y espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). SEM mostró que las nanopartículas de almidón de tapioca tenían forma esférica, con heterogeneidad en el tamaño de partícula. Las nanopartículas sintetizadas usando 3 g de almidón y sonicación tenían tamaños de partícula similares a las preparadas con 1 g de almidón sin ultrasonificación. El aumento en la concentración de almidón aumentó el tamaño de partícula. La estructura cristalina del almidón nativo fue destruida por la nanoprecipitación y sonicación. Además, las propiedades térmicas de las nanopartículas eran inferiores a las del almidón nativo.

### **Materiales para encapsulación.**

Es necesario conocer las propiedades químicas y fisicoquímicas de los materiales de encapsulación, a fin de seleccionar los más adecuados para



desarrollar un producto exitoso. Por lo tanto, las propiedades fisicoquímicas del material a encapsular permiten lograr una funcionalidad adecuada de los sistemas microencapsulados (Sarkar *et al.*, 2013). Las características del producto como la estabilización, la baja volatilidad y las características de liberación, también deben considerarse al elegir el material (comúnmente polímeros). Además, el polímero debe tener la capacidad de formar una película cohesiva con el material del núcleo (Goda y Arora, 2012). Los materiales utilizados para el diseño de la capa protectora (recubrimiento, membrana, cápsula, material portador, fase externa o matriz) deben ser aptos para alimentos, biodegradables y capaces de formar una barrera entre la fase interna y el medio ambiente (Wandrey *et al.*, 2010). Se han utilizado diferentes tipos de materiales como paredes para la microencapsulación, incluidos polisacáridos (almidones, maltodextrinas, almidón de maíz y goma arábiga), lípidos (ácido esteárico, mono y diglicéridos) y proteínas (gelatina, caseína, suero, soja y trigo) (Desai y Park, 2005). A continuación, se describen los tipos de materiales comúnmente utilizados para la encapsulación de ingredientes alimentarios, con aplicaciones potenciales en la industria animal.

*Carbohidratos.* Los carbohidratos más utilizados como materiales de pared son los almidones y sus derivados (maltodextrina, goma arábiga), así como derivados de celulosa (carboximetilcelulosa) (Timilsena *et al.*, 2020). Los carbohidratos tienen una amplia disponibilidad en el mercado, pero además aportan un sabor suave y una excelente capacidad de protección. Debido a esto, los carbohidratos se han utilizado ampliamente para encapsular ingredientes alimentarios, como aceites, vitaminas, proteínas y enzimas (Drusch *et al.*, 2006;



Jafari *et al.*, 2008). Dos carbohidratos son los más utilizados para la encapsulación en la industria alimentaria, con posibles aplicaciones en alimentación animal: las maltodextrinas (MD) y la goma arábiga.

Las MD son almidones hidrolizados (ácidos o enzimas) que se utilizan ampliamente para la encapsulación de ingredientes alimentarios (Carneiro *et al.*, 2013; Gharsallaoui *et al.*, 2007). La MD tiene como ventajas su costo relativamente bajo, beneficios sensoriales debido a su aroma y sabor neutros, baja viscosidad a alta concentración de sólidos y buena protección contra la oxidación. Sin embargo, su principal desventaja es la baja capacidad emulsionante (Carneiro *et al.*, 2013). De acuerdo con Fang y Bhandari (2011), una sola matriz de encapsulación de carbohidratos no proporciona todas las características requeridas y es necesario realizar otras estrategias para mejorar las propiedades de encapsulación, como el uso de mezclas de carbohidratos con proteínas y polisacáridos en diferentes proporciones.

La goma arábiga (GA) es una goma que se origina por el exudado de *Acacia senegal*. Debido a su baja viscosidad, buenas propiedades de emulsión, alta estabilización y formación de película, la GA es uno de los materiales de pared más comerciales que son utilizados para la microencapsulación por secado por aspersión ((Ali *et al.*, 2009; Carneiro *et al.*, 2013; Sarkar *et al.*, 2013). Además, la GA es un polisacárido vegetal natural e incoloro, ampliamente aceptado por los consumidores (Hosseini *et al.*, 2015).

*Proteínas.* Las proteínas se utilizan ampliamente como matrices encapsulantes (Đorđević *et al.*, 2016). La soya, las proteínas del suero de leche, las proteínas del huevo y los hidrolizados son comúnmente utilizados para la



encapsulación. Las características fisicoquímicas y funcionales de las proteínas las convierten en un excelente material encapsulante en la industria alimentaria (Bylaitė *et al.*, 2001). Los materiales de pared proteica también se consideran sistemas ricos en nutrientes que pueden suministrar aminoácidos esenciales, son versátiles en solubilidad, gelificación, formación de películas y emulsificación (Ye *et al.*, 2018).

La gelatina es la matriz de pared más utilizada para elaborar geles altamente estables (ácidos grasos omega-3, vitamina D y aceite de pescado). Las proteínas de la leche, como el aislado de proteína de suero y el caseinato de sodio, junto con otras proteínas vegetales (proteína de soya y proteína de guisante) se han utilizado como materiales de pared durante varios años. La gelatina es una mezcla de péptidos y proteínas obtenida por hidrólisis parcial del colágeno que se encuentra en la piel, los huesos y el tejido conectivo de los animales. Por su biodegradabilidad, biocompatibilidad, cero toxicidad, bajo costo, solubilidad en agua, formación de película y emulsificación, es idóneo para encapsular aceites esenciales (Sutaphanit y Chitprasert, 2014).

Se han utilizado otras proteínas de origen natural para la encapsulación, por ejemplo, la proteína de suero, un excelente material para encapsular aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y compuestos de sabor sensibles (Timilsena *et al.*, 2020). Además, las proteínas de la leche tienen excelentes propiedades funcionales (preparación y estabilización de emulsiones, unión de agua con grasas, espesamiento y gelificación) y nutricionales; pueden utilizarse como sistemas de administración de células probióticas (Livney, 2010). Las proteínas de la leche que encapsulan células probióticas se han aplicado en



galletas, verduras y jugo de arándano congelado (Heidebach *et al.*, 2009a; Heidebach *et al.*, 2009b). Las proteínas de la leche también poseen la capacidad de suministrar ingredientes funcionales, unir moléculas pequeñas e interactuar con otros polímeros para formar complejos (Livney, 2010). Debido a esto, las proteínas de la leche se han utilizado con éxito en combinación con polisacáridos como las gomas arábica y xantana, así como carboximetilcelulosa, en sistemas de emulsión alimentaria (Bonnet *et al.*, 2009).

*Lípidos.* Los lípidos son materiales hidrófobos que se utilizan para encapsular sustancias, principalmente hidrófilas. Se han investigado varios tipos de lípidos, incluidos glicéridos, ácidos grasos, ceras y fosfolípidos, debido a su capacidad para encapsular ingredientes alimentarios activos (Wandrey *et al.*, 2010). Los lípidos se han utilizado para encapsular compuestos nitrogenados como la urea, con grasa (Highstreet *et al.*, 2010) o cera de abejas (Carvalho *et al.*, 2019), la arginina con ácidos grasos (Meyer *et al.*, 2018), y la lisina mezclada con lípidos (Prandini *et al.*, 2013).

La tecnología de encapsulación basada en lípidos es relativamente reciente en comparación con otros ingredientes para la encapsulación. Por lo tanto, puede considerarse un campo emergente y promisorio para proporcionar ingredientes alimentarios, farmacéuticos y nutracéuticos bioactivos (Timilsena *et al.*, 2020). Por ejemplo, la cera carnauba ya se utiliza en medicina para recubrimientos de cápsulas, como cera dental y productos para la piel. Además, es un compuesto inerte en el rumen y el estómago y es un material inofensivo para la salud animal (Lim *et al.*, 2017).





A pesar de la amplia gama de materiales para encapsulación, solo algunos de ellos se han utilizado en la industria animal. Debido a la naturaleza de las aplicaciones, estos materiales suelen ser los de menor costo, amplia disponibilidad y buena capacidad para proteger y liberar los componentes internos. Sin embargo, no son necesariamente ideales para aplicaciones en alimentación animal debido a sus propiedades de emulsificación, sensoriales, solubilidad o encapsulación rápida, o bien porque sus capacidades no han sido completamente evaluadas para aplicaciones animales. Por lo tanto, en la presente investigación documental ha sido necesaria una extensa consulta de materiales con aplicaciones en la industria animal, a fin de contrastar los resultados obtenidos, ya sea en el ámbito farmacéutico y alimentario.

### **Encapsulación de ingredientes de alimentos/piensos.**

En la industria alimentaria se utilizan una gran cantidad de ingredientes funcionales para mejorar propiedades como el sabor, el color y la textura, así como para prolongar la vida útil de los alimentos y productos alimenticios. Los ingredientes naturales con beneficios funcionales para la salud, como antioxidantes y probióticos, son hoy en día de gran interés para la industria y para los consumidores (Borgogna *et al.*, 2010). Las ventajas tecnológicas de la encapsulación incluyen la protección de los ingredientes de alimentos y piensos contra la degradación química (causada por oxidación o hidrólisis) o la reacción con otros ingredientes. Además, también protege a los alimentos y componentes de cambios no deseados causados por variaciones ambientales, condiciones enzimáticas, pH, temperatura y fuerza iónica (McClements *et al.*, 2007; Fang y Bhandari, 2010; Wandrey *et al.*, 2010).



La caracterización de las microcápsulas producidas por las diferentes tecnologías consideradas en esta revisión documental incluye principalmente el estudio de las propiedades físicas, como contenido de humedad y actividad de agua, densidad aparente, rendimiento de partículas, eficiencia de microencapsulación, cuantificación del material del núcleo (ingrediente encapsulado), propiedades de flujo y solubilidad e higroscopicidad del polvo (Xue *et al.*, 2013). Se pueden incluir determinaciones específicas del ingrediente encapsulado según sus propiedades químicas (actividad antioxidante y contenido total del ingrediente o compuesto). Son relevantes la estructura química mediante FTIR (Espectrometría Infrarroja por Transformada de Fourier) y estudios microestructurales. Pocas investigaciones incluyen características adicionales como la estabilidad durante el almacenamiento y la liberación controlada del material encapsulado, así como una cinética de degradación que simule las condiciones del tracto gastrointestinal (Ahmad *et al.*, 2019). Esos análisis son relevantes cuando el objetivo es estudiar el papel del material encapsulante para liberar actividad en el intestino, apoyando las condiciones del tracto gastrointestinal superior, tal es el caso de los probióticos. Sin embargo, el desarrollo de la encapsulación en estas condiciones requiere formas de partículas especiales. Por ejemplo, los hidrogeles a base de almidón han mostrado bioaccesibilidad del  $\beta$ -caroteno al mantener la estructura semisólida del hidrogel en condiciones gástricas simuladas, y cuya estructura se desintegra en el intestino delgado (Mun *et al.*, 2015).

Últimamente se han publicado investigaciones sobre encapsulación de compuestos hidrófobos para aplicaciones en alimentos y piensos. Li *et al.*, (2020)



desarrollaron un sistema de administración de microgel (lisozima en nanopartículas de almidón) para mejorar la liberación controlada de quercetina, un compuesto hidrofóbico, en condiciones intestinales. En otro estudio, Yang *et al.* (2020) desarrollaron un complejo portador de ácido linolénico conjugado (CLA) (fase oleosa) que consistía en almidón modificado con anhídrido octenil succínico y goma xantana. El CLA es poco soluble en agua y muy sensible a la oxidación, lo que hace que tenga baja bioactividad. Estos investigadores lograron una eficiencia de encapsulación superior al 97 %, atrapando el CLA dentro de la estructura interna de la nanopartícula. Además, el estudio *in vivo* mostró que las nanopartículas se liberaban en intestino delgado y rara vez en el estómago de ratas. Shao *et al.* (2018) también utilizaron con éxito la emulsión estabilizada con gránulos de almidón gelatinizado de malanga para encapsular y proteger polifenoles. Los polifenoles normalmente tienen baja biodisponibilidad debido a la degradación gástrica. En otro estudio, Mehran *et al.*, (2020) encapsularon eficientemente antocianinas (de extracto de borraja iraní) combinando maltodextrina y almidón de maíz modificado. Los polvos microencapsulados obtenidos por pulverización mostraron una eficiencia de encapsulación superior al 90%, alta estabilidad antioxidante durante el almacenamiento y liberación controlada en el intestino.

El Cuadro 2 resume los estudios consultados sobre encapsulación de alimentos y piensos con aplicaciones en la nutrición animal. En más del 90% de las investigaciones se utilizan productos comerciales protegidos con patentes internacionales, de manera que las técnicas de encapsulación, los materiales



Cuadro 2. Selección de estudios sobre encapsulación de ingredientes alimentarios utilizando diferentes tecnologías

Material de núcleo	Material de pared	Tecnología usada/tamaño/otros	Resultados	Referencia
Proteínas, péptidos, amino ácidos y nitrógeno no proteico				
Rumiantes				
Arginina y lisina	Aceite de soya hidrogenado, lecitina (AjiPro®-L, Japón)	No reportado (AjiPro®)	La suplementación con lisina disminuyó el espesor de la grasa y aumentó el área del músculo <i>Longissimus</i> , la suplementación con arginina aumentó las canales selectas.	Teixeira <i>et al.</i> , 2019
Arginina	Ácidos grasos y glicéridos	No reportado (solicitud patente EUA No. 61/321.604)	La arginina protegida en el rumen tuvo el mayor flujo duodenal y degradación en intestino delgado, en comparación con la arginina inyectada.	Meyer <i>et al.</i> , 2018



## Protección

ruminal: 50%

Nitratos de calcio y amonio	Cardanol ácido anacárdico de nuez	y No reportados (patente Ind&Com. LTDA®, Brasil)	El consumo de materia seca y proteína cruda y la digestibilidad de los tratamientos con nitrato encapsulado y nitrato encapsulado con líquido de cáscara de anacardo fueron similares.	(El-Zaiat <i>et al.</i> , 2020)
		Liberación controlada (50-100% en 4-30 h)		
Metionina	MetiPEARL™, Kemin®, USA	Secado por aspersion Size < 2 mm, DL-methionina 48%	El área del músculo <i>Longissimus</i> aumentó a medida que aumentaron los niveles de metionina.	Baggerman <i>et al.</i> , 2021



Nitrato de calcio y amonio	Cardanol y ácido anacárdico	No reportado (patente Ind&Com. LTDA®, Brasil)	La inclusión de nitrato encapsulado redujo el peso corporal final. La ingesta de materia seca y las emisiones de metano (CH <sub>4</sub> ) se redujeron con el uso de nitrato encapsulado, mientras que los aceites esenciales encapsulados aumentaron las emisiones de CH <sub>4</sub> .	Alemu <i>et al.</i> , 2019
Metionina	Cera carnauba	Emulsificación por fundición	Menor degradabilidad <i>in situ</i> en metionina encapsulada en comparación con la metionina pura.	De Carvalho <i>et al.</i> , 2019
Urea	Grasas (Nitroshure, Balchem)	Liberación controlada, 91% urea	La adición de urea encapsulada en vacas en lactancia temprana aumentó el contenido de grasa y proteína en la leche. No se observaron diferencias en la	Highstreet <i>et al.</i> , 2010

---



Encapsulates,  
EUA)

producción de leche ni en los  
componentes de N urinario.

---



utilizados y las características de los encapsulados no son descritos. En consecuencia, no podemos asegurar que en términos de tamaño se estén utilizando micro o nanocápsulas, pues la finalidad es la protección de los ingredientes para aumentar su digestibilidad. Por lo tanto, los nuevos estudios están supeditados a la poca y/o casi nula información para la generación de conocimiento nuevo en el área de la microencapsulación con aplicaciones potenciales en la producción animal.

### **Suplementación de Aminoácidos Dietéticos en Rumiantes**

Los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) participan en el aumento de la síntesis de proteínas en animales y seres humanos. Además, son componentes elementales para desarrollar tejido muscular. Los BCAA (isoleucina, leucina y valina) regulan diversas vías de señalización; la más importante es la activación de la vía de señalización mTOR (diana de rapamicina en células de mamíferos) (Zhang *et al.*, 2017).

Baggerman *et al.*, (2021) realizaron dos estudios. En el primero utilizaron 128 vaquillas suplementadas con 0, 4, 8 y 12 g de metionina protegida (animal/día); ellos observaron un incremento del 9 % en el área del músculo *Longissimus* con el uso de 12 g de metionina protegida, en comparación al control. En el segundo estudio utilizaron 20 vaquillas suplementadas con 0 y 8 g de metionina; los investigadores encontraron una mejor proporción de fibras de cadena pesada de miosina tipo 1 (MHC-1) con la suplementación de 8 g de metionina.

La falta de lisina o BCAA puede disminuir el rendimiento en la producción de leche hasta en 10.2 %, 21.1 % y 12.2 %, respectivamente, según el estudio





realizado por Doelman et al. (2014) durante la lactancia temprana de vacas lecheras. Tanto la leucina como la isoleucina mejoran la tasa de síntesis de proteína en células mamarias bovinas, por efecto de la fosforilación de mTOR (diana de rapamicina en células de mamífero), rpS6 (proteína ribosómica S6) y S6K1 (proteína ribosómica S6 quinasa beta-1) (Appuhamy *et al.*, 2012).

### **Arginina en dietas de rumiantes.**

La L-arginina (Arg) es un aminoácido que se encuentra en tejidos de animales y plantas (Wu, 2013). El contenido de este nutriente es relativamente alto en los alimentos procedentes de animales (carne y mariscos), plantas (semillas de algodón, canola, aislado de proteína de soya) y otros organismos fotosintéticos (microalgas y macroalgas), pero es relativamente baja en la leche de la mayoría de los mamíferos, incluidos los seres humanos, las vacas y las cerdas, en comparación con la mayoría de los otros aminoácidos (AA) (Davis *et al.*, 1994; Collins *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2016).

Actualmente, se reconoce que la Arg es un ingrediente benéfico en suplementos dietéticos, alimentos funcionales y bebidas para seres humanos (Brown *et al.*, 2015; Lan *et al.*, 2014; Popolo *et al.*, 2014; Wu, 2013). Sin embargo, el uso de Arg para estos fines se ha limitado en gran medida por la preocupación que existe en las agencias reguladoras gubernamentales, los encargados de formular políticas y los consumidores, en cuanto a la seguridad en el uso de Arg como suplemento a largo plazo (Wu *et al.*, 2016). No existen datos clínicos relevantes en la literatura (Shao y Hathcock, 2008; Calabrò *et al.*, 2014), aunque se ha documentado que la administración oral de Arg (3 g/d) puede provocar eventos cardiovasculares adversos en pacientes con infarto agudo de miocardio



(Schulman *et al.*, 2006). La Arg regula vías de señalización celular y la expresión génica para mejorar la función cardiovascular, aumentar la sensibilidad a la insulina, incrementar la masa de tejido magro y reducir la obesidad en humanos (Wu *et al.*, 2016).

El uso de L-arginina ha sido probado en varias especies animales con fines de aumentar la deposición tejido muscular y reducir grasa. Tan *et al.* (2009) observaron que la suplementación con 1 % de arginina en la dieta de cerdos castrados por 60 d (previo al sacrificio), redujo los triglicéridos séricos en 20 %, así como la grasa de todo el cuerpo en 11 %, aumentando el contenido de músculo esquelético corporal en 5.5 %. En otra investigación con cerdos, Ma *et al.* (2015) suplementaron con 1 % de arginina en la dieta y mostraron una abundancia de proteínas (tipo y estructura de la fibra) relacionadas con el metabolismo energético.

En pollos de engorda, Al-daraji y Salih (2012) observaron un incremento significativo en el peso de canales, pechuga y muslo cuando se suministraron 0.02, 0.04 y 0.06 % de arginina. Estos investigadores concluyeron que la arginina puede utilizarse para mejorar el rendimiento productivo en pollos de engorda.

La infusión abomasal de arginina en Angus promueve la expresión de genes adipogénicos y la acumulación de lípidos en el tejido adiposo (Choi *et al.*, 2014). La infusión sanguínea de arginina (500 mg/kg) en corderos puede inhibir la proteólisis y redujo la terneza en el músculo semimembranoso (Cottrell *et al.*, 2015).

### **La arginina en el metabolismo del ganado.**



La Arg realiza un papel importante en el metabolismo del nitrógeno (síntesis de proteínas, óxido nítrico, poliaminas y creatina), en el flujo sanguíneo, la utilización de nutrientes y en la salud de los rumiantes. Este aminoácido se produce por acción de bacterias ruminales, o bien a partir de L-glutamina, L-glutamato y L-prolina mediante la formación de L-citrulina (CIT) en los enterocitos de rumiantes jóvenes y adultos. En rumiantes antes del destete, la mayoría de la CIT formada *de novo* por los enterocitos se utiliza para la producción de Arg. En los rumiantes post-destete, la CIT derivada del intestino delgado se convierte en Arg principalmente en los riñones, y en menor medida en las células endoteliales, macrófagos y otros tipos celulares (Wu *et al.*, 2022). En condiciones normales de alimentación en rumiantes, la síntesis de Arg representa el 65-68 % del total de los requerimientos, y a partir de la suplementación de Arg protegida (0.25 - 0.05 % en la dieta) se pueden cubrir los requerimientos para incrementar la producción (Wu *et al.*, 2022).

Después de la ingesta de Arg, los niveles máximos plasmáticos regresan a niveles base a las 4-5 horas después de llegar a circulación sanguínea (Collins *et al.*, 2007). Posteriormente, se produce óxido nítrico (NO) en la mayoría de las células de mamíferos (adipocitos, musculo esquelético, hepatocitos, etc.) (Wu *et al.*, 1998). Teixeira *et al.* (2019) suplementaron vaquillas Angus x Simmental con arginina protegida y observaron que los niveles plasmáticos de Arg no se vieron modificados. Las concentraciones plasmáticas de un aminoácido limitante disminuyen cuando es utilizado con fines anabólicos (Wessels *et al.*, 1997).

El óxido nítrico (NO) es una molécula sintetizada a partir de la Arg por mediación de la enzima NO sintasa (NOS). Los niveles fisiológicos del NO



estimulan la utilización de glucosa y la oxidación de ácidos grasos en tejidos sensibles a insulina (músculo, corazón y tejido adiposo); también inhibe la síntesis de glucosa, glucógeno y lípidos (hígado y tejido adiposo) (Jobgen *et al.*, 2006; McKnight *et al.*, 2010).

Estudios sobre las regulaciones metabólicas de la Arg vía NO han evidenciado una mejora en la calidad de la carne al reducir el esfuerzo al corte (Cottrell *et al.*, 2015), aumento de grasa intramuscular (Choi *et al.*, 2014; Teixeira *et al.*, 2019), transformación de fibras musculares glucolíticas a oxidativas (Chen, Guo, Jia, Liu, et al., 2018), aumento de proteínas musculares (X. Ma et al., 2015; Tan et al., 2009) e incremento en la capacidad antioxidante del NO a nivel fisiológico y en músculo (Kamga *et al.*, 2012; J. R. Tuell *et al.*, 2021).

#### **La arginina y la transformación del tipo de fibra.**

El músculo esquelético se compone de fibras musculares, cuyas características afectan tanto a la producción de carne magra como a la calidad de la carne (Brocks *et al.*, 2000; Ryu y Kim, 2006). Se conocen tres tipos principales de fibra: tipo oxidativo lento (I), tipo oxidativo-glucolítico rápido (IIa) y tipo glucolítico rápido (IIb), de acuerdo con la estabilidad de la ATPasa de la miosina después del pretratamiento con ácido o álcali (Brooke y Kaiser, 1970). La ATPasa de miosina se localiza en la cabeza globular de la cadena pesada de miosina (MHC) (Levitsky, 2004). Por lo tanto, la MHC parece representar el marcador más apropiado para el tipo de fibra muscular. Cuatro isoformas de la MHC de los músculos esqueléticos de mamíferos están codificadas por cuatro genes: la contracción lenta tipo oxidativo I (MHCI) y tres tipos rápidos, tipo



oxidativo IIa (MHCIIa), oxidoglicolítico tipo IIx (MHCIIx) y glucolítico tipo IIb (MHCIIb) (Kim *et al.*, 2013; Lefaucheur *et al.*, 2002).

La arginina se clasifica como un aminoácido semiesencial o condicionalmente esencial en los mamíferos. Estudios anteriores se han centrado en estudiar el papel de la arginina en la regulación de la deposición de grasa (Fouad *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2005). Recientemente, se observó que la arginina promueve la expresión de la MHC a través de Akirin2 y la vía de señalización de la proteína quinasa activada por adenosin monofosfato (AMPK) en las células del músculo esquelético porcino (Chen, Guo, Jia, Zhao, et al., 2018). Dado que la AMPK media el cambio de tipo de fibra muscular esquelética (Rö *et al.*, 2007), los diferentes tipos de fibra muscular pueden transformarse entre sí (Pette y Staron, 2000; Zhang *et al.*, 2017), por lo que es razonable suponer que la arginina puede desempeñar un papel en el cambio de tipo de fibra muscular esquelética.

#### **La arginina y la expresión de genes lipogénicos.**

La arginina está relacionada con la oxidación de ácidos grasos a través de los cambios mediados por el óxido nítrico (NO) en la expresión de genes (enzima esteroil-CoA desaturasa, proteína quinasa activada por adenosin monofosfato) (McKnight *et al.*, 2010). El gen AMPK, expresado por el óxido nítrico y modulado por la arginina (Lira *et al.*, 2007), aumenta la carnitina palmitoiltransferasa 1A (CPT-1A) y la expresión de PGC-1a en hígado, incrementándose la oxidación del sustrato hepático en ratas suplementadas con arginina (Jobgen *et al.*, 2006).

#### **La arginina y su relación con la calidad de la carne.**

La calidad de la carne siempre ha sido importante para el consumidor y constituye un tema crítico para la industria (Joo *et al.*, 2013). Debido a que la



carne fresca es un tejido animal, las características de calidad están influenciadas por diversos factores, como la estructura muscular, la composición química, el entorno químico, la interacción de los componentes químicos, los cambios *post-mortem* en los tejidos musculares, el estrés y los efectos de la pre-matanza (Joo *et al.*, 2013; Prieto *et al.*, 2009).

Los rasgos superiores de calidad de la carne, incluidos el color, la ternura y el sabor, están estrechamente relacionados con el aumento del contenido de fibras oxidativas en los músculos esqueléticos (Raj *et al.*, 2010). Por lo tanto, es necesario aumentar el contenido de fibras oxidativas en los músculos esqueléticos y comprender los factores para controlarlos (Lefaucheur *et al.*, 2002; Pannier *et al.*, 2010).

Un estudio reciente en cerdos encontró que la suplementación con arginina en la dieta aumentó el contenido de grasa intramuscular (IMF) e influyó en las proteínas relacionadas con el tipo de fibra muscular. El aumento en el contenido de IMF se correlacionó positivamente con una mayor abundancia de troponina I de contracción lenta, y se correlacionó negativamente con la cadena pesada de miosina (MyHC) y con el contenido de fibra muscular blanca IIb (X. Ma *et al.*, 2015).

Tan *et al.* (2011) suplementaron 16 cerdos con 1 % de arginina por 60 d. La suplementación con arginina incrementó los niveles de ARNm de la enzima ácido graso sintasa en músculo, y los niveles de ARNm de la lipasa sensible a hormonas (LSH) en tejido adiposo, favoreciendo la lipogénesis en músculo y lipólisis en tejido adiposo.



Hu *et al.*, (2017) suplementaron 60 cerdos Duroc x Landrace con 1 % de arginina por 60 d. Las características productivas no se afectaron con la inclusión de arginina en comparación con el control. Sin embargo, la suplementación con arginina incrementó el contenido de IMF y redujo el grosor de la grasa dorsal.

Shi *et al.* (2019) suplementaron 120 cerdos Landrace x Yorkshire x Duroc con 0.5 y 1 % de arginina por 10 semanas. Los parámetros de crecimiento no se vieron modificados por la inclusión de arginina en la dieta de finalización de cerdos. En las características de calidad de la carne no se observaron diferencias en el color, pH y capacidad de retención de agua (CRA) entre los cerdos suplementados con arginina y el control. Sin embargo, conforme incrementaron los niveles de arginina el puntaje de marmoleo en músculo se incrementó, y se redujeron las pérdidas por cocción y por goteo.

En rumiantes, Teixeira *et al.* (2019) suplementaron 120 vaquillas Angus x Simmental con 63 g/d de arginina protegida. Las características productivas no se vieron afectadas por la arginina. La suplementación con arginina protegida tendió a incrementar la proporción de grado de calidad Choice en las canales.

Tuell *et al.* (2019) suplementaron 40 vaquillas con 100 g/d de arginina metabolizable de sobrepaso. La suplementación con arginina no modificó los valores de pH, CRA y esfuerzo al corte. Sin embargo, se mejoró la estabilidad del color, con valores más altos en la tendencia al rojo ( $a^*$ ).

Dou *et al.* (2023) suplementaron 18 ovinos Dorper x Han cola pequeña con 1 % de arginina. La adición de arginina incrementó el peso final, el área de rib eye y el diámetro de las fibras musculares. Además, se redujo el esfuerzo al corte y las pérdidas por cocción.



## LITERATURA CITADA

- A. de B. Carvalho, A.L. da Silva, A.M. de A. Silva, A.J. Netto, T.T.B. de Medeiros, J.M. Araújo Filha, D.L. da S. Agostini, D.L.V. de Oliveirac, S.E. Mazzettoc, L.R.V. Kotzebuec, J.R. Oliveirac, R. L. O., & Bezerraa, L. R. (2019). Effect of slow-release urea microencapsulated in beeswax and its inclusion in ruminant diets. *Small Ruminant Research*, 179(June), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.09.005>
- Abbasi, I. H. R., Abbasi, F., Abd El-Hack, M. E., Abdel-Latif, M. A., Soomro, R. N., Hayat, K., Mohamed, M. A. E., Bodinga, B. M., Yao, J., & Cao, Y. (2018). Critical analysis of excessive utilization of crude protein in ruminants ration: impact on environmental ecosystem and opportunities of supplementation of limiting amino acids—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 181–190. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0555-4>
- Ahmad, U., Sohail, M., Ahmad, M., Minhas, M. U., Khan, S., Hussain, Z., Kousar, M., Mohsin, S., Abbasi, M., Shah, S. A., & Rashid, H. (2019). Chitosan based thermosensitive injectable hydrogels for controlled delivery of loxoprofen: development, characterization and in-vivo evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.031>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Al-daraji, H. J., & Salih, A. M. (2012). Effect of dietary L-arginine on carcass traits of broilers. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 2(1), 40–43.
- Alemu, A. W., Romero-Pérez, A., Araujo, R. C., & Beauchemin, K. A. (2019). Effect of encapsulated nitrate and microencapsulated blend of essential oils on growth performance and methane emissions from beef steers fed backgrounding diets. *Animals*, 9(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani9010021>
- Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.001>
- Alvim, I. D., Stein, M. A., Koury, I. P., Dantas, F. B. H., & Cruz, C. L. de C. V. (2016). Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 689–694. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.049>
- Appuhamy, J. A. D. R. N., Knoebel, N. A., Nayananjalie, W. A. D., Escobar, J., & Hanigan, M. D. (2012). Isoleucine and Leucine Independently Regulate mTOR Signaling and Protein Synthesis in MAC-T Cells and Bovine Mammary Tissue Slices. *The Journal of Nutrition*, 142(3), 484–491. <https://doi.org/10.3945/jn.111.152595>
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382.





- <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Bacinello, D., Garanger, E., Taton, D., Tam, K. C., & Lecommandoux, S. (2015). Tailored drug-release from multi-functional polymer-peptide hybrid vesicles. *European Polymer Journal*, 62, 363–373. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.09.001>
- Baggerman, J. O., Thompson, A. J., Jennings, M. A., Hergenreder, J. E., Rounds, W., Smith, Z. K., & Johnson, B. J. (2021). Effects of encapsulated methionine on skeletal muscle growth and development and subsequent feedlot performance and carcass characteristics in beef steers. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061627>
- Bonnet, M., Cansell, M., Berkaoui, A., Ropers, M. H., Anton, M., & Leal-Calderon, F. (2009). Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.016>
- Boonyai, P., Bhandari, B. and Howes, T. (2004). Stickiness measurement techniques for food powders: A review. *Powder Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.04.039>
- Borgogna, M., Bellich, B., Zorzin, L., Lapasin, R., & Cesàro, A. (2010). Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.043>
- Brocks, L., Klont, R. E., Buist, W., De Greef, K., Tieman, M., & Engel, B. (2000). The effects of selection of pigs on growth rate vs leanness on histochemical characteristics of different muscles. In *J. Anim. Sci* (Vol. 78).
- Brooke, M. H., & Kaiser, K. K. (1970). Muscle Fiber Types: How Many and What Kind? *Archives of Neurology*, 23(4), 369–379. <https://doi.org/10.1001/archneur.1970.00480280083010>
- Brown, B., Roehl, K., & Betz, M. (2015). Enteral nutrition formula selection: Current evidence and implications for practice. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(1), 72–85. <https://doi.org/10.1177/0884533614561791>
- Butstraen, C., & Salaün, F. (2014). Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 99, 608–616. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.006>
- Bylaitė, E., Venskutonis, P., Research, R. M.-E. F., & 2001, U. (2001). Properties of caraway (*Carum carvi* L.) essential oil encapsulated into milk protein-based matrices. *European Food Research and Technology*, 212(6), 661–670. <https://doi.org/10.1007/s002170100297>
- Calabrò, R. S., Gervasi, G., & Bramanti, P. (2014). L-Arginine and vascular diseases: lights and pitfalls! *Undefined*.
- Calderón-Oliver, M., Pedroza-Islas, R., Escalona-Buendía, H. B., Pedraza-Chaverri, J., & Ponce-Alquicira, E. (2017). Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. *Food Hydrocolloids*, 62, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.028>
- Cao, W. J., Ou, S. Y., Lin, W. F., & Tang, C. H. (2016). Food protein-based phytosterol nanoparticles: Fabrication and characterization. *Food and Function*, 7(9), 3973–3980. <https://doi.org/10.1039/c6fo00861e>



- Carneiro, H. C. F., Tonon, R. V., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, 115(4), 443–451. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033>
- Castillo-lopez, E., & Domínguez-Ordóñez, M. G. (2019). Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microinamada. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(1), 120–148. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4547/4036>
- Cauteruccio, S., Bartoli, C., Carrara, C., Dova, D., Errico, C., Ciampi, G., Dinucci, D., Licandro, E., & Chiellini, F. (2015). A nanostructured PLGA system for cell delivery of a tetrathiahelicene as a model for helical DNA intercalators. *ChemPlusChem*, 80(3), 490–493. <https://doi.org/10.1002/cplu.201402347>
- Cavallaro, G., Craparo, E. F., Sardo, C., Lamberti, G., Barba, A. A., & Dalmoro, A. (2015). PHEA-PLA biocompatible nanoparticles by technique of solvent evaporation from multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 495(2), 719–727. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.09.050>
- Chen, X., Guo, Y., Jia, G., Liu, G., Zhao, H., & Huang, Z. (2018). Arginine promotes skeletal muscle fiber type transformation from fast-twitch to slow-twitch via Sirt1/AMPK pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 61, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.08.007>
- Chen, X., Guo, Y., Jia, G., Zhao, H., Liu, G., & Huang, Z. (2018). Arginine Promotes Slow Myosin Heavy Chain Expression via Akirin2 and the AMP-Activated Protein Kinase Signaling Pathway in Porcine Skeletal Muscle Satellite Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(18), 4734–4740. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00775>
- Chen, X., Jia, G., Zhao, H., Liu, G., & Huang, Z. (2019). Arginine induces skeletal muscle fiber type conversion by upregulating Akirin2 and AMPK/PGC-1 $\alpha$  in mice. *Biologia*, 74(6), 709–715. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00224-z>
- Choi, S. H., Wickersham, T. A., Wu, G., Gilmore, L. A., Edwards, H. D., Park, S. K., Kim, K. H., & Smith, S. B. (2014). Abomasal infusion of arginine stimulates SCD and C/EBP $\beta$  gene expression, and decreases CPT1 $\beta$  gene expression in bovine adipose tissue independent of conjugated linoleic acid. *Amino Acids*, 46(2), 353–366. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1622-x>
- Collins, J. K., Wu, G., Perkins-Veazie, P., Spears, K., Claypool, P. L. D., Baker, R. A. E., & Clevidence, B. A. (2007). Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition*. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.01.005>
- Cottrell, J. J., Ponnampalam, E. N., Dunshea, F. R., & Warner, R. D. (2015). Effects of infusing nitric oxide donors and inhibitors on plasma metabolites, muscle lactate production and meat quality in lambs fed a high quality roughage-based diet. *Meat Science*, 105, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.02.007>
- da Silva, A. C. C., Bezerra, L. R., de Lima, J. A. M., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Filho, J. M. P., de Oliveira, J. P. F.,



- & da Silva, A. L. (2023). Lipid microspheres of different waxes containing urea enriched with a sulfur source for slow release in the rumen. *Small Ruminant Research*, 228(January). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107104>
- Davidov-Pardo, G., & McClements, D. J. (2015). Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Food Chemistry*, 167, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.082>
- Davis, T. A., Nguyen, H. V., Garcia-Bravo, R., Fiorotto, M. L., Jackson, E. M., Lewis, D. S., Rick, D., & Reeds, P. J. (1994). Nutrient Requirements and Interactions Amino Acid Composition of Human Milk Is Not unique<sup>1</sup>2'3. In *J. Nutr* (Vol. 124).
- de Carvalho Neto, J. P., Bezerra, L. R., da Silva, A. L., de Moura, J. F. P., Pereira Filho, J. M., da Silva Filho, E. C., Guedes, A. F., Araújo, M. J., Edvan, R. L., & Oliveira, R. L. (2019). Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, 228(July), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.024>
- de Freitas, C. A. S., de Sousa, P. H. M., Soares, D. J., da Silva, J. Y. G., Benjamin, S. R., & Guedes, M. I. F. (2019). Carnauba wax uses in food – A review. *Food Chemistry*, 291(December 2018), 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.133>
- de Lima, J. A. M., Bezerra, L. R., Feitosa, T. J. d. O., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Pereira Filho, J. M., Oliveira, R. L., de Oliveira, J. P. F., & da Silva, A. L. (2023). Production, characterization, and dietary supplementation effect of rumen-protected fat on ruminal function and blood parameters of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 55(3), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03563-x>
- de Medeiros, T. T. B., de Azevedo Silva, A. M., da Silva, A. L., Bezerra, L. R., da Silva Agostini, D. L., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Kotzebue, L. R. V., Oliveira, J. R., Souto, G. S. B., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., & Oliveira, R. L. (2019). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9275>
- De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. In *Drying Technology* (Vol. 23, Issue 7). <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>
- Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., & Filomena Barreiro, M. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. In *Food and Function*. [www.rsc.org/foodfunction](http://www.rsc.org/foodfunction)
- Đorđević, V., Paraskevopoulou, A., Mantzouridou, F., Lalou, S., Pantić, M., Bugarski, B., & Nedović, V. (2016). Encapsulation technologies for food industry. In *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and*



- Quality Food*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24040-4>
- Dou, L., Sun, L., Liu, C., Su, L., Chen, X., Yang, Z., Hu, G., Zhang, M., Zhao, L., & Jin, Y. (2023). Effect of dietary arginine supplementation on protein synthesis, meat quality and flavor in growing lambs. *Meat Science*, *204*, 109291. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2023.109291>
- Drusch, S., Serfert, Y., & Schwarz, K. (2006). Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: Flow properties and oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *108*(6), 501–512. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200500312>
- Edmunds, B. L. (2011). *Optimising nitrogen use in dairy farming: Evaluation of ruminal crude protein degradation and protein value of forages* Erlangung des Grades Doktor der Agrarwissenschaften Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität .
- El-Zaiat, H. M., Araujo, R. C., Louvandini, H., Patiño, H. O., & Abdalla, A. L. (2020). Effects of dietary replacement of urea with encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on nutrient digestibility, nitrogen balance, and carcass characteristics in growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, *266*(June 2019), 114515. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114515>
- Eratte, D., McKnight, S., Gengenbach, T. R., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. P. (2015). Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate-gum Arabic complex coacervates. *Journal of Functional Foods*, *19*, 882–892. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.037>
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*(3), 628–647. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0944-0>
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*, *21*(10), 510–523. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.08.003>
- FIRA. (2019). Panorama Agroalimentario. In *FIRA*.
- Fornaguera, C., Dols-Perez, A., Calderó, G., García-Celma, M. J., Camarasa, J., & Solans, C. (2015). PLGA nanoparticles prepared by nano-emulsion templating using low-energy methods as efficient nanocarriers for drug delivery across the blood-brain barrier. *Journal of Controlled Release*, *211*, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.002>
- Fouad, A. M., El-Senousey, H. K., Yang, X. J., & Yao, J. H. (2013). Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal*, *7*(8). <https://doi.org/10.1017/S1751731113000347>
- Fu, W. J., Haynes, T. E., Kohli, R., Hu, J., Shi, W., Spencer, T. E., Carroll, R. J., Meininger, C. J., & Wu, G. (2005). Biochemical and Molecular Actions of Nutrients Dietary L -Arginine Supplementation Reduces Fat Mass in Zucker Diabetic Fatty Rats 1. *The Journal of Nutrition*, *137*(27), 714–721.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2005). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*,





- 75, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>
- Galindo-Rodriguez, S., Allémann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (2004). Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research*, 21(8), 1428–1439. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000036917.75634.be>
- Gavory, C., Abderrahmen, R., Bordes, C., Chaussy, D., Belgacem, M. N., Fessi, H., & Briançon, S. (2014). Encapsulation of a pressure sensitive adhesive by spray-cooling: Optimum formulation and processing conditions. *Advanced Powder Technology*, 25(1), 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2013.05.004>
- Ghaderi, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadhassani, Z., & Hamishehkar, H. (2014). Formulation of gammaoryzanol-loaded nanoparticles for potential application in fortifying food products. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(Suppl 2), 549–554. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.081>
- Ghamari Monavvar, H., Moghaddam, G., & Ebrahimi, M. (2020). A Review on the Effect of Arginine on Growth Performance, Meat Quality, Intestine Morphology, and Immune System of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(4), 587–594.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Eau, R. S., Actives, M., & Macromolécules, A. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Goda, C., & Arora, M. (2012). Microencapsulation-A Novel Approach in Drug Delivery: A Review. In *Article in Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://www.researchgate.net/publication/235924354>
- Guimarães-Inácio, A., Francisco, C. R. L., Rojas, V. M., Leone, R. de S., Valderrama, P., Bona, E., Leimann, F. V., Tanamati, A. A. C., & Gonçalves, O. H. (2018). Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. *LWT - Food Science and Technology*, 87(December), 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.031>
- Guo, Q., Kong, X., Hu, C., Zhou, B., Wang, C., & Shen, Q. W. (2019). Fatty Acid Content, Flavor Compounds, and Sensory Quality of Pork Loin as Affected by Dietary Supplementation with L-arginine and Glutamic Acid. *Journal of Food Science*, 84(12), 3445–3453. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14959>
- Hedayati, S., Niakousari, M., & Mohsenpour, Z. (2020). Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.003>
- Heidebach, T., Först, P., & Hydrocolloids, U. K. (2009). Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocoll.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09000034>
- Heidebach, T., Först, P., & Journal, U. K. (2009). Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. *International Dairy Journal*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694608001519>



- Highstreet, A., Robinson, P. H., Robison, J., & Garrett, J. G. (2010). Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Livestock Science*, 129(1–3), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.022>
- Hosseini, A., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Asghari, A., & Akhavan, S. (2015). Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. *Carbohydrate Polymers*, 126, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.020>
- Hu, C. J., Jiang, Q. Y., Zhang, T., Yin, Y. L., Li, F. N., Deng, J. P., Wu, G. Y., & Kong, X. F. (2017). Dietary supplementation with arginine and glutamic acid modifies growth performance, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 95(6), 2680–2689. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1388>
- Huo, J. H., Peng, Z. G., & Feng, Q. (2020). Synthesis and properties of microencapsulated phase change material with a urea–formaldehyde resin shell and paraffin wax core. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(16), 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.48578>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jesús Ramírez Tinoco, Miguel Ángel Martínez Damián, Roberto García Mata, Alfonso Hernández Garay, J. S. M. F. (2011). Aplicación de un sistema de demanda casi ideal (AIDS) a cortes de carnes de bovino, porcino, pollo, huevo y tortilla en el periodo de 1995-2008. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(1), 39–51.
- Jobgen, W. S., Fried, S. K., Fu, W. J., Meininger, C. J., and Wu, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *Article in The Journal of Nutritional Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.12.001>
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>
- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Kamalak, A., Canbolat, Ö., Gürbüz, Y., & Özay, O. (2005). Protected Protein and Amino Acids in Ruminant Nutrition. *KSU. Journal of Science and Engineering*, 8(2), 2005.
- Kamga, C., Krishnamurthy, S., Oxide, S. S.-N., & 2012, U. (2012). Myoglobin and mitochondria: a relationship bound by oxygen and nitric oxide. *Nitric Oxide*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860312000481>
- Kashif, P. M., Madni, A., Ashfaq, M., Rehman, M., Mahmood, M. A., Khan, M. I., & Tahir, N. (2017). Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1810–1822. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0653-5>



- Kim, G. D., Kim, B. W., Jeong, J. Y., Hur, S. J., Cho, I. C., Lim, H. T., & Joo, S. T. (2013). Relationship of Carcass Weight to Muscle Fiber Characteristics and Pork Quality of Crossbred (Korean Native Black Pig × Landrace) F2 Pigs. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 522–529. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0724-2>
- Koenig K. M., Newbold C. J., M. F. M. and R. L. M. (2000). Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *Journal of Animal Science*. <https://doi.org/10.2527/2000.7892431x>
- Kumari, B., Kishan, H., & Yadav, J. (2020). A Comprehensive Review on Microencapsulation Technology. *Mukt Shabd Journal*, IX(Iv), 300–322.
- Kyo, M., Hyon, S. H., & Ikada, Y. (1995). Effects of preparation conditions of cisplatin-loaded microspheres on the in vitro release. *Journal of Controlled Release*, 35(1), 73–82. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00030-C](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00030-C)
- Lan, A., Blachier, F., Benamouzig, R., Beaumont, M., Barrat, C., Coelho, D., Lancha, A., Kong, X., Yin, Y., Marie, J.-C., & Tomé, D. (2014). Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Place for Nutritional Supplementation? *Inflammatory Bowel Diseases*. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000177>
- Lefaucheur, L., Ecolan, P., Plantard, L., & Gueguen, N. (2002). New Insights into Muscle Fiber Types in the Pig. *Journal of Histochemical and Cytochemistry*. <http://www.jhc.org>
- Levitsky, D. I. (2004). Actomyosin systems of biological motility. *Biochemistry*.
- Li, D., Liu, A., Liu, M., Li, X., Guo, H., Zuo, C., & Li, Y. (2020). The intestine-responsive lysozyme nanoparticles-in-oxidized starch microgels with mucoadhesive and penetrating properties for improved epithelium absorption of quercetin. *Food Hydrocolloids*, 99(August 2019), 105309. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105309>
- Li, X., Rezaei, R., Li, P., & Wu, G. (2011). Composition of amino acids in feed ingredients for animal diets. *Amino Acids*, 40(4), 1159–1168. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0740-y>
- Lim, J., Jeong, S., Oh, K., & Lee, S. (2017). Evaluation of soybean oil-carnauba wax oleogels as an alternative to high saturated fat frying media for instant fried noodles. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.054>
- Lira-Casas, R., Efrén Ramirez-Bribiesca, J., Zavaleta-Mancera, H. A., Hidalgo-Moreno, C., Cruz-Monterrosa, R. G., Crosby-Galvan, M. M., Mendez-Rojas, M. A., & Domínguez-Vara, I. A. (2019). Designing and evaluation of urea microcapsules in vitro to improve nitrogen slow release availability in rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2541–2547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9464>
- Lira, V. A., Soltow, Q. A., Long, J. H. D., Betters, J. L., Sellman, J. E., & Criswell, D. S. (2007). Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293, 1062–1068. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00045.2007>.-Nitric
- Livney, Y. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion Colloid Interface Science*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359029409001022>



- Lopez-Rubio, A., Gavara, R., & Lagaron, J. M. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science and Technology*, 17(10), 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.012>
- Lupo, B., Maestro, A., Porras, M., Gutiérrez, J. M., & González, C. (2014). Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 38, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.003>
- Ma, J. J., Mao, X. Y., Wang, Q., Yang, S., Zhang, D., Chen, S. W., & Li, Y. H. (2014). Effect of spray drying and freeze drying on the immunomodulatory activity, bitter taste and hygroscopicity of hydrolysate derived from whey protein concentrate. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.019>
- Ma, X., Zheng, C., Hu, Y., Wang, L., Yang, X., & Jiang, Z. (2015). Dietary L-arginine supplementation affects the skeletal longissimus muscle proteome in finishing pigs. *PLoS ONE*, 10(1), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117294>
- Maciel, G. M., Chaves, K. S., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 1991–1998. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7463>
- Mahalingam, Manikandan, Krishnamoorthy, K. (2015). Fabrication and optimization of camptothecin loaded Eudragit S 100 nanoparticles by Taguchi L4 orthogonal array design. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 5(3), 147. <https://doi.org/10.4103/2230-973x.160852>
- Maity, S., Mukhopadhyay, P., Kundu, P. P., & Chakraborti, A. S. (2017). Alginate coated chitosan core-shell nanoparticles for efficient oral delivery of naringenin in diabetic animals—An in vitro and in vivo approach. *Carbohydrate Polymers*, 170, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.066>
- McClements, D. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC Press. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=YOGYCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Food+emulsions:+principles+practices+and+techniques&ots=dqK1NQ2Xmm&sig=rCvQ5RZCYpKFcSZ-cz6MgKdyGVo>
- McDonald P, R A Edwards, J F D Greenhalgh, C A Morgan, L. A. S. and R. G. W. (2010). Animal nutrition. In *Pearson*. <https://doi.org/10.1038/111651a0>
- McKnight, J. R., Satterfield, M. C., Jobgen, W. S., Smith, S. B., Spencer, T. E., Meininger, C. J., McNeal, C. J., & Wu, G. (2010). Beneficial effects of L-arginine on reducing obesity: Potential mechanisms and important implications for human health. In *Amino Acids* (Vol. 39, Issue 2, pp. 349–357). Springer-Verlag Wien. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 768–776. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197>





- Mendanha, D. V., Molina Ortiz, S. E., Favaro-Trindade, C. S., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., & Thomazini, M. (2009). Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. *Food Research International*, 42(8), 1099–1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.007>
- Meyer, A. M., Klein, S. I., Kapphahn, M., Dhuyvetter, D. V., Musser, R. E., & Caton, J. S. (2018). Effects of rumen-protected arginine supplementation and arginine-HCl injection on site and extent of digestion and small intestinal amino acid disappearance in forage-fed steers. *Translational Animal Science*, 2(2), 205–215. <https://doi.org/10.1093/tas/txy007>
- Mohamed, R., & Chaudhry, A. S. (2008). Methods to study degradation of ruminant feeds. *Nutrition Research Reviews*, 21(1), 68–81. <https://doi.org/10.1017/S0954422408960674>
- Mun, S., Kim, Y. R., & McClements, D. J. (2015). Control of  $\beta$ -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food Chemistry*, 173, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.053>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>
- Niu, H. X., Chang, J., & Jia, Y. D. (2015). Microencapsulation of crystalline-methionine enclosed with gelatine and sodium alginate by spray-drying. *Materials Research Innovations*, 19(April), S5257–S5262. <https://doi.org/10.1179/1432891714Z.0000000001088>
- Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., Matheus, M. V., & Barreto, P. L. M. (2013). Optimization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial Crops and Products*, 50, 896–903. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.015>
- Okuro, P. K., Eustáquio de Matos, F., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 171–182.
- Ospina-Villa, J. D., Gómez-Hoyos, C., Zuluaga-Gallego, R., & Triana-Chávez, O. (2019). Encapsulation of proteins from *Leishmania panamensis* into PLGA particles by a single emulsion-solvent evaporation method. *Journal of Microbiological Methods*, 162(May), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.004>
- Owens, F N and Basalan, M. (2016). Ruminal Fermentation. In *Rumenology*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2>
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272(July 2018), 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>
- Palzer, S. (2005). The effect of glass transition on the desired and undesired agglomeration of amorphous food powders. *Chemical Engineering Science*, 60, 3959–3968. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2005.02.015>
- Pannier, L., Mullen, A., Hamill, R., Science, P. S.-M., & 2010, U. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Elsevier*.



- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010000690>
- Pathak, C., F.u. Vaidya, and S. M. P. (2019). Mechanism for Development of Nanobased Drug Delivery System. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* (Issue January). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814029-1.00011-9>
- Pedroza Islas, R. (2002). *Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas*.
- Pette, D., & Staron, R. S. (2000). Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microscopy Research and Technique*, 50(6), 500–509. [https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000915\)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000915)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7)
- Pinto Reis, C., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2(1), 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.12.003>
- Popolo, A., Adesso, S., Pinto, A., Autore, G., & Marzocco, S. (2014). L-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. *Amino Acids*, 46(10), 2271–2286. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1825-9>
- Prandini, A., Sigolo, S., Morlacchini, M., Grilli, E., & Fiorentini, L. (2013). Microencapsulated lysine and low-protein diets: Effects on performance, carcass characteristics and nitrogen excretion in heavy growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(9), 4226–4234. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6412>
- Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G., & Andrés, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science*, 83(2), 175–186. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.04.016>
- Quispe-Condori, S., Saldaña, M. D. A., & Temelli, F. (2011). Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1880–1887. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.005>
- Raj, S., Skiba, G., Weremko, D., Fandrejowski, H., Migdał, W., Borowiec, F., & Poławska, E. (2010). The relationship between the chemical composition of the carcass and the fatty acid composition of intramuscular fat and backfat of several pig breeds slaughtered at different weights. *Meat Science*, 86(2), 324–330. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.037>
- Rajam, R., & Anandharamakrishnan, C. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 773–780. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.062>
- Röckl, K. S. C., Hirshman, M. F., Brandauer, J., Fujii, N., Witters, L. A., & Goodyear, L. J. (2007). *Skeletal Muscle Adaptation to Exercise Training AMP-Activated Protein Kinase Mediates Muscle Fiber Type Shift*. <https://doi.org/10.2337/db07-0255>
- Romero-Pérez, A., García-García, E., Zavaleta-Mancera, A., Ramírez-Bribiesca, J. E., Revilla-Vázquez, A., Hernández-Calva, L. M., López-Arellano, R., & Cruz-Monterrosa, R. G. (2010). Designing and evaluation of sodium selenite



- nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. *Veterinary Research Communications*, 34(1), 71–79. <https://doi.org/10.1007/s11259-009-9335-z>
- Ryu, Y. C., & Kim, B. C. (2006). Comparison of histochemical characteristics in various pork groups categorized by postmortem metabolic rate and pork quality 1. *Journal of Animal Science*. <http://jas.fass.org/cgi/content/full/84/4/894>
- Sarabandi, K., Sadeghi Mahoonak, A., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. *Journal of Food Engineering*, 237(March), 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.036>
- Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P. S., Sharma, A., & Singhal, R. S. (2013). Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.070>
- Sarteshnizi, F. R., Benemar, H. A., Seifdavati, J., Greiner, R., Salem, A. Z. M., & Behroozyar, H. K. (2018). Production of an environmentally friendly enzymatic feed additive for agriculture animals by spray drying abattoir's rumen fluid in the presence of different hydrocolloids. *Journal of Cleaner Production*, 197, 870–874. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.220>
- Schulman, S. P., Becker, L. C., Kass, D. A., Champion, H. C., Terrin, M. L., Forman, S., Ernst, K. V., Kelemen, M. D., Townsend, S. N., Capriotti, A., Hare, J. M., & Gerstenblith, G. (2006). L-arginine therapy in acute myocardial infarction: The Vascular Interaction with Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) Randomized Clinical Trial. *Journal of the American Medical Association*, 295(1), 58–64. <https://doi.org/10.1001/jama.295.1.58>
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501–547. <https://doi.org/10.1080/10408399309527645>
- Shao, A., & Hathcock, J. N. (2008). Risk assessment for the amino acids taurine, l-glutamine and l-arginine. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50(3), 376–399. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.01.004>
- Shi, H., Kim, J. K., & Kim, I. H. (2019). Effects of dietary L-arginine on growth performance, nutrient digestibility, gas emission, and meat quality in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 253(May), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.007>
- SIAP. (2019). *Expectativas Agroalimentarias*.
- Singh, S., Neelam, Arora, S., & Singla, Y. (2015). An overview of multifaceted significance of eudragit polymers in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5), 1–6.
- Smith, S. B., Gotoh, T., & Greenwood, P. L. (2018). Current situation and future prospects for global beef production: Overview of special issue. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(7), 927–932. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0405>
- Sutaphanit, P., & Chitprasert, P. (2014). Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. *Food Chemistry*, 150, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.159>



- Taghizadeh, A., Danesh Mesgaran, M., Valizadeh, R., Eftekhari Shahroodi, F., & Stanford, K. (2005). Digestion of feed amino acids in the rumen and intestine of steers measured using a mobile nylon bag technique. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1807–1814. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72855-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72855-1)
- Tan, B., Yin, Y., Liu, Z., Li, X., Xu, H., Kong, X., Huang, R., Tang, W., Shinzato, I., Smith, S. B., & Wu, G. (2009). Dietary L-arginine supplementation increases muscle gain and reduces body fat mass in growing-finishing pigs. *Amino Acids*, 37(1), 169–175. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0148-0>
- Tan, B., Yin, Y., Liu, Z., Tang, W., Xu, H., Kong, X., Li, X., Yao, K., Gu, W., Smith, S. B., & Wu, G. (2011). Dietary L-arginine supplementation differentially regulates expression of lipid-metabolic genes in porcine adipose tissue and skeletal muscle. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(5), 441–445. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.03.012>
- Tavares Brito de Medeiros, T., de Azevedo Silva, A. M., Leandro da Silva, A., Rocha Bezerra, L., da Silva Agostini, D. L., Lomonaco Vasconcelos de Oliveira, D., Mazzetto, S. E., Viana Kotzebue, L. R., Ribeiro Oliveira, J., Barbosa Souto, G. S., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., & Lopes Oliveira, R. (2018). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Article in Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9275>
- Teixeira, P. D., Tekippe, J. A., Rodrigues, L. M., Ladeira, M. M. H., Pukrop, J. R., Brad Kim, Y. H., & Schoonmaker, J. P. (2019). Effect of ruminally protected arginine and lysine supplementation on serum amino acids, performance, and carcass traits of feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 97(8), 3511–3522. <https://doi.org/10.1093/jas/skz191>
- Thornton, P. K. (2010). Livestock production: Recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 2853–2867. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0134>
- Tice, T. R., & Gilley, R. M. (1985). Preparation of injectable controlled-release microcapsules by a solvent-evaporation process. *Journal of Controlled Release*, 2(C), 343–352. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(85\)90056-2](https://doi.org/10.1016/0168-3659(85)90056-2)
- Timilsena, Y. P., Haque, M. A., & Adhikari, B. (2020). Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(06), 481–508. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>
- Tuell, J., Kim, H.-W., Guedes, J., Seo, J.-K., Schoonmaker, J., & Kim, Y. H. B. (2019). Supplementing Beef Steers with Ruminally Bypass Arginine Improves Oxidative Stability of Aged Beef Loins. *Meat and Muscle Biology*, 2(2), 182–182. <https://doi.org/10.22175/rmc2018.160>
- Tuell, J. R., Kim, H. W., Zhang, J., Guedes, J., Seo, J. K., Schoonmaker, J. P., & Kim, Y. H. B. (2021). Arginine supplementation may improve color and redox stability of beef loins through delayed onset of mitochondrial-mediated apoptotic processes. *Food Chemistry*, 343(October 2020), 128552. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128552>
- Valdiviezo Morales, L. (2012). *Diseño y caracterización de microcápsulas de seleniometionina*.





- Vuddanda, P. R., Mishra, A., Singh, S. K., & Singh, S. (2014). Development of polymeric nanoparticles with highly entrapped herbal hydrophilic drug using nanoprecipitation technique: An approach of quality by design. *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(5), 579–587. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.908302>
- Walia, N., Dasgupta, N., Ranjan, S., Ramalingam, C., & Gandhi, M. (2019). Methods for nanoemulsion and nanoencapsulation of food bioactives. *Environmental Chemistry Letters*, 17(4), 1471–1483. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00886-w>
- Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E., Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E., Zuidam, N. J., & Nedović, V. A. (2010). Materials for encapsulation. *Springer*, 31–100. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_3)
- Wang L., Y. Liu, W. Zhang, X. Chen, T. Yang, and G. M. (2013). Microspheres and Microcapsules for Protein Delivery: Strategies of Drug Activity Retention. *Current Pharmaceutical Design*. <https://doi.org/10.2174/1381612811319350010>
- Wang, Y., & McAllister, T. A. (2002). Rumen microbes, enzymes and feed digestion-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15(11), 1659–1676. <https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1659>
- Wei, Y., Sun, C., Dai, L., Zhan, X., & Gao, Y. (2018). Structure, physicochemical stability and in vitro simulated gastrointestinal digestion properties of  $\beta$ -carotene loaded zein-propylene glycol alginate composite nanoparticles fabricated by emulsification-evaporation method. *Food Hydrocolloids*, 81, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.042>
- Werner, S. R. L., Jones, J. R., Paterson, A. H. J., Archer, R. H., & Pearce, D. L. (2007). Air-suspension particle coating in the food industry: Part I-state of the art. *Powder Technology*, 17, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2006.08.014>
- Wessels, R., ... E. T.-J. of animal, & 1997, U. (1997). Effect of amino acid supplementation on whole-body protein turnover in Holstein steers. *Academic.Oup.ComRH Wessels, EC Titgemeyer, G St. JeanJournal of Animal Science*, 1997•academic.Oup.Com. <https://academic.oup.com/jas/article-abstract/75/11/3066/4624928>
- Wolfgong, W. J. (2016). Chemical analysis techniques for failure analysis: Part 1, common instrumental methods. In *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Aerospace and Automotive Industries*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800950-5.00014-4>
- Wu, G, Cross, H. R., Gehring, K. B., Savell, J. W., Arnold, A. N., & McNeill, S. H. (2016). Composition of free and peptide-bound amino acids in beef chuck, loin, and round cuts. *Journal of Animal Science*, 2603–2613. <https://doi.org/10.2527/jas2016-0478>
- Wu, G, Journal, S. M. J.-B., & 1998, U. (1998). Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical J.*, 336, 1–17. <https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/336/1/1/34432>
- Wu, Guoyao. (2013). Amino acids: Biochemistry and nutrition. In *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/b14661>



- Wu, Guoyao, Bazer, F. W., Satterfield, M. C., Gilbreath, K. R., Posey, E. A., & Sun, Y. (2022). L-Arginine Nutrition and Metabolism in Ruminants. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1354, 177–206. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1_10)
- Wu, Z., Hou, Y., Hu, S., Bazer, F. W., Meininger, C. J., McNeal, C. J., & Wu, G. (2016). Catabolism and safety of supplemental l-arginine in animals. *Amino Acids*, 48(7), 1541–1552. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2245-9>
- Xu, M., Gagné-Bourque, F., Dumont, M. J., & Jabaji, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. *Journal of Food Engineering*, 168, 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.021>
- Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Perspectiva, M. M.-A. y, & 2002, U. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva*, 21, 313–319.
- Yang, M., Liang, Z., Wang, L., Qi, M., Luo, Z., & Li, L. (2020). Microencapsulation Delivery System in Food Industry—Challenge and the Way Forward. *Advances in Polymer Technology*, 2020, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2020/7531810>
- Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 167–179. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025>
- Yoshimaru, T., Takahashi, H., & Matsumoto, K. (2000). Microencapsulation of L-lysine for improving the balance of amino acids in ruminants. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 44(3–4), 359–365. <https://doi.org/10.5109/24338>
- Zhang, L., Zhou, Y., Wu, W., Hou, L., Chen, H., Zuo, B., Xiong, Y., & Yang, J. (2017). Skeletal muscle-specific overexpression of PGC-1 $\alpha$  induces fiber-type conversion through enhanced mitochondrial respiration and fatty acid oxidation in mice and pigs. *International Journal of Biological Sciences*, 13(9), 1152–1162. <https://doi.org/10.7150/ijbs.20132>
- Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., & Qiao, S. (2017). Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: A review. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* (Vol. 8, Issue 1, pp. 1–12). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0139-z>



## **CAPÍTULO I. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y QUÍMICA DE SISTEMAS ENCAPSULADOS PARA ARGININA**



## RESUMEN

### CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y QUÍMICA DE SISTEMAS ENCAPSULADOS PARA ARGININA

POR:

M.C. GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ

Doctor in Philosophia en Producción Animal y Recursos Naturales

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

Se realizó la microencapsulación de arginina en una matriz lipídica de cera de carnauba y polímero Eudragit® mediante los métodos de emulsificación fundida y nanoprecipitación, respectivamente. Se realizó la caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), análisis microelemental por espectroscopía de dispersión de rayos X (EDS) y caracterización estructural mediante espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Además, se evaluó la degradación ruminal *in vitro*. Ambos sistemas encapsulados presentaron morfologías tanto esféricas como polihédricas regulares e irregulares (cristales). En las formulaciones cera:arginina el contenido de nitrógeno (N) disminuyó conforme aumentó la proporción de cera. Las formulaciones Eudragit®:arginina con 1000 mg de arginina tuvieron mayor contenido de nitrógeno, comparadas con las formulaciones con 500 mg de arginina. Las formulaciones cera:arginina 2:1 y 3:1 presentaron menor degradabilidad después de 5 h de digestibilidad *in vitro* (40.7





% y 21.26 %, respectivamente, en comparación con la degradabilidad de arginina no encapsulada, que tuvo 100 % de degradabilidad). La cera carnauba puede ser un eficiente encapsulante y método de protección para la arginina contra la degradación ruminal, ya que en los resultados de FTIR las bandas de absorción de las capsulas muestran una atenuación fuerte respecto a las bandas de los materiales solos sugiriendo una mezcla homogénea de ambos materiales, una baja degradabilidad *in vitro* y a la morfología obtenida de cristales y esferas con superficie lisa lo cual hace más lento el proceso de degradabilidad.



## ABSTRACT

### MORPHOLOGICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ENCAPSULATED SYSTEMS FOR ARGININE

BY:

GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ

Arginine microencapsulated in a lipid matrix of carnauba wax and Eudragit® polymer was investigated using melt emulsification and nanoprecipitation methods, respectively. In addition, ruminal degradation was evaluated *in vitro*. Morphological characterization was carried out by scanning electron microscopy (SEM), microelement analysis by X-ray dispersion spectroscopy (EDS) and structural characterization by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). Both encapsulated systems presented both spherical and regular and irregular polyhedral morphologies (crystals). In the wax:arginine formulations, the nitrogen (N) content decreased as the wax proportion increased. The Eudragit®:arginine formulations with 1000 mg of arginine had higher nitrogen content, compared to the formulations with 500 mg of arginine. The 2:1 and 3:1 wax:arginine formulations presented lower degradability after 5 h of *in vitro* digestibility (40.7 % and 21.26 %, respectively, compared to the degradability of non-encapsulated arginine, which had 100 % degradability). Carnauba wax can be an efficient encapsulant and protection method for arginine against ruminal degradation.



## INTRODUCCIÓN

Aunque se considera un método relativamente nuevo, la microencapsulación se ha utilizado desde 1970 como una tecnología de envasado que involucra finas cubiertas poliméricas aplicadas a gotas sólidas o líquidas o material gaseoso para formar pequeñas partículas llamadas microcápsulas, que pueden liberar su contenido con el tiempo o bajo ciertas condiciones (Arenas-Jal *et al.*, 2020; Todd, 1970). La encapsulación se introdujo originalmente en el área de la biotecnología para hacer que los procesos de producción fueran más eficientes, ya que la matriz alrededor de las células permite una separación rápida y eficiente de las células productoras y los metabolitos (Nedovic *et al.*, 2011). La encapsulación es una técnica ampliamente utilizada para elaborar productos en distintas ramas de la industria alimentaria, especialmente en la fabricación de alimentos funcionales y especializados, el procesamiento de alimentos y la innovación de productos (Timilsena *et al.*, 2020).

La microencapsulación fue de mayor importancia en la industria alimentaria debido a su capacidad para brindar protección a componentes bioactivos inestables, agregar nuevas propiedades funcionales en productos alimenticios y entregar de manera eficiente el material activo en el sitio objetivo a un tiempo controlado. Como consecuencia de ello, durante mucho tiempo se han explorado varios métodos de encapsulación (Niu *et al.*, 2015; Timilsena *et al.*, 2020).

De las diferentes técnicas de encapsulación se pueden obtener diferentes morfologías, de las cuales se distinguen las microcápsulas con un núcleo bien definido y el material encapsulante, y las microesferas que resulta en una



encapsulación incompleta ya que se mezclan homogéneamente el ingrediente activo y el material encapsulante y es expuesto de cierta manera el ingrediente activo (Dias *et al.*, 2015).

Los rumiantes obtienen aminoácidos conjuntamente de las proteínas de la dieta que escapan a la degradación ruminal y las proteínas microbianas sintetizadas en el rumen. La cantidad de proteínas y aminoácidos que escapan a la degradación ruminal varía mucho entre los diferentes alimentos, dependiendo de su solubilidad, la velocidad de paso al intestino delgado (Kamalak *et al.*, 2005) y la energía suficiente para el crecimiento microbiano lo cual resulta en una mayor síntesis de proteína microbiana (Castillo-Lopez y Domínguez-Ordóñez, 2019). Por ello el uso de microencapsulación de principios activos en una matriz podría permitir una liberación intestinal lenta (Piva *et al.*, 2007) y evitar la producción de amonio, desequilibrio de aminoácidos y un mejor aprovechamiento. El objetivo de este trabajo fue diseñar y caracterizar dos sistemas de encapsulado para arginina como método de protección de la degradación ruminal.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Obtención de Microencapsulas

Las formulaciones de los sistemas microencapsulados y la prueba de digestibilidad *in vitro* se realizaron en la Universidad Autónoma de Chihuahua, México, y los análisis de caracterización se realizaron en el Colegio de Postgraduados campus Montecillo, en Texcoco, México. Se utilizaron dos técnicas de encapsulación: emulsión por fundición y nanoprecipitación. Los materiales utilizados para encapsular fueron cera de carnauba y Eudragit® (RS y RL), respectivamente.

La técnica de emulsión fundida se realizó según Carvalho *et al.* (2019), con algunas modificaciones (se utilizó 7 % de lecitina de soya como surfactante, en lugar de 5 %). Las proporciones de cera y arginina fueron 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1. La cera se fundió a 90 °C y se añadió lecitina de soya al 7 % respecto al peso de la cera; luego se agregó arginina bajo agitación constante a 500 rpm durante 3 min hasta su total homogeneidad.

La técnica de nanoprecipitación se realizó según Romero-Pérez *et al.* (2010), con ligeras modificaciones (se utilizó etanol como disolvente en lugar de acetona). La fase orgánica se preparó disolviendo 1000 mg de Eudragit® RL y RS en diferentes proporciones: 30:70 y 40:60, respectivamente, en 10 mL de etanol bajo sonicación (Elmasonic S60H), durante 15 min. Entonces se disolvieron 1000 o 500 mg de arginina (proporciones Eudragit®: arginina 1:1 y 1:0.5) en 20 ml de una solución acuosa de Pluronic F68 (0.5 % p/p).

### Caracterización Morfológica



Para evaluar y caracterizar los sistemas microencapsulados, se obtuvieron micrografías mediante microscopía electrónica de barrido con magnificaciones de 100x, 500x, 1500x y 5000x. Las micrografías de las muestras se obtuvieron utilizando un microscopio electrónico de barrido SEM-JSM-6390 (Jeol, Tokio, Japón). El tamaño de las microcápsulas de los diferentes sistemas microencapsulados se determinó con el programa Image J (Wayne Rasband, National Institute of Health, Bethesda, MD, EE.UU).

### **Análisis Microelemental**

Se realizó un análisis de espectroscopía de energía dispersiva por rayos X (Oxford®, Reino Unido). Este sistema está acoplado a un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6510LV. Se determinó el porcentaje de nitrógeno (contenido cualitativo) y la ubicación mediante mapeo en los sistemas microencapsulados.

### **Espectroscopía Infrarroja FTIR**

Los espectros infrarrojos se obtuvieron con un Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (Tensor 27, Bruker®, Germany) con fuente MIR (infrarrojo medio) y accesorio ATR (reflexión total atenuada) con cristal de diamante. Se obtuvieron los espectros en la región infrarroja, entre 4000  $\text{cm}^{-1}$  y 400  $\text{cm}^{-1}$ , comparando los datos espectrales de las muestras encapsuladas con los de la arginina y los materiales de pared, a fin de identificar los grupos funcionales existentes.

### **Digestibilidad *In Vitro***

Para evaluar la digestibilidad *in vitro* de los sistemas encapsulados de cera:arginina se realizó mediante el método DAISY. Se establecieron tres



tiempos (1 h, 3 h y 5 h) con 3 repeticiones por tratamiento; en cada tiempo se tuvieron tres jarras de digestión. Se utilizaron bolsas de filtro F57 ANKOM previamente enjuagadas en acetona por 5 min y secadas completamente. Se registró el peso de cada bolsa y 0.5 g de muestra de cada sistema encapsulado. Se recolectaron 2000 mL de líquido ruminal de ovinos con una bomba de vacío a través de una fístula ruminal; dichos animales consumían una dieta a base de maíz y triticale. El líquido ruminal se guardó en un termo pre-calentado con agua a 30 °C. Después se prepararon soluciones buffer según se indica a continuación. La solución A contenía  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  10 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5 g/L,  $\text{NaCl}$  0.5 g/L,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1 g/L y urea 0.5 g/L, mientras que la solución B contuvo  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  15 g/L y  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1 g/L. Se precalentaron ambas soluciones buffer (A y B) a 39 °C, agregando ~266 mL de solución B a 1330 mL de solución A (proporción 1:5). La cantidad exacta de A a B se ajustó hasta obtener un pH final de 6.8 a 39 °C. A cada jarra de digestión se incorporaron 1600 mL de la mezcla combinada (A/B) y 400 mL de líquido ruminal. Entonces se purgó cada jarra con  $\text{CO}_2$ , se introdujeron las bolsas filtro con las muestras y se dejaron por 1, 3 y 5 h en la incubadora de DAISY® (ANKOM Technology, 2005).

Para calcular la digestibilidad *in vitro* total se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidad } In \text{ vitro} = \frac{100 - (W_3 - (W_1 \times C_1))}{W_2} \times 100$$

Donde:  $W_1$ = peso de la bolsa tara

$W_2$ = peso de la muestra



$W_3$ = peso final de la bolsa después de la digestión *in vitro*

$C_1$ = bolsa en blanco corregida

### **Análisis Estadísticos**

Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico SAS System v.9.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Se realizó el análisis de varianza y la comparación de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ). Los valores se reportaron como medias  $\pm$  desviación estándar.





## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización Morfológica

Las Figuras 1-4 y 5-8 muestran la morfología de los sistemas encapsulados con cera:arginina y Eudragit®:arginina, respectivamente. Ambos sistemas encapsulados presentaron tanto morfologías polihédricas regulares e irregulares (cristales) como esferas (microcápsulas). Los diámetros de las microcápsulas en las formulaciones cera:arginina 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1 fueron 8.46, 22.61, 48.73 y 52.27  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Gráfica 1). Como se aprecia, el diámetro de las microcápsulas se incrementó significativamente conforme aumentó la cantidad de cera. En la Gráfica 2 se muestran las áreas de los microcristales para el sistema de encapsulado Eudragit®:arginina, cuyos rangos estuvieron entre 3000 y 5000  $\mu\text{m}^2$ . Como se observa en las Figuras 5-8, existió una distribución muy heterogénea en el tamaño de los cristales. Debido a esta variabilidad probablemente no existieron diferencias estadísticas entre tratamientos a pesar de la diferencia en el área promedio. En el sistema encapsulado cera:arginina hubo mayor cantidad de microcapsulas en comparación con el sistema encapsulado Eudragit®:arginina. En las formulaciones 3:1 y 4:1 de cera:arginina se observó una mayor formación de microcápsulas en comparación con las demás formulaciones de cera:arginina. Los cristales muestran una superficie lisa y plana, cuyas caras fueron tanto

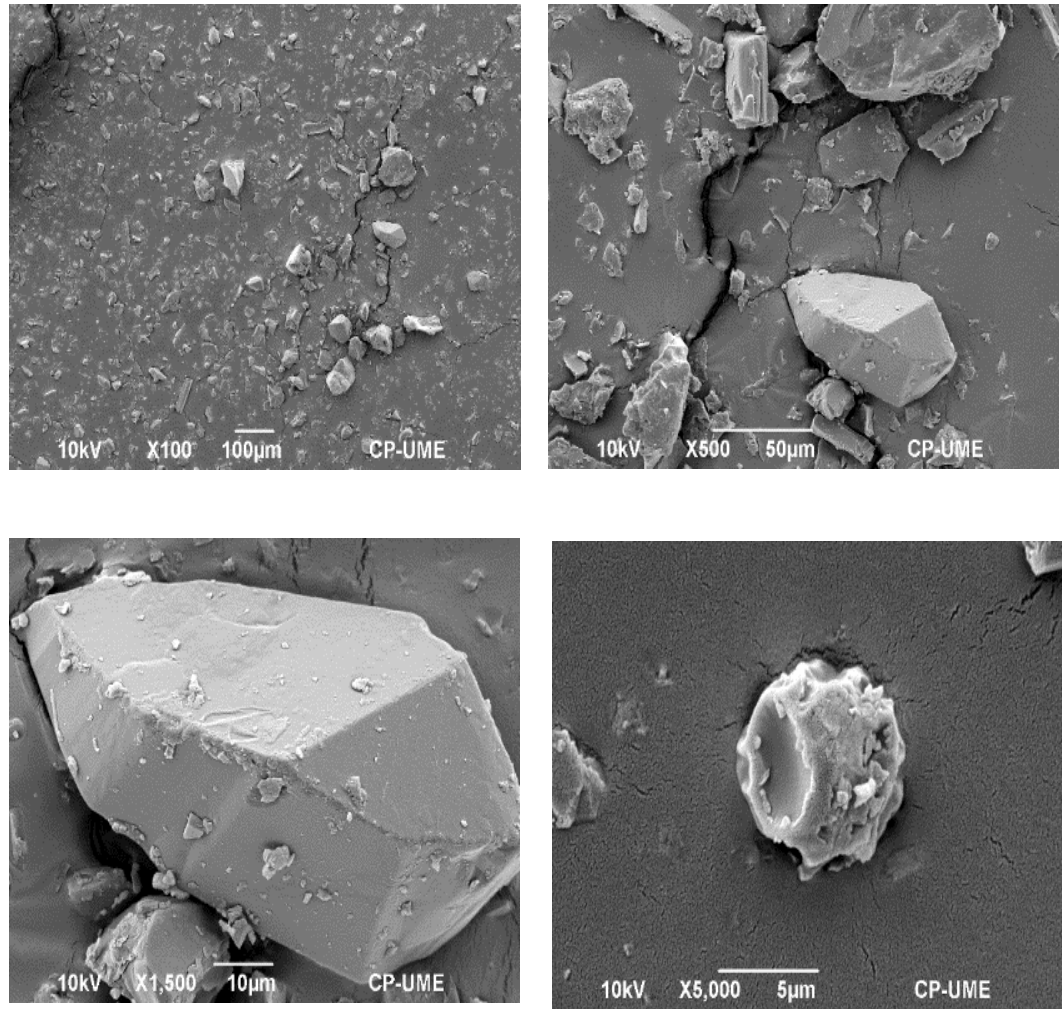


Figura 1. Micrográficas de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 1:1 cera:arginina.

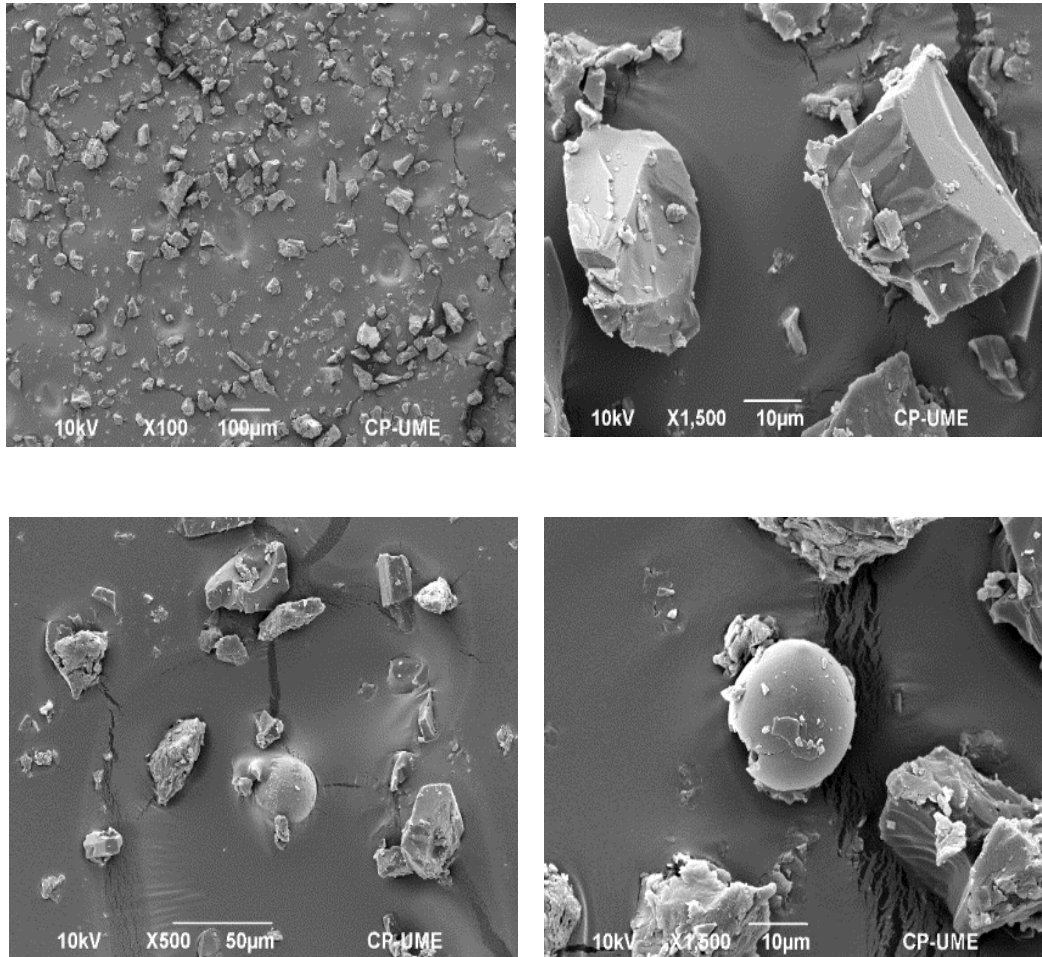


Figura 2. Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 2:1 cera:arginina.

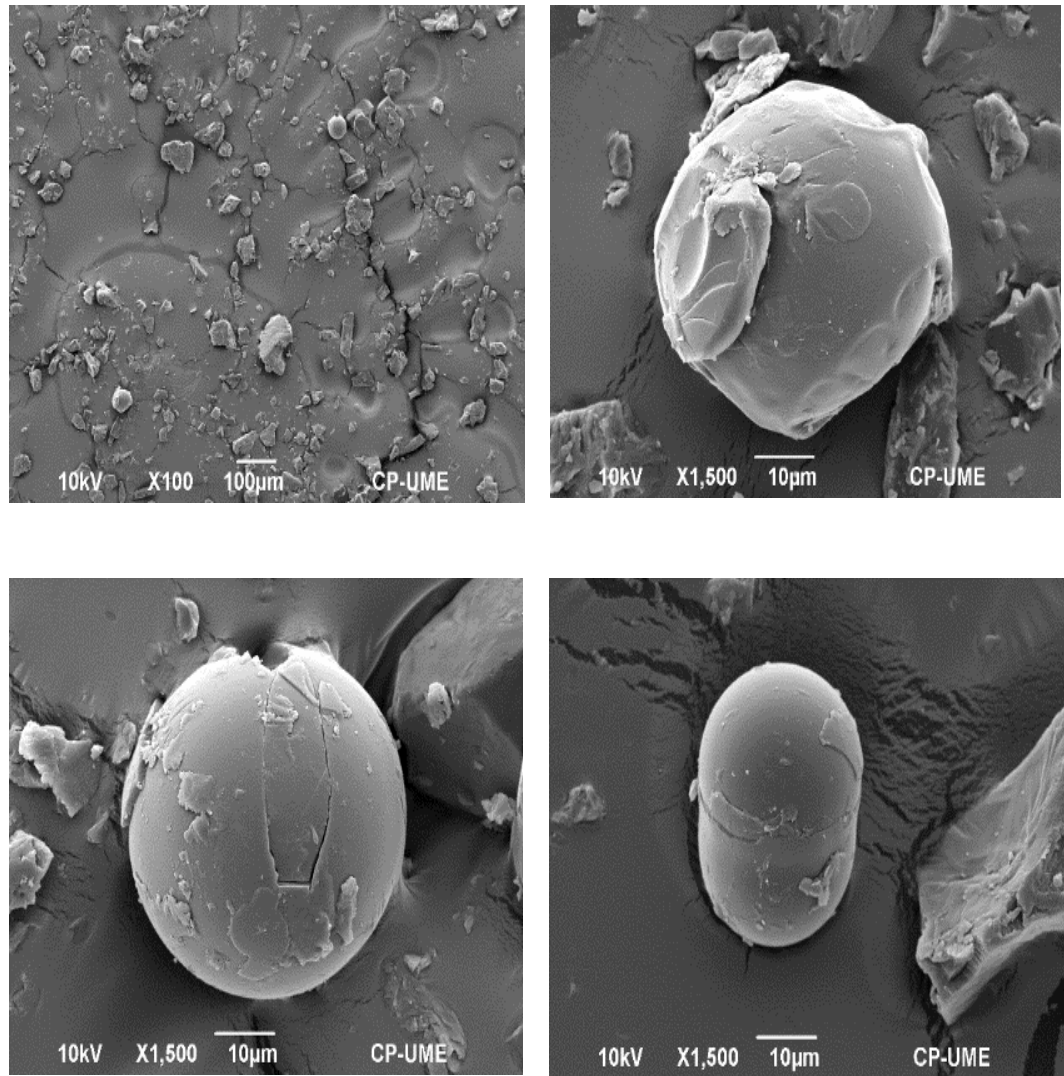


Figura 3. Micrográficas de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 3:1 cera:arginina.



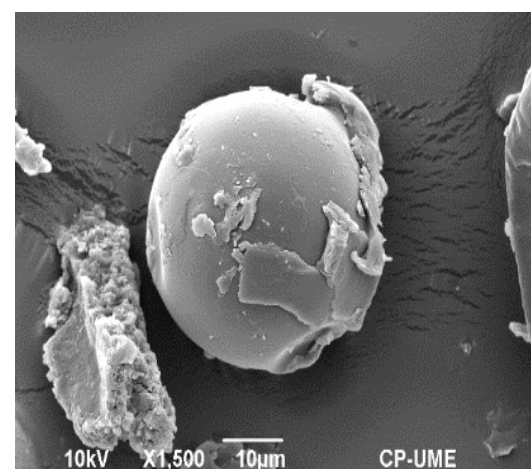
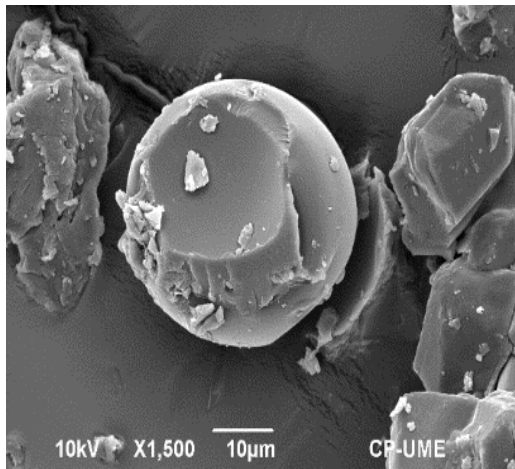
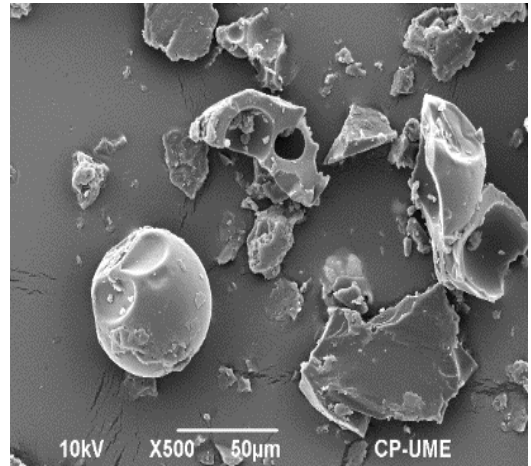
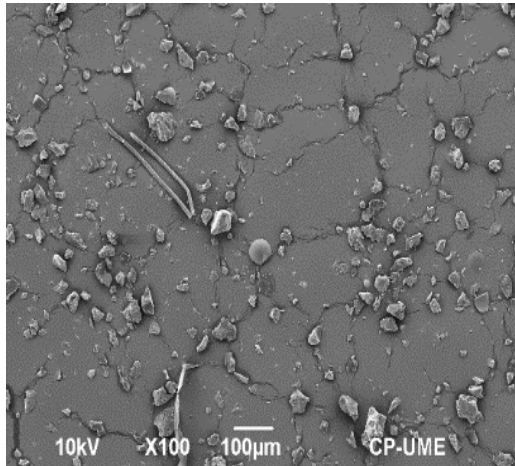


Figura 4. Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 4:1 cera:arginina .

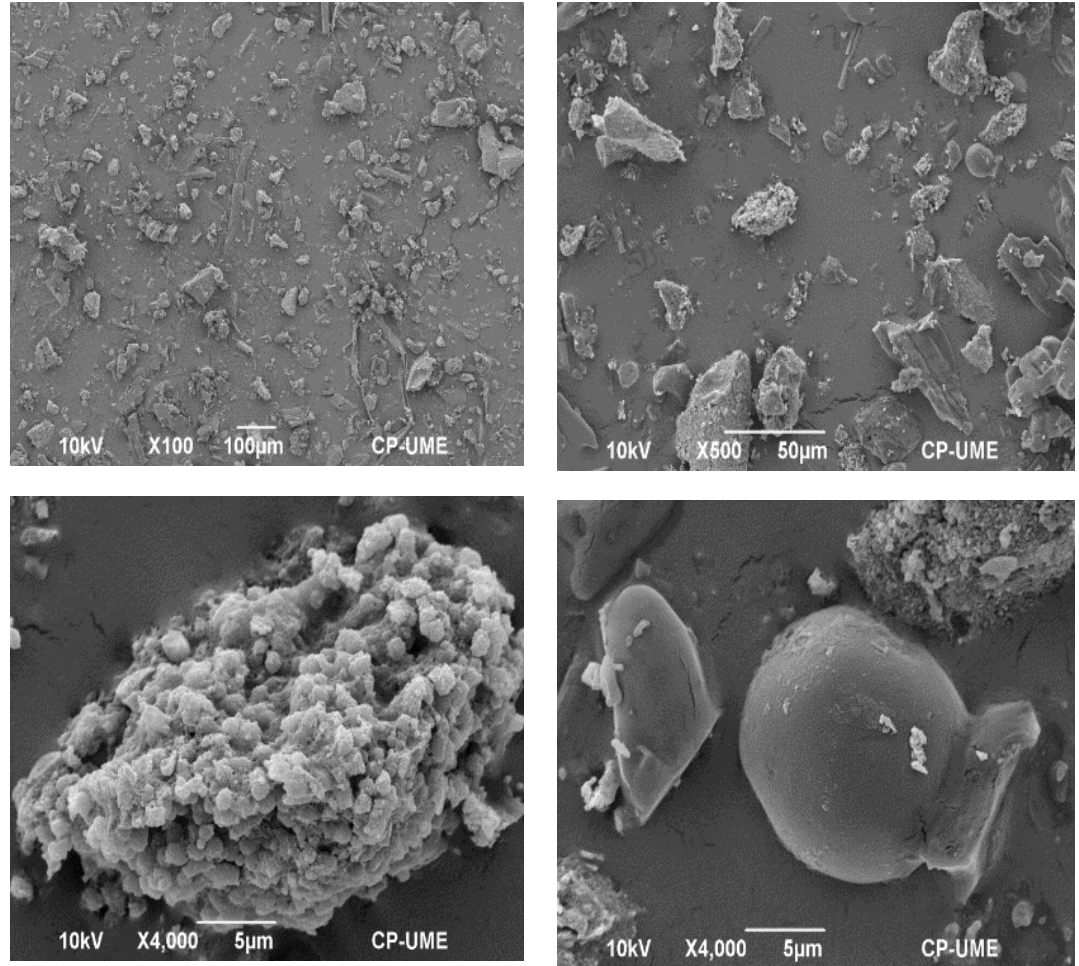


Figura 5. Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 30:70 Eudragit RL:RS: 500 mg arginina.

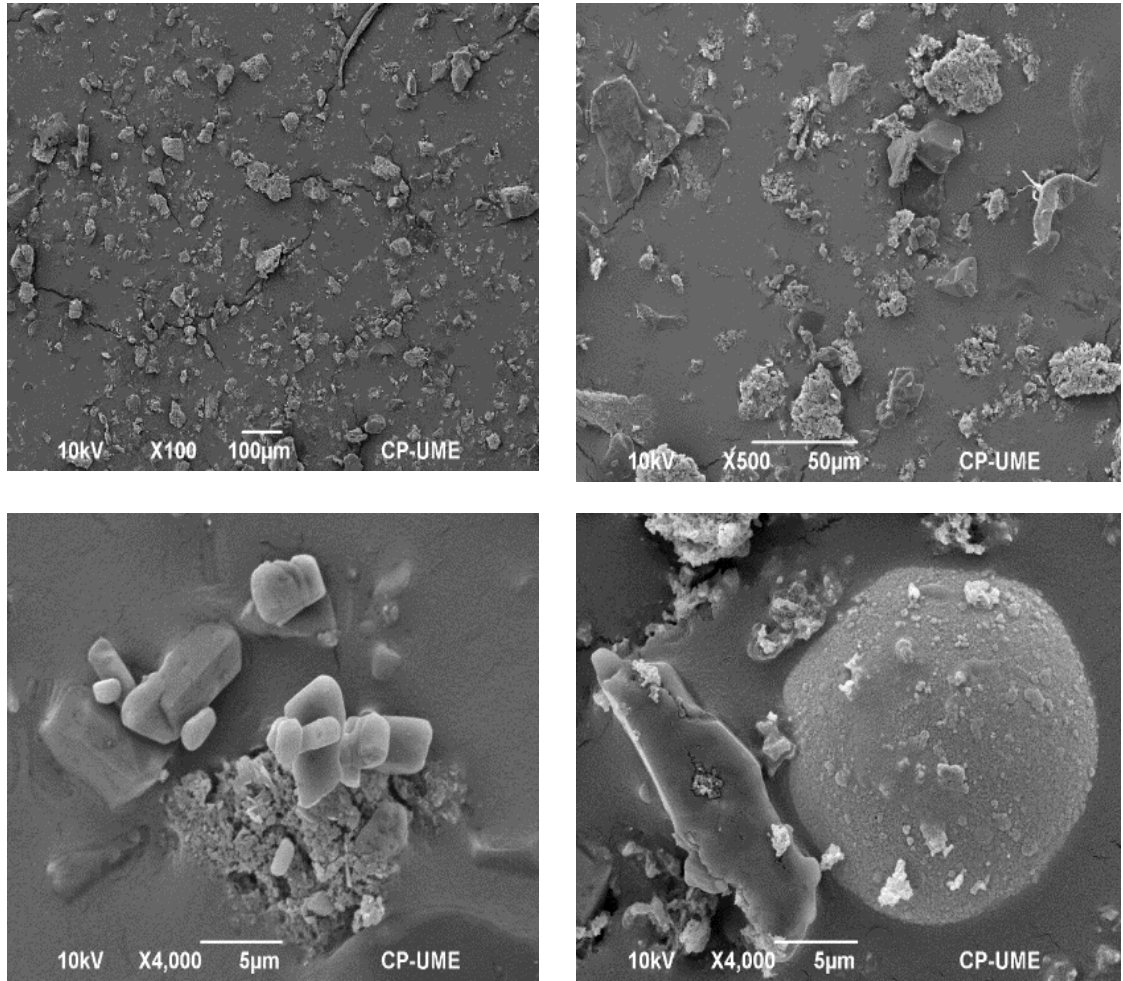


Figura 6. Micrográficas de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 30:70 Eudragit RL:RS: 1000 mg arginina.



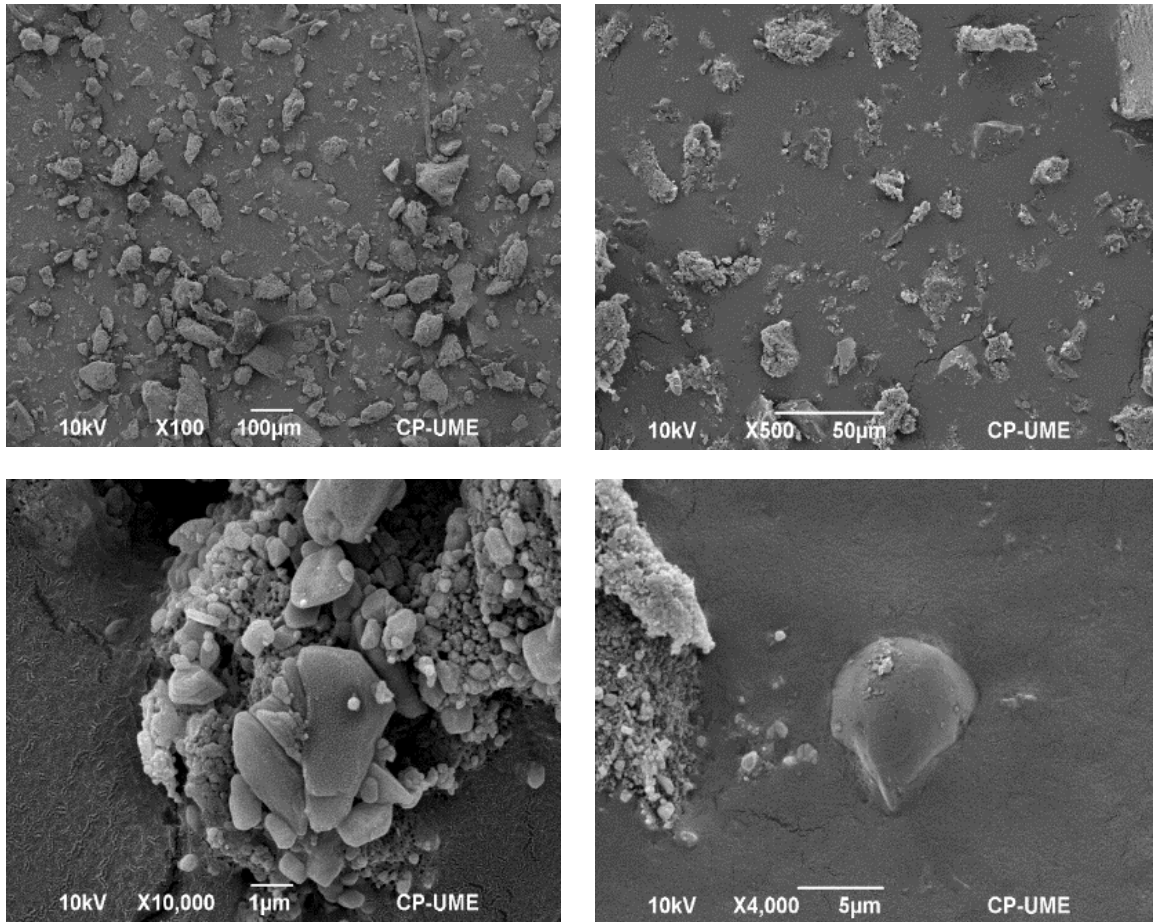


Figura 7. Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 40:60 Eudragit RL:RS: 500 mg arginina



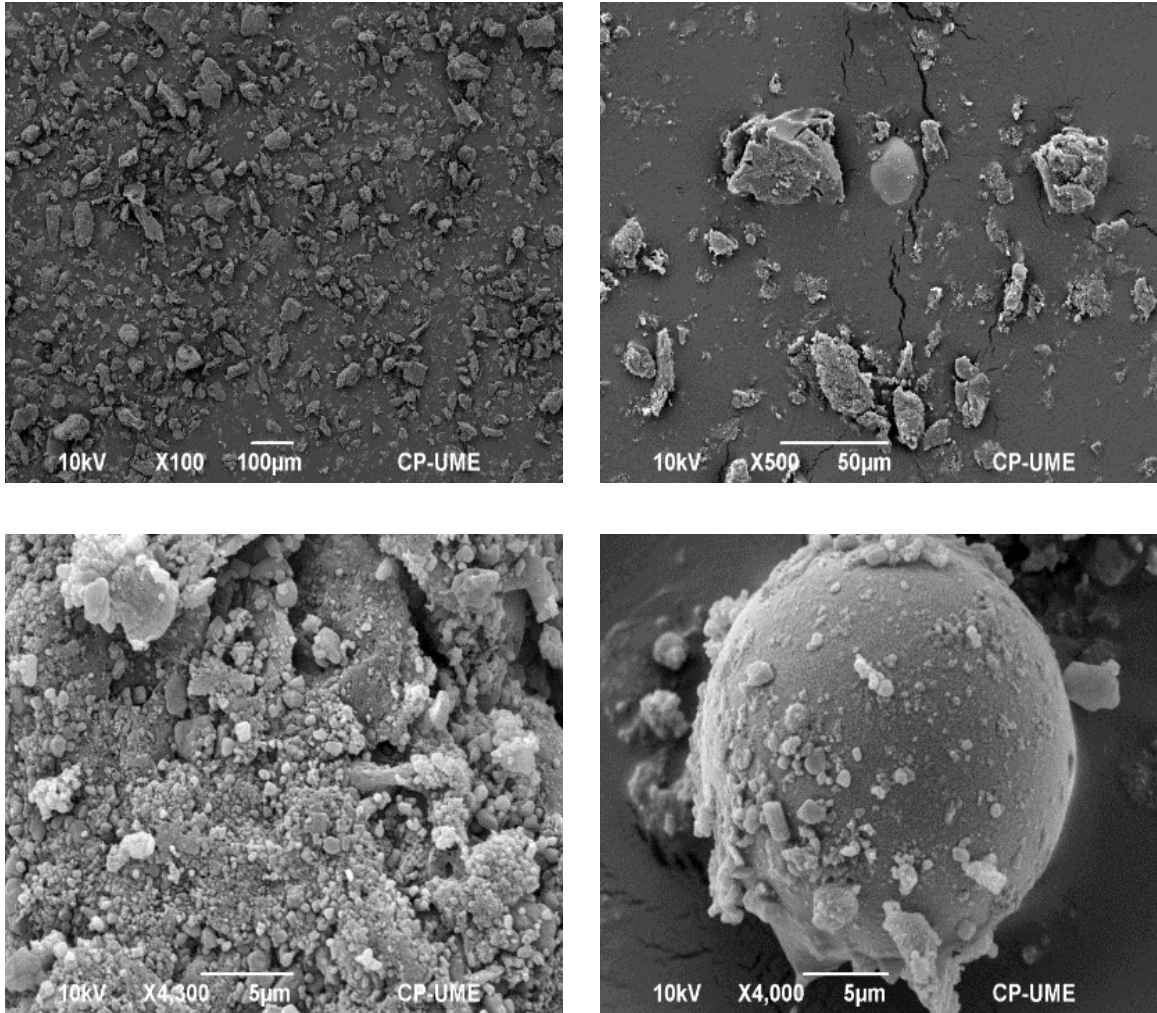
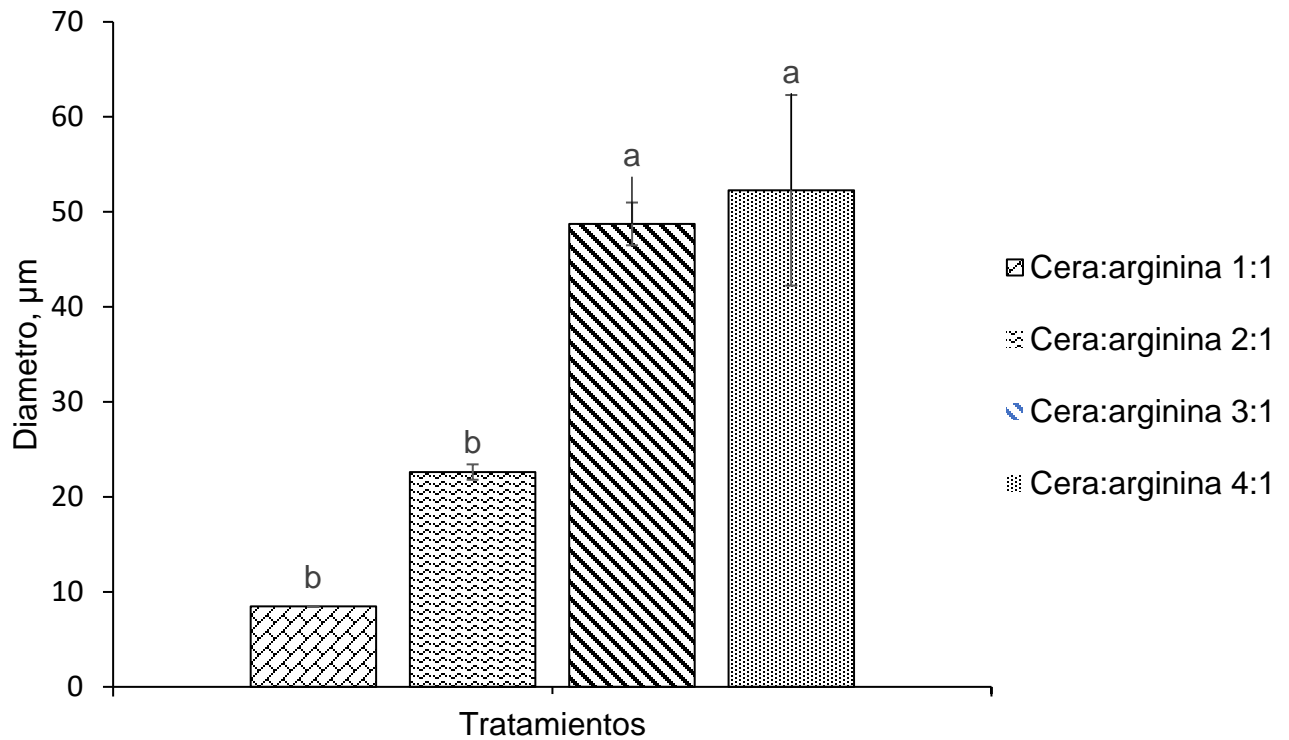
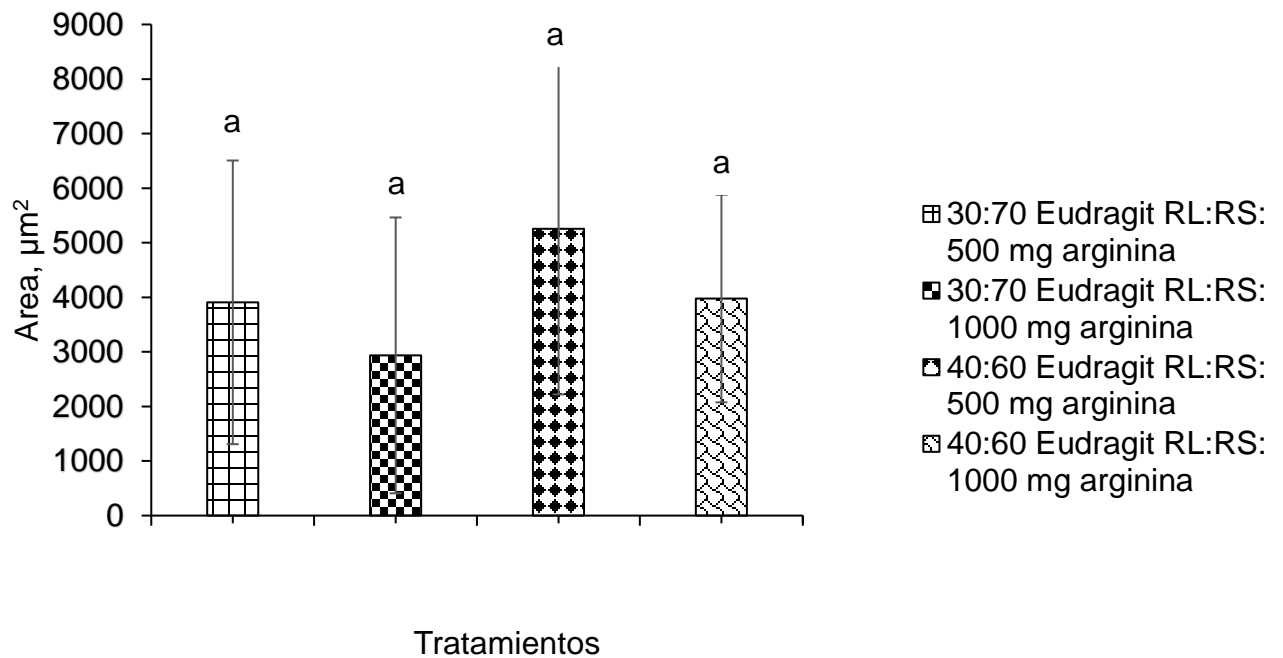


Figura 8. Micrografías de las microcápsulas sintetizadas a partir de la formulación 40:60 Eudragit RL:RS: 1000 mg arginina.



Gráfica 1. Diámetro de microsferas producidas a partir de cera de carnauba:arginina (n=15) por el método de emulsión por fundición. Letras diferentes indican diferencia estadística (medias de Tukey,  $P < 0.05$ ).



Gráfica 2. Área superficial de caras polihédricas en los cristales de Eudragit®:arginina producidos a partir del método de nanoprecipitación (n=15). Letras diferentes indican diferencia estadística (medias de Tukey,  $P < 0.05$ ).



regulares como irregulares. Las microcápsulas presentaron formas regulares esféricas, aunque algunas presentaron irregularidades en la superficie dando una apariencia de surco (o succión). Sin embargo, prevalecieron las superficies lisas y en algunos casos, agrietadas debido al proceso de trituración.

En el caso del sistema encapsulado Eudragit®:arginina se observaron en su mayoría cristales con superficie lisa, estructuras granuladas y algunas estructuras con estructura de microcápsulas esféricas.

Resultados semejantes a los nuestros han sido observados en diversas investigaciones. Milanovic *et al.* (2010) encapsularon etil vainilla en cera carnauba y obtuvieron microcápsulas con formas esféricas y superficies lisas, con diámetros promedio de hasta 300  $\mu\text{m}$ , que son extremadamente mayores a los obtenidos en la presenta investigación. La diferencia del tamaño de las microcápsulas puede deberse al proceso de obtención. En este caso, Milanovic *et al.* (2010) recolectaron las microcapsulas por filtración bajo una presión reducida, mientras que nosotros trituramos en un mortero hasta la obtención de un polvo bastante fino. En otro estudio, de Carvalho *et al.* (2019) encapsularon metionina en cera carnauba con proporciones cera carnauba:metionina de 2:1 y 4:1, respectivamente. Sus resultados mostraron sistemas encapsulados bastante similares a los nuestros. En este caso, presentaron cristales polihédricos regulares con superficies lisas y sin poros, muy similares al aminoácido cristalino pero embebidos en el polímero, el cual presenta formas polihédricas irregulares en su forma nativa.

Finalmente, Romero-Pérez *et al.*, (2010) encapsularon selenito de sodio con Eudragit®. Sus resultados mostraron la formación de partículas esféricas de



tamaño nanométrico, con una gran variación en el tamaño. En este caso, las morfologías diferentes a las de nuestra investigación pareciera deberse a la solubilidad del polímero en el disolvente y a la volatilidad del disolvente. Romero-Perez *et al.* (2010) destacaron una mejor solubilidad del polímero Eudragit® en acetona que en etanol. Los solutos se disuelven mejor en solventes con la mayor cantidad de similitudes moleculares, sin embargo, las moléculas del soluto deben ser suficientemente pequeñas como para ser rodeadas por el solvente, además de que una temperatura más alta aumenta la solubilidad. Aunque la sonicación pudo haber incrementado la velocidad de disolución, ésta no influye en la solubilidad de la sustancia. Por otro lado, la arginina posee una naturaleza bipolar, por lo que solamente la cadena lateral básica es muy polar.

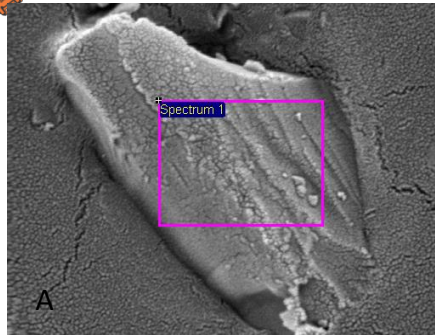
### **Caracterización Microelemental**

Los resultados del análisis de microelementos para los sistemas encapsulados se presentan en el Cuadro 3. El contenido de nitrógeno (N) disminuyó conforme aumentó la proporción de cera carnauba. Las formulaciones de Eudragit®:arginina con 1000 mg de arginina tuvieron un contenido mayor de nitrógeno en comparación con las formulaciones con 500 mg de arginina. El contenido de nitrógeno determinado por este método hace referencia al que se encuentra en superficie de las muestras y al que se encuentra hasta 1 mm de profundidad debido a la profundidad de penetración del haz de electrones lo cual no permite hacer evaluaciones en el centro de la muestra (Wolfgang, 2016). Además, es una determinación semicualitativa porque no se conoce el peso de la muestra. Consecuentemente, como se observa en la Figura 9 de los mapeos

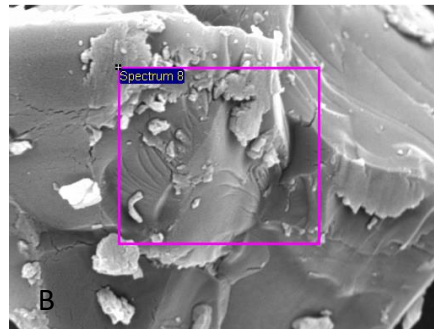


Cuadro 3. Cuantificación de nitrógeno en microcápsulas y microcristales de arginina producidos a partir de emulsión por fundición (cera de carnauba) y nanoprecipitación (Eudragit®), respectivamente

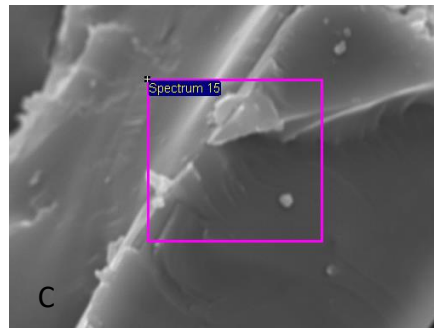
<b>Muestra</b>	<b>% Nitrógeno</b>
Eudragit RL:RS 30:70 500mg arginina	11-16
Eudragit RL:RS 30:70 1000mg arginina	14-18
Eudragit RL:RS 40:60 500mg arginina	26-32
Eudragit RL:RS 40:60 1000mg arginina	25-35
Cera:arginina 1:1	21-24
Cera:arginina 2:1	18-23
Cera:arginina 3:1	12-16
Cera:arginina 4:1	18-21



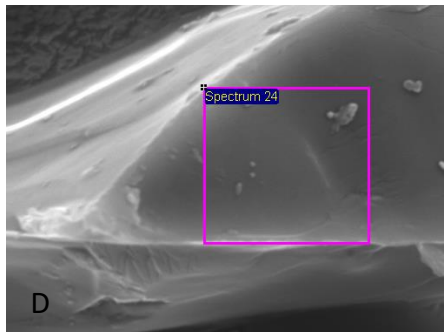
Element	Weight%	Atomic%
N K	32.49	45.69
O K	24.86	30.61
Cl K	42.66	23.70
Totals	100.00	



Element	Weight%	Atomic%
C K	45.96	58.01
N K	22.31	24.14
O K	10.30	9.76
Cl K	18.40	7.87



Element	Weight%	Atomic%
C K	42.10	52.55
N K	26.59	28.45
O K	11.21	10.50
Cl K	20.10	8.50



Element	Weight%	Atomic%
C K	38.15	47.05
N K	30.68	32.44
O K	14.74	13.64
Cl K	16.43	6.87

Figura 9. Mapeo microelemental en las formulaciones cera:arginina con proporciones 1:1 (A), 2:1 (B), 3:1 (C) y 4:1 (D).



de los microelementos presentes en los sistemas encapsulados cera:arginina, el nitrógeno (haciendo referencia a la arginina) se encuentra presente tanto dentro como fuera de las microcápsulas. En ambos sistemas encapsulados (Figuras 9 y 10) se encuentran presentes los elementos C, N, O y Cl, los cuales forman parte de la composición de la cera carnauba, Eudragit® y arginina (de Freitas *et al.*, 2019; Singh *et al.*, 2015).

Con el uso de otras técnicas como Kjeldahl, Carvalho *et al.*, (2019) reportaron un contenido de nitrógeno de 14.6 y 14.8 % en cápsulas de urea:cera de abeja, proporciones 1:2 con azufre y 1:2 sin azufre, respectivamente. Estos contenidos de N son bastante menores a los reportados en la presente investigación. La técnica de EDS podría estar sobreestimando el contenido de N, por lo que debe ser tomada con cautela al revelar una distribución heterogénea del nitrógeno presente en la muestra. de Carvalho-Neto *et al.*, (2019) encapsularon metionina en cera carnauba en proporciones 1:2 y 1:4; ellos reportaron un contenido de nitrógeno de 3.09 y 1.82 %, respectivamente. De Medeiros *et al.* (2019) encapsularon urea en cera carnauba en proporciones 1:2, 1:3 y 1:4, resultando un contenido de nitrógeno de 14.8 %, 11.1 % y 8.63 % respectivamente.

Nuestros resultados difieren de los reportados en la literatura consultada debido a que la técnica de EDS reporta la presencia de nitrógeno de forma semicualitativa en un área determinada de la superficie de las cápsulas y/o cristales, esto significa que el resultado obtenido en porcentaje en peso solo



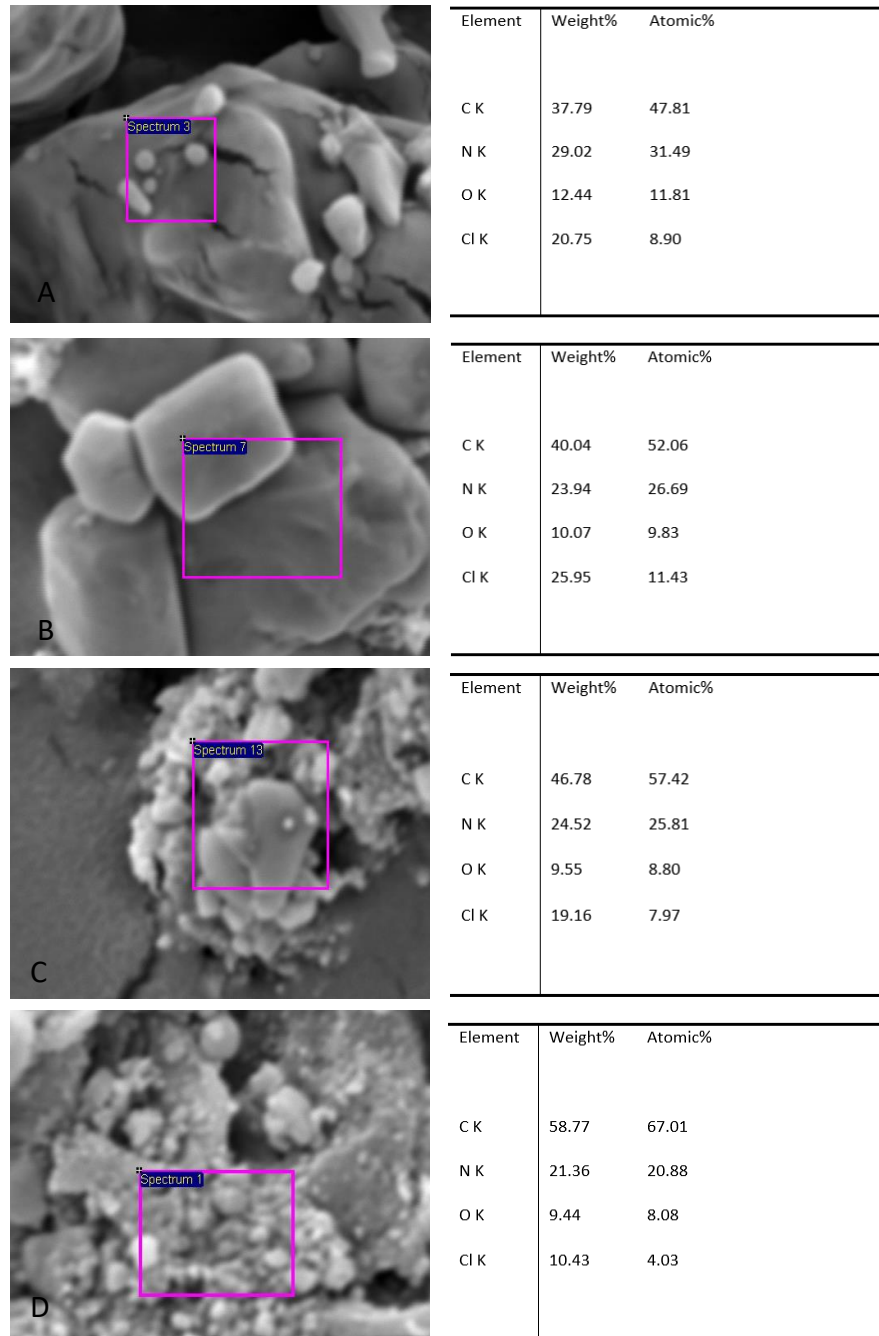


Figura 10. Mapeo microelemental en las formulaciones 1000 mg Eudragit® RL:RS con proporciones 30:70 y 500 mg (A) o 1000 mg de arginina (B), y 1000 mg Eudragit® RL:RS con proporciones 40:60 y 500 mg (C) o 1000 mg de arginina (D).



indica una concentración relativa de dicho elemento ya que no se cuenta con el peso de la muestra (Wolfgong, 2016). Además, el límite de detección de elementos minoritarios está entre 0.1-1 % en peso de fracción de masa mínima detectable, por lo que la técnica de EDS puede constituir una limitante cuando el elemento de interés se encuentra en cantidades suficientemente bajas como para ser detectado.

### **Análisis Composicional**

En las Figuras 11 y 12 se muestran las principales bandas de absorción para los sistemas encapsulados cera:arginina y Eudragit®:arginina. Las principales bandas de absorción en arginina aparecen entre 2600-3500 y 1634-174  $\text{cm}^{-1}$ . En este caso, las bandas producidas en 3238  $\text{cm}^{-1}$ , 3097  $\text{cm}^{-1}$  y 2879  $\text{cm}^{-1}$  están asociadas con la absorción de uniones N-H, O-H y C-H, respectivamente, características de los grupos funcionales amino y ácido carboxílico en aminoácidos. La arginina es un aminoácido polar básico (positivo), por lo que la cadena lateral guanidino contiene enlaces N-H. La forma ancha de la banda (entre 2600-3500  $\text{cm}^{-1}$ ) en el espectro de arginina corrobora los enlaces O-H característicos de los grupos ácido carboxílico de la arginina. Las bandas de absorción en 1634  $\text{cm}^{-1}$ , 1639  $\text{cm}^{-1}$  y 1674  $\text{cm}^{-1}$  están asociadas con las uniones C=O del grupo funcional carbonilo, presente en el grupo ácido carboxílico de la arginina. En este caso, las uniones fuertemente polares producen bandas más fuertes, tal que la banda para el grupo carbonilo es intensa y estrecha. El rango entre 600  $\text{cm}^{-1}$  y 1400  $\text{cm}^{-1}$  corresponde con la región de huella dactilar, un área compleja con muchas bandas que se superponen entre sí y asociadas con las uniones C-C, C-O y C-N. Para la cera de carnauba observamos dos regiones de

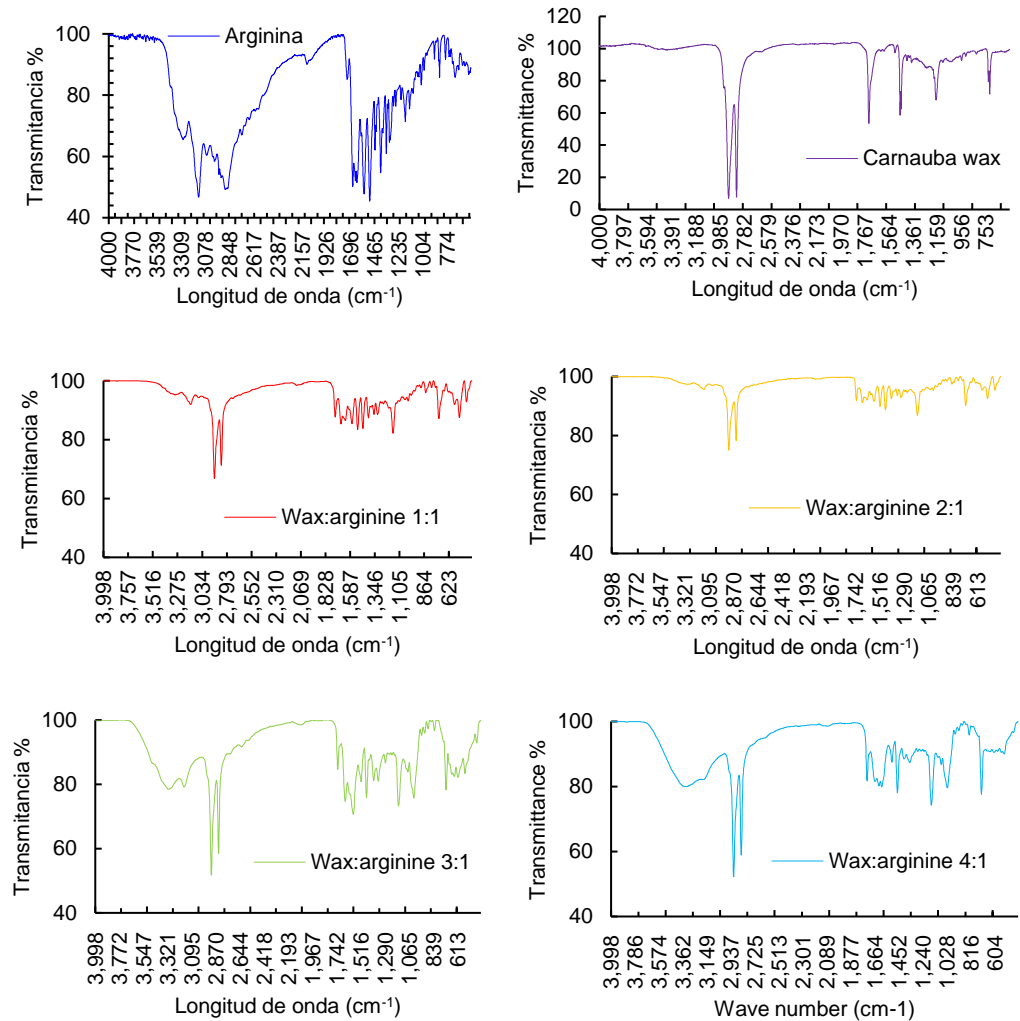


Figura 11. Espectros infrarrojos de arginina, cera de carnauba y microcápsulas cera de carnauba:arginina en proporciones 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1, sintetizadas por el método de emulsión por fundición.

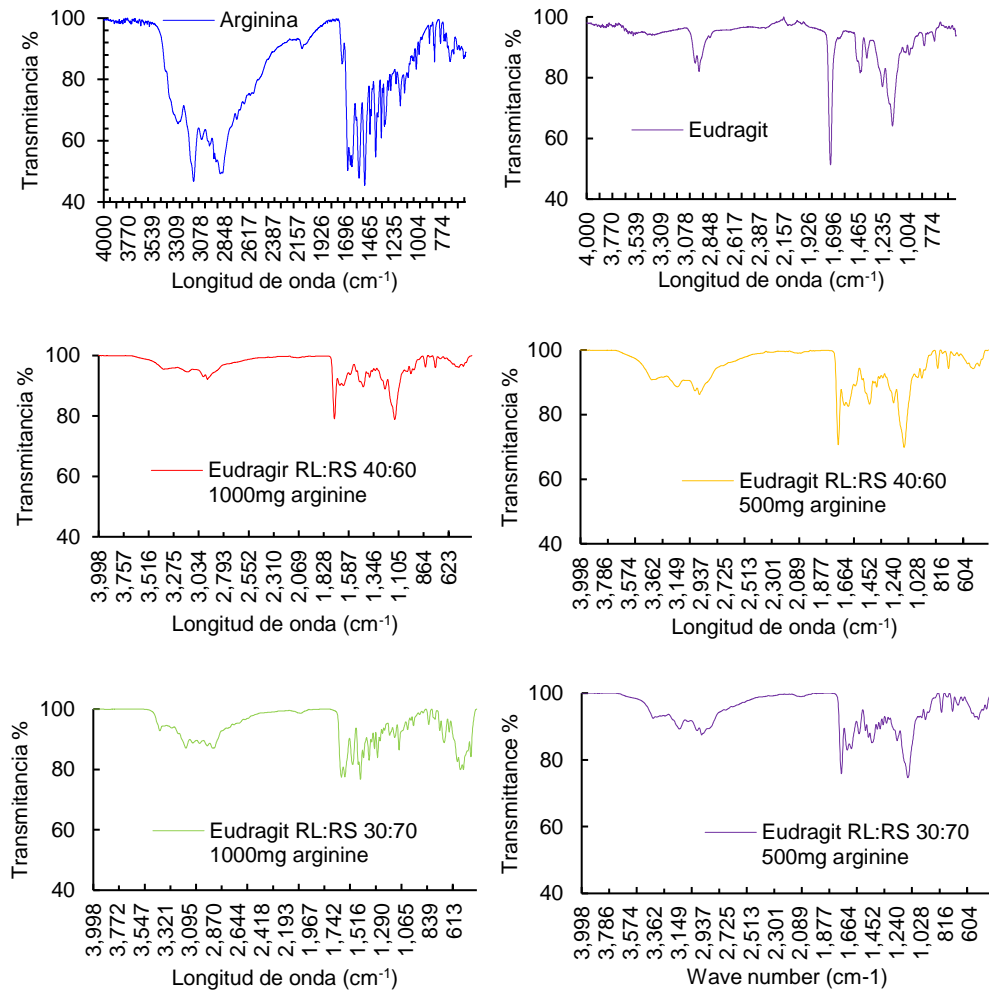


Figura 12. Espectros infrarrojos de arginina, Eudragit® y microcápsulas de Eudragit® RS:RL 40:60 1000 y 500 mg de arginina, y Eudragit® RS:RL 30:70 1000 y 500 mg de arginina, sintetizadas por el método de nanoprecipitación.



absorción. La región entre 2700 y 3500 contiene fuertes bandas de absorción en  $2913\text{ cm}^{-1}$  y  $2846\text{ cm}^{-1}$ , características de vibraciones de estiramiento C-H en alcanos. La cera de carnauba contiene entre 1-3 % de hidrocarburos, por lo que el grupo funcional alcano está asociado con su composición. La absorción en  $1734\text{ cm}^{-1}$  parece estar asociada con la unión C=O, grupo funcional en ésteres de ácidos grasos, componente mayoritario de la cera de carnauba. Las bandas en  $1470\text{ cm}^{-1}$  y  $1473\text{ cm}^{-1}$  también están asociadas con las flexiones C-H. En los espectros infrarrojo de las microcápsulas sintetizadas con proporciones 1:1 y 2:1 de cera:arginina se aprecia una atenuación fuerte en las bandas de absorción de la arginina. Lo cual sugiere que la arginina se encuentra encapsulada y recubierta por la cera de carnauba. Contrariamente, las proporciones 3:1 y 4:1 de cera de carnauba:arginina produjeron espectros de infrarrojo con bandas de absorción menos atenuadas. En este caso, con la alta proporción de cera se esperarían bandas de absorción mucho menos intensas para la arginina. Este comportamiento sugiere menos eficiencia en la encapsulación de arginina. Los resultados obtenidos en el análisis microelemental corroboran este comportamiento (Cuadro 3).

Guimarães-Inácio *et al.*, (2018) encapsularon aceite de chia en cera carnauba para evaluar su estabilidad térmica. Sus análisis de infrarrojo encontraron que las bandas características del aceite de chía se encontraban atenuadas en las micropartículas cargadas con el aceite, indicando que el aceite



estaba dentro de las micropartículas. Resultados similares también fueron descritos por de Carvalho et al. (2019), quienes microencapsularon urea en cera carnauba desarrollando dos formulaciones de sistemas microencapsulados con proporciones (p/p) entre el núcleo (urea) y el encapsulante (cera de abeja) de 1:2. sin fuente de azufre, y 1:2 con sulfato de magnesio heptahidratado como fuente de azufre. Las bandas de absorción para la urea aparecieron entre  $3428\text{ cm}^{-1}$  y  $3330\text{ cm}^{-1}$ , para N-H, mientras que para la cera de carnauba las bandas aparecieron entre  $2915\text{ cm}^{-1}$  y  $2847\text{ cm}^{-1}$  para C-H. En el sistema encapsulado, las bandas entre  $3429\text{ cm}^{-1}$  y  $3332\text{ cm}^{-1}$  mostraron cambios con respecto a la urea, mostrando un desplazamiento a una región baja que indicaba la interacción del grupo N-H con H, pues la urea tiende a formar interacciones (puentes de hidrogeno). Debido a esta baja reactividad la cera es adecuada para encapsular urea. Huo *et al.* (2020) encapsularon cera de parafina con bajo punto de fusión en una resina de urea-formaldehído para preparar un nuevo material de cambio de fase microencapsulado (Micro-P6). Las bandas de absorción en  $3360\text{ cm}^{-1}$  y  $1660\text{ cm}^{-1}$  son producidas por los enlaces N-H y C=O en el pre-polímero, y las bandas de absorción en  $2924\text{ cm}^{-1}$  y  $2854\text{ cm}^{-1}$  por el enlace C-H en la cera parafina. Por lo tanto, ambos materiales están presentes en el microencapsulado Micro-P6.

El espectro de absorción del Eudragit® revela bandas de absorción  $2948\text{ cm}^{-1}$  y  $2984\text{ cm}^{-1}$ , asociadas con las uniones C-H, así como en  $1721\text{ cm}^{-1}$  y  $1443\text{ cm}^{-1}$ , asociadas al grupo carbonilo C=O y perteneciente al grupo de los ácidos carboxílicos. Al ser un polímero acrílico, el Eudragit® contiene estos grupos



funcionales en su composición. En cuanto a los espectros de absorción de los encapsulados de Eudragit®, podemos observar un comportamiento similar que con el sistema cera carnauba:arginina. En este caso, las bandas de absorción más atenuadas fueron las de sistema Eudragit® RL:RS 40:60 1000 mg de arginina, sugiriendo que la arginina estaba protegida por el polímero. Los demás sistemas presentan bandas similares, excepto el Eudragit® RL:RS 40:60 1000 mg de arginina, en el que las bandas entre  $1634\text{ cm}^{-1}$  y  $1674\text{ cm}^{-1}$  asociadas con el grupo C=O de la arginina evidencian menor eficiencia en la encapsulación. Es decir, que en los sistemas Eudragit® RL:RS 40:60 500 mg de arginina y Eudragit® RL:RS 30:70 500 mg de arginina tenemos una eficiencia intermedia en la encapsulación. Kashif *et al.* (2017) encapsularon ropirinol en Eudragit® RS 100. Estos investigadores reportaron bandas de absorción entre  $1725$  y  $1145\text{ cm}^{-1}$  para el polímero. Estas bandas son bastante semejantes a las observadas en la presente investigación.

### **Digestibilidad *In Vitro***

La digestibilidad *in vitro* de las formulaciones cera:arginina y arginina pura se muestran en el Cuadro 4. Las formulaciones cera:arginina 2:1 y 3:1 son las que presentaron menor degradabilidad a las 5 h (40.7 y 21.26 %, respectivamente), en comparación con la degradabilidad del 100 % de arginina sin protección. Esto sugiere la protección y liberación controlada de los sistemas encapsulados estudiados. Sin embargo, después de 1 h la formulación cera:arginina 4:1 (tratamiento con mayor cantidad de cera) presentó mayor degradabilidad; esto parece deberse al mayor tamaño de partícula. De acuerdo con lo reportado por de Medeiros *et al.* (2019), las cápsulas de urea en cera



Cuadro 4. Digestibilidad in vitro de microcapsulas de las formulaciones cera:arginina y arginina

Tratamiento	1 h*	3 h**	5 h *
Cera:arginina 1:1	42.74 <sup>c</sup> ±1.42	34.5 <sup>c</sup> ±.11	47.12 <sup>b</sup> ±.2
Cera:arginina 2:1	22.27 <sup>d</sup> ±.05	25.86 <sup>d</sup> ±.41	40.7 <sup>c</sup> ±.12
Cera:arginina 3:1	15.94 <sup>e</sup> ±.79	11.81 <sup>e</sup> ±.07	21.26 <sup>d</sup> ±1.75
Cera:arginina 4:1	46.14 <sup>b</sup> ±.09	41.8 <sup>b</sup> ±12.94	41.77 <sup>c</sup> ±4.25
Arginina	97.77 <sup>a</sup> ±.17	97.9 <sup>a</sup> ±.52	100 <sup>a</sup>

\* (P < 0.0001)

\*\* (P = 0.0002)





carnauba con tamaños de partícula grandes presentan mayor degradabilidad que las de tamaño pequeño. Relacionado con esto, las partículas más grandes presentan una menor área superficial en comparación con las pequeñas, por lo que son más fácilmente degradadas durante la digestibilidad *in vitro*. Resultados similares fueron descritos por Carvalho *et al.* (2019), quienes microencapsularon urea en cera de abeja en proporciones 1:2 y 1:2 + azufre. Sus resultados mostraron que el sistema encapsulado 1:2 sin azufre tuvo mejor contenido de urea y mejor liberación controlada comparado con el sistema con azufre. En otro estudio, Carvalho *et al.* (2019) diseñaron dos sistemas encapsulados para metionina con proporciones 2:1 y 4:1 cera de carnauba:metionina. Estos investigadores reportaron la degradación ruminal de 17 % y 16.3 % para los sistemas 2:1 y 4:1, respectivamente, en comparación con la metionina pura sin encapsular, la cual se degradó en un 100 %, evidenciando la capacidad de protección del aminoácido.

En otros estudios como el de da Silva *et al.* (2023), la encapsulación de urea en cera carnauba y cera de abeja en proporciones 2:1 (cera:urea), con o sin presencia de azufre, produjeron valores de urea en sangre menores en todos los sistemas encapsulados en comparación con la urea libre sin encapsular. La liberación controlada de la urea en el rumen de los ovinos indicó una menor degradación de la urea encapsulada en rumen.

En el estudio realizado por de Lima *et al.* (2023) produjeron grasa protegida encapsulando aceite de butíri en cera de carnauba. Las concentraciones evaluadas fueron 10, 20 y 30 % (p/p), a fin de indagar su degradabilidad en rumen de ovinos. La concentración de 10 % presentó los



valores más bajos de degradabilidad en todos los tiempos de incubación, seguida 20 % y 30 %.

Finalmente, en el estudio de Carvalho *et al.* (2019) encapsularon urea en cera de abeja con una proporción de 2:1 (cera:urea), con o sin azufre. Ellos evaluaron la liberación controlada en rumen de ovinos de tres concentraciones de urea encapsulada: 1.5%, 3% y 4.5 %. Los valores más bajos de digestibilidad se observaron con la concentración de 1.5 %.



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La encapsulación de arginina bajo los sistemas de emulsión por fundición y nanoprecipitación pueden ser eficientemente implementados como métodos de protección. Los estudios de degradabilidad *in vitro* son altamente variables. Aunque la arginina parece estar completamente protegida, otros factores como el tamaño de partícula influyen notablemente en la degradabilidad debido al área superficial expuesta. Además, se debe mejorar la eficiencia en la producción de microcápsulas y microcristales. Estudios futuros deben enfocarse a mejorar las técnicas de encapsulación considerando la solubilidad de los materiales de pared y la compatibilidad química con el ingrediente a encapsular, en este caso la naturaleza polar básica debida al grupo guanidino, así como las condiciones de la técnica de digestibilidad *in vitro*.



## LITERATURA CITADA

- ANKOM Technology. 2005. In: vitro true digestibility using the DAISY II incubator. ANKOM Technol., Macedon, NY. [https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/Method\\_3\\_Invitro\\_D200\\_D200I.pdf](https://www.ankom.com/sites/default/files/document-files/Method_3_Invitro_D200_D200I.pdf).
- Carvalho, A. de B., A.L. da Silvaa, A.M. de A. Silvaa, A.J. Nettoa, T.T.B. de Medeirosa, J.M. Araújo Filhoa, D.L. da S. Agostinib, D.L.V. de Oliveirac, S.E. Mazzettoc, L.R.V. Kotzebuec, J.R. Oliveirac, R. L. O., & Bezerraa, L. R. (2019). Effect of slow-release urea microencapsulated in beeswax and its inclusion in ruminant diets. *Small Ruminant Research*, 179(June), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.09.005>
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Castillo-lopez, E., & Domínguez-Ordóñez, M. G. (2019). Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microinamada. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(1), 120–148. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4547/4036>
- da Silva, A. C. C., Bezerra, L. R., de Lima, J. A. M., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Filho, J. M. P., de Oliveira, J. P. F., & da Silva, A. L. (2023). Lipid microspheres of different waxes containing urea enriched with a sulfur source for slow release in the rumen. *Small Ruminant Research*, 228(January). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107104>
- de Carvalho-Neto, J. P., Bezerra, L. R., da Silva, A. L., de Moura, J. F. P., Pereira Filho, J. M., da Silva Filho, E. C., Guedes, A. F., Araújo, M. J., Edvan, R. L., & Oliveira, R. L. (2019). Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, 228(July), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.024>
- de Freitas, C. A. S., de Sousa, P. H. M., Soares, D. J., da Silva, J. Y. G., Benjamin, S. R., & Guedes, M. I. F. (2019). Carnauba wax uses in food – A review. *Food Chemistry*, 291(December 2018), 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.133>
- de Lima, J. A. M., Bezerra, L. R., Feitosa, T. J. d. O., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Pereira Filho, J. M., Oliveira, R. L., de Oliveira, J. P. F., & da Silva, A. L. (2023). Production, characterization, and dietary supplementation effect of rumen-protected fat on ruminal function and blood parameters of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 55(3), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03563-x>
- de Medeiros, T. T. B., de Azevedo Silva, A. M., da Silva, A. L., Bezerra, L. R., da Silva Agostini, D. L., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Kotzebue, L. R. V., Oliveira, J. R., Souto, G. S. B., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., &



- Oliveira, R. L. (2019). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9275>
- Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., & Filomena Barreiro, M. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. In *Food and Function*. [www.rsc.org/foodfunction](http://www.rsc.org/foodfunction)
- Guimarães-Inácio, A., Francisco, C. R. L., Rojas, V. M., Leone, R. de S., Valderrama, P., Bona, E., Leimann, F. V., Tanamati, A. A. C., & Gonçalves, O. H. (2018). Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. *LWT - Food Science and Technology*, 87(December), 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.031>
- Huo, J. H., Peng, Z. G., & Feng, Q. (2020). Synthesis and properties of microencapsulated phase change material with a urea–formaldehyde resin shell and paraffin wax core. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(16), 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.48578>
- Kamalak, A., Canbolat, Ö., Gürbüz, Y., & Özey, O. (2005). Protected Protein and Amino Acids in Ruminant Nutrition. *KSU. Journal of Science and Engineering*, 8(2), 2005.
- Kashif, P. M., Madni, A., Ashfaq, M., Rehman, M., Mahmood, M. A., Khan, M. I., & Tahir, N. (2017). Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1810–1822. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0653-5>
- Milanovic, J., Manojlovic, V., Levic, S., Rajic, N., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2010). Microencapsulation of flavors in carnauba wax. *Sensors*, 10(1), 901–912. <https://doi.org/10.3390/s100100901>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>
- Niu, H. X., Chang, J., & Jia, Y. D. (2015). Microencapsulation of crystalline-methionine enclosed with gelatine and sodium alginate by spray-drying. *Materials Research Innovations*, 19(April), S5257–S5262. <https://doi.org/10.1179/1432891714Z.0000000001088>
- Piva, A., Pizzamiglio, V., Morlacchini, M., Tedeschi, M., & Piva, G. (2007). Lipid microencapsulation allows slow release of organic acids and natural identical flavors along the swine intestine. *Journal of Animal Science*, 85(2), 486–493. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-323>
- Romero-Pérez, A., García-García, E., Zavaleta-Mancera, A., Ramírez-Bribiesca, J. E., Revilla-Vázquez, A., Hernández-Calva, L. M., López-Arellano, R., & Cruz-Monterrosa, R. G. (2010). Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. *Veterinary Research Communications*, 34(1), 71–79. <https://doi.org/10.1007/s11259-009-9335-z>
- Singh, S., Neelam, Arora, S., & Singla, Y. (2015). An overview of multifaceted significance of eudragit polymers in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5), 1–6.



- Timilsena, Y. P., Haque, M. A., & Adhikari, B. (2020). Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(06), 481–508. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>
- Wolfgong, W. J. (2016). Chemical analysis techniques for failure analysis: Part 1, common instrumental methods. In *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Aerospace and Automotive Industries*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800950-5.00014-4>



## **CAPITULO II. SUPLEMENTACIÓN CON ARGININA MICROENCAPSULADA EN DIETAS DE BOVINOS Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE LA CARNE**



## RESUMEN

### SUPLEMENTACIÓN CON ARGININA MICROENCAPSULADA EN DIETAS DE BOVINOS Y SU EFECTO EN LA CALIDAD DE LA CARNE

POR:

M.C. GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ

Doctor in Philosophia en Producción Animal y Recursos Naturales

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la arginina protegida contra la degradación en rumen sobre la calidad fisicoquímica de carne vacuna (*L. lumbrorum*) madurada (empacada al vacío, 28 d, 4 °C, 80 % humedad) y almacenada en anaquel (7 d, 4 °C, empaque aeróbico). El estudio incluyó tres grupos raciales: Angus, Hereford y Angus x Hereford. Se utilizaron dos formulaciones de sistemas de encapsulación cera de carnauba:arginina, 3:1 y 2:1. También se incluyó un tratamiento de control sin adición de arginina. La arginina encapsulada con una proporción de 3:1 aumentó el enrojecimiento de *L. lumbrorum* (valor  $a^*$  de 19.66) a los 28 días de almacenamiento en comparación con el control (valor  $a^*$  de 16.77) mientras que la proporción 2:1 presentó valores de 18.55. La arginina encapsulada en una proporción de 3:1 mostró los valores más bajos de fuerza de corte de la carne (24.32 N) a los 28 días de maduración. El efecto de raza fue significativo en la dureza de la carne; en este caso, la raza Angus presentó los valores más bajos de esfuerzo de corte (24.02 N).





Finalmente, los valores más altos de porcentaje de grasa intramuscular en la carne (2.12 %) se observaron con la inclusión de arginina en proporción 3:1; la raza Angus presentó los valores más altos de grasa intramuscular (1.59 %), por lo que la disminución en dureza parece estar relacionada con esta variable. La adición de arginina encapsulada en cera de carnauba puede incrementar el color rojo, mejorar la ternura y el marmoleo de la carne bovina, mejorando la calidad de la carne.



## ABSTRACT

### MICROENCAPSULATION OF ARGININE AND ITS EFFECT ON BEEF

BY:

GERMÁN CONTRERAS LÓPEZ

The objective of this study was to evaluate the effect of arginine protected against degradation in the rumen on the physicochemical quality of matured beef (*L. lumbrorum*) (vacuum packed, 28 d, 4 °C, 80 % humidity) and stored on a shelf. (7 d, 4 °C, aerobic packing). The study included three racial groups: Angus, Hereford and Angus × Hereford. Two formulations of carnauba wax:arginine encapsulation systems were used, 3:1 and 2:1. A control treatment without the addition of arginine was also included. Arginine encapsulated with a ratio of 3:1 increased the redness of *L. lumbrorum* ( $a^*$  value of 19.66) at 28 days of storage compared to the control ( $a^*$  value of 16.77) while the 2:1 ratio presented values of 18.55. Encapsulated arginine in a ratio of 3:1 showed the lowest values of meat shear force (24.32 N) at 28 days of maturation. The effect of breed was significant on meat toughness; In this case, the Angus beef presented the lowest values of shear stress (24.02 N). Finally, the highest values of intramuscular fat percentage in meat (2.12 %) were observed with the inclusion of arginine in a 3:1 ratio; The Angus breed presented the highest values of intramuscular fat (1.59 %), so the decrease in hardness seems to be related to this variable. The addition of arginine encapsulated in carnauba wax can increase the red color, improve the tenderness and marbling of beef, improving the quality of the meat.



## INTRODUCCIÓN

El aumento en la población mundial durante los próximos años incrementará el consumo de alimentos, que en el caso de la carne se estima en 14% para 2030. Ante la necesidad de maximizar la deposición de tejido muscular en animales productores de carne, se aumentan las cantidades de proteína metabolizable en la dieta (MP). Sin embargo, esto supera el suministro de proteína requerida por el animal y a menudo sobrealimentando de proteína (Xue *et al.*, 2011; Broderick, 2018).

La inclusión de aminoácidos de sobrepaso en la dieta del ganado mejora el rendimiento en canal. Sin embargo, el complemento alimenticio con aminoácidos limita su degradación en rumen (Teixeira *et al.*, 2019). Predominantemente, los aditivos alimentarios para el ganado elevan los costos medioambientales y económicos, por ejemplo, la producción de gas metano. Ciertos ingredientes como los aminoácidos pueden ser protegidos mediante la encapsulación para mejorar la productividad animal. Por ejemplo, la suplementación con arginina en dietas para cerdos mejora la deposición de grasa intramuscular (FMI) y ácidos grasos (AG) (Ma *et al.*, 2015; Guo *et al.*, 2019) y mejora la expresión de genes relacionados con el crecimiento de fibras musculares y la acumulación de grasa en su interior (Choi *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2017). Esta mejora en la expresión génica conduce a una mayor calidad de la carne. Sin embargo, los efectos de la arginina sobre la calidad de la carne aún no están claros.

La microencapsulación implica embeber una sustancia en otro material mediante procesos físicos o mecánicos (Yang *et al.*, 2020). Los factores



ambientales como el oxígeno, el agua, el pH y las interacciones con otros ingredientes pueden afectar la estabilidad de los compuestos activos (Kumari *et al.*, 2020). Los procesos de encapsulación se utilizan en las industrias química, farmacéutica y alimentaria. Protegen los compuestos activos y consiguen una liberación controlada. También reducen la adherencia durante el almacenamiento y transporte y previenen cambios en las propiedades (Werner *et al.*, 2007). El proceso de encapsulación en la nutrición animal se ha introducido recientemente. Aunque es similar al proceso utilizado en la industria alimentaria, en la nutrición animal tiene el objetivo de mejorar la llegada de sustancias útiles a los intestinos, tal es el caso de ácidos grasos, aminoácidos, antioxidantes y enzimas, aunque también se pueden incluir microorganismos vivos como los probióticos (De-Vos *et al.*, 2010).

La cera de carnauba (*Copernicia prunifera*) ha demostrado encapsular eficazmente los aminoácidos y otros componentes nitrogenados, como la urea, contra la degradación microbiana ruminal, como nutrientes de bypass. Esto, debido a sus características hidrofóbicas. La cera de carnauba tiene como ventajas su alta disponibilidad en el mercado, bajo costo y no tóxica para los animales. Es un encapsulante muy utilizado en la industria médica, odontológica, automotriz y alimentaria (de Carvalho Neto *et al.*, 2019; de Medeiros *et al.*, 2018).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos del uso de arginina microencapsulada con cera de carnauba en dos proporciones diferentes (cera:arginina, 3:1 y 2:1) en dietas bovinas (Angus, Hereford y Angus x Hereford), sobre parámetros fisicoquímicos de importancia en la calidad de la carne (pH, color, esfuerzo de corte, capacidad de retención de agua y grasa intramuscular).



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Características de los Animales y Obtención de Muestras

Este estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica de la Carne y en las Unidades de Producción Animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH).

Las 15 novillas utilizadas en este experimento fueron Angus, Hereford y Angus x Hereford, todas procedentes del rancho experimental Teseachi de la UACH. Los animales fueron sacrificados en un matadero Tipo Inspección Federal (TIF) en la ciudad de Chihuahua siguiendo los procedimientos de la NOM-033-SAG/ZOO-2014. Para la presente investigación se utilizó el músculo *Longissimus lumborum*, la porción caudal a la 13.<sup>a</sup> costilla. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Bioquímica de la carne 24 h *post-mortem* y a una temperatura de 4 °C; entonces se cortaron en secciones transversales de 2.54 cm de grosor.

### Tratamientos Evaluados

Las unidades experimentales fueron asignadas aleatoriamente bajo un diseño en bloques completamente al azar; los bloques corresponden los grupos raciales (Angus, Hereford o Angus x Hereford), asignando cada unidad experimental (novillas) a uno de los tres tratamientos: T1, suplementación sin arginina o control; T2, suplementación con microcápsulas proporción cera-arginina 3:1; y T3, suplementación con microcápsulas relación cera-arginina 2:1. El procedimiento de síntesis y caracterización morfológica y química de las microcápsulas se detalla en el Capítulo II del presente documento. Considerando cinco animales por bloque. Los animales fueron suplementados cada día durante



21 días antes del sacrificio con 50 g de arginina microencapsulada. La dieta fue formulada de acuerdo con los requerimientos nutricionales del Comité sobre Necesidades de Nutrientes del Ganado de Carne (NRC, 2000). La composición de la dieta se presenta en la Cuadro 5.

Al finalizar la prueba de suplementación, las muestras de *Longissimus lumborum* se envasaron al vacío en bolsas de 70  $\mu$ m de grosor. Se maduraron durante 28 d (4 °C, 80 % de humedad) y después del periodo de almacenamiento se midieron las variables respuesta (pH, color, capacidad de retención de agua, esfuerzo de corte y grasa intramuscular). Posteriormente se realizó una prueba de vida de anaquel en la que las muestras fueron refrigeradas a 4 °C por 7 d, empacadas en charola con película plástica en condiciones aeróbicas. Terminando el periodo en anaquel se volvieron a medir las variables respuesta.

### **Características Productivas**

Se registró el peso final de los animales individualmente mediante una báscula mecánica marca “Revuelta” con capacidad de 3.5 Ton después de la suplementación con arginina y antes del sacrificio. También se determinó la ganancia de peso (diaria y total).

### **Evaluaciones Fisicoquímicas**

El pH fue evaluado con un medidor de pH digital para carne (Sentron, Modelo 1001, Netherlands). Las mediciones fueron tomadas directamente en la carne de acuerdo al método de Honikel (1998). El electrodo se insertó en el músculo perpendicularmente a una profundidad de 2 cm, evitando el contacto con la grasa y tejido conectivo remanente. Se tomaron tres lecturas en diferentes áreas de la muestra y se obtuvo el promedio.



Cuadro 5. Composición de las dietas experimentales (%)

<b>Ingredientes</b>	<b>Control</b>	<b>Arginina</b>
Pan seco molido	55.0	55.0
Granos de destilería	9.6	9.6
Heno de Triticale	33.0	32.5
Carbonato de calcio	1.2	1.2
Urea	1.0	1.0
Mezcla mineral	0.2	0.2
Microcápsulas Arginina	0.0	0.5



### **Capacidad de retención de agua (CRA).**

La liberación de exudado fue determinada por el método de compresión propuesto por Tsai y Ockerman (1981), utilizando 0.3 g de muestra. Se utilizó una balanza analítica con una resolución de  $\pm 0.05$  g, papel filtro número 1 (Whatman®) y placas de metacrilato de 2.25 kg. Los resultados se expresaron como porcentaje de exudado liberado, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\% \text{ de exudado} = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso de la muestra} \times 100$$

La CRA se calculó restando de 100 el resultado del % de exudado. Las determinaciones se realizaron por triplicado en cada muestra y se obtuvieron los promedios.

### **Esfuerzo de corte.**

Las muestras se prepararon para el esfuerzo de corte de acuerdo a la metodología de la AMSA (2015). Las muestras se cocinaron en planchas eléctricas (George Foreman®, USA) hasta alcanzar una temperatura interna de  $71 \pm 0.1$  °C. Entonces se almacenaron durante 12 h a 4 °C y se obtuvieron ocho cilindros de 12.7 mm de diámetro utilizando un sacabocados manual, cuidando que los bloques fueran obtenidos paralelamente a la orientación longitudinal de las fibras musculares. Los cilindros se cortaron utilizando una cuchilla Warner-Bratzler (apertura triangular de 60°) a una velocidad de 100 mm/min en 30 mm de longitud. El pico de fuerza (expresado en kg-fuerza) para el corte transversal en cada cilindro fue determinado en un analizador de textura TA-XT plus (Stable Micro Systems Ltd., UK).

### **Color CIEL\*a\*b\*.**





El espacio de color fue determinado por los parámetros CIEL<sup>\*</sup>a<sup>\*</sup>b<sup>\*</sup>, en donde L<sup>\*</sup> es luminosidad, a<sup>\*</sup>(+) es la tendencia al rojo y b<sup>\*</sup>(+) expresa la tendencia al amarillo. Las mediciones se obtuvieron con un colorímetro (Konica Minolta CR400, USA) según el sistema de referencia CIE (Commission Internationale Pour l'Eclairage) (Alberti *et al.*, 2005) y la metodología de la AMSA (2012). Para esto, el tejido conectivo y la grasa visible fueron removidos de la superficie del músculo y las muestras se expusieron al oxígeno del aire durante 30 min para permitir la oxigenación de la mioglobina (blooming). Tres lecturas se tomaron para cada muestra en diferentes áreas y se obtuvieron los promedios para los valores de L<sup>\*</sup>, a<sup>\*</sup>, b<sup>\*</sup>.

#### **Extracción de lípidos totales.**

La extracción se realizó con el método Soxhlet descrito por la Association of Analytical Chemists (AOAC, 1990).

#### **Análisis Estadísticos**

Las variables evaluadas se analizaron mediante PROC GLM del paquete estadístico SAS System v.9.0. El modelo incluyó a tratamiento y bloque como efectos fijos. Las diferencias entre tratamientos se evaluaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey (P<0,05). Los valores las variables respuesta se informaron como medias ± desviación estándar.



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características Productivas

La ganancia de peso y el peso final *in vivo* (al finalizar la suplementación con arginina, antes del sacrificio) de los animales durante el desarrollo de la prueba se presenta en la Cuadro 6. No se observaron diferencias significativas, posiblemente debido al corto periodo de suplementación con arginina (28 d). La obtención del peso de los animales se realizó con el objetivo de conocer la cantidad de alimento adecuada para determinar la ganancia en peso. La L-arginina como suplemento en la alimentación de aves, cerdos, ovinos y bovinos puede mejorar los parámetros de desempeño productivo a través del aumento en la cantidad de proteína en el músculo, cambios en el metabolismo de lípidos y aumento de la digestibilidad de los forrajes en rumiantes (Dou *et al.*, 2023; Fouad *et al.*, 2013; Ghamari-Monavvar *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2019). Sin embargo, tales beneficios se obtienen con la complementación del aminoácido en la dieta durante períodos largos (21 días en aves y 60-170 días en otras especies). En la presente investigación, 28 días de suplementación no fueron suficientes para observar ganancias significativas en peso. Así, el efecto de la suplementación con arginina sobre los parámetros de rendimiento productivo es visible cuando los animales están expuestos durante períodos más prolongados. No obstante, tiempos cortos de suplementación con arginina (28 días) pueden causar variaciones significativas en la composición del músculo (Dou *et al.*, 2023; Fouad *et al.*, 2013; Ghamari-Monavvar *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2019; Teixeira *et al.*, 2019).

### Evaluaciones fisicoquímicas en *L. lumbrorum*



Cuadro 6. Comportamiento productivo (ganancia en peso Kg  $\pm$  DE) de novillas suplementadas con arginina microencapsulada

	Tratamientos				Razas			
	Control	2:1	3:1	P	An	He	AxH	P
PF	377.8 $\pm$ 28.3	396.0 $\pm$ 46.1	395.6 $\pm$ 10.9	0.601	406.2 $\pm$ 36.0	370.0 $\pm$ 33.1	393.2 $\pm$ 9.2	0.353
GTP	39.6 $\pm$ 16.8	32.8 $\pm$ 18.8	26.2 $\pm$ 8.1	0.410	38.4 $\pm$ 11.9	21.8 $\pm$ 10.4	37,24 $\pm$ 18.3	0.265
GDP	1.88 $\pm$ 0.80	1.56 $\pm$ 0.90	1.25 $\pm$ 0.39	0.412	1.83 $\pm$ 0.57	1.04 $\pm$ 0.49	1.82 $\pm$ 0.87	0.266

PF, Peso final; GTP, Ganancia total de peso; GDP, Ganancia diaria de peso.

3:1, cera:arginina proporción; 2:1, cera:arginina proporción

An, angus; He, Hereford; AxH, Angus x Hereford



## pH.

El pH aumentó significativamente (pH 5.43,  $P = 0.005$ ) en la relación cera:arginina 3:1 respecto al control (pH 5.32), mientras que la suplementación con relación cera:arginina 2:1 produjo un valor de pH de 5.38 para las muestras maduradas durante 28 d. Todos los resultados se muestran en el Cuadro 7 y 8. En el caso de las muestras en anaquel, no se encontraron diferencias significativas en el pH ( $P > 0.05$ ), pero los valores de pH aumentaron (6.37, 6.25 y 6.31 para el control, cera:arginina 3:1 y cera:arginina 2:1, respectivamente) en comparación con las muestras maduradas durante 28 días. Por efecto del grupo racial se observaron diferencias entre Angus y Angus  $\times$  Hereford (6.54 y 6.57) en comparación con Hereford (5.81) en la prueba de anaquel ( $P < 0,001$ ) (Cuadro 6).

El aumento del pH en las muestras maduradas durante 28 días coincide con los resultados obtenidos por Tuell *et al.* (2021), quienes al incluir la arginina en el rumen y madurar la carne durante 28 días observaron un aumento en el valor del pH. Cottrell *et al.* (2015) también visualizaron una reducción en el pH del músculo *Semimembranosus* (SM) de corderos Border Leicester  $\times$  Merino a las 3 h pero no a las 24 h, cuando se les administró 500 mg/kg en bolo de arginina a través de un catéter yugular 190 min antes del sacrificio. Esto podría estar relacionado con una disminución en el contenido de ácido láctico a medida que la actividad glucolítica *post-mortem* se ralentiza, junto con la formación de aminas (Mitacek *et al.*, 2019), lo que parece deberse a una mayor presencia de la arginina en los tratamientos. En la presente investigación, el valor más bajo de pH en la



Cuadro 7. Efecto de la arginina microencapsulada sobre el esfuerzo de corte, el pH y CRA del músculo de *L. lumorum* madurado 28 días

	Tratamientos				Bloques			
	Control	3:1	2:1	P	An	He	AxH	P
SF	30.3 <sup>a</sup> ± 9.12	24.32 <sup>b</sup> ± 6.66	25.3 <sup>b</sup> ± 5.29	<0.0001	24.02 <sup>b</sup> ± 5.78	25.59 <sup>b</sup> ± 6.57	30.4 <sup>a</sup> ± 8.92	<.0001
pH	5.32 <sup>b</sup> ± 0.11	5.43 <sup>a</sup> ± 0.1	5.38 <sup>ab</sup> ± 0.05	0.005	5.4 ± 0.06	5.38 ± 0.08	5.35 ± 0.13	0.28
CRA	62.64 <sup>b</sup> ± 4.65	62.05 <sup>b</sup> ± 2.75	58.29 <sup>a</sup> ± 4.34	0.04	60.91 ± 6.12	61.84 ± 4.3	60.23 ± 1.76	0.65
IMF	0.72 <sup>b</sup> ± 0.44	2.12 <sup>a</sup> ± 0.99	1.16 <sup>b</sup> ± 0.71	0.002	1.59 ± 1.09	1.34 ± 0.64	1.07 ± 1.04	0.36

SF. Esfuerzo de corte (N); CRA, capacidad de retención de agua (%); IMF, grasa intramuscular (%). ± DE.  
3:1, cera:arginina proporción; 2:1, cera:arginina proporción  
An, Angus; He, Hereford; A x H, Angus x Hereford.



Cuadro 8. Efecto de la arginina microencapsulada sobre el esfuerzo de textura, el pH y el CRA del musculo *L. lumbrorum* en prueba de anaquel

	Tratamientos				Bloques			
	Control	3:1	2:1	P	An	He	AxH	P
SF	21.47 <sup>a</sup> ± 4.6	20.49 <sup>a</sup> ± 4.51	19.71 <sup>a</sup> ± 3.33	0.016	19.12 <sup>b</sup> ± 3.82	19.71 <sup>b</sup> ± 3.43	22.94 <sup>a</sup> ± 4.41	0.0002
pH	6.37 ± 0.53	6.25 ± 0.51	6.31 ± 0.22	0.38	6.54 <sup>a</sup> ± 0.3	5.81 <sup>b</sup> ± 0.24	6.57 <sup>a</sup> ± 0.16	<0.0001
WHC	69.58 ± 4.83	70.62 ± 4.18	70.19 ± 3.57	0.81	69.73 <sup>ab</sup> ± 3.56	67.53 <sup>a</sup> ± 3.99	73.14 <sup>b</sup> ± 2.76	0.01

SF. Esfuerzo de corte (N); CRA, capacidad de retención de agua (%). ± DE.

3:1, cera:arginina proporción; 2:1, cera:arginina proporción

An, Angus; He, Hereford; A x H, Angus x Hereford.



carne del grupo racial Hereford parece deberse a la alta actividad glicolítica en las fibras musculares (Listrat *et al.*, 2016; Picard y Gagaoua, 2020).

### **Capacidad de retención de agua (CRA).**

En las muestras maduras se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. El control y la relación cera:arginina 3:1 presentaron los valores más altos de CRA (62.64 y 62.05 %, respectivamente, Cuadro 7). Por el contrario, en las muestras de vida de anaquel no hubo diferencia entre tratamientos, pero sí entre grupos raciales (Cuadro 8). La cruce Angus x Hereford tuvo el valor más alto de CRA (73.14). Nuestros resultados son semejantes a los obtenidos por Ma *et al.* (2015), quienes observaron una mejora en la CRA en lomos de cerdo cuando se suplementaron con 1% de arginina en la dieta. Tuell *et al.* (2019) suplementaron 10 g/d de arginina de baipás ruminal durante 180 días y observaron una mejora en la CRA de lomos de cerdo madurados durante 28 días, en comparación con el control. Madeira *et al.* (2015) también observaron una reducción en las pérdidas por cocción de *Longissimus lumborum* de cerdas hembras Large White x Landrace suplementadas con arginina en la dieta, en comparación con la dieta control, indicando mejor CRA. Esto se debe al aumento de la proporción de fibra muscular tipo I, que está relacionada con la lenta disminución de pH y mejor CRA (Lebret *et al.*, 2005). Las diferencias entre razas parece deberse a la mayor actividad glucolítica en el músculo, provocando la disminución del pH (Lebret *et al.*, 2005; Picard y Gagaoua, 2020).

### **Grasa intramuscular (IMF).**

Se observaron diferencias significativas entre tratamientos y entre grupos raciales para *L. lumborum* (Cuadro 7). Los tratamientos con arginina encapsulada (proporción cera:arginina 3:1) tuvieron valores de grasa



intramuscular más altos (2.12%) en comparación con el tratamiento control. En cuanto a grupos raciales, Angus presentó los valores más altos de grasa intramuscular (1.59 %). Este comportamiento está asociado con la alta proporción de fibras musculares oxidativas (Hocquette *et al.*, 2016).

Nuestros resultados son similares a los observados por Ma *et al.* (2015), quienes mostraron un aumento en la IMF de lomos de cerdo al suplementar con 1 % de arginina en la dieta hasta alcanzar un peso vivo de 100 kg. En otro estudio, Teixeira *et al.* (2019) suplementaron 10 g/d de arginina ruminal durante 180 d a Angus × Simmental y observaron un aumento en el marmoleo de lomos en la proporción de grado de calidad elegido “*choice*”. En otro estudio realizado por Choi *et al.* (2014) observaron un aumento de la enzima ácido graso sintasa (FAS) después de 14 d de infusión abomasal de arginina en novillos Angus, indicando mayor capacidad lipogénica.

En no rumiantes, Guo *et al.* (2019) encontraron un aumento del contenido de IMF en cerdos Duroc x Large White x Landrace cuando fueron suplementados con arginina 1 % y ácido glutámico, en comparación con la dieta control (harina de maíz y soja). Este comportamiento parece deberse a que la arginina regula positivamente la expresión de genes lipogénicos como la enzima ácido graso sintasa (FAS) y el receptor y activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR  $\gamma$ ) (Hu *et al.*, 2017). En otro estudio, Tous *et al.* (2016) no encontraron diferencias en la IMF de cerdos Landrace x Duroc x Pietrain suplementados con arginina en una dieta baja en proteínas. Sin embargo, Wu *et al.* (2011) mostraron un aumento en el contenido de grasa intramuscular de pechuga de pato cuando fueron suplementados con arginina en la





dieta. Entonces la arginina parece promover la expresión de genes adipogénicos y la deposición de lípidos (Choi *et al.*, 2014).

### **Esfuerzo de corte.**

El esfuerzo de corte disminuyó significativamente en las muestras maduras con la inclusión de los tratamientos con arginina encapsulada en comparación con el control (Cuadro 5). La proporción 3:1 obtuvo el valor de esfuerzo de corte más bajo (24.32 N), pero no hubo diferencia entre los tratamientos con arginina encapsulada. En cuanto a los grupos raciales, las muestras de Angus tuvieron los valores más bajos de esfuerzo de corte (24.02 N) en comparación con las otras razas. Para las muestras de vida de anaquel no hubo diferencias significativas, aunque los tratamientos con arginina encapsulada tuvieron valores de esfuerzo de corte más bajos que el control (Cuadro 6). En este caso, las muestras de la raza Angus tuvieron los valores más bajos de esfuerzo de corte ( $P < 0.001$ , 19.12 N), igual que las muestras de Angus maduras. Ma *et al.* (2015) y Tuell *et al.* (2019) observaron resultados comparables, en donde la inclusión de arginina en la dieta de ganado vacuno y porcino redujo el esfuerzo de corte de las muestras de carne en comparación con el control. Se sabe que la carne producida con Angus es de calidad, ya que su genética mejora la adipogénesis y el marmoleo (Martins *et al.*, 2015), así como un bajo contenido de tejido conectivo (colágeno) (Christensen *et al.* 2011). Bureš y Bartoň (2018) compararon las características fisicoquímicas de cuatro razas de ganado (Aberdeen Angus, Gascon, Holstein y Fleckvieh) y encontraron que Angus tiene menor esfuerzo de corte, mejor contenido de grasa intramuscular (IMF) y mayor contenido de colágeno soluble. Cottrell *et al.* (2015) también encontraron una reducción del esfuerzo de corte en el músculo *Semimembranosus* (SM) de corderos Border Leicester × Merino cuando se



les administraron 500 mg/kg en bolo de arginina a través de un catéter yugular, 190 minutos antes del sacrificio. Además, Jiao *et al.* (2010) también reportaron una disminución en la fuerza de corte de la carne conforme aumentaron los niveles de arginina (cuatro niveles dietéticos de arginina en pollos de engorda: 80, 100, 120 y 140 % de la recomendación del NRC). La reducción de la fuerza de corte parece deberse al aumento de la grasa intramuscular (Chriki *et al.*, 2013).

### **Color CIEL \*a\*b\*.**

Los parámetros de color L\*, a\* y b\* de las muestras maduradas (Cuadro 9) presentaron cambios significativos por efecto del tratamiento y de la raza. El tratamiento cera:arginina 3:1 y la raza Hereford tuvieron los valores más altos de enrojecimiento (a\* de 19.66 y 19.45, respectivamente). En las muestras de la vida de anaquel (Cuadro 10) se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el valor de luminosidad (L\*); en este caso, la proporción de cera:arginina 2:1 tuvo el valor más alto de a\* (44.82) respecto al control (42.69). El aumento en el valor a\* parece deberse al efecto que tiene la arginina al inducir la transición de fibras musculares glucolíticas (blancas) a fibras musculares oxidativas (rojas) (Chen *et al.*, (2019). Nuestros resultados fueron semejantes a los obtenidos por Tuell *et al.* (2021), quienes reportaron valores de a\* más altos con la inclusión de arginina protegida. Tuell *et al.* (2019) también observaron que al incluir arginina de sobrepaso se mejoraba la estabilidad del color, observando un aumento en el valor a\* en comparación al resto de tratamientos.



Cuadro 9. Efecto de la arginina microencapsulada sobre el color del músculo *L. lumbrorum* madurado 28 días

	Tratamientos				Bloques			
	Control	3:1	2:1	P	An	He	AxH	P
<b>L*</b>	44.24±2.1	43.02±1.45	44.98±4.69	.37	42.49±1.03	45.47±4.69	44.27±1.63	0.12
<b>a*</b>	18.55 <sup>ab</sup> ±2.91	19.66 <sup>a</sup> ±1.77	16.77 <sup>b</sup> ±1.95	.01	16.86 <sup>b</sup> ±2.76	19.45 <sup>a</sup> ±2.23	18.67 <sup>ab</sup> ±1.91	0.03
<b>b*</b>	11.81±2.47	11.07±2.39	9.88±1.08	.09	9.87±1.7	11.16±2.89	11.73±1.35	0.1

L\*, luminosidad; a\*, rojo; b\*, amarillo. ± DE.

3:1, cera:arginina proporción; 2:1, cera:arginina proporción

An, Angus; He, Hereford; A x H, Angus x Hereford.



Cuadro 10. Efecto de la arginina microencapsulada en el color del músculo de *L. lumbrorum* en la prueba de anaquel

	Tratamientos				Bloques			
	Control	3:1	2:1	P	An	He	AxH	P
L*	42.45 <sup>b</sup> ±1.85	43.69 <sup>ab</sup> ±1	44.82 <sup>a</sup> ±1.85	.005	43.73±2.34	43.72±.84	43.51±2.18	0.92
a*	16.33±2.29	16.85±1.56	15.81±1.77	.46	16.24±2.2	16.56±1.89	16.19±1.06	0.88
b*	6.27±.94	7.2±1.64	7.47±1.58	.21	7.06±1.31	7.56±1.8	6.32±1.06	0.21

L\*, luminosidad; a\*, rojo; b\*, amarillo. ± DE.

3:1, cera:arginina proporción; 2:1, cera:arginina proporción

An, angus; He, Hereford; AxH, Angus x Hereford.



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados de este trabajo mostraron que la inclusión de tratamientos con arginina microencapsulada en dietas bovinas mejora la calidad de la carne en general. Los mejores resultados se obtuvieron con la proporción 3:1 de cera:arginina microencapsulada, al reducir el esfuerzo de corte, aumentar el contenido de grasa intramuscular, mayor capacidad de retención de agua (CRA) y mejor estabilidad del color. La suplementación con arginina microencapsulada podría ser una estrategia viable para la mejora de la calidad de la carne en términos de ternura, jugosidad y sabor.



## LITERATURA CITADA

- Association of Official Analytical Chemist (1990). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists (15th ed.). Arlington, VA, USA: AOAC.
- AMSA. 2012. American Meat Science Association: Meat Colour Measurement Guidelines. Champaign, Illinois USA
- Bureš, D., & Bartoň, L. (2018). Performance, carcass traits and meat quality of Aberdeen Angus, Gascon, Holstein and Fleckvieh finishing bulls. *Livestock Science*, 214, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.06.017A>.
- de B. Carvalho, A.L. da Silvaa, A.M. de A. Silvaa, A.J. Nettoa, T.T.B. de Medeirosa, J.M. Araújo Filhoa, D.L. da S. Agostinib, D.L.V. de Oliveirac, S.E. Mazzettoc, L.R.V. Kotzebuec, J.R. Oliveirac, R. L. O., & Bezerra, L. R. (2019). Effect of slow-release urea microencapsulated in beeswax and its inclusion in ruminant diets. *Small Ruminant Research*, 179(June), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.09.005>
- Abbasi, I. H. R., Abbasi, F., Abd El-Hack, M. E., Abdel-Latif, M. A., Soomro, R. N., Hayat, K., Mohamed, M. A. E., Bodinga, B. M., Yao, J., & Cao, Y. (2018). Critical analysis of excessive utilization of crude protein in ruminants ration: impact on environmental ecosystem and opportunities of supplementation of limiting amino acids—a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(1), 181–190. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0555-4>
- Ahmad, U., Sohail, M., Ahmad, M., Minhas, M. U., Khan, S., Hussain, Z., Kousar, M., Mohsin, S., Abbasi, M., Shah, S. A., & Rashid, H. (2019). Chitosan based thermosensitive injectable hydrogels for controlled delivery of loxoprofen: development, characterization and in-vivo evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.031>
- Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpoor, E., & Dehnad, D. (2016). Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 85, 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011>
- Al-daraji, H. J., & Salih, A. M. (2012). Effect of dietary L-arginine on carcass traits of broilers. *Research Opinions in Animal & Veterinary Sciences*, 2(1), 40–43.
- Alemu, A. W., Romero-Pérez, A., Araujo, R. C., & Beauchemin, K. A. (2019). Effect of encapsulated nitrate and microencapsulated blend of essential oils on growth performance and methane emissions from beef steers fed backgrounding diets. *Animals*, 9(1), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani9010021>
- Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.001>
- Alvim, I. D., Stein, M. A., Koury, I. P., Dantas, F. B. H., & Cruz, C. L. de C. V. (2016). Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. *LWT -*



- Food Science and Technology*, 65, 689–694.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.049>
- Appuhamy, J. A. D. R. N., Knoebel, N. A., Nayananjalie, W. A. D., Escobar, J., & Hanigan, M. D. (2012). Isoleucine and Leucine Independently Regulate mTOR Signaling and Protein Synthesis in MAC-T Cells and Bovine Mammary Tissue Slices. *The Journal of Nutrition*, 142(3), 484–491.  
<https://doi.org/10.3945/jn.111.152595>
- Arenas-Jal, M., Suñé-Negre, J. M., & García-Montoya, E. (2020). An overview of microencapsulation in the food industry: opportunities, challenges, and innovations. *European Food Research and Technology*, 246(7), 1371–1382. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03496-x>
- Bacinello, D., Garanger, E., Taton, D., Tam, K. C., & Lecommandoux, S. (2015). Tailored drug-release from multi-functional polymer-peptide hybrid vesicles. *European Polymer Journal*, 62, 363–373.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.09.001>
- Baggerman, J. O., Thompson, A. J., Jennings, M. A., Hergenreder, J. E., Rounds, W., Smith, Z. K., & Johnson, B. J. (2021). Effects of encapsulated methionine on skeletal muscle growth and development and subsequent feedlot performance and carcass characteristics in beef steers. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ani11061627>
- Bonnet, M., Cansell, M., Berkaoui, A., Ropers, M. H., Anton, M., & Leal-Calderon, F. (2009). Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 92–101.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.016>
- Boonyai, P., Bhandari, B. and Howes, T. (2004). Stickiness measurement techniques for food powders: A review. *Powder Technology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.04.039>
- Borgogna, M., Bellich, B., Zorzin, L., Lapasin, R., & Cesàro, A. (2010). Food microencapsulation of bioactive compounds: Rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food Chemistry*.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.043>
- Brocks, L., Klont, R. E., Buist, W., De Greef, K., Tieman, M., & Engel, B. (2000). The effects of selection of pigs on growth rate vs leanness on histochemical characteristics of different muscles. In *J. Anim. Sci* (Vol. 78).
- Brooke, M. H., & Kaiser, K. K. (1970). Muscle Fiber Types: How Many and What Kind? *Archives of Neurology*, 23(4), 369–379.  
<https://doi.org/10.1001/archneur.1970.00480280083010>
- Brown, B., Roehl, K., & Betz, M. (2015). Enteral nutrition formula selection: Current evidence and implications for practice. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(1), 72–85. <https://doi.org/10.1177/0884533614561791>
- Butstraen, C., & Salaün, F. (2014). Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 99, 608–616. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.006>
- Bylaitė, E., Venskutonis, P., Research, R. M.-E. F., & 2001, U. (2001). Properties of caraway (*Carum carvi* L.) essential oil encapsulated into milk protein-based matrices. *European Food Research and Technology*, 212(6), 661–670. <https://doi.org/10.1007/s002170100297>



- Calabrò, R. S., Gervasi, G., & Bramanti, P. (2014). L-Arginine and vascular diseases: lights and pitfalls! *Undefined*.
- Calderón-Oliver, M., Pedroza-Islas, R., Escalona-Buendía, H. B., Pedraza-Chaverri, J., & Ponce-Alquicira, E. (2017). Comparative study of the microencapsulation by complex coacervation of nisin in combination with an avocado antioxidant extract. *Food Hydrocolloids*, *62*, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.028>
- Cao, W. J., Ou, S. Y., Lin, W. F., & Tang, C. H. (2016). Food protein-based phytosterol nanoparticles: Fabrication and characterization. *Food and Function*, *7*(9), 3973–3980. <https://doi.org/10.1039/c6fo00861e>
- Carneiro, H. C. F., Tonon, R. V., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, *115*(4), 443–451. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033>
- Castillo-lopez, E., & Domínguez-Ordóñez, M. G. (2019). Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microinamada. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, *10*(1), 120–148. <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4547/4036>
- Cauteruccio, S., Bartoli, C., Carrara, C., Dova, D., Errico, C., Ciampi, G., Dinucci, D., Licandro, E., & Chiellini, F. (2015). A nanostructured PLGA system for cell delivery of a tetrathiahelicene as a model for helical DNA intercalators. *ChemPlusChem*, *80*(3), 490–493. <https://doi.org/10.1002/cplu.201402347>
- Cavallaro, G., Craparo, E. F., Sardo, C., Lamberti, G., Barba, A. A., & Dalmoro, A. (2015). PHEA-PLA biocompatible nanoparticles by technique of solvent evaporation from multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, *495*(2), 719–727. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.09.050>
- Chen, X., Guo, Y., Jia, G., Liu, G., Zhao, H., & Huang, Z. (2018). Arginine promotes skeletal muscle fiber type transformation from fast-twitch to slow-twitch via Sirt1/AMPK pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *61*, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.08.007>
- Chen, X., Guo, Y., Jia, G., Zhao, H., Liu, G., & Huang, Z. (2018). Arginine Promotes Slow Myosin Heavy Chain Expression via Akirin2 and the AMP-Activated Protein Kinase Signaling Pathway in Porcine Skeletal Muscle Satellite Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(18), 4734–4740. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00775>
- Chen, X., Jia, G., Zhao, H., Liu, G., & Huang, Z. (2019). Arginine induces skeletal muscle fiber type conversion by upregulating Akirin2 and AMPK/PGC-1 $\alpha$  in mice. *Biologia*, *74*(6), 709–715. <https://doi.org/10.2478/s11756-019-00224-z>
- Choi, S. H., Wickersham, T. A., Wu, G., Gilmore, L. A., Edwards, H. D., Park, S. K., Kim, K. H., & Smith, S. B. (2014). Abomasal infusion of arginine stimulates SCD and C/EBP $\beta$  gene expression, and decreases CPT1 $\beta$  gene





- expression in bovine adipose tissue independent of conjugated linoleic acid. *Amino Acids*, 46(2), 353–366. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1622-x>
- Collins, J. K., Wu, G., Perkins-Veazie, P., Spears, K., Claypool, P. L. D., Baker, R. A. E., & Clevidence, B. A. (2007). Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition*. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2007.01.005>
- Cottrell, J. J., Ponnampalam, E. N., Dunshea, F. R., & Warner, R. D. (2015). Effects of infusing nitric oxide donors and inhibitors on plasma metabolites, muscle lactate production and meat quality in lambs fed a high quality roughage-based diet. *Meat Science*, 105, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.02.007>
- da Silva, A. C. C., Bezerra, L. R., de Lima, J. A. M., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Filho, J. M. P., de Oliveira, J. P. F., & da Silva, A. L. (2023). Lipid microspheres of different waxes containing urea enriched with a sulfur source for slow release in the rumen. *Small Ruminant Research*, 228(January). <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.107104>
- Davidov-Pardo, G., & McClements, D. J. (2015). Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Food Chemistry*, 167, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.082>
- Davis, T. A., Nguyen, H. V, Garcia-Bravo, R., Fiorotto, M. L., Jackson, E. M., Lewis, D. S., Rick, D., & Reeds, P. J. (1994). Nutrient Requirements and Interactions Amino Acid Composition of Human Milk Is Not unique<sup>1</sup>2'3. In *J. Nutr* (Vol. 124).
- de Carvalho Neto, J. P., Bezerra, L. R., da Silva, A. L., de Moura, J. F. P., Pereira Filho, J. M., da Silva Filho, E. C., Guedes, A. F., Araújo, M. J., Edvan, R. L., & Oliveira, R. L. (2019). Methionine microencapsulated with a carnauba (*Copernicia prunifera*) wax matrix for protection from degradation in the rumen. *Livestock Science*, 228(July), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.024>
- de Freitas, C. A. S., de Sousa, P. H. M., Soares, D. J., da Silva, J. Y. G., Benjamin, S. R., & Guedes, M. I. F. (2019). Carnauba wax uses in food – A review. *Food Chemistry*, 291(December 2018), 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.133>
- de Lima, J. A. M., Bezerra, L. R., Feitosa, T. J. d. O., Oliveira, J. R., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Cavalcanti, M. T., Pereira Filho, J. M., Oliveira, R. L., de Oliveira, J. P. F., & da Silva, A. L. (2023). Production, characterization, and dietary supplementation effect of rumen-protected fat on ruminal function and blood parameters of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 55(3), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03563-x>
- de Medeiros, T. T. B., de Azevedo Silva, A. M., da Silva, A. L., Bezerra, L. R., da Silva Agostini, D. L., de Oliveira, D. L. V., Mazzetto, S. E., Kotzebue, L. R. V., Oliveira, J. R., Souto, G. S. B., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., & Oliveira, R. L. (2019). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9275>



- De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*.  
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.008>
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. In *Drying Technology* (Vol. 23, Issue 7). <https://doi.org/10.1081/DRT-200063478>
- Dias, M. I., Ferreira, I. C. F. R., & Filomena Barreiro, M. (2015). Microencapsulation of bioactives for food applications. In *Food and Function*. [www.rsc.org/foodfunction](http://www.rsc.org/foodfunction)
- Dorđević, V., Paraskevopoulou, A., Mantzouridou, F., Lalou, S., Pantić, M., Bugarski, B., & Nedović, V. (2016). Encapsulation technologies for food industry. In *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24040-4>
- Dou, L., Sun, L., Liu, C., Su, L., Chen, X., Yang, Z., Hu, G., Zhang, M., Zhao, L., & Jin, Y. (2023). Effect of dietary arginine supplementation on protein synthesis, meat quality and flavor in growing lambs. *Meat Science*, 204, 109291. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2023.109291>
- Drusch, S., Serfert, Y., & Schwarz, K. (2006). Microencapsulation of fish oil with n-octenylsuccinate-derivatised starch: Flow properties and oxidative stability. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(6), 501–512. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200500312>
- Edmunds, B. L. (2011). *Optimising nitrogen use in dairy farming : Evaluation of ruminal crude protein degradation and protein value of forages Erlangung des Grades Doktor der Agrarwissenschaften Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität* .
- El-Zaiat, H. M., Araujo, R. C., Louvandini, H., Patiño, H. O., & Abdalla, A. L. (2020). Effects of dietary replacement of urea with encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on nutrient digestibility, nitrogen balance, and carcass characteristics in growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 266(June 2019), 114515.  
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114515>
- Eratte, D., McKnight, S., Gengenbach, T. R., Dowling, K., Barrow, C. J., & Adhikari, B. P. (2015). Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate-gum Arabic complex coacervates. *Journal of Functional Foods*, 19, 882–892.  
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.037>
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 628–647.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-012-0944-0>
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(10), 510–523.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.08.003>
- FIRA. (2019). Panorama Agroalimentario. In *FIRA*.
- Fornaguera, C., Dols-Perez, A., Calderó, G., García-Celma, M. J., Camarasa, J., & Solans, C. (2015). PLGA nanoparticles prepared by nano-emulsion



- templating using low-energy methods as efficient nanocarriers for drug delivery across the blood-brain barrier. *Journal of Controlled Release*, 211, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.002>
- Fouad, A. M., El-Senousey, H. K., Yang, X. J., & Yao, J. H. (2013). Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens. *Animal*, 7(8). <https://doi.org/10.1017/S1751731113000347>
- Fu, W. J., Haynes, T. E., Kohli, R., Hu, J., Shi, W., Spencer, T. E., Carroll, R. J., Meininger, C. J., & Wu, G. (2005). Biochemical and Molecular Actions of Nutrients Dietary L -Arginine Supplementation Reduces Fat Mass in Zucker Diabetic Fatty Rats 1. *The Journal of Nutrition*, 137(27), 714–721.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2005). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>
- Galindo-Rodriguez, S., Allémann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (2004). Physicochemical parameters associated with nanoparticle formation in the salting-out, emulsification-diffusion, and nanoprecipitation methods. *Pharmaceutical Research*, 21(8), 1428–1439. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000036917.75634.be>
- Gavory, C., Abderrahmen, R., Bordes, C., Chaussy, D., Belgacem, M. N., Fessi, H., & Briançon, S. (2014). Encapsulation of a pressure sensitive adhesive by spray-cooling: Optimum formulation and processing conditions. *Advanced Powder Technology*, 25(1), 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2013.05.004>
- Ghaderi, S., Ghanbarzadeh, S., Mohammadhassani, Z., & Hamishehkar, H. (2014). Formulation of gammaoryzanol-loaded nanoparticles for potential application in fortifying food products. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(Suppl 2), 549–554. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.081>
- Ghamari Monavvar, H., Moghaddam, G., & Ebrahimi, M. (2020). A Review on the Effect of Arginine on Growth Performance, Meat Quality, Intestine Morphology, and Immune System of Broiler Chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(4), 587–594.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Eau, R. S., Actives, M., & Macromolécules, A. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.07.004>
- Goda, C., & Arora, M. (2012). Microencapsulation-A Novel Approach in Drug Delivery: A Review. In *Article in Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://www.researchgate.net/publication/235924354>
- Guimarães-Inácio, A., Francisco, C. R. L., Rojas, V. M., Leone, R. de S., Valderrama, P., Bona, E., Leimann, F. V., Tanamati, A. A. C., & Gonçalves, O. H. (2018). Evaluation of the oxidative stability of chia oil-loaded microparticles by thermal, spectroscopic and chemometric methods. *LWT - Food Science and Technology*, 87(December), 498–506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.031>
- Guo, Q., Kong, X., Hu, C., Zhou, B., Wang, C., & Shen, Q. W. (2019). Fatty Acid



- Content, Flavor Compounds, and Sensory Quality of Pork Loin as Affected by Dietary Supplementation with L-arginine and Glutamic Acid. *Journal of Food Science*, 84(12), 3445–3453. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14959>
- Hedayati, S., Niakousari, M., & Mohsenpour, Z. (2020). Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.003>
- Heidebach, T., Först, P., & Hydrocolloids, U. K. (2009). Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocoll.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X09000034>
- Heidebach, T., Först, P., & Journal, U. K. (2009). Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. *International Dairy Journal*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694608001519>
- Highstreet, A., Robinson, P. H., Robison, J., & Garrett, J. G. (2010). Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. *Livestock Science*, 129(1–3), 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.01.022>
- Hosseini, A., Jafari, S. M., Mirzaei, H., Asghari, A., & Akhavan, S. (2015). Application of image processing to assess emulsion stability and emulsification properties of Arabic gum. *Carbohydrate Polymers*, 126, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.020>
- Hu, C. J., Jiang, Q. Y., Zhang, T., Yin, Y. L., Li, F. N., Deng, J. P., Wu, G. Y., & Kong, X. F. (2017). Dietary supplementation with arginine and glutamic acid modifies growth performance, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 95(6), 2680–2689. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1388>
- Huo, J. H., Peng, Z. G., & Feng, Q. (2020). Synthesis and properties of microencapsulated phase change material with a urea–formaldehyde resin shell and paraffin wax core. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(16), 1–10. <https://doi.org/10.1002/app.48578>
- Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology*. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>
- Jesús Ramírez Tinoco, Miguel Ángel Martínez Damián, Roberto García Mata, Alfonso Hernández Garay, J. S. M. F. (2011). Aplicación de un sistema de demanda casi ideal (AIDS) a cortes de carnes de bovino, porcino, pollo, huevo y tortilla en el periodo de 1995-2008. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2(1), 39–51.
- Jobgen, W. S., Fried, S. K., Fu, W. J., Meininger, C. J., and Wu, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *Article in The Journal of Nutritional Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.12.001>
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>





- Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 187–197. <https://doi.org/10.3109/02652040903131301>
- Kamalak, A., Canbolat, Ö., Gürbüz, Y., & Özay, O. (2005). Protected Protein and Amino Acids in Ruminant Nutrition. *KSU. Journal of Science and Engineering*, 8(2), 2005.
- Kamga, C., Krishnamurthy, S., Oxide, S. S.-N., & 2012, U. (2012). Myoglobin and mitochondria: a relationship bound by oxygen and nitric oxide. *Nitric Oxide*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860312000481>
- Kashif, P. M., Madni, A., Ashfaq, M., Rehman, M., Mahmood, M. A., Khan, M. I., & Tahir, N. (2017). Development of Eudragit RS 100 Microparticles Loaded with Ropinirole: Optimization and In Vitro Evaluation Studies. *AAPS PharmSciTech*, 18(5), 1810–1822. <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0653-5>
- Kim, G. D., Kim, B. W., Jeong, J. Y., Hur, S. J., Cho, I. C., Lim, H. T., & Joo, S. T. (2013). Relationship of Carcass Weight to Muscle Fiber Characteristics and Pork Quality of Crossbred (Korean Native Black Pig × Landrace) F2 Pigs. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 522–529.  
<https://doi.org/10.1007/s11947-011-0724-2>
- Koenig K. M., Newbold C. J., M. F. M. and R. L. M. (2000). Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *Journal of Animal Science*.  
<https://doi.org/10.2527/2000.7892431x>
- Kumari, B., Kishan, H., & Yadav, J. (2020). A Comprehensive Review on Microencapsulation Technology. *Mukt Shabd Journal*, IX(iv), 300–322.
- Kyo, M., Hyon, S. H., & Ikada, Y. (1995). Effects of preparation conditions of cisplatin-loaded microspheres on the in vitro release. *Journal of Controlled Release*, 35(1), 73–82. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(95\)00030-C](https://doi.org/10.1016/0168-3659(95)00030-C)
- Lan, A., Blachier, F., Benamouzig, R., Beaumont, M., Barrat, C., Coelho, D., Lancha, A., Kong, X., Yin, Y., Marie, J.-C., & Tomé, D. (2014). Mucosal Healing in Inflammatory Bowel Diseases: Is There a Place for Nutritional Supplementation? *Inflammatory Bowel Diseases*.  
<https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000177>
- Lefaucheur, L., Ecolan, P., Plantard, L., & Gueguen, N. (2002). New Insights into Muscle Fiber Types in the Pig. *Journal of Histochemical and Cytochemistry*. <http://www.jhc.org>
- Levitsky, D. I. (2004). Actomyosin systems of biological motility. *Biochemistry*.
- Li, D., Liu, A., Liu, M., Li, X., Guo, H., Zuo, C., & Li, Y. (2020). The intestine-responsive lysozyme nanoparticles-in-oxidized starch microgels with mucoadhesive and penetrating properties for improved epithelium absorption of quercetin. *Food Hydrocolloids*, 99(August 2019), 105309.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105309>
- Li, X., Rezaei, R., Li, P., & Wu, G. (2011). Composition of amino acids in feed ingredients for animal diets. *Amino Acids*, 40(4), 1159–1168.  
<https://doi.org/10.1007/s00726-010-0740-y>
- Lim, J., Jeong, S., Oh, K., & Lee, S. (2017). Evaluation of soybean oil-carnauba



- wax oleogels as an alternative to high saturated fat frying media for instant fried noodles. *LWT - Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.054>
- Lira-Casas, R., Efrén Ramírez-Bribiesca, J., Zavaleta-Mancera, H. A., Hidalgo-Moreno, C., Cruz-Monterrosa, R. G., Crosby-Galvan, M. M., Mendez-Rojas, M. A., & Domínguez-Vara, I. A. (2019). Designing and evaluation of urea microcapsules in vitro to improve nitrogen slow release availability in rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2541–2547.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.9464>
- Lira, V. A., Soltow, Q. A., Long, J. H. D., Betters, J. L., Sellman, J. E., & Criswell, D. S. (2007). Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293, 1062–1068. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00045.2007>.-Nitric
- Livney, Y. (2010). Milk proteins as vehicles for bioactives. *Current Opinion Colloid Interface Science*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359029409001022>
- Lopez-Rubio, A., Gavara, R., & Lagaron, J. M. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science and Technology*, 17(10), 567–575.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.012>
- Lupo, B., Maestro, A., Porras, M., Gutiérrez, J. M., & González, C. (2014). Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 38, 56–65.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.11.003>
- Ma, J. J., Mao, X. Y., Wang, Q., Yang, S., Zhang, D., Chen, S. W., & Li, Y. H. (2014). Effect of spray drying and freeze drying on the immunomodulatory activity, bitter taste and hygroscopicity of hydrolysate derived from whey protein concentrate. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 296–302.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.019>
- Ma, X., Zheng, C., Hu, Y., Wang, L., Yang, X., & Jiang, Z. (2015). Dietary L-arginine supplementation affects the skeletal longissimus muscle proteome in finishing pigs. *PLoS ONE*, 10(1), 1–16.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117294>
- Maciel, G. M., Chaves, K. S., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 1991–1998. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7463>
- Mahalingam, Manikandan, Krishnamoorthy, K. (2015). Fabrication and optimization of camptothecin loaded Eudragit S 100 nanoparticles by Taguchi L4 orthogonal array design. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 5(3), 147. <https://doi.org/10.4103/2230-973x.160852>
- Maity, S., Mukhopadhyay, P., Kundu, P. P., & Chakraborti, A. S. (2017). Alginate coated chitosan core-shell nanoparticles for efficient oral delivery of naringenin in diabetic animals—An in vitro and in vivo approach. *Carbohydrate Polymers*, 170, 124–132.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.066>
- McClements, D. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*.



CRC Press.

<https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=YOGYCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Food+emulsions:+principles+practices+and+techniques&ots=dqK1NQ2Xmm&sig=rCvQ5RZCYpKFcSZ-cz6MgKdyGVo>

- McDonald P, R A Edwards, J F D Greenhalgh, C A Morgan, L. A. S. and R. G. W. (2010). Animal nutrition. In *Pearson*. <https://doi.org/10.1038/111651a0>
- McKnight, J. R., Satterfield, M. C., Jobgen, W. S., Smith, S. B., Spencer, T. E., Meininger, C. J., McNeal, C. J., & Wu, G. (2010). Beneficial effects of L-arginine on reducing obesity: Potential mechanisms and important implications for human health. In *Amino Acids* (Vol. 39, Issue 2, pp. 349–357). Springer-Verlag Wien. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>
- Mehran, M., Masoum, S., & Memarzadeh, M. (2020). Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material. *International Journal of Biological Macromolecules*, *148*, 768–776. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197>
- Mendanha, D. V., Molina Ortiz, S. E., Favaro-Trindade, C. S., Mauri, A., Monterrey-Quintero, E. S., & Thomazini, M. (2009). Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. *Food Research International*, *42*(8), 1099–1104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.007>
- Meyer, A. M., Klein, S. I., Kapphahn, M., Dhuyvetter, D. V., Musser, R. E., & Caton, J. S. (2018). Effects of rumen-protected arginine supplementation and arginine-HCl injection on site and extent of digestion and small intestinal amino acid disappearance in forage-fed steers. *Translational Animal Science*, *2*(2), 205–215. <https://doi.org/10.1093/tas/txy007>
- Mohamed, R., & Chaudhry, A. S. (2008). Methods to study degradation of ruminant feeds. *Nutrition Research Reviews*, *21*(1), 68–81. <https://doi.org/10.1017/S0954422408960674>
- Mun, S., Kim, Y. R., & McClements, D. J. (2015). Control of  $\beta$ -carotene bioaccessibility using starch-based filled hydrogels. *Food Chemistry*, *173*, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.053>
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, *1*, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.266>
- Niu, H. X., Chang, J., & Jia, Y. D. (2015). Microencapsulation of crystalline-methionine enclosed with gelatine and sodium alginate by spray-drying. *Materials Research Innovations*, *19*(April), S5257–S5262. <https://doi.org/10.1179/1432891714Z.0000000001088>
- Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., Matheus, M. V., & Barreto, P. L. M. (2013). Optimization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial Crops and Products*, *50*, 896–903. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.015>
- Okuro, P. K., Eustáquio de Matos, F., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, *51*(2), 171–182.
- Ospina-Villa, J. D., Gómez-Hoyos, C., Zuluaga-Gallego, R., & Triana-Chávez,



- O. (2019). Encapsulation of proteins from *Leishmania panamensis* into PLGA particles by a single emulsion-solvent evaporation method. *Journal of Microbiological Methods*, 162(May), 1–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.05.004>
- Owens, F N and Basalan, M. (2016). Ruminant Fermentation. In *Rumenology*.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2>
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., & Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272(July 2018), 494–506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>
- Palzer, S. (2005). The effect of glass transition on the desired and undesired agglomeration of amorphous food powders. *Chemical Engineering Science*, 60, 3959–3968. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2005.02.015>
- Pannier, L., Mullen, A., Hamill, R., Science, P. S.-M., & 2010, U. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Elsevier*.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0309174010000690>
- Pathak, C., F.u. Vaidya, and S. M. P. (2019). Mechanism for Development of Nanobased Drug Delivery System. In *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems* (Issue January). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814029-1.00011-9>
- Pedroza Islas, R. (2002). *Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas*.
- Pette, D., & Staron, R. S. (2000). Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microscopy Research and Technique*, 50(6), 500–509.  
[https://doi.org/10.1002/1097-0029\(20000915\)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0029(20000915)50:6<500::AID-JEMT7>3.0.CO;2-7)
- Pinto Reis, C., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2(1), 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2005.12.003>
- Popolo, A., Adesso, S., Pinto, A., Autore, G., & Marzocco, S. (2014). L-Arginine and its metabolites in kidney and cardiovascular disease. *Amino Acids*, 46(10), 2271–2286. <https://doi.org/10.1007/s00726-014-1825-9>
- Prandini, A., Sigolo, S., Morlacchini, M., Grilli, E., & Fiorentini, L. (2013). Microencapsulated lysine and low-protein diets: Effects on performance, carcass characteristics and nitrogen excretion in heavy growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(9), 4226–4234.  
<https://doi.org/10.2527/jas.2013-6412>
- Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G., & Andrés, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science*, 83(2), 175–186.  
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.04.016>
- Quispe-Condori, S., Saldaña, M. D. A., & Temelli, F. (2011). Microencapsulation of flax oil with zein using spray and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 44(9), 1880–1887. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.005>





- Raj, S., Skiba, G., Weremko, D., Fandrejewski, H., Migdał, W., Borowiec, F., & Poławska, E. (2010). The relationship between the chemical composition of the carcass and the fatty acid composition of intramuscular fat and backfat of several pig breeds slaughtered at different weights. *Meat Science*, *86*(2), 324–330. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.037>
- Rajam, R., & Anandharamakrishnan, C. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, *60*(2), 773–780. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.062>
- Rö Ckl, K. S. C., Hirshman, M. F., Brandauer, J., Fujii, N., Witters, L. A., & Goodyear, L. J. (2007). *Skeletal Muscle Adaptation to Exercise Training AMP-Activated Protein Kinase Mediates Muscle Fiber Type Shift*. <https://doi.org/10.2337/db07-0255>
- Romero-Pérez, A., García-García, E., Zavaleta-Mancera, A., Ramírez-Bribiesca, J. E., Revilla-Vázquez, A., Hernández-Calva, L. M., López-Arellano, R., & Cruz-Monterrosa, R. G. (2010). Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. *Veterinary Research Communications*, *34*(1), 71–79. <https://doi.org/10.1007/s11259-009-9335-z>
- Ryu, Y. C., & Kim, B. C. (2006). Comparison of histochemical characteristics in various pork groups categorized by postmortem metabolic rate and pork quality 1. *Journal of Animal Science*. <http://jas.fass.org/cgi/content/full/84/4/894>
- Sarabandi, K., Sadeghi Mahoonak, A., Hamishekar, H., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2018). Microencapsulation of casein hydrolysates: Physicochemical, antioxidant and microstructure properties. *Journal of Food Engineering*, *237*(March), 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.036>
- Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P. S., Sharma, A., & Singhal, R. S. (2013). Hydrophobic derivatives of guar gum hydrolyzate and gum Arabic as matrices for microencapsulation of mint oil. *Carbohydrate Polymers*, *95*(1), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.070>
- Sarteshnizi, F. R., Benemar, H. A., Seifdavati, J., Greiner, R., Salem, A. Z. M., & Behroozyar, H. K. (2018). Production of an environmentally friendly enzymatic feed additive for agriculture animals by spray drying abattoir's rumen fluid in the presence of different hydrocolloids. *Journal of Cleaner Production*, *197*, 870–874. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.220>
- Schulman, S. P., Becker, L. C., Kass, D. A., Champion, H. C., Terrin, M. L., Forman, S., Ernst, K. V., Kelemen, M. D., Townsend, S. N., Capriotti, A., Hare, J. M., & Gerstenblith, G. (2006). L-arginine therapy in acute myocardial infarction: The Vascular Interaction with Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) Randomized Clinical Trial. *Journal of the American Medical Association*, *295*(1), 58–64. <https://doi.org/10.1001/jama.295.1.58>
- Shahidi, F., & Han, X. Q. (1993). Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *33*(6), 501–547. <https://doi.org/10.1080/10408399309527645>
- Shao, A., & Hathcock, J. N. (2008). Risk assessment for the amino acids taurine, l-glutamine and l-arginine. *Regulatory Toxicology and*



- Pharmacology*, 50(3), 376–399. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.01.004>
- Shi, H., Kim, J. K., & Kim, I. H. (2019). Effects of dietary L-arginine on growth performance, nutrient digestibility, gas emission, and meat quality in finishing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 253(May), 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.007>
- SIAP. (2019). *Expectativas Agroalimentarias*.
- Singh, S., Neelam, Arora, S., & Singla, Y. (2015). An overview of multifaceted significance of eudragit polymers in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5), 1–6.
- Smith, S. B., Gotoh, T., & Greenwood, P. L. (2018). Current situation and future prospects for global beef production: Overview of special issue. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(7), 927–932. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0405>
- Sutaphanit, P., & Chitprasert, P. (2014). Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. *Food Chemistry*, 150, 313–320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.159>
- Taghizadeh, A., Danesh Mesgaran, M., Valizadeh, R., Eftekhar Shahroodi, F., & Stanford, K. (2005). Digestion of feed amino acids in the rumen and intestine of steers measured using a mobile nylon bag technique. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1807–1814. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72855-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72855-1)
- Tan, B., Yin, Y., Liu, Z., Li, X., Xu, H., Kong, X., Huang, R., Tang, W., Shinzato, I., Smith, S. B., & Wu, G. (2009). Dietary L-arginine supplementation increases muscle gain and reduces body fat mass in growing-finishing pigs. *Amino Acids*, 37(1), 169–175. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0148-0>
- Tan, B., Yin, Y., Liu, Z., Tang, W., Xu, H., Kong, X., Li, X., Yao, K., Gu, W., Smith, S. B., & Wu, G. (2011). Dietary L-arginine supplementation differentially regulates expression of lipid-metabolic genes in porcine adipose tissue and skeletal muscle. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(5), 441–445. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.03.012>
- Tavares Brito de Medeiros, T., de Azevedo Silva, A. M., Leandro da Silva, A., Rocha Bezerra, L., da Silva Agostini, D. L., Lomonaco Vasconcelos de Oliveira, D., Mazzetto, S. E., Viana Kotzebue, L. R., Ribeiro Oliveira, J., Barbosa Souto, G. S., de Barros Carvalho, A., Netto, A. J., & Lopes Oliveira, R. (2018). Carnauba wax as a wall material for urea microencapsulation. *Article in Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(3), 1078–1087. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9275>
- Teixeira, P. D., Tekippe, J. A., Rodrigues, L. M., Ladeira, M. M. H., Pukrop, J. R., Brad Kim, Y. H., & Schoonmaker, J. P. (2019). Effect of ruminally protected arginine and lysine supplementation on serum amino acids, performance, and carcass traits of feedlot steers. *Journal of Animal Science*, 97(8), 3511–3522. <https://doi.org/10.1093/jas/skz191>
- Thornton, P. K. (2010). Livestock production: Recent trends, future prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1554), 2853–2867. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0134>
- Tice, T. R., & Gilley, R. M. (1985). Preparation of injectable controlled-release microcapsules by a solvent-evaporation process. *Journal of Controlled*



- Release, 2(C), 343–352. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(85\)90056-2](https://doi.org/10.1016/0168-3659(85)90056-2)
- Timilsena, Y. P., Haque, M. A., & Adhikari, B. (2020). Encapsulation in the Food Industry: A Brief Historical Overview to Recent Developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(06), 481–508. <https://doi.org/10.4236/fns.2020.116035>
- Tuell, J., Kim, H.-W., Guedes, J., Seo, J.-K., Schoonmaker, J., & Kim, Y. H. B. (2019). Supplementing Beef Steers with Ruminant Bypass Arginine Improves Oxidative Stability of Aged Beef Loins. *Meat and Muscle Biology*, 2(2), 182–182. <https://doi.org/10.22175/rmc2018.160>
- Tuell, J. R., Kim, H. W., Zhang, J., Guedes, J., Seo, J. K., Schoonmaker, J. P., & Kim, Y. H. B. (2021). Arginine supplementation may improve color and redox stability of beef loins through delayed onset of mitochondrial-mediated apoptotic processes. *Food Chemistry*, 343(October 2020), 128552. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128552>
- Valdiviezo Morales, L. (2012). *Diseño y caracterización de microcápsulas de seleniometonina*.
- Vuddanda, P. R., Mishra, A., Singh, S. K., & Singh, S. (2014). Development of polymeric nanoparticles with highly entrapped herbal hydrophilic drug using nanoprecipitation technique: An approach of quality by design. *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(5), 579–587. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.908302>
- Walia, N., Dasgupta, N., Ranjan, S., Ramalingam, C., & Gandhi, M. (2019). Methods for nanoemulsion and nanoencapsulation of food bioactives. *Environmental Chemistry Letters*, 17(4), 1471–1483. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00886-w>
- Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E., Wandrey, C., Bartkowiak, A., Harding, S. E., Zuidam, N. J., & Nedović, V. A. (2010). Materials for encapsulation. *Springer*, 31–100. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_3)
- Wang L., Y. Liu, W. Zhang, X. Chen, T. Yang, and G. M. (2013). Microspheres and Microcapsules for Protein Delivery: Strategies of Drug Activity Retention. *Current Pharmaceutical Design*. <https://doi.org/10.2174/1381612811319350010>
- Wang, Y., & McAllister, T. A. (2002). Rumen microbes, enzymes and feed digestion-A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15(11), 1659–1676. <https://doi.org/10.5713/ajas.2002.1659>
- Wei, Y., Sun, C., Dai, L., Zhan, X., & Gao, Y. (2018). Structure, physicochemical stability and in vitro simulated gastrointestinal digestion properties of  $\beta$ -carotene loaded zein-propylene glycol alginate composite nanoparticles fabricated by emulsification-evaporation method. *Food Hydrocolloids*, 81, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.042>
- Werner, S. R. L., Jones, J. R., Paterson, A. H. J., Archer, R. H., & Pearce, D. L. (2007). Air-suspension particle coating in the food industry: Part I-state of the art. *Powder Technology*, 17, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2006.08.014>
- Wessels, R., ... E. T.-J. of animal, & 1997, U. (1997). Effect of amino acid supplementation on whole-body protein turnover in Holstein steers.



- Academic.Oup.ComRH Wessels, EC Titgemeyer, G St. Jean *Journal of Animal Science*, 1997•academic.Oup.Com.  
<https://academic.oup.com/jas/article-abstract/75/11/3066/4624928>
- Wolfgong, W. J. (2016). Chemical analysis techniques for failure analysis: Part 1, common instrumental methods. In *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Aerospace and Automotive Industries*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800950-5.00014-4>
- Wu, G, Cross, H. R., Gehring, K. B., Savell, J. W., Arnold, A. N., & McNeill, S. H. (2016). Composition of free and peptide-bound amino acids in beef chuck, loin, and round cuts. *Journal of Animal Science*, 2603–2613.  
<https://doi.org/10.2527/jas2016-0478>
- Wu, G, Journal, S. M. J.-B., & 1998, U. (1998). Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical J.*, 336, 1–17.  
<https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/336/1/1/34432>
- Wu, Guoyao. (2013). Amino acids: Biochemistry and nutrition. In *CRC Press*.  
<https://doi.org/10.1201/b14661>
- Wu, Guoyao, Bazer, F. W., Satterfield, M. C., Gilbreath, K. R., Posey, E. A., & Sun, Y. (2022). L-Arginine Nutrition and Metabolism in Ruminants. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1354, 177–206.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-85686-1_10)
- Wu, Z., Hou, Y., Hu, S., Bazer, F. W., Meininger, C. J., McNeal, C. J., & Wu, G. (2016). Catabolism and safety of supplemental l-arginine in animals. *Amino Acids*, 48(7), 1541–1552. <https://doi.org/10.1007/s00726-016-2245-9>
- Xu, M., Gagné-Bourque, F., Dumont, M. J., & Jabaji, S. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. *Journal of Food Engineering*, 168, 52–59.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.07.021>
- Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jiménez, J., Perspectiva, M. M.-A. y, & 2002, U. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y Perspectiva*, 21, 313–319.
- Yang, M., Liang, Z., Wang, L., Qi, M., Luo, Z., & Li, L. (2020). Microencapsulation Delivery System in Food Industry—Challenge and the Way Forward. *Advances in Polymer Technology*, 2020, 1–14.  
<https://doi.org/10.1155/2020/7531810>
- Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 167–179.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.025>
- Yoshimaru, T., Takahashi, H., & Matsumoto, K. (2000). Microencapsulation of L-lysine for improving the balance of amino acids in ruminants. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 44(3–4), 359–365.  
<https://doi.org/10.5109/24338>
- Zhang, L., Zhou, Y., Wu, W., Hou, L., Chen, H., Zuo, B., Xiong, Y., & Yang, J. (2017). Skeletal muscle-specific overexpression of PGC-1 $\alpha$  induces fiber-type conversion through enhanced mitochondrial respiration and fatty acid oxidation in mice and pigs. *International Journal of Biological Sciences*,



13(9), 1152–1162. <https://doi.org/10.7150/ijbs.20132>

Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., & Qiao, S. (2017). Novel metabolic and physiological functions of branched chain amino acids: A review. In *Journal of Animal Science and Biotechnology* (Vol. 8, Issue 1, pp. 1–12). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0139-z>