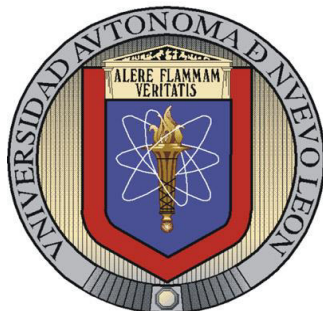


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



TESIS

**EVALUACIÓN FUNCIONAL Y ANTIOXIDANTE DE
ARABINOXILANOS FERULADOS EXTRAÍDOS DE PERICARPIO
DE MAÍZ (*zea mays* L.) OBTENIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES
DE EXTRACCIÓN ALCALINA**

PRESENTADA POR:

DANIELA DENISE HERRERA BALANDRANO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS**

JUNIO 2019

**EVALUACION FUNCIONAL Y ANTIOXIDANTE DE ARABINOXILANOS
FERULADOS EXTRAÍDOS DE PERICARPIO DE MAÍZ (*Zea Mays* L.)
OBTENIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE EXTRACCIÓN
ALCALINA**

Comité de Tesis

Dr. Juan Gabriel Báez González
Presidente

Dra. Claudia Tomasa Gallardo Rivera
Secretario

Dr. Carlos Abel Amaya Guerra
Vocal 1

Dra. María Adriana Núñez González
Vocal 2

Dra. María Guadalupe Alanís Guzmán
Vocal 3

**EVALUACION FUNCIONAL Y ANTIOXIDANTE DE ARABINOXILANOS
FERULADOS EXTRAÍDOS DE PERICARPIO DE MAÍZ (*Zea Mays* L.)
OBTENIDOS BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE EXTRACCIÓN
ALCALINA**

Dirección de Tesis

Dr. Juan Gabriel Báez González
Director Interno

Dr. Guillermo Niño Medina
Director externo

Agradecimientos Académicos

A mis directores de tesis, Dr. Guillermo Niño Medina, por estar presente y ayudarme a lo largo de mi doctorado. Su orientación y consejos me ayudaron a culminar esta etapa. Dr. Juan Gabriel Báez González, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado y apoyarme en toda ocasión.

A la Dra. Adriana Núñez y el Dr. Carlos Amaya por haber evaluado el desarrollo de esta investigación, gracias por sus consejos. A las Dras. Guadalupe Alanís y Claudia Gallardo por ser parte de mi comité.

Al CIAD de Hermosillo, Dra. Elizabeth Carvajal, por permitirme realizar parte importante del proyecto en el Departamento de Biopolímeros, a sus colaboradores Ana Luisa y Jorge, gracias por enseñarme y tenerme paciencia. Alma Campa, estoy muy agradecida por todo tu apoyo.

Al CIAD de Culiacán, por las facilidades otorgadas para la realización de parte de este proyecto y a los Dres. Ma. Dolores Muy Rangel y José Basilio Heredia.

A la Dra. Trust Beta, gracias por sus consejos motivadores y por la oportunidad de aprender y colaborar en su laboratorio en la Universidad de Manitoba. Al soporte técnico brindado por Alison Ser y Franklin Apea.

A la Universidad Autónoma de Nuevo León por haberme permitido estudiar y desarrollar este proyecto en sus instalaciones.

A CONCAYT por haberme otorgado la beca de doctorado (305472).

Agradecimientos Personales

A mis padres Sofía y David, que sin ellos nada hubiera sido posible. Gracias por guiarme a ser mejor cada día, además por haberme apoyado a concluir mis estudios de doctorado. No hay obstáculos que no se puedan vencer teniendo su apoyo.

A mi abuelita Delfina, gracias por siempre motivarme a seguir adelante.

A mis sobrinos, que me regalaron cada día una sonrisa sin recibir nada a cambio.

A G. Méndez, gracias por tu apoyo incondicional y consejos.

A mis amigas de laboratorio, Cynthia, Jenny, Ale y Edith, por esos cafés mañaneros y almuerzos que duraban horas, las mejores experiencias en los congresos.

A mis amigas Pamela y Vipasha, gracias por ser tan buenas personas, mi estancia fue lo mejor compartiendo aventuras juntas.

A S. Stockwell que con tu ayuda todo fue más fácil, gracias por escucharme cada vez que lo necesitaba.

Índice de Contenido	Página
Resumen.....	1
Abstract.....	2
Capítulo 1: Introducción General, Hipótesis y Objetivos.....	3
1.1 Introducción.....	3
1.2 Justificación.....	5
1.3 Hipótesis.....	5
1.4 Objetivo general.....	6
1.5 Objetivos particulares.....	6
Capítulo 2: Arabinoxilanos ferulados extraídos del pericarpio de maíz nixtamalizado: sinónimo de fibra dietaria soluble antioxidante.....	8
Capítulo 3: Identificación de compuestos fenólicos y evaluación de actividad antioxidante de fracciones de arabinoxilanos de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	29
Capítulo 4: Efecto de la adición de arabinoxilanos ferulados sobre las características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de salchichas tipo Frankfurter.....	51
Capítulo 5: Arabinoxilanos extraídos de maíz nixtamalizado sobre la capacidad antioxidante y características fisicoquímicas en la elaboración de pan blanco.....	73
Capítulo 6: Bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de compuestos fenólicos asociados a fibra dietaria antioxidante (arabinoxilanos ferulados) extraída de pericarpio de maíz durante digestión <i>in vitro</i>	93
Apéndice I: Artículos Publicados.....	112
Apéndice II: Participación en Congresos.....	113

Índice de Tablas	Página
Tabla 2.1. Composición química y fibra dietaria de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	15
Tabla 2.2. Rendimiento, composición de monosacáridos y contenido de proteína en arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	16
Tabla 2.3. Contenido de fibra dietaria en arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	17
Tabla 2.4. Monómeros, dímeros y trímero de arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	19
Tabla 2.5. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.....	21
Tabla 2.6 Características reológicas de hidrogeles de arabinosilanos ferulados formados al 2% (w/v).....	22
Tabla 3.1 Composición de monosacáridos encontrados en fracciones de 80 y 90 % de saturación de amonio de sulfato de amonio.....	38
Tabla 3.2 Cuantificación de ácido ferúlico en fracciones de 80 y 90 % de saturación de amonio de sulfato de amonio.....	40
Tabla 3.3 Compuestos fenólicos identificados en fracciones de arabinosilanos ferulados mediante LC-MS/MS en ion modo negativo.....	41
Tabla 3.4 Contenido de Fenoles totales y capacidad antioxidante de fracciones de AX.....	44
Tabla 4.1 Análisis fisicoquímico y textura de salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos.....	60

Tabla 4.2 Parámetros de color en salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos.....	62
Tabla 4.3 Análisis proximal de salchichas adicionadas con arabinosilanos.....	64
Tabla 4.4 Fenoles Totales y capacidad antioxidante de salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos ferulados.....	66
Tabla 5.1 Ingredientes para la elaboración de pan blanco.....	78
Tabla 5.2 Perfil de Textura de pan de caja adicionado con arabinosilanos ferulados.....	82
Tabla 5.3 Parámetros de color en panes de caja adicionados con arabinosilanos ferulados.....	83
Tabla 5.4 Análisis proximal de panes de caja adicionadas con arabinosilanos ferulados.....	85
Tabla 5.5 Fenoles Totales y capacidad antioxidante de pan de caja adicionado con arabinosilanos ferulados.....	87
Tabla 6.1 Resultados obtenidos en la cuantificación de ácido ferúlico mediante HPLC.....	105
Tabla 6.2 Resultados obtenidos en la cuantificación de Fenoles Totales durante digestión <i>in vitro</i>	105
Tabla 6.3 Capacidad antioxidante (DPPH) de arabinosilanos ferulados durante digestión <i>in vitro</i>	106
Tabla 6.4 Capacidad antioxidante (FRAP) de arabinosilanos ferulados durante digestión <i>in vitro</i>	107

Índice de Figuras	Página
Figura 2.1. Compuestos fenólicos identificados en arabinoxilanos (AX_2h) mediante HPLC.....	19
Figura 3.1 Perfil de Compuestos fenólicos identificados en fracciones de arabinoxilanos ferulados mediante HPLC. Los compuestos fueron tomados a 280 nm. Los picos fueron identificados por comparación con la información de referencia obtenida de LC-ESI-MS.....	40
Figura 3.2 Espectros de fragmentos de dímeros y trímero de ácido ferúlico a) 8-8'-aryltetralin-DFA, b) 8-5'-DFA, c) 8-8'-DFAf, d) trans, cis-8-O-4'-DFA, e) trans, trans-8-O-4'-DFA y d) TFA. HPLC-MS/MS (Energía de colisión = 30 V).....	42
Figura 5.1 Valores de la composición media de las harinas panificables.....	75
Figura 6.1 Estructura química de una fracción de arabinoxilanos ferulados identificados en cereales.....	95
Figura 6.2 Absorción general humana de compuestos fenólicos contenidos en alimentos ricos en fibra dietaria, como frutas y vegetales.....	97
Fig. 6.3 Cromatogramas de identificación de ácidos fenólicos mediante HPLC en las diferentes fases de digestión <i>in vitro</i> a) AX_2h; Digestión gástrica, b) AX_2h; Fase Pancreática y c) AX_2h; Diálisis.....	103

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar las propiedades funcionales y antioxidantes de arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado bajo diferentes condiciones de extracción alcalina. Se obtuvieron 4 tratamientos 2, 4, 6 y 8 h de extracción, los cuales se caracterizaron mediante HPLC obteniendo una pureza entre 55.58 a 61.16%, mientras que relación arabinosa y xilosa (A/X) fue entre 0.82 a 0.87. Se cuantificó el contenido de ácido ferúlico obteniendo resultados de 2.23, 1.49, 0.47 y 0.05 µg/mg, para los tratamientos de 2, 4, 6 y 8 h respectivamente, indicando que a mayor tiempo de extracción el contenido de ácido ferúlico es menor. Una vez caracterizados los arabinosilanos, se aplicaron como un ingrediente más en la formulación de productos para el desarrollo de alimentos funcionales. Encontrando que la incorporación de estos polisacáridos incrementa la calidad funcional y nutracéutica en la elaboración de pan y salchichas tipo Frankfurter. Por último, se determinó la bioaccesibilidad de ácido ferúlico mediante digestión *in vitro*, encontrando niveles altos de bioaccesibilidad de este compuesto durante el proceso de digestión. Los valores obtenidos fueron entre 25.15 a 58.92%, siendo el tratamiento de 2h el de mayor bioaccesibilidad.

Abstract

The aim of this project was to evaluate the functional and antioxidant properties of feruloylated arabinoxylans extracted from nixtamalized maize bran under different alkaline extraction times. Four treatments were obtained 2, 4, 6 and 8 h of extraction, they were characterized by HPLC obtaining a purity between 55.58 to 61.16%, while arabinose and xylose ratio results (Ara/Xyl) were around 0.82 to 0.87. The ferulic acid content was quantified founded the following results 2.23, 1.49, 0.47 and 0.05 $\mu\text{g}/\text{mg}$, for 2, 4, 6 and 8 h treatments respectively, indicating that ferulic acid content is lower the longer the extraction time. Once the arabinoxylans were characterized, they were applied as an ingredient in the formulation of products, developing functional and nutraceutical foods. The incorporation of these polysaccharides increases the properties and quality in the elaboration of bread and Frankfurter sausages. By last, the bioaccessibility of ferulic acid was determined by *in vitro* digestion, finding high levels of bioaccessibility of this compound during the digestion process. The values obtained were between 25.15 and 58.92%, being the 2h treatment with highest bioaccessibility.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.1 Introducción

Nixtamalización es el proceso en el cual el maíz que ha sido sometido a cocción parcial con agua en presencia de hidróxido de calcio (NOM-187-SSA1/SCFI-2002). Durante este proceso se deriva un subproducto (salvado de maíz) el cual se desecha completamente. En México se producen alrededor de 125,000 toneladas de salvado de maíz provenientes del proceso de nixtamalización (INEGI 2018). Este subproducto suele utilizarse para la elaboración de alimento para animales o es totalmente desechado sin ningún valor. Sin embargo se ha reportado que el maíz, principalmente el pericarpio contiene un alto contenido de arabinoxilanos ferulados (Saulnier et al. 1987; Izydorczyc y Biliaderis, 1995).

Los arabinoxilanos son los principales polisacáridos no amiláceos de los granos de cereales, que se localizan en las paredes celulares del endospermo, capa aleurona y pericarpio de los mismos (Morales-Ortega et al. 2013). Estos polisacáridos poseen propiedades de gelificación así como poder antioxidante, debido a la presencia del ácido ferúlico que se encuentra unido a ciertos residuos de arabinosa mediante enlaces ester, además este ácido le confiere propiedades prebióticas, neuroprotectoras, anticancerígenas, así como niveles importantes en la disminución de glucosa en el sangre (Graf 1992). De acuerdo a la composición química de los arabinoxilanos, están dentro del grupo de fibra dietaria. Sin embargo, Saura-Calixto et al. (1998) definió el concepto de fibra dietaria antioxidante, la cual es una fibra dietaria rica en compuestos fenólicos asociados que combinan en un solo material tanto el efecto fisiológico de la fibra dietaria como la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos.

Entonces, los arabinoxilanos ferulados pueden ser considerados como una fibra dietaria antioxidante ya que en su estructura nativa tienen un ácido fenólico unido al

polisacárido. El presente trabajo, evaluó las propiedades funcionales y antioxidantes de los arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado (subproducto). Se caracterizaron los polisacáridos y se elaboraron productos funcionales agregando los arabinosilanos en la formulación de los alimentos (pan y salchicha), evaluando sus propiedades fisicoquímicas y antioxidantes, además se evaluó el porcentaje de bioaccesibilidad de ácido ferúlico mediante digestión *in vitro*. Todas estas evaluaciones con el fin de potenciar el valor del salvado de maíz que se obtiene del proceso de nixtamalización.

1.2 Justificación

El pericarpio de maíz procedente de la industria de la nixtamalización tiene un gran potencial para la obtención de polisacáridos de alto valor agregado con propiedades funcionales y antioxidantes ya que está compuesto principalmente de arabinosilanos ferulados y éstos pueden ser aplicados en el desarrollo de alimentos funcionales.

Por lo cual en este proyecto de investigación se obtuvieron arabinosilanos a partir de pericarpio de maíz nixtamalizado utilizando diferentes tiempos de extracción alcalina.

1.3 Hipótesis

El tiempo de extracción alcalina afecta las propiedades funcionales y antioxidantes de los arabinosilanos ferulados de pericarpio de maíz.

1.4 Objetivo General

Evaluar las propiedades funcionales y antioxidantes de arabinoxilanos ferulados de pericarpio de maíz obtenidos bajo diferentes tiempos de extracción alcalina.

1.5 Objetivos Particulares

1. Extraer y caracterizar arabinoxilanos ferulados de pericarpio de maíz bajo diferentes tiempos de tratamiento alcalino.
2. Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de arabinoxilanos ferulados mediante DPPH, ABTS, FRAP y ORAC.
3. Identificar y cuantificar el ácido ferúlico de fracciones de arabinoxilanos ferulados mediante HPLC/MS-MS
4. Evaluar la reología de hidrogeles de arabinoxilanos ferulados.
5. Evaluar el uso de arabinoxilanos ferulados como ingrediente para el desarrollo de alimentos funcionales.
6. Determinar la bioaccesibilidad del ácido ferúlico a partir de arabinoxilanos ferulados mediante digestión *in vitro*.

Ésta tesis ha sido escrita siguiendo el formato de capítulos, el capítulo 2 proveerá información de la caracterización de los arabinoxilanos ferulados así como su capacidad antioxidante y evaluación reológica de hidrogeles. En el capítulo 3 se identificarán las fracciones de arabinoxilanos ferulados obtenidas y su capacidad

antioxidante. Los capítulos cuatro y cinco evaluarán el uso de arabinosilanos en distintas matrices alimentarias. El último capítulo determinó la bioaccesibilidad del ácido ferúlico de arabinosilanos mediante digestión *in vitro*.

CAPÍTULO 2

ARABINOXILANOS FERULADOS EXTRAÍDOS DEL PERICARPIO DE MAÍZ NIXTAMALIZADO: SINÓNIMO DE FIBRA DIETARIA SOLUBLE ANTIOXIDANTE

Daniela D. Herrera-Balandrano^{1,7}, Juan G. Báez-González¹, Elizabeth Carvajal-Millán², Dolores Muy-Rangel³, Vania Urías-Orona⁴, Ana L. Martínez-López⁵, Jorge A. Márquez-Escalante², José B. Heredia³, Trust Beta⁶, Guillermo Niño-Medina⁷

Aceptado para publicación en Waste and Biomass Valorization (17 de Septiembre 2018)

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos. Cd. Universitaria, Av. Universidad S/N, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Coordinación Hermosillo, Laboratorio de Biopolímeros. Carretera a la Victoria Km 0.6, C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

³Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Coordinación Culiacán, Laboratorio de Tecnología de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos, Carretera Culiacán a El Dorado, km 5.5, C.P. 80110, Culiacán, Sinaloa, México.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Laboratorio de Química de los Alimentos, Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, C.P. 64460, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León, México.

⁵University of Navarra, Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, 31080, Pamplona, Spain.

⁶University of Manitoba, Department of Food and Human Nutritional Sciences. R3T 2N2, Winnipeg, Manitoba, Canada.

⁷Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica. Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

2.1 Resumen

Los arabinosilanos ferulados fueron extraídos del pericarpio de maíz nixtamalizado bajo condiciones alcalinas (0.5 N NaOH) a diferentes tiempos (2 h, 4 h, 6 h y 8 h). Los tratamientos fueron analizados por medio de composición de azúcares neutros, fibra dietaria y contenido de ácidos ferúlicos, así como su capacidad antioxidante, para así establecer si se pueden ser considerados como fibra dietaria soluble antioxidante. Los rendimientos de los arabinosilanos siguiendo la extracción alcalina de los tratamientos fueron de 4.89%, 8.23%, 7.17% y 7.57 para 2 h, 4 h, 6 h y 8 h respectivamente. La pureza de los arabinosilanos oscilo entre 55.58 a 61.16%, mientras que la relación arabinosa y xilosa (A/X) fue entre 0.82 a 0.87, lo cual indicó que los arabinosilanos de todos los tratamientos tuvieron una estructura moderadamente ramificada. La fibra dietaria soluble encontrada en la composición química de los arabinosilanos ferulados fue más del 85%. Las formas monoméricas y oligoméricas fueron influenciadas por el tiempo de extracción alcalina. La forma monomérica fue el principal ácido fenólico en los arabinosilanos ferulados (77.05-86.97%), seguido de dímeros (11.57-14.20%) y trímero (0.93-9.36%). El contenido de fenoles totales fue entre 9.01 a 6.34 mgEAF/g, mientras la capacidad antioxidante oscilo entre 28.27 a 31.69 $\mu\text{molET/g}$, 12.62 a 21.27 $\mu\text{molET/g}$, 33.59 a 58.33 $\mu\text{molET/g}$ y 3.53 a 60.65 $\mu\text{molET/g}$ para los ensayos de DPPH, ABTS, FRAP y ORAC respectivamente. El contenido de fenoles y la capacidad antioxidante fue en orden: 2 h > 4 h > 6 h > 8 h y de acuerdo con el contenido de ácido ferúlico. Los resultados indicaron que los arabinosilanos ferulados extraídos bajo condiciones alcalinas obtenidos de pericarpio de maíz nixtamalizado son sinónimo con fibra dietaria soluble antioxidante.

2.2 Introducción

La definición oficial de fibra dietaria por la Asociación Internacional de Química de Cereales es: Las partes comestibles de plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietaria incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. Las fibras dietarias promueven efectos fisiológicos beneficiosos que incluyen laxación y/o atenuación del colesterol en la sangre y/o atenuación de la glucosa en sangre”. Los constituyentes de fibra dietaria son: carbohidratos análogos (ej. almidón resistente, maltodextrinas indigeribles, maltodextrinas resistentes, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa) sustancias de lignina y complejo de lignina (ej. ceras, cutinas, suberinas) y polisacáridos no almidonosos (ej. celulosa, pectinas, arabinoxilanos) (AACC 2001). El concepto llamado Fibra Dietaria Antioxidante fue introducido por Saura-Calixto (1998), definiendo el término como: “Fibra dietaria rica en compuestos fenólicos asociados que combinan en un solo material tanto el efecto fisiológico de la fibra dietaria como la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos”. Desde entonces, varios estudios han reportado Fibra Dietaria Antioxidante en diferentes subproductos de plantas de alimentos (Bensadón et al. 2010, Chantaro et al. 2010, Ajila et al. 2010) o subutilizado componentes de plantas de alimentos (Nilnakara et al. 2009, Yapo et al. 2013), pero éste componente alimenticio no ha sido descrito como tal, en cereales o subproductos de cereales. En la producción de tortilla, el maíz está sujeto a un proceso de nixtamalización en el que los granos se cocinan en cal a una temperatura superior a 70 °C durante un tiempo que varía de 5 a 180 min, seguido de un remojo en la solución de cocción de cal de 1 a 24 h y finalmente el salvado se elimina completamente y se considera un subproducto. Aunque el salvado se solubiliza parcialmente durante la nixtamalización, todavía contiene una gran cantidad de hemicelulosas (Rostro et al. 2014, Santiago-Ramos et al. 2018).

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), cada año se producen en México alrededor de 125,000

toneladas de salvado de maíz a partir del proceso de nixtamalización (INEGI 2018). Los usos tradicionales para el subproducto del salvado de maíz son principalmente alimentos para animales a bajo precio, pero las aplicaciones alimentarias también pueden proporcionar un valor agregado comercial y nutricional, ya que está compuesto en gran parte por fibra dietaria insoluble (arabinosilanos ferulados) (Rose et al. 2009) que tiene propiedades prebióticas y antioxidantes en estudios tanto in vivo como in vitro (Malunga y Beta 2016). El objetivo de éste trabajo fue obtener arabinosilanos ferulados a partir del subproducto de salvado de maíz nixtamalizado mediante tratamientos alcalinos y evaluar sus propiedades de fibra dietaria antioxidante soluble.

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1 Composición química del subproducto de maíz nixtamalizado

Molinos Azteca S.A. de C.V. (Planta Nuevo León) proporcionó amablemente el salvado de maíz, que es un subproducto de la nixtamalización del grano de maíz. El salvado se molió y se tamizó a un tamaño de partícula de 0.1 mm (malla US 140). Se utilizaron los métodos de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC 1998) para determinar la humedad (método 925.09), proteína (método 960.52), cenizas (método 923.03), grasa (método 923.03) y fibra cruda (método 920.86), mientras que los carbohidratos totales se obtuvieron de la siguiente manera: carbohidratos totales = $100\% - (\% \text{ agua} + \% \text{ proteína} + \% \text{ ceniza} + \% \text{ grasa} + \% \text{ fibra cruda})$. Además, el contenido de fibra dietaria soluble e insoluble del salvado de maíz se cuantificó utilizando el kit de fibra dietaria total Megazyme® basado en el método AOAC 991.43.

2.3.2 Extracción de arabinoxilanos ferulados de pericarpio de maíz

El pericarpio se desgrasó con etanol (1:5, p/v) durante 8 horas a 300 rpm, se filtró y se secó durante 12 horas a 40 °C. La eliminación del almidón y la extracción de arabinoxilanos ferulados se llevaron a cabo mediante el método establecido por (Carvajal-Millán et al. 2007). Para la eliminación de almidón la muestra fue tratada mediante gelatinización en agua hirviendo (1:7, p/v) durante 30 min, después el sobrenadante fue descartado y el pericarpio fue secado durante 12 horas a 40 °C. Se utilizaron veinte gramos de pericarpio de maíz desgrasado y desecado con 200 ml de NaOH 0.5 N a 37 °C en oscuridad durante 2 h, 4 h, 6 h y 8 h. La extracción se realizó por triplicado.

2.3.3 Composición química de arabinoxilanos ferulados

Para la evaluación de azúcares neutros, las muestras fueron hidrolizadas y cuantificadas de acuerdo a lo establecido por Niño-Medina et al. (2009) utilizando un HPLC Varian 9012 con un detector de índice de refracción 9040 (Varian, St Helen, Australia) usando una columna Supelco Pb 300 x 7.8 mm (Supelco, Inc., PA, USA), las muestras fueron eluidas con 5 mM H₂SO₄ a 0.6 mL/min a 50 °C.

La pureza de los arabinoxilanos se obtuvo mediante el uso de un factor de corrección para arabinosa de arabinogalactanos de la siguiente manera: arabinoxilanos = [%Xil + %Ara - (0.7 × %Gal)], según Ingelbrecht et al. (2001). El contenido de proteína se determinó mediante el método de (Bradford, 1976), mientras que la ceniza se determinó mediante el método 923.03 (AOAC 1998). El contenido de fibra dietaria soluble e insoluble de los arabinoxilanos ferulados se cuantificó utilizando el kit de fibra dietaria total Megazyme® basado en el método 991.43 (AOAC 1998).

2.3.4 Extracción y cuantificación de monómeros, dímeros y trímero de ácido ferúlico en arabinosilanos ferulados

La extracción de ácidos fenólicos (saponificación) y cuantificación (RP-HPLC) de monómeros, dímeros y trímero de ácido ferúlico se realizó según el método establecido por Niño-Medina et al. (2009). Un detector con arreglo de diodos Waters 996 (Millipore Co., Milford, MA, EE. UU.), se utilizó una columna Altima C18 de 250 × 4.6 mm (Deerfield, IL, EE. UU.). La detección se realizó a una longitud de onda de 280 nm. Los resultados se expresaron como miligramos de cada monómero, dímero y trímero de ácido ferúlico por gramo de muestra (mg/g).

2.3.5 Determinación de fenoles totales y capacidad antioxidante de arabinosilanos ferulados

Se disolvieron 50 mg de arabinosilanos en 3 mL de agua destilada. Después, se determinaron fenoles totales y los ensayos de capacidad antioxidante DPPH, ABTS y FRAP de acuerdo con López-Contreras et al. (2015), mientras que el ensayo de capacidad antioxidante ORAC se realizó de acuerdo con Urías-Orona et al. (2016). Los resultados de fenoles totales se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra (mgEAF/g), mientras que los resultados de todos los ensayos de capacidad antioxidante se expresaron como micro moles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{molET/g}$).

2.3.6 Evaluación reológica de hidrogeles de arabinosilanos

Los geles fueron preparados al 2% en un buffer de ácido acético 0.1 M a un pH 5. Se tomaron 30 mg de muestra (todos los tratamientos) y se agregaron 1.5 mL del buffer, seguido de una unidad de la enzima lacasa (1.68 nkat/mg de arabinosilano). Los hidrogeles se dejaron por una hora a temperatura ambiente. La evaluación de los

hidrogeles se llevó a cabo mediante pruebas reológicas utilizando un Reómetro (Discovery HR-2; TA Instruments) colocando los geles en una geometría de placas paralelas (4 cm de diámetro). Las condiciones de gelificación fueron: Hertz = 0.25, deformación = 5% durante 2h y un barrido de frecuencia = 0.01 a 100 Hertz de acuerdo a Martínez-López et al. (2014). Las pruebas se realizaron por triplicado.

2.3.7 Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como valores medios de tres muestras \pm desviación estándar. La importancia estadística entre las muestras se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey con Minitab (Minitab 14.0 statistical software). Se estableció un nivel de probabilidad de $p < 0.05$ (5%) como significancia estadística.

2.4 Resultados y Discusión

2.4.1 Composición química del pericarpio de maíz nixtamalizado

La composición química del pericarpio de maíz se muestra en la Tabla 2.1. El componente principal del pericarpio de maíz fueron los carbohidratos seguidos de proteínas, humedad, cenizas y grasa. Además, la fibra dietaria total encontrada en el pericarpio de maíz fue de 59.31%, de las cuales 54.92% fue la fracción insoluble y 4.40% fue la fracción soluble.

Tabla 2.1. Composición química y fibra dietaria de pericarpio de maíz nixtamalizado

Componente (%)	
Humedad	7.47±0.15
Proteína	7.60±0.64
Ceniza	1.22±0.01
Grasa	0.34±0.03
Fibra cruda	13.40±0.44
Carbohidratos Totales	69.97±1.21
Fibra Dietaria (%)	
Insoluble	Soluble
54.91±0.06	4.40±0.05

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.

2.4.2 Composición química de arabinosilanos ferulados

La composición química de los arabinosilanos ferulados extraídos alcalinamente del pericarpio de maíz se muestra en la Tabla 2.2. Se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) en el rendimiento, contenido de glucosa y contenido de proteína entre tratamientos, pero el contenido de xilosa, arabinosa y galactosa no mostró diferencias significativas. Los rendimientos de nuestros arabinosilanos después de los tratamientos de extracción alcalina fueron inferiores a los datos reportados anteriormente por Carvajal-Millán et al. (2007), los cuales obtuvieron valores de rendimiento del 5.5% y 13.0% a las 2 h y 4 h, respectivamente, utilizando condiciones similares a las nuestras en la extracción de arabinosilanos a partir de productos derivados del pericarpio de maíz nixtamalizado de la industria. También fueron inferiores al 19.1% obtenido por Lapierre et al. (2001), quienes extrajeron arabinosilanos en condiciones similares a las nuestras del pericarpio de maíz nixtamalizado obtenido a escala de laboratorio.

La pureza de los arabinosilanos extraídos en medio alcalino (suma de xilosa y contenido de arabinosa corregida) fue de 61.16%, 55.58% y 56.92% a las 2 h, 4 h y 6 h, respectivamente. La pureza de los arabinosilanos obtenidos en el presente estudio fue inferior al 84.83% reportado previamente por Martínez-López et al. (2014), pero similar a la pureza de arabinosilanos reportada por Ayala-Soto et al. (2014) que

obtuvieron 55.69 %, 61.12 % y 62.15 % en fibra de maíz, pericarpio resistente y pericarpio susceptible.

Tabla 2.2. Rendimiento, composición de monosacáridos y contenido de proteína en arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.

AX	Rendimiento	Componente (%)					A/X
		Xilosa	Arabinosa	Galactosa	Glucosa	Proteína	
2h	4.89±0.04 ^c	33.43±1.25 ^a	27.73±2.31 ^a	2.52±0.26 ^a	4.51±0.01 ^a	1.00±0.06 ^a	0.82
4h	8.23±0.13 ^a	29.69±1.15 ^a	25.89±1.08 ^a	2.50±0.07 ^a	1.98±0.16 ^b	0.86±0.01 ^a	0.87
6h	7.17±0.12 ^b	30.28±0.14 ^a	26.64±0.40 ^a	3.12±0.48 ^a	1.26±0.08 ^c	0.62±0.02 ^b	0.87
8h	7.57±0.21 ^b	55.75±0.29 ^a	46.05±0.14 ^a	3.03±0.13 ^a	2.19±0.03 ^b	0.53 ± 0.09 ^c	0.83

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

La relación A/X de los arabinosilanos extraídos en medio alcalino fue de 0.82 y 0.83 para 2 h y 8 h, así como de 0.87 para los tratamientos de 4 h y 6 h, lo que indicó que todos los arabinosilanos tenían una estructura moderadamente ramificada. Estos resultados fueron similares a la relación A/X reportada por Carvajal-Millán et al. (2007) y Martínez- López et al. (2014), que obtuvieron 0.85 y 0.86 respectivamente, pero fueron más altos que los 0.53–0.55 reportados por Ayala-Soto et al. (2013) y los 0.57 obtenidos por Lapierre et al. (2001). El contenido de proteína en arabinosilanos extraídos fue de 1.00%, 0.86%, 0.63% y 0.53% para los tratamientos 2 h, 4 h, 6 h y 8 h, respectivamente, que fue inferior a los datos informados previamente por Kale et al. (2010), Carvajal-Millán et al. (2007) y Ayala-Soto et al. (2013) quienes obtuvieron más del 2% en extractos de arabinosilanos. El contenido de fibra dietaria de los arabinosilanos extraídos en todos los tratamientos mostró que estaban compuestos principalmente de fibra dietaria soluble (>83%), mientras que no se detectó la presencia de fibra dietaria insoluble (Tabla 2.3). Existe poca o ninguna literatura disponible para la comparación con el informe actual, ya que ninguno de los estudios mencionados anteriormente ha cuantificado el contenido de fibra dietaria en arabinosilanos extraídos del pericarpio de maíz. Sin embargo, nuestros resultados para la fibra dietaria fueron más altos que el 61.5% reportado por Rose et al. (2010) en

arabinosilanos solubles obtenidos de salvado de maíz bajo condiciones alcalinas. Es importante señalar que la fibra dietaria insoluble fue el componente principal del material de partida del salvado de maíz antes del tratamiento alcalino realizado.

Tabla 2.3. Contenido de fibra dietaria en arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado

AX	Fibra Dietaria (%)	
	Insoluble	Soluble
2h	ND	86.56±1.27 ^{ab}
4h	ND	89.95±0.67 ^a
6h	ND	86.14±0.83 ^b
8h	ND	83.59±0.36 ^c

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.
Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

2.4.3 Monómeros, dímeros y trímero presentes en arabinosilanos ferulados

El tratamiento alcalino aplicado a los extractos de arabinosilanos ferulados liberó el enlace éster que une los ácidos fenólicos a los arabinosilanos y como se observa en la Tabla 2.4, el tiempo de extracción influyó en el contenido de monómeros, dímeros y trímeros del ácido ferúlico en los arabinosilanos ferulados. En la figura 2.1 se pueden observar los ácidos fenólicos encontrados en una muestra de AX. El comportamiento observado en este análisis fue que a mayor tiempo de extracción es menor el contenido de ácidos ferúlicos. Se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la composición de monómeros, dímeros y trímero de ácido ferúlico entre los tratamientos. Los monómeros de ácido ferúlico fueron los principales ácidos encontrados en los arabinosilanos extraídos en medio alcalino. El ácido *trans*-ferúlico representó el 86.97% y el 84.46% de la composición fenólica de 2 h y 4 h, respectivamente, el ácido *cis*-ferúlico no se detectó en estas muestras. Para el tratamiento de 6 h, el ácido ferúlico representó el 77.05% de la composición del ácido fenólico, en donde el *cis*-ferúlico y el *trans*-ferúlico representaron el 43.58% y el 33.47%, respectivamente, del contenido total de ácido ferúlico.

La detección de ácido *cis*-ferúlico en las muestras tratadas durante 6 h se debió a la conversión de *trans*-ferúlico en condiciones alcalinas, según lo reportado por Truong et al. (2016). Los dímeros de ácidos ferúlicos representaron 11.57%, 14.20% y 13.56% del ácido ferúlico total para los tratamientos de 2 h, 4 h y 6 h, respectivamente. Para los tratamientos de 2 h y 4 h, las cantidades de dímeros de ácido ferúlico fueron 5-5> 8-O-4> 8-5> 8-5bf, mientras que en 6 h el tratamiento fue de 8-5> 5-5> 8-5bf> 8-O-4. El trímero de ácido ferúlico representó el 0.93% del contenido total de ácido ferúlico durante las 2 h, el 1.32% para las 4 horas y el 9.36% para el tratamiento de 6 horas. Este compuesto fue encontrado en mayor cantidad para el tratamiento de 6 h a diferencia de monómeros y dímeros. Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de monómeros y dímeros de ácido ferúlico en los tratamientos de 2 h y 4 h fueron superiores a los encontrados por Berlanga-Reyes et al. (2009), Ayala-Soto et al. (2014) y Martínez-López et al. (2014) quienes utilizaron condiciones similares en la extracción de arabinosilanos, pero fueron menores en el contenido del trímero informado por estos autores. La diferencia entre los resultados de estos autores y nuestro trabajo podría atribuirse a las condiciones (tiempo y temperatura utilizados) durante el proceso de nixtamalización o el genotipo del maíz del cual se obtuvo el salvado. Por otro lado, el contenido de monómeros, dímeros y trímero de nuestro tratamiento de 6 h fue inferior al de todos los informes mencionados anteriormente y esto se debe a que un tratamiento alcalino prolongado conduce a la liberación de una gran parte de los monómeros, dímeros y trímeros de ácido ferúlico unidos mediante un enlace éster.

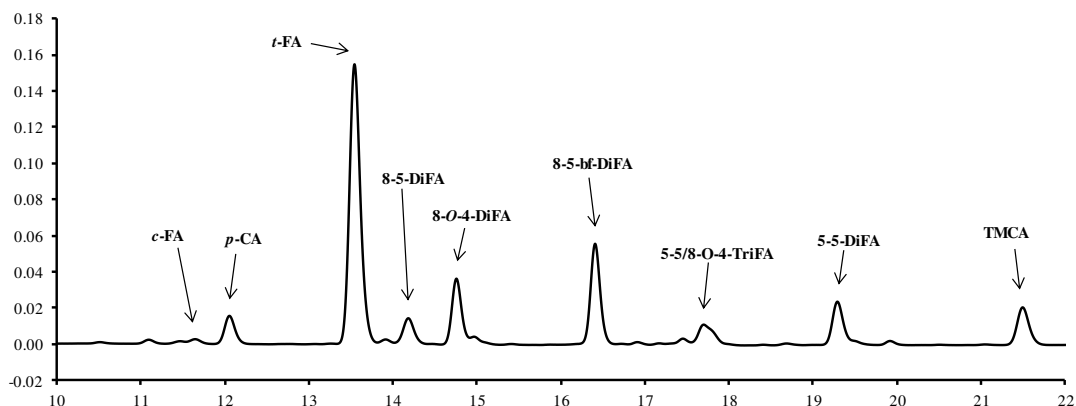


Figura 2.1. Compuestos fenólicos identificados en arabinoxilanos (AX_2h) mediante HPLC

Tabla 2.4. Monómeros, dímeros y trímero de arabinoxilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíznixtamalizado.

AX	Monómeros ($\mu\text{g}/\text{mg}$)		Dímeros ($\mu\text{g}/\text{mg}$)				Trímero ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Total
	<i>t</i> -FA	<i>c</i> -FA	8-5	8-O-4	8-5bf	5-5	5-5/8-O-4	
2h	1.943 \pm 0.013 ^a	ND	0.059 \pm 0.004 ^a	0.0762 \pm 0.0005 ^a	0.0316 \pm 0.0002 ^a	0.1032 \pm 0.0007 ^a	0.0208 \pm 0.0002 ^b	2.2344
4h	1.263 \pm 0.162 ^b	ND	0.044 \pm 0.004 ^{ab}	0.0592 \pm 0.0070 ^b	0.0270 \pm 0.0001 ^b	0.0820 \pm 0.0087 ^a	0.0198 \pm 0.0038 ^b	1.4962
6h	0.160 \pm 0.058 ^c	0.208 \pm 0.01 ^a	0.025 \pm 0.006 ^b	0.0061 \pm 0.0002 ^b	0.0155 \pm 0.0016 ^c	0.0175 \pm 0.0024 ^b	0.0448 \pm 0.0015 ^a	0.4786
8h	0.027 \pm 0.006 ^c	0.017 \pm 0.00 ^a	ND	0.0019 \pm 0.0001 ^c	0.0042 \pm 0.0032 ^d	0.0017 \pm 0.0001 ^c	-	0.0524

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

ND = No se detectó

2.4.4 Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de arabinoxilanos ferulados

El contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de los arabinoxilanos ferulados fue regido por el contenido de ácido ferúlico como se observa en la Tabla 2.5. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los fenoles totales y los cuatro ensayos de capacidad antioxidante evaluados. Los niveles de contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante siguieron el orden: 2 h > 4 h > 6 h > 8 h, ajustándose al contenido de ácido ferúlico de las muestras. Los fenoles totales oscilaron entre 9.01 a 6.34 mgEAF/g, mientras que los niveles de capacidad antioxidante oscilaron entre 28.27 a 31.69 $\mu\text{molET}/\text{g}$, 12.62 a 21.27 $\mu\text{molET}/\text{g}$, 33.53

a 58.33 $\mu\text{molET/g}$ y 3.53 a 60.65 $\mu\text{molET/g}$ para DPPH, ABTS, FRAP y ORAC, respectivamente. La capacidad antioxidante de los arabinosilanos ferulados dependió del contenido de ácido ferúlico en forma monomérica, ya que es el principal ácido fenólico presente en los arabinosilanos.

Pocos estudios han evaluado el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de los arabinosilanos de pericarpio de maíz nixtamalizado pero ninguno de esos pocos estudios ha evaluado la capacidad antioxidante diferente utilizando varios ensayos. Por ejemplo, Ayala-Soto et al. (2014) reportó datos de arabinosilanos que variaron de 1.95 a 3.55 mg/g en fenoles totales y de 73.90 a 113.90 $\mu\text{molET/g}$ en la capacidad antioxidante de ORAC en diferentes fuentes de fibra de maíz. Paz-Samaniego et al. (2015) obtuvieron 39.16 $\mu\text{molET/g}$ utilizando el ensayo de capacidad antioxidante ABTS en arabinosilanos de granos destilados secos de maíz. Malunga y Beta (2015) obtuvieron la fracción del polisacárido no almidonoso extraíble en agua del maíz y la capacidad antioxidante de esta fracción fue de 59.9 $\mu\text{molET/g}$, 71.1 $\mu\text{molET/g}$ y 326 $\mu\text{molET/g}$ para los ensayos de DPPH, ABTS y ORAC, respectivamente. Estos autores obtuvieron mayores niveles de capacidad antioxidante en sus muestras de arabinosilanos, lo que podría deberse a las características del material inicial (pericarpio de maíz no nixtamalizado) y también al método de extracción utilizado.

Además, también se ha evaluado la capacidad antioxidante de los arabinosilanos de otras fuentes de cereales. En este sentido, Márquez-Escalante et al. (2015), evaluaron la capacidad antioxidante de arabinosilanos nativos de la harina de trigo y de arabinosilanos parcialmente ramificados de harina de trigo tratada enzimáticamente, mediante el ensayo ABTS, encontrando niveles más bajos de capacidad antioxidante que nuestros resultados con 5.19 $\mu\text{molET/g}$ y 2.74 $\mu\text{molET/g}$ en el primero y este último, respectivamente.

Otros autores han reportado una mayor capacidad antioxidante que nuestros valores cuando usamos arabinosilanos de otras fuentes de cereales. Hromádková et al. (2013) reportaron 83.8 y 82.1 $\mu\text{molET/g}$ mediante el ensayo FRAP para arabinosilanos obtenidos a partir de salvado de trigo por tratamiento alcalino a 60 °C y tratamiento con ultrasonido alcalino a 60 °C, respectivamente. Sin embargo, Malunga y Beta

(2015) evaluaron la capacidad antioxidante de los arabinoxilanos extraíbles en agua de la aleurona de trigo, salvado rojo y salvado de trigo blanco, encontrando valores que oscilaron entre 75.7 y 84.8 $\mu\text{molET/g}$ mediante el ensayo DPPH, de 58.5 a 105.9 $\mu\text{molET/g}$ por ABTS y desde 110.5 hasta 235.1 $\mu\text{molET/g}$ por medio de ORAC.

Tabla 2.5. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de arabinoxilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado.

AX	Fenoles Totales (mgAFE/g)	Capacidad Antioxidante ($\mu\text{molET/g}$)			
		DPPH	ABTS	FRAP	ORAC
2h	9.01±0.05 ^a	31.69±0.75 ^a	21.27±0.46 ^a	58.33±0.14 ^a	60.65±2.97 ^a
4h	7.16±0.16 ^b	30.48±0.14 ^a	16.75±0.23 ^b	47.74±1.52 ^b	46.24±2.44 ^b
6h	6.48±0.13 ^c	29.49±0.41 ^{ab}	16.60±1.29 ^{bc}	39.23±0.21 ^c	17.03±0.97 ^c
8h	6.34±0.02 ^c	28.27±0.04 ^b	12.62±1.29 ^c	33.59±0.58 ^d	3.53±0.56 ^d

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.
Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

2.4.5 Reología de hidrogeles de arabinoxilanos ferulados

Los resultados de la Tabla 2.6 muestran las características reológicas obtenidas de los hidrogeles de arabinoxilanos al 2%. El tratamiento de 2 h fue el que obtuvo un tiempo de gelificación (T_g) menor con 111 s, seguido de 182 s, 359 s y 391 s para los tratamientos de 4 h, 6 h y 8 h respectivamente. En cuanto a la $\text{Tan } \delta$ los valores fueron de 0.001, 0.002, 0.003 y 0.008 para los tratamientos de 2 h a 8 h. Se observa que a menor tiempo de extracción el T_g es menor, lo cual está relacionado con el contenido de ácido ferúlico y por lo tanto con una mayor fuerza en los hidrogeles. El comportamiento en todas las características evaluadas fue favorable en relación $2 \text{ h} > 4 \text{ h} > 6 \text{ h} > 8 \text{ h}$. Ayala-Soto (2014) reportó un $\text{Tan } \delta$ de 0.003 y 0.368 para muestras de arabinoxilanos de fibra de maíz y nejayote respectivamente. Carvajal-Millán et al. (2007) reportaron para arabinoxilanos de trigo 14.9 y 1.4 Pa (G' / G'').

Tabla 2.6 Características reológicas de hidrogeles de arabinosilanos ferulados formados al 2% (w/v)

AX	Tg (s)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan δ (G''/G')
2h	111.810 \pm 7.56 ^b	800.4 \pm 68.90 ^a	0.890 \pm 0.095 ^a	0.001
4h	182.38 \pm 15.56 ^b	171.04 \pm 5.77 ^b	0.253 \pm 0.005 ^b	0.002
6h	359.20 \pm 51.40 ^a	65.04 \pm 8.10 ^c	0.246 \pm 0.037 ^b	0.003
8h	391.90 \pm 71.60 ^a	28.09 \pm 2.39 ^c	0.233 \pm 0.030 ^b	0.008

^{a-c} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05)

2.5 Conclusión

El mayor rendimiento de arabinosilanos ferulados y el mayor contenido de fibra dietaria soluble se obtuvieron después de las 4 h de tratamiento alcalino. El mayor contenido de ácido ferúlico en formas monoméricas y oligoméricas, así como los niveles más altos de capacidad antioxidante en todos los métodos probados se encontraron en el tratamiento alcalino durante 2 h. El tiempo de extracción está relacionado con el contenido de ácido ferúlico, encontrando que a medida que el tiempo aumenta el contenido de ácido ferúlico disminuye. Esto a su vez se relaciona con el tiempo de gelificación, debido a que el ácido ferúlico oxidado por lacasa es el responsable de los entrecruzamientos (dímeros, trímeros) que conducen la formación de los hidrogeles, por lo que a mayor contenido de ácido ferúlico el tiempo de gelificación (Tg) de los hidrogeles disminuye y la fuerza de los hidrogeles formados aumenta. Esta es la primera evaluación de la fibra dietaria soluble junto con el uso de los cuatro ensayos de capacidad antioxidante más comunes en arabinosilanos ferulados extraídos alcalinamente a partir de subproducto de salvado de maíz nixtamalizado. A partir de los resultados obtenidos, llegamos a la conclusión de que los arabinosilanos ferulados extraídos alcalinamente obtenidos a partir de subproducto de salvado de maíz nixtamalizado son sinónimos de fibra dietaria antioxidante soluble.

2. 6 Referencias

- Ajila, C.M., Aalami, M., Leelavathi, K., Prasada Rao, U.J.S., 2010. Mango peel powder: a potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11, 219–224.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1998. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist International*, 16th edn, 4th Revision. AOAC International, Gaithersburg.
- Ayala-Soto, F.E., Serna-Saldívar, S.O., García-Lara, S., Pérez- Carrillo, E., 2014. Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food Hydrocoll.* 35, 471–475.
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S.S., Goñi, I., 2010. By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods Hum. Nutr.* 65, 210–216.
- Berlanga-Reyes, C.M., Carvajal-Millán, E., Caire-Juvera, G., Rascón-Chu, A., Marquez-Escalante, J.A., Martínez-López, A.L., 2009. Laccase induced maize bran arabinoxylan gels: structural and rheological properties. *Food Sci. Biotechnol.* 18, 1027–1029.
- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.

- Carvajal-Millan, E., Rascón-Chu, A., Márquez-Escalante, J.A., Micard, V., Ponce de León, N., Gardea, A., 2007. Maize bran gum: extraction, characterization and functional properties. *Carbohydr. Polym.* 69, 280–285.
- Chantaro, P., Devahastin, S., Chiewchan, N., 2010. Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT-Food Sci. Technol.* 41, 1987–1994.
- Hromádková, Z., Paulsen, B.S., Polovka, M., Košťálová, Z., Ebringerová, A., 2013. Structural features of two heteroxylan polysaccharides fractions from wheat bran with anti-complementary and antioxidant activities. *Carbohydr. Polym.* 93, 22–30.
- Ingelbrecht, J.A., Verwinmp, T., Grobet, P.J., Delcour, J.A., 2001. Behavior of *Triticum durum* Desf. Arabinoxylans and arabinogalactan peptides during industrial pasta processing. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1783–1789.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), Accessed 3 Sept 2018. [National Institute of Statistics and Geography]. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/bie/?idser Padre =10400 10001 42001 00020 00300 0200010>.
- Kale, M.S., Pai, D.A., Hamaker, B.R., Campanella, O.H., 2010. Structure- function relationships for corn bran arabinoxylans. *J. Cereal Sci.* 52, 368–372.
- Lapierre, C., Pollet, B., Ralet, M.R., Saulnier, L., 2001. The phenolic fraction of maize bran: evidence for lignin-heteroxylan association. *Phytochemistry* 57, 765–772.
- López-Contreras, J.J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez- Ávila, G.C.G., Rojas, R., Niño-Medina, G., 2015. Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Nap.* 43, 366–370.

- Malunga, L.N., Beta, T., 2015. Antioxidant capacity of water-extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat, and wheat fractions. *Cereal Chem.* 92, 29–36.
- Malunga, L.N., Beta, T., 2016. Isolation and identification of feruloylated arabinoxylan mono- and oligosaccharides from undigested and digested maize and wheat. *Heliyon* 2, e00106.
- Marquez-Escalante, J.A., Martínez-López, A.L., Carvajal-Millán, E., López-Franco, Y.L., Lizardi-Mendoza, J., Valenzuela-Soto, E., Rascón-Chu, A., Faulds, C., 2016. Chapter 6 antioxidant capacity of enzymatically modified ferulated arabinoxylans and their gels. In: Warren, B. (ed.) *Ferulic Acid: Antioxidant Properties, Uses and Potential Health Benefits*, pp. 135–150. Nova Science Publishers, New York.
- Martínez-López, A.L., Carvajal-Millan, E., Rascón-Chu, A., Márquez-Escalante, J., Martínez-Robinson, K., 2014. Gels of ferulated arabinoxylans extracted from nixtamalized and non-nixtamalized maize bran: rheological and structural characteristics. *CyTA-J. Food* 11(S1), 22–28.
- Minitab 14.0 statistical software [Computer software], 2004. State College, PA: Minitab Inc. <http://www.minitab.com>.
- Nilnakara, S., Chiewchan, N., Devahastin, S., 2009. Production of antioxidant dietary fibre powder from cabbage outer leaves. *Food Bioprod. Process.* 87, 301–307.
- Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Lizardi, J., Rascon-Chu, A., Marquez-Escalante, J.A., Gardea, A., Martinez-Lopez, A.L., Guerrero, V., 2009. Maize processing waste water arabinoxylans: gelling capability and cross-linking content. *Food Chem.* 115, 1286–1290.

- Paz-Samaniego, R., Méndez-Encinas, M., Fierro-Islas, J.M., Marquez-Escalante, J., Rascón-Chu, A., Martínez-Lopez, A.L., Carvajal-Millan, E., 2015. Chapter 7 ferulated arabinoxylans recovered from low-value maize by-products: gelation and antioxidant capacity. In: Warren, B. (ed.) *Ferulic Acid: Antioxidant Properties, Uses and Potential Health Benefits*, pp. 151–164. Nova Science Publishers, New York.
- Rose, D.J., Inglett, G.E., Liu, S.X., 2009. Utilization of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. *J. Sci. Food Agric.* 90, 915–924.
- Rose, D.J., Patterson, J.A., Hamaker, B.R., 2010. Structural differences among alkali-soluble arabinoxylans from maize (*Zea mays*), rice (*Oryza sativa*), and wheat (*Triticum aestivum*) brans influence human fecal fermentation profiles. *J. Agric. Food Chem.* 58, 493–499.
- Rostro, M., Sánchez-González, M., Rivas, S., Moure, A., Domínguez, H., Parajó, J.C., 2014. Non-isothermal autohydrolysis of nixtamalized maize pericarp: production of nutraceutical extracts. *LWT-Food Sci. Technol.* 58, 550–556.
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J.D., Mariscal-Moreno, R.M., Escalante-Aburto, A., Ponce-García, N., Véles-Medina, J.J., 2018. Physical and chemical changes undergone by pericarp and endosperm during corn nixtamalization—a review. *J. Cereal Sci.* 81, 108–117.
- Saura-Calixto, F., 1998. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4303–4306.

The definition of dietary fiber, 2001. Report of the dietary fiber definition committee to the board of directors of the American Association of Cereal Chemists. *Cereal Foods World* 46, 112–126.

Truong, H.T., Do Van, M., Duc Huynh, L., Thi Nguyen, L., Do Tuan, A., Le Xuan Thanh, T., Duong Phuoc, H., Takenaka, N., Imamura, K., Maeda, Y.A., 2017. Method for ferulic acid production from rice bran oil soapstock using a homogenous system. *Appl. Sci.* 7, 796.

Urías-Orona, V., Heredia, J.B., Muy-Rangel, D., Niño-Medina, G., 2016. Ácidos fenólicos con actividad antioxidante en salvado de maíz y salvado de trigo [phenolic acids with antioxidant activity in maize bran and wheat bran]. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 3, 43–50.

Yapo, B.M., Besson, V., Koubala, B.B., Koffi, K.L., 2013. Adding value to cacao pod husks as a potential antioxidant-dietary fiber source. *Am. J. Food Nutr.* 1, 38–46.

CAPITULO 3

IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE FRACCIONES DE ARABINOXILANOS DE PERICARPIO DE MAÍZ NIXTAMALIZADO

**Daniela D. Herrera-Balandrano^{1,4}, Juan G. Báez-González¹, Malunga Lovemore²
Trust Beta^{2,3}, Guillermo Niño-Medina⁴**

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos. Cd. Universitaria, Av. Universidad S/N, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México

²University of Manitoba, Richardson Centre for Functional Foods & Nutraceuticals, Winnipeg, Manitoba R3T 2N2, Canada.

³University of Manitoba, Department of Food and Human Nutritional Sciences. R3T 2N2, Winnipeg, Manitoba, Canada.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica. Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

3.1 Resumen

En este estudio se evaluó el efecto del tiempo de extracción alcalina y el fraccionamiento mediante saturación con sulfato de amonio sobre el contenido de ácido ferúlico (AF) y la capacidad antioxidante (CA) de los arabinosilanos ferulados (AX) extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado. Fueron recuperadas dos fracciones de 80 y 90% de saturación de sulfato de amonio, las cuales obtuvieron un rendimiento de 13.02 a 38.48%, en cuanto al contenido de ácido ferúlico se encontraron valores de 121.645 a 0.359 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en los diferentes tratamientos. El grado de sustitución de A/X fue entre 1.08 a 1.28 en los tratamientos. Se identificaron 8 compuestos fenólicos en las fracciones de arabinosilanos, encontrando, ácido cumárico, ácido ferúlico, dímeros (8-8'-aryltetralin-DFA, 8-5'-DFA, 8-8'-DFAf, trans, cis-8-O-4'-DFA y trans, trans-8-O-4'-DFA) y un trímero (8-O-4/8-O-4-TFA). El contenido de fenoles totales fue mayor para las fracciones con 80% de saturación de sulfato de amonio con valores de 0.89 a 0.71 mgEAF/g. En cuanto a la capacidad antioxidante los resultados fueron mayores para el ensayo de ORAC con valores de 106.290 a 31.504 $\mu\text{molET}/\text{g}$, seguido del ensayo de ABTS con resultados de 0.488 a 0.028 $\mu\text{molET}/\text{g}$, por último la técnica de DPPH resultó con 0.179 a 0.127 $\mu\text{molET}/\text{g}$ respectivamente, cabe mencionar que para todos los tratamientos se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Las fracciones con mayor contenido de Fenoles Totales fueron las fracciones 2h_F80, 4h_F80 y 6h_F80 con 0.082 a 0.089 mgEAF/g, así mismo la fracción que presentó mayor capacidad antioxidante para los tres ensayos fue 2h_F80. El tiempo de extracción y el grado de saturación con sulfato de amonio afectó el contenido de ácido ferúlico y la capacidad antioxidante de los AX.

3.2 Introducción

Son los principales polisacáridos no amiláceos de los granos de cereales, que se localizan en las paredes celulares del endospermo, en la capa aleurona y en el pericarpio de los mismos. (Morales-Ortega et al. 2013). AX son el segundo carbohidrato más abundante en cereales, su contenido puede variar según el grano de cereal de donde sea extraído y también puede ser influenciado por distintos factores ambientales (Rakszegi et al. 2014, Shewry et al. 2010).

El porcentaje de arabinoxilanos que puede estar presente en el pericarpio de maíz se ha reportado hasta un 42% (Izydorck y Billiaderis (2007)). La habilidad de los arabinoxilanos para formar soluciones viscosas es una de las principales cualidades de estos polisacáridos, la cual va a depender principalmente de la relación A/X, una relación alta será más viscoso (Morales-Ortega et al. 2013). Los geles formados por los arabinoxilanos son neutros, incoloros e inodoros, y poco afectados por cambios de temperatura, fuerza iónica o pH (Carvajal-Millán et al. 2006). Para obtener una mejor comprensión de las características estructurales de estos polímeros, los arabinoxilanos han sido fraccionados mediante técnicas cromatográficas o químicas en poblaciones más homogéneas. Izydorck y Billiaderis (2007).

Por lo tanto, la heterogeneidad del peso molecular y la estructura química de los polisacáridos restringe la investigación básica y la aplicación. Es importante fraccionar los polisacáridos en fracciones con alta homogeneidad en la estructura química. (Hu y Goff, 2018). Hasta ahora, el fraccionamiento mediante la saturación del polisacárido utilizando sulfato de amonio ha sido usado como paso inicial para la purificación extractos y como un método rápido y efectivo. Cabe mencionar que se ha comprobado que la concentración de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ afecta el peso molecular, la estructura y bioactividad de los productos (Izydorczyc et al. 1992, 1998, Peng et al. 2012, Guan et al. 2015 y Wang et al. 2003). Izydorczyc et al. (1992) evaluó el fraccionamiento de arabinoxilanos extraídos de harina de trigo, utilizando el gradiente de sulfato de

amonio y reportó que éste método es una manera efectiva de fraccionar polisacáridos, obteniendo diferente relación de A/X y contenido de ácido ferúlico entre niveles de saturación con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad tanto como del hidróxido de sodio en la extracción y la precipitación de sulfato de amonio en el fraccionamiento de los arabinosilanos ferulados para identificar los compuestos fenólicos, cuantificar el ácido ferúlico y evaluar la actividad antioxidante de las fracciones obtenidas.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Extracción de arabinosilanos ferulados

Los arabinosilanos utilizados en este estudio se obtuvieron como se describe en nuestro proyecto previamente reportado (Herrera-Balandrano et al. 2018). En resumen, el pericarpio de maíz nixtamalizado fue desgrasado con etanol (1:5; p/v), secado a 40 °C durante 12 h, después se eliminó el almidón mediante gelatinización (1:7; p/v) durante 30 min. El pericarpio de maíz fue tratado con NaOH 0.5 N, los arabinosilanos fueron extraídos a diferentes tiempos de extracción (2, 4, 6 y 8 h).

3.3.2 Fraccionamiento de arabinosilanos ferulados mediante saturación con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

La obtención de fracciones de arabinosilanos ferulados se llevó a cabo mediante la saturación del polisacárido utilizando sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, siguiendo el método reportado por Izydorczyc et al. (1998) con algunas modificaciones. Se tomó 1g de muestra en 100 mL de agua bidestilada, el sulfato de amonio fue agregado lentamente a la mezcla hasta una concentración del 50%, la solución se dejó en agitación durante 4 h. Después fue centrifugada a 10,000 *xg* por 10 min y el precipitado fue colectado y redisolto en agua para después ser dializado (cellulose tubing, 12 kDa, 16 mm x 30 cm, Sigma-Aldrich, Germany) para eliminar todo el sulfato de

amonio presente en la muestra. Después de 24 h de diálisis, la muestra fue liofilizada y nombrada como F50. El nivel de saturación de sulfato de amonio se ajustó posteriormente por etapas de 60 hasta el 100%. Las cuales fueron nombradas F60, F70, F80, F90 y F100. Posteriormente después de liofilización solo se recuperaron fracciones de las concentraciones de F80 y F90.

3.3.3 Composición monosacárida de fracciones de arabinosilanos

La determinación de monosacáridos se realizó según Englyst and Cummings (1984). Veinte miligramos de cada fracción se solubilizaron en 2 mL de ácido sulfúrico 12 M a 35° C durante 1 h en un baño seco. Después de 5 min, se añadieron 11 mL de agua y se agitó en vórtex. La mezcla fue llevada a 110° C por un periodo de 2 h. Después de enfriar a temperatura ambiente se agregó como estándar interno 1 mL de D-alosa (2 mg/mL). Se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 6890N Technologies, Santa Clara CA, EE. UU.) equipado con un detector de ionización de llama, un inyector automático (Agilent Technologies 7863 series), una columna capilar Supelco 2380 (30 m x 320 µm x 0.2 µm, Sigma-Aldrich) y gas de helio (caudal de 0.9 mL/min). Se inyectaron 0.2 µL de acetatos de alditol con las siguientes condiciones: temperaturas de inyección, columna y detector (275° C, 275° C y 250° C) respectivamente, con un tiempo de ejecución de 30 min. La identificación y cuantificación de monosacáridos se determinaron de acuerdo a los tiempos de retención de sus respectivos estándares (arabinosa, xilosa, glucosa, manosa, y galactosa en concentraciones de 1mg/mL) utilizando el estándar D-alosa como factor de respuesta.

3.3.4 Identificación de compuestos fenólicos en fracciones de arabinosilanos ferulados mediante HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS

La extracción de compuestos fenólicos se llevó a cabo siguiendo el método establecido por Hartmann et al. (2005). Treinta miligramos de muestra se hidrolizaron con 4 mL de solución de NaOH a temperatura ambiente e incubados a temperatura ambiente durante 2 h en oscuridad. Después transcurrido el tiempo se detuvo la reacción ajustando el pH a 2 con HCl (25%), los compuestos fenólicos fueron extraídos con acetato de etilo, el cual fue evaporado tres veces, para después ser redisoluertos en metanol al 50% y filtrados a través de una membrana de 0.4 μm para su análisis. Los compuestos fenólicos se identificaron comparando el tiempo de retención y la información proporcionada por los espectros obtenidos por HPLC-Q-TOF-MS/MS. Se utilizó un HPLC (Waters 2695) equipado con un detector de fotodiodos (PDA, Waters 996) y un inyector automático (717 plus, Waters) acoplados a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo cuadrupolo (Q-TOF-MS) (Micromass, Waters Corp., Milford, MA) utilizando una columna Shim-pack HRC-ODS C18 (250 mm \times 4.6 mm, Shimadzu, Tokyo, Japan). Se inyectaron 10 μL que fueron eluidos a través de la columna con una fase móvil binaria que consistió en A (agua con ácido acético al 0.1%) y B (metanol con ácido acético al 0.1%), el caudal fue de 0.6 mL/min con un gradiente lineal de 25 min el cual consistió en: 0-2.5 min, 5-10% B; 2.5-7-5 min, 10-15% B; 7.5-10 min, 15-20% B; 10-15 min, 20-25 % B; 15-20 min, 25-40% B; 20-22.5 min, 40-10% B; 22.5-25 min, 10% B, según lo reportado por Guo y Beta (2013) con algunas modificaciones. El Q-TOFMS se calibró para el modo ion negativo (ESI) en un rango de masa de 100-1000 con una resolución de 5000. Los parámetros utilizados para la espectrometría de masas fueron; un voltaje capilar de 1.2 kV y un voltaje de cono de 45 V, los caudales de gas de cono (He) y gas de desolvatación (N_2) fueron 50 y 900 L/h, respectivamente. La temperatura del gas de desolvatación se fijó a 250° C, la temperatura de la fuente de iones fue de 120° C, y las energías de colisión de 15, 20 y 30 V.

3.3.5 Fenoles totales (FT) y capacidad antioxidante (CA) de fracciones de arabinosilanos

La determinación de FT se realizó utilizando el método establecido por Apea-Bah et al. (2016), donde se tomaron 18.2 μL de extracto, 36.4 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu (10% en agua). Después de 5 min, se agregaron 145.4 μL de Na_2CO_3 al 7%, la reacción se llevó en oscuridad durante 90 min y luego se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm utilizando un lector de microplacas 96-well ELX800 (BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA). La concentración se obtuvo mediante la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración establecida con ácido ferúlico en concentraciones de 0 a 250 mg/L; el resultado se expresó en microgramos equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra ($\mu\text{gEAF/g}$). La capacidad antioxidante se realizó mediante el método propuesto por Malunga y Beta (2015). El ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se realizó mediante la adición de 190 μL de DPPH a 10 μL del extracto, la reacción se realizó durante 30 min en la oscuridad y se midió la absorbancia de las muestras a 515 nm utilizando un lector de microplacas 96-well ELX800. Para el ensayo de ABTS 2, 2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazol-6-sulfónico), la solución stock se preparó con la mezcla de reactivo ABTS 7.4 mM y la solución de persulfato de potasio 2.6 mM (1:1). La solución se ajustó a una absorbancia de 0.700 nm con metanol al 50%. Se tomaron 10 μL de extracto y se dejó reaccionar con 190 μL de ABTS durante 30 min en la oscuridad y luego se leyeron a 734 nm utilizando un lector de microplacas 96-well ELX800. Para los resultados de cada una de las técnicas de capacidad antioxidante se realizó una curva de Trolox, expresando los resultados en $\mu\text{moleT/g}$ de arabinosilanos. El ensayo de ORAC fue llevado a cabo siguiendo el método reportado por Bellido y Beta (2009). Se prepararon las muestras (0.1 mg/mL agua) de cada una de las fracciones obtenidas y concentraciones de 6.25, 12.5, 25, 50 y 75 μM de Trolox en agua fue utilizado como estándar para la calibración de la curva. Una vez preparadas las muestras y la curva, se utilizó el equipo Precision 2000 el cual es un sistema automatizado de pipeteo de microplacas (Bio-Tek

Instruments, Winooski, VT, EE. UU.) que automáticamente transfirió los reactivos de ORAC a una microplaca de fondo plano, para después ser leído por un lector de fluorescencia de microplacas FLx800 (Bio-Tek Instruments) utilizando un software KC4 3.0. Los cambios en la fluorescencia fueron medidos bajo la temperatura de 37° C y leídos a una longitud de onda de 485nm para excitación y 520 nm para emisión.

3.3.6 Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como el valor medio de tres muestras \pm la desviación estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Tukey para todas las muestras, utilizando el programa Minitab. Se estableció un nivel de probabilidad de $P < 0.05$ (5%) como significancia estadística.

3.4 Resultados y Discusión

3.4.1 Composición de monosacáridos de fracciones de arabinoxilanos

Los resultados obtenidos de la caracterización monosacárida de fracciones de arabinoxilanos ferulados se muestra en la tabla 3.1. El rendimiento de los 8 tratamientos fue desde un 13.02 a 38.48%, los cuales incrementaron hasta 3 veces más según lo reportado previamente en arabinoxilanos sin fraccionar (Herrera-Balandrano et al. 2018). En cuanto el contenido de galactosa no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ni fracciones con porcentajes de 6.74 a 10.12%. Los monosacáridos con mayor porcentaje encontrados fueron arabinosa y xilosa con hasta un valor de 87.22% en contenido total de azúcares, siendo este resultado para la fracción 6h_F90 de saturación, el porcentaje con menor contenido de estos dos azúcares el tratamiento 2h_F80 con un valor de 72.85%. La relación molar relativa de A/X fue entre 1.08 a 1.28, siendo los tratamientos 6h_F90 y 8h_F90 los

porcentajes más altos. Por otro lado, el valor más bajo fue el tratamiento 4h_F90 con un valor de 1.08 de relación A/X. Izydorck y Billiaderis (1992) realizó el fraccionamiento de arabinosilanos de harina de trigo con sulfato de amonio, recuperando fracciones desde un 60 a 95% de saturación, reportando valores de valores de A/X entre 0.68 a 0.88, los cuales son similares a los nuestros ya que a mayor porcentaje de saturación de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ es mayor la relación A/X. Esto quiere decir que la relación relativamente alta de arabinosa a xilosa le confiere una conformación rígida a la molécula y es en parte responsable de la alta viscosidad de las soluciones de los arabinosilanos, por lo se puede suponer que el peso molecular será menor debido a una alta relación A/X según Izydorck y Billiaderis, (1992), que coincide con otros autores que han realizado fraccionamiento de hemicelulosas y glucanos con sulfato de amonio (Peng et al. 2012, Guan et al. 2015 y Wang et al. 2003)

Tabla 3.1 Composición de monosacáridos encontrados en fracciones de 80 y 90 % de saturación de amonio de sulfato de amonio

AX	F ¹	R ² %	Componente (%)					A/X
			Arabinosa	Xilosa	Galactosa	Glucosa	Manosa	
2h	80	23.67	38.01±0.43 ^b	34.84±0.11 ^d	6.99±0.02 ^a	19.81±0.50 ^a	0.34±0.01 ^d	1.09
	90	36.33	44.65±3.76 ^{ab}	39.01±0.77 ^{ab}	8.29±1.90 ^a	7.66±4.89 ^{bc}	0.38±0.00 ^d	1.14
4h	80	26.80	44.22±0.27 ^{ab}	40.30±0.26 ^a	8.24±0.12 ^a	6.92±0.15 ^{bc}	0.31±0.02 ^d	1.09
	90	36.98	43.89±3.50 ^{ab}	40.34±0.55 ^a	8.48±2.09 ^a	6.88±6.06 ^{bc}	0.39±0.08 ^d	1.08
6h	80	13.02	44.78±0.29 ^{ab}	37.92±0.01 ^{bc}	7.15±0.01 ^a	9.51±0.25 ^{abc}	0.62±0.02 ^{cd}	1.18
	90	38.70	49.11±0.11 ^a	38.11±0.07 ^{bc}	10.02±0.11 ^a	1.58±0.05 ^c	1.18±0.24 ^b	1.28
8h	80	13.10	42.12±0.25 ^{ab}	34.92±0.57 ^d	6.74±0.12 ^a	15.22±0.90 ^{ab}	0.99±0.04 ^{bc}	1.20
	90	38.48	48.10±0.17 ^a	37.36±0.22 ^c	10.12±0.11 ^a	2.14±0.31 ^c	2.25±0.20 ^a	1.28

F¹: Fracción, R²: Rendimiento. Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3).

3.4.2 Identificación de compuestos fenólicos mediante HPLC-DAD-Q-TOF-MS/MS

El perfil de compuestos fenólicos encontrados en fracciones de arabinosanos ferulados se muestran en el Cromatograma de la figura 3.1. La información de datos, masa espectral, fragmentos, onda de longitud, tiempo de retención de los compuestos se muestran en la tabla 3.2. Fueron identificados 8 compuestos fenólicos en las fracciones de AX. Los compuestos 1 y 2 fueron identificados como ácido cumárico y ácido ferúlico respectivamente, comparando los tiempos de retención y fragmentos obtenidos de MS/MS con sus estándares. Los compuestos 3, 4, 5, 6 y 8, fueron tentativamente identificados como dímeros de ácido ferúlico (Figura 3.2) ya que mostraron el mismo ión molecular [M-H]⁻ en 385 correspondientes a DAF que están presentes en forma ligada en los cereales (Guo y Beta, 2013, Qiu et al. 2010, Bunzel et al. 2006). Anteriormente, se han reportado dímeros de ácido ferúlico en maíz que

incluyen 8,8'-ariltetralina, 5-5', 8-5' benzofurano y 8-5' DFA en maíz (Buanafina, 2009, Bunzel et al. 2004, Santiago et al. 2010, Dobberstein et al., 2010, Vismeh et al. 2013). En este estudio el pico 3 que corresponde a 8,8'-ariltetralina fue identificado basados en el espectro de UV reportado previamente por Waldron et al. (1996). Correspondiente al pico 4, se muestra un espectro de masas donde se observa un m/z de 385, el cual después se fragmentó e identificó como 8-5'-DFA, el cual muestra fragmentos similares a lo reportado previamente por Gong et al. (2017) y Vismeh et al. (2013). El espectro del pico 7 demostró estructuras similares a las del ácido ferúlico con amplios picos dobles entre 240 nm y 320 nm. El ión molecular desprotonado [M-H]⁻ apareció como ion base a m/z 577 lo cual corresponde a un peso molecular de 578 indicando que es una estructura de un triferúlico (Figura 3.2) (Bunzel et al. 2004). Se llevó a cabo la cuantificación del ácido ferúlico en las fracciones de AX, el cual se presenta en la Tabla 3.3, hubo diferencias estadísticamente significativas, encontrando que a menor tiempo de extracción y mayor concentración de sulfato de amonio el contenido de AF fue menor por lo que entonces las fracciones de 2h > 4h > 6h > 8h. Los valores del contenido de AF fueron de 121.645 a 0.359 µgAF/mg, los cuales son valores menores que los reportados por Izydorck y Billiaderis (1992) donde reportan hasta un valor de 700 µgAF/mg en fracciones de arabinosilanos de harina de trigo, lo cual quizá sea una razón de las diferencias en los valores obtenidos.

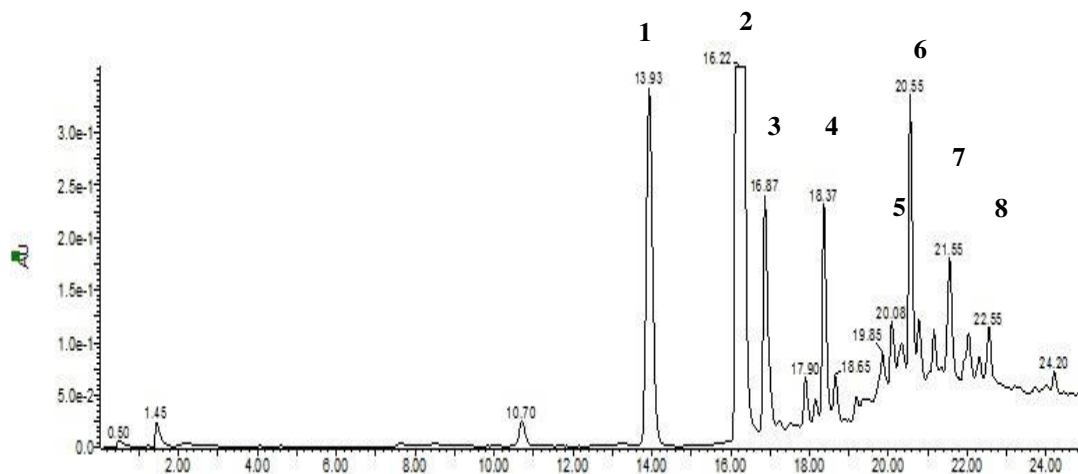


Figura 3.1 Perfil de Compuestos fenólicos identificados en fracciones de arabinosilanos ferulados mediante HPLC. Los compuestos fueron tomados a 280 nm. Los picos fueron identificados por comparación con la información de referencia obtenida de LC-ESI-MS.

Tabla 3.2 Cuantificación de ácido ferúlico en fracciones de 80 y 90 % de saturación de amonio de sulfato de amonio

AX	Fracción	Ácido Ferúlico µg/mg
2h	F80	121.645±1.166 ^a
	F90	68.302±0.800 ^b
4h	F80	33.825±3.151 ^c
	F90	16.923±1.041 ^{cd}
6h	F80	8.132±0.987 ^d
	F90	8.807±0.268 ^d
8h	F80	0.520±0.106 ^d
	F90	0.359±0.0223 ^d

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

Tabla 3.3 Compuestos fenólicos identificados en fracciones de arabinoxilanos ferulados mediante LC-MS/MS en ion modo negativo

Pico	TR ¹	M-H-	λ^2	Formula	MS/MS	Pico/Compuesto
1	14.01	163	119	C ₉ H ₇ O ₃	119,120	Ácido Cumárico
2	16.22	193	325	C ₁₀ H ₉ O ₄	133,134	Ácido Ferúlico
3	16.69	385	335	C ₂₀ H ₁₇ O ₈	267,282,326, 341	8-8'-aryltetralin-DFA*
4	18.29	385	322	C ₂₀ H ₁₇ O ₈	267,297, 282, 341, 326	8-5'-DFA
5	18.72	403		C ₂₀ H ₁₇ O ₈	136,148,151, 207, 233	8-8'-DFAf
6	20.60	385	320	C ₂₀ H ₁₇ O ₈	211,235,267,281, 326,341	trans,cis-8-O-4'-DFA
7	21.56	577		C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	178,193,296,355, 385, 429, 533	TFA
8	22.55	385	323	C ₂₀ H ₁₇ O ₈	134, 193, 267, 282, 325, 341	trans,trans-8-O-4'-DFA

¹ TR: Tiempo de retención, ² Longitud de onda, *Ácido diferúlicos,

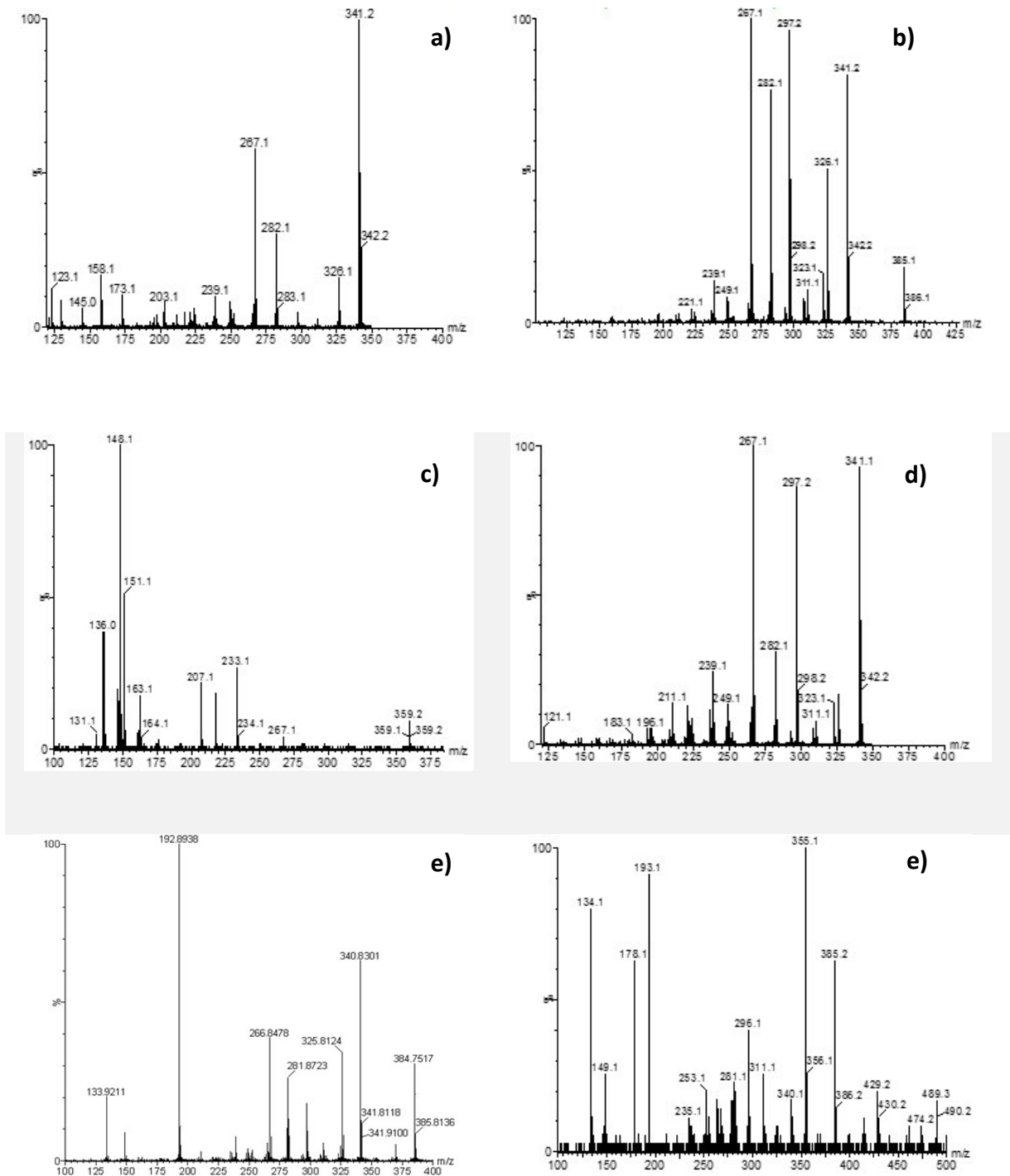


Figura 3.2 Espectros de fragmentos de dímeros y trímero de ácido ferúlico a) 8-8'-aryltetralin-DFA, b) 8-5'-DFA, c) 8-8'-DFAf, d) trans, cis-8-O-4'-DFA, e) trans, trans-8-O-4'-DFA y f) TFA. HPLC-MS/MS (Energía de colisión = 30 V).

3.4.3 Contenido de Fenoles Totales y Capacidad antioxidante

La determinación del contenido de fenoles totales se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, dando lugar a una coloración azul. Los resultados obtenidos se encuentran en la tabla 3.4, donde se puede observar que hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, siendo 2h_F80 y 6h_F80 los que obtuvieron mayor contenido de FT con valores de 0.089 y 0.084 mgEAF/g respectivamente. Por otro lado, las 4 fracciones con 90% de saturación de sulfato de amonio resultaron con los valores más bajos (0.030-0.038 mgEAF/g). La capacidad antioxidante se determina por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. Los resultados de los ensayos de DPPH, ABTS y ORAC se muestran en la tabla 3.4. Para el ensayo de DPPH los tratamientos más altos fueron 4h_F80, 6h_F80 y 8h_F80 con valores entre 0.174 a 0.183 $\mu\text{molET/g}$ mientras que el tratamiento 6h_F90 fue el más bajo con 0.127 $\mu\text{molET/g}$. Los valores más altos para ABTS fueron entre 0.455 a 0.288 $\mu\text{molET/g}$ siendo los tratamientos 2h_F80, 4h_F80 y 6h_F80 respectivamente. Los resultados de ORAC fueron descendentes en cuanto al tiempo de extracción y fracción obtenida, esto quiere decir que las fracciones de 2h > 4h > 6h > 8h, los valores oscilaron entre 106.290 a 31.504 $\mu\text{molET/g}$. Es importante mencionar que F80 > F90 para todos los tratamientos (2h, 4h, 6h y 8h). Este estudio es el primero donde se fraccionan los arabinoxilanos y se evalúa la capacidad antioxidante de las fracciones obtenidas. Existen algunos autores que han evaluado la capacidad antioxidante de fracciones de polisacáridos utilizando etanol como solvente, tales como Huang et al. (2013) fraccionaron polisacáridos extraídos de hongos, evaluaron la capacidad antioxidante mediante el ensayo de DPPH y obtuvieron resultados contrarios a los de nosotros ya que a mayor concentración del alcohol fue mayor la CA, atribuyendo estos incrementos al contenido proteico de las muestras y su interacción con el medio. Por el contrario, Li et al. (2017) extrajeron polisacáridos de espinacas y encontraron que al incrementar la concentración de etanol la CA de las fracciones disminuía hasta en un 30%.

Tabla 3.4 Contenido de Fenoles totales y capacidad antioxidante de fracciones de AX

AX	Fracción	F. Totales (mgEAF/g)	Capacidad Antioxidante ($\mu\text{molET/g}$)		
			DPPH	ABTS	ORAC
2h	80	0.089 \pm 0.002 ^a	0.155 \pm 0.003 ^{abc}	0.462 \pm 0.029 ^a	106.290 \pm 2.50 ^a
	90	0.038 \pm 0.005 ^c	0.143 \pm 0.002 ^{bc}	0.165 \pm 0.149 ^b	89.594 \pm 1.271 ^b
4h	80	0.082 \pm 0.003 ^{ab}	0.179 \pm 0.008 ^a	0.488 \pm 0.022 ^a	81.577 \pm 0.913 ^c
	90	0.030 \pm 0.006 ^c	0.170 \pm 0.003 ^{ab}	0.240 \pm 0.048 ^b	73.390 \pm 1.385 ^d
6h	80	0.084 \pm 0.001 ^a	0.183 \pm 0.014 ^a	0.455 \pm 0.049 ^a	64.808 \pm 1.389 ^e
	90	0.031 \pm 0.003 ^c	0.127 \pm 0.016 ^c	0.065 \pm 0.007 ^c	56.382 \pm 1.425 ^f
8h	80	0.071 \pm 0.004 ^b	0.174 \pm 0.016 ^a	0.185 \pm 0.025 ^b	43.780 \pm 2.310 ^g
	90	0.036 \pm 0.001 ^c	0.133 \pm 0.008 ^c	0.028 \pm 0.015 ^c	31.504 \pm 0.058 ^h

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado.

Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa (n = 3)

3.5 Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que los arabinosilanos extraídos de pericarpio de maíz pueden ser exitosamente fraccionados mediante su precipitación utilizando sulfato de amonio. Con el incremento de la concentración de sulfato de amonio se obtuvieron arabinosilanos con mayor ratio A/X lo cual es una característica importante para este polisacárido en la industria. En cuanto al contenido de ácido ferúlico hubo una disminución al incrementar la concentración, por otra parte, se identificaron 8 compuestos fenólicos en las fracciones, los cuales fueron los mismos para todas las fracciones obtenidas. Con base a estos resultados se podría seguir con la evaluación del comportamiento de las fracciones en la elaboración de pan o en la caracterización de hidrogeles de arabinosilanos para su uso comercial.

3.6 Referencias

- Apea-Bah, F. B., Minnaar, A., Bester, M. J., & Duodu, K. G., 2016. Sorghum-cowpea composite porridge as a functional food, Part II: Antioxidant properties as affected by simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 197(Pt A), 307–315.
- Bellido, G. G., & Beta, T., 2009. Anthocyanin composition and oxygen radical scavenging capacity (ORAC) of milled and pearled purple, black, and common barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 1022-1028.
- Bunzel, M., Funk, C., & Steinhart, H., 2004a. Semipreparative isolation 695 of dehydrodiferulic and dehydrotriferulic acids as standard substances from maize bran. *Journal of separation science*, 27, 1080-1086.
- Bunzel, M., Ralph, J., & Steinhart, H., 2004b. Phenolic compounds as cross-links of plant derived polysaccharides. *Czech journal of food sciences*, 22, 64.
- Bunzel, M., Ralph, J., Bruning, P., & Steinhart, H., 2006. Structural identification of drhydrotriferulic and dehydrotertaferulic acids isolated from insoluble maize bran fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6409–6418.
- Carvajal-Millan, E., Rascón-Chu, A., Márquez-Escalante, J.A., Micard, V., Ponce de León, N., Gardea, A., 2007. Maize bran gum: extraction, characterization and functional properties. *Carbohydr. Polym.* 69, 280–285.
- Dobberstein, D., & Bunzel, M. (2010). Separation and detection of cell wall-bound ferulic acid dehydrodimers and dehydrotrimers in cereals and other plant

materials by reversed phase high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 58, 8927-8935.

Englyst, H. N., & Cummings, J. H., 1984. Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*, 109(7), 937-942.

Gong, E., Luo, S., Li, T., Liu, C., Zhang, G. y Chen, J., 2017. Phytochemical profiles and antioxidant activity of brown rice varieties. *Food Chemistry*, 227, 432–443.

Guan, Y., Zhang, B., Qi, X. M., Peng, F., Yao, C. L. y Sun, R. C., 2015. Fractionation of bamboo hemicelluloses by graded saturated ammonium sulphate. *Carbohydrate Polymers*, 129, 201–207.

Guo, W., and Beta, T. 2013. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Res. Int.* 51:518-525.

Hartmann, G., Piber, M. y Koehler, P., 2005. Isolation and chemical characterisation of water-extractable arabinoxylans from wheat and rye during breadmaking. *European Food Research and Technology*, 221(3-4), 487-492.

Herrera-Balandrano D.D., Baez-Gonzalez J. G., Carvajal-Millan E., Muy-Rangel D., Urias-Orona V., Martinez-Lopez A.L., Marquez-Escalante J.A., Heredia J.B., Beta T. and Nino-Medina G., 2018. Alkali-Extracted Feruloylated Arabinoxylans from Nixtamalized Maize Bran Byproduct: A Synonymous with

Soluble Antioxidant Dietary Fiber, *Waste and Biomass Valorization*,
<https://doi.org/10.1007/s12649-018-0462-z>.

Huang, Q. L., Siu, K. C., Wang, W. Q., Cheung, Y. C. and Wu, J. Y., 2013. Fractionation, characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides from fermentation broth of a *Cordyceps sinensis* fungus. *Process Biochemistry*, 48, 380–386.

Izydorczyk, M. S., and Biliaderis, C. G., 1992. Influence of structure on the physicochemical properties of wheat arabinoxylan. *Carbohydrate Polymers* 17, 237-247.

Izydorczyk, M. S., Biliaderis, C. G., Macri, L. J. and MacGregor A. W., 1998. Fractionation of Oat (1-3), (1-4)- β -D-Glucans and Characterisation of the Fractions. *Journal of Cereal Science* 27 (1998) 321–325.

Izydorczyk M. S. and Biliaderis C.G. 2007, *Arabinoxylans: Technologically and Nutritionally Functional Plant Polysaccharides*. 2007 by Taylor & Francis Group, LLC, pp 264-275.

Li, W., Pickard, M. D. and Beta, T., 2007. Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran. *Food Chemistry*, 104(3), 1080–1086.

Li, J. E., Wang, W. J., Zheng, G. D., and Li, L. Y., 2017. Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Gynura procumbens* leaves by fractional precipitation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 719–724.

- Malunga, L.N., Beta, T., 2015. Antioxidant capacity of water-extractable arabinoxylan from commercial barley, wheat, and wheat fractions. *Cereal Chem.* 92, 29–36.
- Morales-Ortega A., Niño-Medina G., Carvajal-Millán E., Gardea-Béjar A., Torres-Chávez P., López-Franco Y., Rascón-Chu A. and Lizardi-Mendoza E. 2013. Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics, Artículo de Revisión, *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (4): 439 - 446.
- Qiu, Y., Liu, Q., and Beta, T., 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry*, 121, 140–147.
- Peng, F., Bian, J., Peng, P., Xiao, H., Ren, J. L. and Xu, F., 2012. Separation and characterization of acetyl and non-acetyl hemicelluloses of *Arundo donax* by ammonium sulfate precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 4039–4047.
- Rakszegi, M., Lovegrove, A., Balla, K., Láng, L., Bedő, Z., Veisz, O. and Shewry, P. R., 2014. Effect of heat and drought stress on the structure and composition of arabinoxylan and β -glucan in wheat grain. *Carbohydrate Polymers*, 102, 557-565.
- Santiago, R. and Malvar, R. A., 2010. Role of dehydrodiferulates in maize resistance to pests and diseases. *International journal of molecular sciences*, 11, 691-703.
- Shewry, P. R., Piironen, V., Lampi, A.-M., Edelman, M., Kariluoto, S., Nurmi, T., Fernandez-Orozco, R., Delcour, J. A., Ravel, C., Charmet, G., Rakszegi, M., Bedo, Z., y Ward, J. L., 2010. Effects of genotype and environment on the content and composition of phytochemicals and dietary fiber components in rye. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(17), 9372-9383.

- Vismeh, R., Lu, F., Chundawat, S. P., Humpula, J. F., Azarpira, A., Balan, V., Dale, B. E., Ralph, J., & Jones, A. D., 2013. Profiling of diferulates (plant cell wall cross-linkers) using ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analyst*, 138, 6683-6692.
- Wang, Q., Wood, P. J., Huang, X., and Cui, W., 2003. Preparation and characterization of molecular weight standards of low polydispersity from oat and barley (1→3) (1→4)-β-D-glucan. *Food Hydrocolloids*, 17, 845–853.
- Waldron, K. W., Parr, A. J., Ng, A., & Ralph, J., 1996. Cell wall esterified phenolic dimers: Identification and quantification by reverse phase high performance liquid chromatography and diode array detection. *Phytochemical Analysis*, 7(6), 305–312.

CAPÍTULO 4

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE ARABINOXILANOS FERULADOS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SALCHICHAS TIPO FRANKFURTER

Daniela D. Herrera-Balandrano^{1,3}, Juan G. Báez-González¹, Elizabeth Carvajal-Millán², Gerardo Méndez-Zamora³, Carlos A. Amaya Guerra¹, Vania Urías-Orona⁴, Guillermo Niño-Medina³

(Artículo publicado en Molecules Journal, 30 de Mayo 2019)

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Universidad s/n, Col. Cd. Universitaria, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Coordinación Hermosillo, Laboratorio de Biopolímeros. Carretera a la Victoria Km 0.6, C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

³Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica. Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Laboratorio de Química de los Alimentos, Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, C.P. 64460, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

4. 1 Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante y fisicoquímica de un modelo de salchicha tipo Frankfurter con arabinosilanos ferulados. El contenido de fenoles totales se determinó mediante el método de Folin Ciolcalteu y la capacidad antioxidante con las técnicas DPPH, ABTS y FRAP. Con respecto a los parámetros fisicoquímicos, se determinaron la dureza, fuerza de corte, color, análisis proximal y capacidad de retención de agua. Se aplicó un diseño completamente al azar, donde cada tratamiento consistió en la combinación del tiempo de extracción (TE; h) de la concentración de AX + de AX (0.15 y 0.30%). Los resultados mostraron que hubo una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante fue mayor en las salchichas que contenían arabinosilanos (para todos los tratamientos) comparando con el control. Así como diferencias significativas se obtuvieron en los parámetros fisicoquímicos tales como, dureza, fuerza de corte y color.

4.2 Introducción

En la actualidad, las salchichas tipo Frankfurter son una salchicha clasificada como cocida y producida con un alto contenido de grasa en su composición, son salchichas pequeñas con un diámetro pequeño (18-22 mm), hechas en una forma finamente picada y típicamente utilizadas como aperitivos (Feiner 2006). Por eso es necesario buscar una alternativa para evitar la oxidación de los lípidos durante su fabricación, que podría ser la adición de antioxidantes. La solución para la industria ha sido agregar antioxidantes sintéticos, sin embargo, estos se han relacionado con efectos negativos para la salud. Lo cual ha aumentado el consumo de productos naturales que se pueden agregar a los productos cárnicos en la mejora de la calidad y el reemplazo de los aditivos sintéticos. El objetivo del uso de productos antioxidantes es aumentar su

calidad nutricional, funcional y al mismo tiempo no afectar la calidad del producto terminado. Los estudios realizados en Frankfurter que agregaron aceite de oliva concluyen que la grasa animal puede ser reemplazada por emulsiones de aceite en agua que están más en línea con las recomendaciones de salud y cuyas características se adaptan mejor a las necesidades del consumidor (Herrero et al. 2012).

Polisacáridos obtenidos de diversos cereales como lo son trigo, maíz, cebada y arroz han sido estudiados debido a su poder antioxidante y su composición rica en compuestos químicos que incluyen polifenoles, como lo pueden ser ácido ferúlico que también ha sido evaluado y asociado con varios efectos positivos para la salud, principalmente anticancerígenos, neuro-protectores y cardiovasculares (Izydorczyk y Biliaderis 1995, Ishii 1997, Buanafina 2009, Mancuso y Santagelo 2014). La adición de estos compuestos fenólicos en producción de alimentos inhibe la peroxidación de lípidos y su posterior deterioro oxidativo, así como otras aplicaciones industriales se basan en el potencial antioxidante del ácido ferúlico Graf (1992).

Los estudios han demostrado que los arabinoxilanos tienen algunos efectos positivos en la salud humana, como los inflamatorios y los anticancerígenos, y son importantes para la salud (Mendis y Simsek 2014). Se han llevado a cabo estudios para medir la capacidad antioxidante y las características fisicoquímicas de las salchichas añadiendo extractos naturales, encontrando que al agregar compuestos fenólicos de diversas fuentes se observa el incremento de las propiedades antioxidantes del alimento (Feng et al. 2016, Herrero et al. 2012, Kouzounis et al. 2017, Sousa et al. 2017, Pintado et al. 2016, Méndez-Zamora et al. 2015, Álvarez et al. 2012). Los arabinoxilanos ferulados como un ingrediente adicional en la fórmula de salchichas Frankfurter están relacionados con su actividad antioxidante y su aumento en la capacidad de retención de agua, así como la textura, pueden ser indicativos de sus características fisicoquímicas.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante y las características fisicoquímicas mediante los métodos de Folin Ciocalteu, DPPH, FRAP, ABTS y análisis proximal, acidez titulable, resistencia al corte, dureza y color en un

modelo de salchicha Frankfurter con la adición de arabinosilanos ferulados a diferentes concentraciones (0.15-0.30%).

4.3 Materiales y Métodos

4.3.1 Extracción de arabinosilanos

Los arabinosilanos utilizados en este estudio se obtuvieron como se describe en nuestro proyecto previamente reportado (Herrera-Balandrano et al. 2018). En resumen, el pericarpio de maíz nixtamalizado fue desgrasado con etanol (1:5; p/v), secado a 40 °C durante 12 h, después se eliminó el almidón mediante gelatinización (1:7; p/v) durante 30 min. El pericarpio de maíz fue tratado con NaOH 0.5 N, los arabinosilanos fueron extraídos a diferentes tiempos de extracción (2, 4, 6 y 8 h).

4.3.2 Tratamientos

Un diseño completamente al azar de nueve tratamientos (salchichas) fue diseñado en esta investigación; cada tratamiento fue la combinación del tiempo de extracción de AX (TE; h) + la concentración de AX (0.15 y 0.30%): T0 = salchicha de control sin AX, T1 = T0 + 2h TE + 0.15% AX, T2 = T0 + 2h TE + 0.30% AX, T3 = T0 + 4h TE + 0.15% AX, T4 = T0 + 4h TE + 0.30% AX, T5 = T0 + 6h TE + 0.15% AX, T6 = T0 + 6h TE + 0.30% AX, T7 = T0 + 8h TE + 0.15% AX, T8 = T0 + 8h TE + 0.30% AX. Cada tratamiento consistió en 300 g. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

4.3.3 Preparación de salchichas tipo Frankfurter

La formulación y los ingredientes utilizados en la preparación de las salchichas de Frankfurt se hicieron de acuerdo con los métodos establecidos por Deda et al. (2007) y Méndez-Zamora et al. (2015) con algunas modificaciones, que consistieron en los siguientes pasos: (1) la carne de cerdo (41.95%) y carne de res (11%) se descongelaron parcialmente y se molieron durante 3 minutos para luego agregar los nitritos (2.03%)

y 1/3 de hielo; (2) se agregaron los polifosfatos (0.25%) y se incorporó otro 1/3 de hielo y se continuó moliendo durante 2 minutos, (3) se agregó el condimento de salchicha (0.5%) y el proceso de emulsificación continuó durante 2 minutos, manteniendo la temperatura por debajo de 11 °C (4) se añadió la grasa de cerdo (19.45%) parcialmente descongelada y se molió durante 2 min. (5) se añadió el almidón (4.4%) junto con el hielo restante y el proceso de molienda continuó durante 3 minutos. (6) Una vez que se preparó la pasta de carne, se introdujo en tripas de celulosa (3 cm de diámetro). Las salchichas fueron atadas manualmente con un hilo cada 15 cm. (7) Las salchichas luego se cocinaron en un baño de agua a 80 °C y se colocaron en una bolsa de polietileno para evitar el lavado de los ingredientes hasta que alcanzaron una temperatura interna de 68 °C; (8) finalmente, las salchichas se enfriaron en un baño de agua con hielo (4 °C durante 20 min) y se refrigeraron a 4 °C hasta el análisis. Para la preparación de los tratamientos T1 a T8, los arabinosilanos se agregaron en el quinto paso junto con el almidón.

4.3.4 Dureza y Fuerza de Corte (FC)

La dureza y la FC se realizaron utilizando un Texturómetro TA XT2i (Stable Micro Systems Surrey, Inglaterra) de acuerdo con la técnica utilizada por Méndez-Zamora et al. (2015). La dureza se realizó con tres secciones centrales (3.0 cm de alto y 2.5 cm de diámetro) a 4 °C con un pistón cilíndrico para comprimir la muestra (velocidad de pre-prueba de 1.0 mm/s, 5.0 mm/s durante la prueba y 5.0 mm/s post-prueba). Para FC, se instaló una cuchilla Warner-Bratzler en el texturómetro y se utilizaron tres secciones centrales de cada muestra (3.0 cm de altura y 2.5 cm de diámetro) a una temperatura de 4 °C para la prueba; Las condiciones establecidas para la prueba fueron: velocidad de 2 mm/s antes de la prueba, 2 mm/s (prueba), 10 mm/s (después de la prueba) y una distancia de 30 mm.

4.3.5 Medición de Color

La medición de color fue llevada a cabo directamente en el interior de las salchichas utilizando con un colorímetro Konica Minolta CR-20 (Tokyo, Japón). Los parámetros cromáticos fueron obtenidos utilizando los sistemas CIE-LAB (L^* , a^* , b^*) y CIELCH (L, C, h). Donde el valor de L es luminosidad, (0 = negro, 100 = blanco), a indica rojo (a positiva) o verde (a negativo) y b define amarillez (b positiva) o azul (b negativa), C (croma, es el nivel de saturación de h) y h (es el ángulo de tono 0° = rojo, 90° amarilla, 180° = verde, 270° = azul). Una imagen del color fue obtenida mediante el software en línea ColorHexa (ColorHexa software, 2018) utilizando los valores L, a y b. El equipo fue calibrado antes de las determinaciones.

4.3.6 Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La capacidad de retención de agua de las salchichas se determinó utilizando el método de compresión propuesto por Tsai y Ockerman (1981), Dzudie et al. (2005) y Méndez-Zamora et al. (2015) con algunas modificaciones. Se colocaron aproximadamente 0.3 g de salchicha entre dos papeles de filtro (Whatman 20-25 μm), luego se colocaron entre dos placas de plexiglás de 12 x 12 cm y se aplicó una fuerza de 4.0 kg durante 20 minutos. Debido a la fuerza ejercida sobre la muestra, los líquidos liberados se impregnaron en el papel, y se consideró como el agua libre de la carne.

4.3.7 pH y Acidez Titulable (AT)

El pH de las salchichas se midió con un medidor de pH (AE150 pH Benchtop Meter, Thermo Fisher Scientific, EE.UU.); Se molieron 2 g de salchicha en 20 mL de agua destilada hasta obtener una mezcla homogénea. AT se midió en 10 ml de muestra homogénea, previamente filtrada, se añadió fenolftaleína como indicador y se tituló con NaOH 0.4 N. Los cálculos se realizaron siguiendo la siguiente ecuación:

$$\% \text{ AT} = [(\text{mL gastados de NaOH} * \text{N} * \text{meq}) / \text{mL de muestra}] * 100 * \text{Fd}$$

Fd = factor de dilución.

meq= miliequivalente de ácido cítrico (0.0064)

4.3.8 Análisis Proximal

El análisis de proximal se determinó utilizando los métodos reportados por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000) los cuales fueron humedad (método 925.09), proteína cruda (método 960.52), grasa (método 923.03) y fibra bruta (método 920.86).

4.3.9 Fenoles Totales (FT) y Capacidad Antioxidante (CA)

Para la determinación de FT y CA, se utilizó el extracto hidrofílico de las salchichas, que se realizó mediante el método propuesto por Liu et al. (2009). Cada uno de los extractos se obtuvo moliendo 25 g de muestra en 50 mL de agua destilada, se calentó a ebullición (aprox. 90 °C) y se dejó durante 20 min, luego se enfrió en un congelador (-4 °C), se filtró y se refrigeró hasta su uso. La determinación de FT se realizó utilizando el método establecido por López-Contreras et al. (2015), se tomaron 200 µL de extracto, se agregaron 2600 µL de agua destilada y 200 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 minutos, se agregaron 2000 µL de Na₂CO₃ al 7%, la solución se agitó durante 30 segundos, se llevó a cabo la reacción en oscuridad durante 90 minutos y luego se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm. La concentración se obtuvo utilizando la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración establecida con ácido ferúlico en concentraciones de 0 a 200 mg/L; el resultado se expresó en miligramos equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra

(mgEAF/g). La capacidad antioxidante se realizó utilizando los métodos establecidos por Kyoung y Dae (2004). Se realizó el ensayo de decoloración del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) mediante la adición de 1500 μ L de DPPH a 50 μ L del extracto, la reacción se realizó durante 30 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia de las muestras a 515 nm usando metanol al 80% para la reducción a cero y como control para la medición de absorbancia inicial. Para la técnica ABTS 2, 2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazol-6-sulfónico), la solución madre se preparó con la mezcla de reactivo ABTS 7,4 mM y la solución de persulfato potásico 2,6 mM (1:1), dejándola en la oscuridad durante 12 h. La solución se diluyó en metanol al 80%, que se ajustó para obtener 0.700 nm de lectura del espectrofotómetro a una absorbancia de 734 nm. Se tomaron 50 μ L de extracto y se dejó reaccionar con 1500 μ L de ABTS durante 30 min en la oscuridad y luego se leyeron a 734 nm. La técnica FRAP se realizó mezclando soluciones madre; buffer de acetato de sodio 300 mM, TPTZ 10 mM (complejo 2, 4, 6-tripiridiltriazina), cloruro de hierro hexahidratado 20 mM en proporción (10:1:1) a una temperatura de 37 ° C. Se tomaron 50 μ L de la muestra y se hicieron reaccionar con 1500 μ L de la solución FRAP durante 30 min a 37 °C. Las lecturas se tomaron a 593 nm en el espectrofotómetro. Para los resultados de cada una de las técnicas de capacidad antioxidante se realizó una curva de 0 a 500 μ mol de Trolox. Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de salchicha μ molET/g.

4.3.10 Análisis estadístico

Las variables evaluadas fueron analizadas mediante un diseño completamente aleatorio. Se utilizó el procedimiento GLM de SAS® (2002) para el análisis de los datos y el siguiente modelo estadístico: $y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$; donde: y_{ij} = variables de respuesta; μ = media general; T_i = efecto del tratamiento (T0-T8); ϵ_{ij} = error aleatorio con media cero y varianza σ^2 [$\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$]. Se estableció una probabilidad de error tipo I de menos de 0.05 para evidenciar el efecto de los tratamientos. La prueba de Tukey se realizó para comparar las medias entre tratamientos.

4.4 Resultados y Discusión

4.4.1 Parámetros fisicoquímicos de salchichas tipo Frankfurter

Los parámetros fisicoquímicos, la dureza y la fuerza de corte se vieron afectados ($P < 0.0001$) mediante la adición de arabinosilanos en la formulación de salchichas (Tabla 4.1). El pH fue el más alto en T8 (0.30% AX con 8 h de tiempo de extracción (TE)) y T0 el más bajo (sin AX). De manera similar a T8, T4 y T6 tuvieron valores de pH altos con 0.30% de AX. Asimismo, en la acidez titulada (AT) con respecto a T8, en T2, T4 y T5 (2, 4, 6 y 8 h TE con 0.30 y 0.15 (T5) % AX) obtuvieron los valores más altos de % AT, mientras que T0, T1 y T7 presentó los valores más bajos (2 y 8 h con 0.15% AX, respectivamente). Además, la CRA tuvo comportamientos similares a los resultados de pH y AT. Estos resultados indicaron que las altas concentraciones de arabinosilanos aumentan el pH, AT y CRA con mayores tiempos de extracción. La adición de arabinosilanos ferulados produjo un aumento ($P < 0.05$) en la dureza y fuerza de corte a T2 y T6 (0.30% AX con 2 y 6 h de tiempo de extracción) con respecto a T0. Schmiele et al. (2014) reportaron una dureza entre 50.86-70.36 N agregando fibras dietéticas. Sin embargo, las salchichas elaboradas con cualquiera de las diferentes concentraciones de arabinosilanos tuvieron una mayor retención de agua y, por lo tanto, un diámetro mayor ($P < 0.05$) que el control (Tabla 4.1). Estos resultados podrían atribuirse a los arabinosilanos ferulados, añadiendo estos polisacáridos, atrapan el agua libre en el producto, transformándola en agua retenida. Asimismo, contener menos agua libre aumentará su vida útil y probablemente su baja oxidación. El valor del pH tiene un impacto significativo en el color, la vida útil, el sabor, la estabilidad microbiológica, el rendimiento y la textura de la carne y los productos cárnicos (Feiner 2006). Los valores de pH de la carne y los productos cárnicos se encuentran generalmente entre 4.6 (salami fermentado crudo) y 6.4. Con un valor de pH de alrededor de 6.4, la carne se deteriora debido a la actividad enzimática, que

produce una gran cantidad de subproductos metabólicos, así como también de amoníaco. Los valores obtenidos fueron 5.28-5.52, lo que indica un pH óptimo. Respecto a la dureza y la fuerza de corte (FC), T0 (sin AX) presentó los valores más bajos, pero T2 (2 h TE) y T6 (6 h TE) obtuvieron la dureza y FC más alto, respectivamente; estos tratamientos fueron formulados con 0.30% de arabinosilanos.

Tabla 4.1 Análisis fisicoquímico y textura de salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos.

Tratamientos	Variable					
	pH	AT ¹ (%)	CRA ² (%)	Dureza (N)	FC ³ (N)	Diámetro
T0_Control	5.28 ^d	0.37 ^{bc}	57.03 ^b	19.38 ^d	3.36 ^d	23.13 ^c
T1_2h: 0.15%	5.44 ^{bc}	0.35 ^c	64.97 ^{ab}	30.65 ^c	5.57 ^{ab}	25.31 ^b
T2_2h: 0.30%	5.49 ^{ab}	0.49 ^a	69.20 ^a	68.29 ^a	5.97 ^{ab}	26.05 ^{ab}
T3_4h: 0.15%	5.41 ^c	0.46 ^{ab}	63.02 ^{ab}	23.52 ^{cd}	5.14 ^{abcd}	26.35 ^{ab}
T4_4h: 0.30%	5.48 ^{ab}	0.51 ^a	70.58 ^a	54.72 ^b	5.70 ^{ab}	26.63 ^{ab}
T5_6h: 0.15%	5.44 ^{bc}	0.51 ^a	65.24 ^{ab}	26.23 ^{cd}	4.65 ^{bcd}	26.86 ^a
T6_6h: 0.30%	5.47 ^{ab}	0.48 ^a	73.58 ^a	59.46 ^{ab}	6.53 ^a	26.83 ^a
T7_8h: 0.15%	5.49 ^{ab}	0.35 ^c	57.07 ^b	20.12 ^{cd}	3.59 ^{cd}	27.35 ^a
T8_8h: 0.30%	5.52 ^a	0.51 ^a	71.61 ^a	55.02 ^b	5.21 ^{abc}	27.15 ^a
EE ⁴	0.01	0.02	2.34	2.27	0.37	0.26

¹AT: Acidez titulable; ²CRA: Capacidad de retención de agua; ³FC: Fuerza de Corte. ⁴EE: Error Estándar. ^{a-d}










Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

4.4.2 Evaluación de color de salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos

Diferencias ($P < 0.05$) dependientes de la formulación se encontraron en los parámetros de color entre los tratamientos (Tabla 4.2). La luminosidad (valor L^*) fue mayor para los tratamientos T1_2h: 0.15% (76.23), T3_4h: 0.15% (80.73), T5_6h: 0.15% (75.66) y T7_8h: 0.15% (79.73), todos estos tratamientos contenían 0.15% de arabinosilanos ferulados. Mientras que el rojo (valor a^*) fue mayor para los tratamientos T1_2h: 0.15% (11.66) y T5_6h: 0.15% (75.66). En cuanto a los resultados de la amarillez (valor b^*), el tratamiento T8_8h: 0.30% fue el valor más bajo para todos los tratamientos incluidos en el control. Según las imágenes de color obtenidas con el programa ColorHexa, existe una diferencia entre los tratamientos con 0.15% y 0.30% de arabinosilanos que coinciden con los resultados obtenidos de la luminosidad, en la cual es mayor para los tratamientos de 0.15%. Estos podrían atribuirse a los arabinosilanos ferulados y la capacidad de retención de agua. Por lo tanto, concentraciones más altas de arabinosilanos atrapan más agua libre, lo que podría reducir la luminosidad. Méndez-Zamora et al. (2015), evaluaron el efecto de la adición de inulina y pectina en concentraciones de 7.5 y 15% en salchichas tipo Frankfurter, encontrando diferencias significativas en el valor de a^* y b^* , indicando que a mayor concentración de pectina los resultados de estas variables fueron estadísticamente diferentes, los cuales concuerdan con los resultados reportados en este estudio. Así mismo, los valores de a^* y b^* reportados por Ozvural et al. (2009) concuerdan también con los reportados en este estudio, donde evaluaron la adición de subproductos de la industria cervecera en la elaboración de salchichas Frankfurter. Por otro lado, Cáceres et al. (2004), evaluaron la adición de fructooligosacáridos en las propiedades de salchichas Frankfurter con bajo contenido de grasa, observando que los valores de L^* fueron ligeramente más bajos y los valores de a^* y b^* no se encontraron diferencias, reportando que esta diferencia se debía de a la fibra dietaria agregada no tenía color dominante ya que era blanquecina y translúcida. Además de la adición de fibras

dietarias en la elaboración de embutidos, se ha estudiado la adición de extractos naturales, como lo son romero y té verde fueron evaluados en la elaboración de salchichas Frankfurter, encontrando que la adición de estos extractos provoca un retraso en la decoloración de las salchichas (Schilling et al. 2018).

Tabla 4.2 Parámetros de color en salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos

Tratamientos	Variable ¹					Color
	L*	a*	b*	C	h	
T0_Control	75.50 ^{abc}	11.66 ^b	10.83 ^{cd}	15.93 ^b	42.13 ^{bc}	
T1_2h: 0.15%	76.23 ^{ab}	14.46 ^a	9.23 ^{cd}	17.06 ^{ab}	32.03 ^{de}	
T2_2h: 0.30%	68.20 ^d	11.60 ^b	11.46 ^{bc}	16.50 ^b	47.86 ^{ab}	
T3_4h: 0.15%	80.73 ^a	12.53 ^{ab}	10.03 ^{cd}	16.20 ^b	38.13 ^{cd}	
T4_4h: 0.30%	69.03 ^{cd}	12.86 ^{ab}	16.66 ^a	16.80 ^{ab}	38.10 ^{cd}	
T5_6h: 0.15%	75.66a ^{bc}	13.13 ^{ab}	11.23 ^{cd}	16.93 ^{ab}	40.63 ^c	
T6_6h: 0.30%	70.16 ^{bcd}	11.86 ^b	11.16 ^{cd}	16.30 ^b	43.23 ^{abc}	
T7_8h: 0.15%	79.73 ^a	12.50 ^{ab}	14.23 ^{ab}	18.73 ^a	49.30 ^a	
T8_8h: 0.30%	68.86 ^{cd}	13.96 ^{ab}	8.30 ^d	16.13 ^b	30.53 ^e	
EE ²	1.41	0.48	0.59	0.42	1.37	

¹ L = luminosidad, a = tendencia a rojo, b = tendencia amarillo, Chroma = saturación index; Hue = Ángulo Hue.

²EE: Error estándar ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

4.4.3 Análisis Proximal

Los resultados del análisis proximal (humedad, proteína, grasa, fibra cruda y ceniza) se vieron afectados por la adición de arabinosilanos ferulados (P < 0.05), se muestran en la (Tabla 4.3). El contenido de humedad fue menor en el control (T0), encontrando en los tratamientos 5, 6, 7 y 8 (0.15 y 0.30% con 6 y 8 h de extracción) resultados

mayores 63.13, 63.08, 60.68 y 60.34 % respectivamente. Asimismo, con respecto a los resultados de proteína, hubo diferencias estadísticamente significativas, siendo T2 (0.15% 2h TE) con mayor contenido de proteína y T1 (0.30% 2h TE) más bajo.

Méndez-Zamora et al. (2014), encontraron resultados similares en el contenido de humedad, atribuyendo que la adición de fibras dietarias aumenta el contenido de humedad debido a la posible formación de geles en la formulación de las salchichas elaboradas con inulina y pectina. Otros autores confirman estos resultados, al igual que el incremento del contenido de cenizas en salchichas Frankfurter utilizando fibra de arroz y celulosa regenerada (Vural et al. 2004, Choi et al. 2010 y Zhao et al. 2018). En cuanto al contenido de proteína no hubo cambios entre tratamientos, similar a lo reportado por Zhao et al. (2018), en la elaboración de salchichas añadiendo fibra de celulosa regenerada. Respecto al contenido de grasa, el control obtuvo el valor más alto con 11.38% mientras que los tratamientos resultaron entre 5.89 – 10.32, siendo similar a lo reportado por García et al. (2006), al agregar fructooligosacáridos en la elaboración de salchichas tipo Frankfurter.

Tabla 4.3 Análisis proximal de salchichas adicionadas con arabinosilanos

Tratamientos	Variable				
	Humedad	Proteína	Grasa	Fibra cruda	Ceniza
T0_Control	50.01 ^d	11.34 ^{cd}	11.38 ^a	0.18 ^d	5.12 ^d
T1_2h: 0.15%	54.31 ^{cd}	15.21 ^a	4.88 ^e	0.72 ^{abc}	5.35 ^{cd}
T2_2h: 0.30%	58.72 ^{abc}	11.28 ^d	6.08 ^{de}	0.78 ^a	6.63 ^{ab}
T3_4h: 0.15%	54.80 ^{bcd}	13.12 ^{abcd}	10.32 ^{abc}	0.74 ^{ab}	6.25 ^{bcd}
T4_4h: 0.30%	59.58 ^{ab}	12.94 ^{bcd}	5.89 ^e	0.70 ^{abc}	7.62 ^a
T5_6h: 0.15%	63.13 ^a	11.37 ^{cd}	10.93 ^{ab}	0.70 ^{abc}	6.52 ^{abc}
T6_6h: 0.30%	63.08 ^a	13.55 ^{abc}	5.92 ^{de}	0.60 ^{bc}	6.59 ^{ab}
T7_8h: 0.15%	60.68 ^a	14.41 ^{ab}	8.36 ^{cd}	0.58 ^c	5.85 ^{bcd}
T8_8h: 0.30%	60.34 ^a	13.06 ^{abcd}	8.84 ^{bc}	0.63 ^{abc}	6.68 ^{ab}
EE ¹	1.03	0.45	0.50	0.03	0.24

¹EE: Error Estándar. ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

4.4.4 Fenoles Totales (FT) y Capacidad Antioxidante (CA)

Los resultados de fenoles totales y capacidad antioxidante se muestran en la Tabla 4.4, donde la cantidad de FT es mayor en los tratamientos con arabinosilanos T1_2h: 0.15 % a T8_8h: 0.30% (0.060-0.077 mgEAF/g), mientras que el T0_Control tuvo 0.038 mgEAF/g. Así mismo la capacidad antioxidante fue mayor para los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, encontrando valores de 0.512-0.651, 0.525-0.749 y 0.140-0.176 $\mu\text{molET/g}$ respectivamente, por otra parte los resultados de T0_Control fueron 0.58 $\mu\text{molET/g}$ (DPPH), 0.412 $\mu\text{molET/g}$ y 0.069 $\mu\text{molET/g}$. Las salchichas Frankfurter aumentaron las propiedades antioxidantes debido a la adición de arabinosilanos ferulados ya que se encontraron diferencias significativas entre el control y los tratamientos. En cuanto a la capacidad antioxidante de las salchichas, no se han realizado estudios en los que se agreguen arabinosilanos ferulados para la

determinación de estos parámetros como DPPH, ABTS y FRAP, sin embargo, se han utilizado otras fuentes vegetales en la formulación de salchichas. En la busca de la adición de ingredientes de origen no químico, algunos autores han evaluado la adición de extractos de origen natural en el aumento de la capacidad antioxidante de salchichas Frankfurter. Isaza et al. (2011) reportó el aumento en la capacidad antioxidante de la salchicha evaluando la adición del extracto de cereza como ingrediente en la formulación, encontrando un contenido de 0.65 y 0.75 $\mu\text{molEAF/mg}$, 0.8 y 3.1 $\mu\text{molET/g}$ y 0.7 a 1.2 $\mu\text{molET/g}$ de salchicha para fenoles totales, ABTS y DPPH. Otras investigaciones, Póltorak et al. (2018) realizaron estudios en los que se agregaron mezclas de las plantas catuaba, galanga y rhodiola para mejorar los efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos de las salchichas almacenadas, reportando resultados de fenoles totales 0.015, 0.027 y 0.029 $\mu\text{gAF/mg}$. Por otro lado, Broncano et al. (2011) estudiaron el uso de proteasas para mejorar la estabilidad oxidativa de las salchichas donde se utilizaron diferentes métodos para analizar las propiedades antioxidantes, reportando 58.47-68.11 RSA (actividad de eliminación de radicales) evaluando la capacidad antioxidante mediante el método de DPPH. Como ya se mencionó anteriormente, no hay estudios en los que se evalúe la actividad antioxidante de salchichas Frankfurter adicionadas con arabinosilanos, sin embargo, los autores ya mencionados coinciden con los resultados encontrados con esta investigación, ya que la adición de un ingrediente funcional aumento considerablemente el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante en comparación con el control.

Tabla 4.4 Fenoles Totales y capacidad antioxidante de salchichas tipo Frankfurter adicionadas con arabinosilanos ferulados.

Tratamientos	Fenoles T.	DPPH	ABTS	FRAP
	mgEAF/g		$\mu\text{molET/g}$	
T0_Control	0.038 ^d	0.358 ^c	0.412 ^d	0.069 ^b
T1_2h: 0.15%	0.070 ^{ab}	0.512 ^b	0.665 ^{abc}	0.163 ^a
T2_2h: 0.30%	0.060 ^c	0.651 ^a	0.716 ^{ab}	0.153 ^a
T3_4h: 0.15%	0.072 ^{ab}	0.466 ^{bc}	0.749 ^a	0.140 ^a
T4_4h: 0.30%	0.073 ^a	0.641 ^a	0.568 ^{bc}	0.174 ^a
T5_6h: 0.15%	0.065 ^{bc}	0.637 ^a	0.657 ^{abc}	0.173 ^a
T6_6h: 0.30%	0.073 ^a	0.662 ^a	0.611 ^{abc}	0.176 ^a
T7_8h: 0.15%	0.077 ^a	0.680 ^a	0.525 ^{cd}	0.159 ^a
T8_8h: 0.30%	0.077 ^a	0.632 ^a	0.554 ^{cd}	0.147 ^a
EE ¹	0.002	0.023	0.031	0.009

¹EE: Error estándar ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

4.5 Conclusión

De acuerdo con los resultados obtenidos, las diferentes condiciones de extracción alcalina de los arabinosidos ferulados extraídos del pericarpio de maíz afectan el análisis fisicoquímico y la capacidad antioxidante de las salchichas al agregarlos como un ingrediente en la formulación de su preparación. El tiempo de extracción está relacionado con la dureza y la fuerza de corte de las salchichas. La determinación de los fenoles totales y la capacidad antioxidante es mayor en los tratamientos (T1 y T8) debido a la presencia de ácido ferúlico unido por un enlace éster a las cadenas de xilosa unidas a las arabinosas.

4.6 Referencias

- Álvarez, D., Xiong Y. L., Castillo M., Payne F.A. and Garrido M. D. 2012. Textural and Viscoelastic Properties of Pork Frankfurters Containing Canola-Olive Oils, Rice Bran, and Walnut. *Meat Science*, 92, 8–15.
- AOAC Official Methods of Analysis of AOAC International. 2000. 17th ed.; Association of Official Analytical Chemistry: Gaithersburg, MD.
- Broncano J. M., Timón M. L., Parra V., Andrés A. I., and Petró M. J. 2011. Use of proteases to improve oxidative stability of fermented sausages by increasing low molecular weight compounds with antioxidant activity. *Food Research International*, 44 2655–2659.
- Buanafina, M. M. de O. 2009. Feruloylation in grasses: current and future perspectives. *Molecular plant*, 2, 861-872.
- Cáceres, E., García, M. L., Toro, J., & Selgas, M. D. 2004. The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages. *Meat Science*, 68(1), 87-96.
- Carvajal-Millán, E., Rascón-Chu A., Márquez-Escalante J. E., Micard V., and Ponce de León N. and Gardea A. 2007. Maize Bran Gum : Extraction, Characterization and Functional Properties, *Carbohydrates Polymers* 69, 280–85.
- Choi, Y. S., Choi, J. H., Han, D. J., Kim, H. Y., Lee, M. A., Jeong, J. Y., Chung, H. J., & Kim, C. J. 2010. Effects of replacing pork back fat with vegetable oils and rice bran fiber on the quality of reduced-fat frankfurters. *Meat Science*, 84(3), 557-563.
- ColorHexa, Color Encyclopedia: Information and Conversion: Computer Software, ColorHexa, 2018, <http://www.colorhexa.com/>.

- Deda, M. S., Bloukas, J. G., & Fista, G. A. 2007. Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*, 76(3), 501-508.
- Dzudie, T., Scher, J., Tchiégang, C., and Hardy, J. 2005. Effect of fat sources on the physico-chemical nutritional and textural properties of beef sausages. *Journal of Food Technology*, 3(2), 220-225.
- Feiner, G. 2006. 12 – Cooked Sausages, *Meat Products Handbook*, 1st edition, 239–86.
- Feng, X., Sebranek, J. G., Lee H.Y. and Ahn D. U. 2016. Effects of Adding Red Wine on the Physicochemical Properties and Sensory Characteristics of Uncured Frankfurter-Type Sausage', *Meat Science*, 121, 285–91.
- García, M. L., Cáceres, E. and Selgas, M. D. 2006. Effect of Inulin on the Textural and Sensory Properties of Mortadella, a Spanish Cooked Meat Product', *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 1207–15.
- Graf, E. 1992. Antioxidant Potential of Ferulic Acid', *Free Radic. Biol. Med.*, 13, 435–48.
- Herrera-Balandrano D.D., Baez-Gonzalez J. G., Carvajal-Millan E., Muy-Rangel D., Urias-Orona V., Martinez-Lopez A.L., Marquez-Escalante J.A., Heredia J.B., Beta T. and Nino-Medina G. 2018. Alkali-Extracted Feruloylated Arabinoxylans from Nixtamalized Maize Bran Byproduct: A Synonymous with Soluble Antioxidant Dietary Fiber, *Waste and Biomass Valorization*, <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0462-z>.
- Herrero, A. M., Carmona P., Pintado T., Jiménez-Colmenero F. and Ruiz-Capillas C. 2012. Lipid and Protein Structure Analysis of Frankfurters Formulated with Olive Oil-in-Water Emulsion as Animal Fat Replacer', *Food Chemistry*, 135, 133–39.

- Isaza M, Yeni L, Restrepo M, López J.E., Ochoa O. and Cabrera T K. 2011. Evolution of the antioxidant capacity of frankfurter sausage model systems with added cherry extract (*prunus avium* l.) during refrigerated storage. *Vitae Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, ISSN 0121-4004 / ISSNe 2145-2660. Volumen 18 número 3, 18, 251–60.
- Ishii, T. 1997. Structure and Functions of Feruloylated Polysaccharides. *Plant Science*, 127, 111–27.
- Izydorczyk, M. S. and Biliaderis C. G. 1995. Cereal Arabinoxylans: Advances in Structure and Physicochemical Properties. *Carbohydrate Polymers* 28, 33-48.
- Kouzounis, D., Lazaridou A. and Katsanidis E. 2017. Partial Replacement of Animal Fat by Oleogels Structured with Monoglycerides and Phytosterols in Frankfurter Sausages. *Meat Science*, 130, 38–46.
- Kyoung C. O. and Kim D. O. 2004. Consideration on Equivalent Chemicals in Total Phenolic Assay of Chlorogenic Acid-Rich Plums. *Food Research International*, 37, 337–42.
- Liu, D. C., Tsau R. T., Lin Y. C., Jan S. S. and Tan F. A. 2009. Effect of Various Levels of Rosemary or Chinese Mahogany on the Quality of Fresh Chicken Sausage during Refrigerated Storage', *Food Chemistry*, 117, 106–13.
- López-Contreras, J. J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez-Ávila, G.C.G., Rojas, R., Niño-Medina, G. 2015. Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Nap*, 43, 366–370.
- Mancuso C. and Santangelo R. 2014. Ferulic Acid: Pharmacological and Toxicological Aspects. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 65, 185–95,

- Méndez-Zamora, G., García-Macías J, A., Santellano-Estrada E., Chávez-Martínez A., Durán-Melénde L.A. and Silva-Vázquez R. 2015. Fat Reduction in the Formulation of Frankfurter Sausages Using Inulin and Pectin', *Food Science and Technology (Campinas)*, 35, 25–31.
- Mendis, M., and Simsek S. 2014. Arabinoxylans and Human Health. *Food Hydrocolloids*, 42, 239–43.
- Özvural, E. B., Vural, H., Gökbulut, İ., & Özboy-Özbaş, Ö. 2009. Utilization of brewer's spent grain in the production of Frankfurters. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(6), 1093- 1099.
- Pintado, T., A. M. Herrero, F. Jiménez-Colmenero, and C. Ruiz-Capillas. 2016. Strategies for Incorporation of Chia (*Salvia Hispanica L.*) in Frankfurters as a Health-Promoting Ingredient. *Meat Science*, 114, 75–84.
- Półtorak A., Marcinkowska-Lesiak M., Lendzion K., Moczowska M., Onopiuk A., Wojtasik-Kalinowska I. and Wierzbicka A. 2018. Evaluation of the antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial effects of catuaba, galangal, roseroot, maca root, guarana and polyfloral honey in sausages during storage. *LWT - Food Science and Technology* 96, 364–370.
- Schilling M.W., Pham A.J., Williams J.B., Xiong Y.L., Dhowlaghar N., Tolentino A.C. and Kin S. 2018. Changes in the physicochemical, microbial, and sensory characteristics of fresh pork sausage containing rosemary and green tea extracts during retail display. *Meat Science* 143, 199–209.
- Schmiele, M., Nucci Mascarenhas M.C.C., da Silva Barretto A. C., and Rodrigues Pollonio M.A. 2015. Dietary Fiber as Fat Substitute in Emulsified and Cooked Meat Model System', *LWT - Food Science and Technology*, 61, 105–11.

- Sousa, S. C., Fragoso S. P., Penna C.R.A., Arcanjo N. M. O., Silva F. A. P., Ferreira V. C. S., Barreto M. D. S. and Araújo I. B. S. 2017. Quality Parameters of Frankfurter-Type Sausages with Partial Replacement of Fat by Hydrolyzed Collagen. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 320–25.
- Tsai, T. C. and Ockerman, H. W. 1981. Water binding measurement of meat. *Journal of Food Science*, 46(3), 697-701.
- Vural, H., Javidipour, I., & Ozbas, O. O. 2004. Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fiber on the quality of frankfurters. *Meat Science*, 67(1), 65-72
- Zhao Y., Hou Q, Zhuang, X., Wang, Y., Zhou, G. and Zhang W., 2018, Effect of regenerated cellulose fiber on the physicochemical properties and sensory characteristics of fat-reduced emulsified sausage. *LWT - Food Science and Technology* 97 (2018) 157–163.

CAPÍTULO 5

ARABINOXILANOS EXTRAÍDOS DE MAÍZ NIXTAMALIZADO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN LA ELABORACIÓN DE PAN BLANCO

Daniela D. Herrera-Balandrano^{1,3}, Juan G. Báez-González¹, Elizabeth Carvajal-Millán², Gerardo Méndez-Zamora³, María A. Nuñez-González¹, Vania Urías-Orona⁴, Guillermo Niño-Medina³

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Universidad s/n, Col. Cd. Universitaria, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Coordinación Hermosillo, Laboratorio de Biopolímeros. Carretera a la Victoria Km 0.6, C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

³Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica. Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Salud Pública y Nutrición, Laboratorio de Química de los Alimentos, Av. Dr. Eduardo Aguirre Pequeño y Yuriria, C.P. 64460, Col. Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

5.1 Resumen

Arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado fueron evaluados sobre la capacidad antioxidante y propiedades fisicoquímicas incorporándolos como un ingrediente funcional más en la formulación de pan de caja. Se agregaron diferentes concentraciones (0.15% y 0.30%) de arabinosilanos ferulados (AX) en el pan y un control sin AX fueron elaborados. En cuanto al análisis de perfil de textura los valores dureza oscilaron entre 39.56 a 64.43 N entre tratamientos de 2, 4, 6 y 8 h a diferentes concentraciones. Mediante la evaluación de color se observó un cambio total de los panes dese un 44.36 a 50.20. Un análisis proximal, fue llevado a cabo determinando, proteína, humedad, grasa, cenizas y fibra cruda. Los resultados del contenido de fenoles totales fueron mayores para el tratamiento 2h_0.15% de arabinosilanos con un valor de 1.98 mgEAF/g, siendo el control el menor de todos los tratamientos evaluados con un valor de 1.24 mgEAF/g. Los niveles de capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP) fueron evaluados en el pan de caja obteniendo resultados de 9.36-17.01, 8.86-17.64 y 3.05-5.07 $\mu\text{molET/g}$ respectivamente. Esto indica que la incorporación de arabinosilanos ferulados en el pan influye en el aumento de volumen, disminución de la dureza y aumenta la capacidad de retención de agua, por lo que la incorporación de éstos polisacáridos le confiere un valor agregado al pan.

5.2 Introducción

En la actualidad la elaboración de pan es una de las industrias con mayor producción en la industria alimentaria. En México el consumo per cápita anual del pan es de 33.5 kg, de los cuales entre el 70 y 75% es correspondiente al consumo de pan blanco o de caja, siendo el porcentaje correspondiente a pan dulce, galletas y pasteles. Según la Norma Oficial Mexicana NOM-F-S-1979, que hace referencia al pan blanco de caja, la definición de pan blanco de caja es la siguiente “es el producto alimenticio elaborado

mediante la cocción por horneado de la masa fermentada, elaborada con la harina de trigo, agua potable, sal yodatada, levadura y otros ingredientes opcionales y aditivos permitidos para alimentos”. El contenido de humedad para las harinas se limita en el 15%, mientras que el mínimo de proteína es 9 - 14% (Fig. 5.1). En cuanto el contenido de proteínas el 85% de ellas son proteínas insolubles como son las gliadinas y gluteninas, las cuales podrían ser las responsables de proporcionar las características plásticas de la masa del pan (Mesas y Alegre 2002).

Humedad	13 – 15%
Proteínas	9 – 14% (85% gluten)
Almidón	68 – 72%
Cenizas	0.5 – 0.65%
Materias grasas	1 – 2%
Azúcares fermentables	1 – 2%
Materias celulósicas	3%
Enzimas hidrolíticos	Amilasas, proteasas, etc.
Vitaminas	B, PP y E

Figura 5.1 Valores de la composición media de las harinas panificables (Tomada de Mesas y Alegre 2002)

La extracción y purificación de arabinoxilanos a partir de subproductos de la industria ha tenido un gran interés en la actualidad. Granos, salvado de trigo, centeno y maíz, cáscaras, pulpa de remolacha de azúcar, mazorcas de maíz o nejayote son algunos de los subproductos con valor comercial bajo en la industria alimentaria pero gran potencial de obtención de arabinoxilanos, sin embargo la liberación de los arabinoxilanos de la pared celular lignificada es algunas veces restringida por la presencia de lignina o de un enlace éster formando enlaces lignina-carbohidrato (Izydorczyk, 2009, Buksa et al. 2013, Ferrero, 2017 y Wang et al. 2016). Recientemente se han realizado estudios para la extracción de estos polisacáridos de los subproductos de la industria alimentaria. Lu et al. (2000), extrajeron arabinoxilanos del subproducto del procesamiento de la harina de trigo, obteniendo polisacáridos ricos en fibra, así mismo evaluaron su uso en la mejora de la respuesta postprandial de

glucosa e insulina en humanos. Otros estudios con pericarpio de maíz nixtamalizado reportaron rendimientos de hasta 8.23% en la extracción de arabinosilanos mediante diferentes tratamientos alcalinos (Herrera-Balandrano et al. 2018). El uso de arabinosilanos en los procesos de la elaboración de pan blanco de caja y sus efectos en el producto final, han sido estudiados más recientemente, siendo un recurso que se puede obtener ya sea de subproductos de la misma industria o de otras fuentes (Courtin y Delcour, 2001). El objetivo de este proyecto fue la evaluación de la adición de arabinosilanos ferulados extraídos del subproducto de la industria de la nixtamalización en la formulación de pan blanco de caja sobre sus propiedades fisicoquímicas y la capacidad antioxidante.

5.3 Materiales y Métodos

5.3.1 Extracción de Arabinosilanos

Los arabinosilanos utilizados en este estudio se obtuvieron como se describe en nuestro proyecto previamente reportado (Herrera-Balandrano et al. 2018). En resumen, el pericarpio de maíz nixtamalizado fue desgrasado con etanol (1:5; p/v), secado a 40 °C durante 12 h, después se eliminó el almidón mediante gelatinización (1:7; p/v) durante 30 min. El pericarpio de maíz fue tratado con NaOH 0.5 N, los arabinosilanos fueron extraídos a diferentes tiempos de extracción (2, 4, 6 y 8 h).

5.3.2 Tratamientos

Un diseño completamente al azar de nueve tratamientos (panes) fue diseñado en éste proyecto; cada tratamiento fue la combinación del tiempo de extracción de AX (TE; h) + la concentración de AX (0.15 y 0.30%): T0 = pan control sin AX, T1 = T0 + 2h TE + 0.15% AX, T2 = T0 + 2h TE + 0.30% AX, T3 = T0 + 4h TE + 0.15% AX, T4 = T0 + 4h TE + 0.30% AX, T5 = T0 + 6h TE + 0.15% AX, T6 = T0 + 6h TE + 0.30%

AX, T7 = T0 + 8h TE + 0.15% AX, T8 = T0 + 8h TE + 0.30% AX. Cada pan consistió en 300 g. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

5.3.3 Elaboración de pan blanco de caja adicionado con arabinosilanos ferulados

La elaboración de pan de caja y los ingredientes utilizados en las formulaciones se llevó a cabo según lo reportado por Niño-Medina et al. (2017) con algunas modificaciones. Para la preparación de los tratamientos, los arabinosilanos ferulados fueron agregados junto con los ingredientes secos en proporción de 0.15 y 0.30% en base a los 300g de masa. Se mezclaron los siguientes ingredientes; harina de trigo, levadura, sal y azúcar. Después de mezclar los ingredientes en polvo se agregó agua y fue amasado durante 7 minutos hasta obtener una masa homogénea. Las piezas fueron colocadas en moldes de aluminio y se fermentaron a una temperatura de 40 °C por 27 min. Después de la fermentación se colocaron en el horno a una temperatura de 170 °C por un tiempo de 28 min. Las muestras fueron enfriadas a temperatura ambiente y se realizaron las pruebas correspondientes después fueron refrigeradas. La Tabla 5.1 muestra las proporciones utilizadas en la elaboración del pan de caja en base a los 300 g ya mencionados como el 100% de la formulación.

Tabla 5.1 Ingredientes para la elaboración de pan de caja

Ingrediente	Cantidad %
Harina	100
Agua	62
Sal	3
Azúcar	4
Levadura	3
AX	0.15 - 0.30

5.3.4 Análisis de Perfil de Textura (APT)

El análisis de perfil de Textura (APT) se llevó a cabo utilizando un Texturómetro TA. XT2 Stable Micro Systems (Surrey, Inglaterra) con el programa “Texture Exponent”. El APT se realizó mediante la evaluación de los parámetros de dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad, masticabilidad y resiliencia. Las mediciones se realizaron por triplicado en todos los tratamientos, tomando la pieza completa del pan y aplicando una presión del 40% de la altura de los panes.

5.3.5 Determinación de color

La medición de color fue llevada a cabo directamente en la parte superior del pan, tomando tres mediciones aleatoriamente en la corteza de cada uno de los panes utilizando un colorímetro Konica Minolta CR-20 (Tokyo, Japón). Los parámetros cromáticos fueron obtenidos utilizando los sistemas CIE-LAB (L^* , a^* , b^*) y CIELCH (L, C, h). Donde el valor de L^* es luminosidad, (0 = negro, 100 = blanco), a^* indica rojo (a positiva) o verde (a negativo) y b^* define amarillez (b positiva) o azul (b negativa), C (croma, es el nivel de saturación de h) y h (es el ángulo de tono 0° = rojo, 90° = amarilla, 180° = verde, 270° = azul). Una imagen del color fue obtenida mediante el software en línea ColorHexa (ColorHexa software, 2018) utilizando los valores L^* , a^* y b^* . El equipo fue calibrado antes de las determinaciones

5.3.6 Análisis proximal

Se evaluó un análisis de proximal para las muestras de pan adicionada con arabinosanos ferulados utilizando los métodos reportados por la AOAC (Association

of Official Analytical Chemists, 2000) siendo medidos humedad (método 925.09), proteína cruda (método 960.52), grasa (método 923.03) y fibra bruta (método 920.86).

5.3.7 Fenoles Totales (FT) y Capacidad Antioxidante

El extracto de compuestos fenólicos se obtuvo disolviendo 50 mg de la muestra en 3 mL de NaOH 2M. Se dejó en agitación orbital durante 2h en oscuridad. Después se ajustó el pH a 2.0 con HCl concentrado, recuperando los compuestos fenólicos con 3 mL de dietil éter y secando con nitrógeno. Los compuestos fenólicos fueron resuspendidos en 2 mL de metanol al 80%. La determinación de FT se llevó a cabo según lo reportado por López-Contreras et al. (2015), se tomaron 200 μ L de extracto, se agregaron 2600 μ L de agua destilada y 200 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 minutos, se agregaron 2000 μ L de Na₂CO₃ al 7%, la solución se agitó durante 30 s, se llevó a cabo la reacción en oscuridad durante 90 min y luego se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm. La concentración se obtuvo utilizando la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración establecida con ácido ferúlico en concentraciones de 0 a 200 mg/L; el resultado se expresó en miligramos equivalentes de ácido ferúlico por miligramo de muestra (mgEAF/g), para la determinación de capacidad antioxidante se realizó el ensayo de decoloración radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) mediante la adición de 1500 μ L de DPPH a 50 μ L del extracto, la reacción se realizó durante 30 min en oscuridad y se midió la absorbancia de las muestras a 515 nm usando metanol al 80% para la reducción a cero y como control para la medición de absorbancia inicial. Para la técnica ABTS 2, 2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazol-6-sulfónico), la solución madre se preparó con la mezcla de reactivo ABTS 7.4 mM y la solución de persulfato potásico 2.6 mM (1:1) dejándola en la oscuridad durante 12 h. La solución se diluyó en metanol al 80%, que se ajustó para obtener 0.700 nm de lectura del espectrofotómetro a una absorbancia de 734 nm. Se tomaron 50 μ L de extracto y se dejó reaccionar con 1500 μ L de ABTS durante 30 min en la oscuridad y luego se leyeron a 734 nm. La técnica FRAP se

realizó mezclando soluciones madre; buffer de acetato de sodio 300 mM, TPTZ 10 mM (complejo 2, 4, 6-tripiridiltriazina), hexahidrato de cloruro de hierro 20 mM en proporción (10:1:1) a una temperatura de 37° C. Se tomaron 50 µL y se hicieron reaccionar con 1500 µL de la solución FRAP durante 30 min a 37° C. Las lecturas se tomaron a 593 nm en el espectrofotómetro. Para los resultados de cada una de las técnicas de capacidad antioxidante se realizó una curva de 0 a 500 µmol de Trolox. Los resultados se expresaron en µmolET/g de arabinoxilanos.

5.3.8 Análisis estadístico

Las variables evaluadas fueron analizadas mediante un diseño completamente aleatorio. Se utilizó el procedimiento GLM de SAS® (2002) para el análisis de los datos y el siguiente modelo estadístico: $y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$; donde: y_{ij} = variables de respuesta; μ = media general; T_i = efecto del tratamiento (T0-T8); ϵ_{ij} = error aleatorio con media cero y varianza σ^2 [$\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$]. Se estableció una probabilidad de error tipo I de menos de 0.05 para evidenciar el efecto de los tratamientos. Se realizó la prueba de Tukey para comparar las medias entre tratamientos.

5.4 Resultados y Discusión

5.4.2 Análisis de Perfil de Textura de pan de caja adicionado con arabinoxilanos

Los resultados del análisis de perfil de textura obtenidos adicionando arabinoxilanos ferulados en la elaboración de pan de caja se muestran en la tabla 5.2. En cuanto a la Dureza el control obtuvo 64.43 N, encontrando diferencias estadísticamente significativas a los demás tratamientos T1_2h: 0.15% - T8_8h: 0.30%, siendo desde 34.32 N – 51.03 N. Los resultados de elasticidad y cohesividad no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y control. Se obtuvieron

los siguientes valores 0.91 N – 0.94 N y 0.64 N – 0.70 N para los parámetros de elasticidad y cohesividad respectivamente. El tratamiento T0_Control sin la adición de arabinoxilanos ferulados obtuvo los siguientes valores de gomosidad 39.02 N, masticabilidad 3.66 N y resiliencia 0.20 N. En cuanto a los demás tratamientos se encontraron diferencias significativas con los resultados de 22.99 N – 36.49 N, 2.18 N – 2.69 N y 0.28 N – 0.34 N para las variables de gomosidad, masticabilidad y resiliencia. La adición de arabinoxilanos ferulados a matrices alimentarias y su buena interacción a los componentes de la matriz dependerá mayormente en la solubilidad (A/X) de los mimos, como se ha reportado previamente Herrera-Balandrano et al. (2018), los polisacáridos agregados en éstas formulaciones contenían una relación (A/X) de 0.82 a 0.87 lo cual indican una solubilidad considerablemente alta según lo reportado por Morales-Ortega et al. (2014). En cuanto a la dureza del pan disminuyó hasta en un 47% en el tratamiento T6 adicionado con un 0.15% de arabinoxilanos, concuerda con los resultados similares que obtuvo Buksa et al. (2013) hasta un 37% la dureza de la miga del pan elaborado a partir de harina de centeno adicionado con arabinoxilanos a diferentes concentraciones, agregando hasta 1% de los polisacáridos resultó que incrementaba el volumen final del pan y disminuía la dureza del mismo. Ayala-Soto et al. (2017) evaluó la adición de arabinoxilanos en la elaboración de panes libres de gluten encontrando que al agregar un 3% en la formulación disminuía hasta un 15% la dureza del pan, sin embargo, agregando 6% de arabinoxilanos el resultado fue de una disminución del 45%. Así mismo Ayala-Soto et al. 2017, reporta que los efectos positivos de los arabinoxilanos sobre la textura del pan podrían deberse a la fuerte capacidad de unión con el agua disminuyendo la gelatinización del almidón, lo cual se relaciona con la disminución de la firmeza del pan. La textura del pan es afectada por la cantidad de agua presente después del horneado. (Billiaderis, Izydorczyk y Rattan, 1995 y Buksa et al. 2016).

Tabla 5.2 Perfil de Textura de pan de caja adicionado con arabinosilanos ferulados.

Tratamientos	Variable					
	Dureza*	Elasticidad*	Cohesividad*	Gomosidad*	Masticabilidad*	Resiliencia*
T0_Control	64.43 ^a	0.92 ^{bc}	0.66 ^c	39.02 ^d	3.66 ^a	0.20 ^c
T1_2h: 0.15%	40.67 ^{bc}	0.93 ^{abc}	0.67 ^{ab}	27.16 ^c	2.58 ^b	0.32 ^{ab}
T2_2h: 0.30%	40.20 ^{bc}	0.94 ^a	0.67 ^{ab}	27.09 ^a	2.60 ^b	0.30 ^{ab}
T3_4h: 0.15%	51.03 ^b	0.93 ^{ab}	0.67 ^{ab}	36.49 ^d	2.66 ^b	0.31 ^{ab}
T4_4h: 0.30%	45.45 ^{bc}	0.93 ^{abc}	0.64 ^{bc}	29.28 ^b	2.77 ^b	0.28 ^b
T5_6h: 0.15%	34.32 ^c	0.93 ^{abc}	0.66 ^{ab}	22.99 ^d	2.18 ^b	0.31 ^{ab}
T6_6h: 0.30%	39.73 ^{bc}	0.94 ^a	0.70 ^a	27.99 ^b	2.68 ^b	0.34 ^a
T7_8h: 0.15%	39.56 ^c	0.94 ^a	0.69 ^{ab}	27.54 ^d	2.65 ^b	0.33 ^{ab}
T8_8h: 0.30%	40.49 ^{bc}	0.91 ^c	0.67 ^{ab}	28.72 ^b	2.69 ^b	0.33 ^{ab}
EE ¹	2.30	0.01	0.01	1.58	0.15	0.01










¹EE: Error Estándar, *Resultados expresados en N, ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

5.4.3 Evaluación de Color

Los resultados obtenidos de la evaluación del color de los panes adicionados con arabinosilanos ferulados se muestran en la tabla 5.3. El valor de luminosidad (valor L^*) fue mayor para los tratamientos T5_6h: 0.15% y T6_6h: 0.30% con valores de 58.30 y 59.40 respectivamente, siendo el T4_4h: 0.30% el de menor valor de 50.49 de luminosidad. El parámetro de evaluación del color rojo (valor a^*) fue mayor para T7_8h: 0.15% con 13.11 y por lo contrario 9.86 para el tratamiento T3_4h: 0.15%. Los valores obtenidos para el valor de b^* (tendencia al color amarillo) fueron más bajos para los tratamientos T0_Control y T3_4h: 0.15% con valores de 20.04 y 21.82 respectivamente, mientras que para los otros tratamientos los resultados obtenidos fueron entre 24.93 – 27.00. En la tabla se pueden ver diferencias visuales entre el tratamiento T4 con un mayor cambio de color (ΔC) en comparación los otros tratamientos adicionados con arabinosilanos. A pesar de que se esperaba que la corteza

de los panes con arabinosilanos fueran de un color más fuerte en comparación con el control, solo se vio reflejado en el T4, esto puede deberse a la presencia mayoritaria de fibra (arabinosilanos), además la presencia de azúcares participa en la reacción de Maillard o caramelización, lo cual es una característica importante en el pan. Peressini y Sensidoni (2009) evaluaron el efecto de la adición de inulina en las propiedades fisicoquímicas del pan, observando que al agregarla el cambio de color (ΔC) incrementaba en casi un 50% respecto al control, atribuyendo el cambio de color de la corteza del pan a la adición de la inulina y a la reacción de Maillard durante el horneado. (Rada-Mendoza et al. 2009).

Tabla 5.3 Parámetros de color en panes de caja adicionados con arabinosilanos ferulados

Tratamientos	Variable ¹						Color
	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *	C	h	ΔC^3	
T0_Control	53.22 ^{bc}	12.59 ^{ab}	20.04 ^b	28.97 ^a	64.03 ^c	48.31 ^{ab}	
T1_2h: 0.15%	56.16 ^{ab}	12.18 ^{bc}	26.61 ^a	29.14 ^a	65.52 ^{bc}	46.02 ^{bc}	
T2_2h: 0.30%	53.57 ^{bc}	12.45 ^{ab}	27.00 ^a	29.68 ^a	65.29 ^{bc}	48.42 ^{ab}	
T3_4h: 0.15%	53.99 ^{bc}	9.86 ^d	21.82 ^b	23.60 ^b	65.01 ^{bc}	45.16 ^{bc}	
T4_4h: 0.30%	50.49 ^c	12.69 ^{ab}	24.93 ^a	28.21 ^a	62.01 ^d	50.20 ^a	
T5_6h: 0.15%	58.30 ^a	12.16 ^{bc}	26.84 ^a	29.48 ^a	66.47 ^{ab}	44.36 ^c	
T6_6h: 0.30%	59.40 ^a	11.58 ^c	26.60 ^a	29.48 ^a	67.44 ^a	43.19 ^c	
T7_8h: 0.15%	53.36 ^{bc}	13.11 ^a	26.50 ^a	29.54 ^a	64.06 ^c	48.54 ^{ab}	
T8_8h: 0.30%	52.97 ^{bc}	12.74 ^{ab}	26.50 ^a	29.02 ^a	64.27 ^c	48.77 ^{ab}	
EE ²	0.83	0.17	0.22	0.30	0.35	0.76	

¹L = luminosidad a = tendencia a rojo; b = tendencia amarillo; Cromo = saturación; Hue = Tono. ²EE: Error estándar
³ ΔC : Cambio Total de Color, ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

5.4.4 Análisis proximal

Los resultados obtenidos del análisis proximal (humedad, proteína, grasa, fibra cruda y ceniza) se encuentran en la tabla 5.4. En el parámetro de humedad se encontraron diferencias significativas siendo el tratamiento T7_8h: 0.15% mayor con un valor de 33.73 y por lo contrario el tratamiento T3_4h: 0.15% fue el de menor contenido de humedad con 29.31. En cuanto a los parámetros de proteína y ceniza no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con valores de 13.74 – 14.79 y 4.42 – 4.73 respectivamente. En el contenido de grasa de los tratamientos se encontraron diferencias, siendo el tratamiento T4_4h: 0.30% (valor más alto) y T2_2h: 0.30% (valor más bajo) con resultados de 1.69 y 0.68 de grasa. T2_2h: 0.30%, T4_4h: 0.30%, T6_6h: 0.30% y T8_8h: 0.30% obtuvieron los valores más altos de fibra cruda con valores entre 1.16 – 1.17, siendo el tratamiento control el de menor contenido con un valor de 1.12. Los resultados obtenidos en fibra cruda fueron mayores para los tratamientos que contenían 0.30% de arabinosilanos ferulados en la formulación, enfatizando el tratamiento control el cual no contenía arabinosilanos el de menor valor de fibra cruda. En cuanto a la actividad del agua (aw) también se encontraron diferencias significativas entre el control y los demás tratamientos ya que éste resultó el de mayor valor de aw, éstos resultados se pueden deber a la propiedad de los arabinosilanos de la formación de hidrogeles al tener contacto con agua, lo cual se vio reflejado en los resultados obtenidos (Morales-Ortega et al. 2013). Los resultados obtenidos por Irakli et al. (2015) al evaluar la calidad del pan y componentes nutraceuticos sustituyendo parcialmente la harina de trigo con pericarpio de arroz fueron que la proteína, grasa y cenizas aumentaban al adicionar a la formulación, solo en la grasa se ve un ligero incremento respecto al control, al agregar los arabinosilanos (fibra dietaria) se esperaba un incremento en la fibra cruda, pero quizá hubo pérdida con las temperaturas del horneo. Koegelenberg y Chimpango (2017) reportaron una humedad similar a lo encontrado en nuestro estudio, siendo que para un pan elaborado con extractos puros de arabinosilanos el valor fue de 40.44% y para arabinosilanos comerciales 39.69%.

Tabla 5.4 Análisis proximal de panes de caja adicionadas con arabinosilanos ferulados

Tratamientos	Variable				
	Humedad	Proteína	Grasa	Fibra Cruda	Ceniza
T0_Control	33.46 ^{ab}	14.03 ^a	1.01 ^{cd}	1.12 ^b	4.58 ^a
T1_2h: 0.15%	32.49 ^b	13.74 ^a	1.11 ^{cd}	1.15 ^{ab}	4.60 ^a
T2_2h: 0.30%	32.62 ^b	14.22 ^a	0.68 ^e	1.17 ^a	4.58 ^a
T3_4h: 0.15%	29.31 ^d	14.15 ^a	1.15 ^c	1.15 ^{ab}	4.51 ^a
T4_4h: 0.30%	31.10 ^c	14.55 ^a	1.69 ^a	1.16 ^a	4.73 ^a
T5_6h: 0.15%	30.50 ^c	13.82 ^a	1.44 ^b	1.15 ^{ab}	4.42 ^a
T6_6h: 0.30%	33.43 ^{ab}	14.02 ^a	0.88 ^{de}	1.16 ^a	4.52 ^a
T7_8h: 0.15%	33.73 ^a	14.04 ^a	0.93 ^{cd}	1.14 ^{ab}	4.61 ^a
T8_8h: 0.30%	30.60 ^c	14.79 ^a	0.96 ^{cd}	1.16 ^a	4.65 ^a
EE ¹	0.17	0.29	0.04	0.01	0.07

¹EE: Error Estándar. ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

5.4.5 Fenoles Totales (FT) y Capacidad Antioxidante (CA)

En la tabla 5.5 se muestran los resultados de los fenoles totales y la capacidad antioxidante de los tratamientos evaluados. El contenido de fenoles totales se vio afectado por la adición de arabinosilanos ferulados en los tratamientos, siendo el Control el de menor contenido de FT con un valor de 1.24 mgEAF/g, el mayor valor de FT fue el T1_2h: 0.15% con un valor de 1.98 mgEAF/g los tratamientos restantes oscilaron entre 1.57 – 1.95 mgEAF/g. En cuanto a los ensayos realizados de capacidad antioxidante el control fue menor para todos los ensayos realizados DPPH, ABTS y FRAP con valores de 9.36, 8.86 y 3.05 $\mu\text{molET/g}$ respectivamente. Sin embargo, de los tratamientos T1_2h: 0.15% al T8_8h: 0.30% en cuanto a la capacidad antioxidante los resultados fueron de 16.09 – 17.51, 16.13 – 17.64 y 4.08 – 4.82 $\mu\text{molET/g}$ para los ensayos anteriormente mencionados. Estudios previos de los arabinosilanos ferulados utilizados en este proyecto presentaron capacidad antioxidante relevante (Herrera-

Balandrano et al. 2018). Uno de los principales motivos de agregar estos polisacáridos en un alimento fue para evaluar el comportamiento de los mismos en una matriz alimentaria, como se puede ver en los resultados tanto como el contenido de fenoles totales como la capacidad antioxidante se vieron afectados con diferencias estadísticamente significativas mostrando un aumento con respecto al tratamiento control. En el proceso de la elaboración de pan basado en harinas de arroz y alforfón, Sakac et al. (2011) encontró que al sustituir parcialmente la harina de trigo por las ya mencionadas existe un incremento no solo en el contenido de fenoles totales del pan sino también en las propiedades antioxidantes. Algunos procesos térmicos de los cereales como lo pueden ser en este caso provenientes de la nixtamalización y del horneado del pan pueden afectar las propiedades del producto final, sintetizando sustancias con propiedades antioxidantes. Algunos autores concuerdan que al agregar ya sea, pericarpio o incluso granos enteros de algunos cereales como arroz, maíz, cebada y centeno como un ingrediente más en la formulación de la elaboración de pan, incrementa notablemente las propiedades antioxidantes de los panes elaborados (Benítez et al. 2018, Irakli et al. 2015 y Blandino et al. 2015).

Tabla 5.5 Fenoles Totales y capacidad antioxidante de pan de caja adicionado con arabinosilanos ferulados.

Tratamientos	Fenoles Totales	DPPH ¹	ABTS ²	FRAP ³
	$\mu\text{gEAF/mg}$		$\mu\text{molET/g}$	
T0_Control	1.24 ^c	9.36 ^c	8.86 ^b	3.05 ^c
T1_2h: 0.15%	1.98 ^a	16.56 ^{ab}	17.57 ^a	4.65 ^a
T2_2h: 0.30%	1.93 ^a	16.34 ^{ab}	17.57 ^a	4.24 ^{ab}
T3_4h: 0.15%	1.68 ^{ab}	17.01 ^{ab}	17.19 ^a	4.09 ^{ab}
T4_4h: 0.30%	1.95 ^a	17.51 ^a	16.68 ^a	5.07 ^a
T5_6h: 0.15%	1.75 ^{ab}	16.03 ^b	16.43 ^a	4.82 ^a
T6_6h: 0.30%	1.57 ^b	16.89 ^{ab}	17.64 ^a	5.07 ^a
T7_8h: 0.15%	1.88 ^a	16.84 ^{ab}	17.17 ^a	4.59 ^a
T8_8h: 0.30%	1.70 ^{ab}	16.09 ^b	16.13 ^a	4.08 ^{ab}
EE ⁴	0.06	0.26	0.35	0.25

¹DPPH = 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil; ²ABTS = 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazol-6-sulfonic acid); ³FRAP = Ferric Reducing Ability of Plasma. ⁴EE: Error estándar ^{a-d} Diferentes letras en columnas indican diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos (P < 0.05).

5.5 Conclusión

Según los resultados obtenidos, los arabinosilanos ferulados extraídos a diferentes tiempos de extracción alcalina del pericarpio de maíz nixtamalizado, así como las diferentes concentraciones utilizadas en nuestro experimento afectaron las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de los panes al incorporarlos como un ingrediente más en la formulación para su elaboración. Disminuyendo la dureza y actividad del agua, así como aumentado la fibra cruda y la capacidad antioxidante de los tratamientos con arabinosilanos ferulados. Podemos concluir que los arabinosilanos ferulados pueden ser agregados para el mejoramiento de la calidad en la elaboración de pan, esta información podría ser de utilidad en la industria de la panificación y consumidores. Así mismo se podrían continuar con las investigaciones como podría ser un análisis sensorial y microbiológico de los productos.

5.6 Referencias

- AOAC 2000, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed.; Association of Official Analytical Chemistry: Gaithersburg, MD.
- Ayala-Soto F. A., Serna-Saldívar, S. E. and Welti-Chanes, J., (2017). Effect of arabinoxylans and laccase on batter rheology and quality of yeast-leavened gluten-free breads, *Journal of Cereal Science* 73.
- Benítez V., Esteban, R. M., Moniz A., Casado N., Aguilera, Y. and Mollá E., 2018. Breads fortified with wholegrain cereals and seeds as source of antioxidant dietary fibre and other bioactive compounds, *Journal of Cereal Science* 82, 113–120
- Biliaderis, C. G., Izydorczyk, M. S., & Rattan, O. (1995). Effect of arabinoxylans on bread-making quality of wheat flours. *Food Chemistry*, 53, 165–171.
- Blandino, M., Locatelli, M., Sovrani, V., Coisson, J. D., Rolle J., Travaglia, F., Giacosa, S., Bordiga, M., Scarpino, V., Reyneri A. and Arlorio M., 2015. Progressive Pearling of Barley Kernel: Chemical Characterization of Pearling Fractions and Effect of Their Inclusion on the Nutritional and Technological Properties of Wheat Bread, *J. Agric. Food Chem*, 63, 5875–5884.
- Buksa K, Nowotna A., Ziobro R. and Gambus G., 2013. Rye flour enriched with arabinoxylans in rye bread making. *Food Science and Technology International* 21(1) 45–54.
- Buksa K., Nowotna A. and Ziobro R., 2016. Application of cross-linked and hydrolyzed arabinoxylans in baking of model rye bread, *Food Chemistry* 192, 991–996

Buksa K., Application of model bread baking in the examination of arabinoxylan protein complexes in rye bread, 2016. *Carbohydrate Polymers* 148, 281–289

ColorHexa (program, 2018) <https://www.colorhexa.com/index.php>

Courtin, C., M. and Delcour, J. A., Arabinoxylans and Endoxylanases in Wheat Flour Bread-making, 2012. *Journal of Cereal Science* 35, 225–243.

Ferrero C., Hydrocolloids in wheat breadmaking: A concise review, 2017. *Food Hydrocolloids* 68, 15e22.

Herrera-Balandrano D.D., Baez-Gonzalez J. G., Carvajal-Millan E., Muy-Rangel D., Urias-Orona V., Martinez-Lopez A.L., Marquez-Escalante J.A., Heredia J.B., Beta T. and Nino-Medina M., 2018. Alkali-Extracted Feruloylated Arabinoxylans from Nixtamalized Maize Bran Byproduct: A Synonymous with Soluble Antioxidant Dietary Fiber, Waste and Biomass Valorization, <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0462-z>.

Irakli, M., Katsantonis, D. and Kleisiaris, F., 2015. Evaluation of quality attributes, nutraceutical components and antioxidant potential of wheat bread substituted with rice bran, *Journal of Cereal Science* 65, 74e80.

Izydorczyk, M. S. and Biliaderis C. G., Cereal Arabinoxylans : Advances in Structure and Physicochemical Properties, 1995. *Carbohydrate Polymers* 28, 33-48.

Izydorczyk, M. S., 2009. Arabinoxylans, Handbook of hydrocolloids, Canadian Grain Commission, Canada.

Koegelenberg, D. and Chimphango, A. F., 2017. Effects of wheat-bran arabinoxylan as partial flour replacer on bread properties, *Food Chemistry* 221, 1606–1613.

López-Contreras, J. J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez-Ávila, G.C.G., Rojas, R., Niño-Medina, G. (2015). Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Nap*, 43, 366–370.

Lu, Z. X., [Walker K. Z.](#), [Muir J.G.](#), [Mascara T.](#) and [O'Dea K.](#), 2000. Arabinoxylan fiber, a by-product of wheat flour processing, reduces the postprandial glucose response in normoglycemic subjects, *Am. J. Clin. Nutr.* 71., 1123.

Mesas, J. M. y Alegre, M. T., 2002. The bread and its processing, *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 3, No. 5, pp. 307-313.

Morales-Ortega A., Niño-Medina G., Carvajal-Millán E., Gardea-Béjar A., Torres-Chávez P., López-Franco Y., Rascón-Chu A. and Lizardi-Mendoza E. 2013. Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics, *Artículo de Revisión, Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (4): 439 - 446.

Niño-Medina G., Gutiérrez-Soto G., Urías-Orona V. and Hernández-Luna C. E., 2017. Effect of laccase from *Trametes maxima* CU1 on physicochemical quality of bread, *Cogent Food & Agriculture*, 3: 1328762.

NORMA Oficial Mexicana NOM-F-159-S-1979, Pan blanco de caja. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4829330&fecha=06/08/1979.

- Peressini, D. and Sensidoni, A., 2009. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs, *Journal of Cereal Science* 49, 190–201.
- Rada-Mendoza, M., Garcia-Banos, J.L., Villamiel, M., Olano, A., 2004. Study on nonenzymatic browning in cookies, crackers and breakfast cereals by maltulose and furosine determination. *Journal of Cereal Science* 39, 167–173.
- Sakač, M., Torbica, A., Sedej, I. and Hadnađev, M., 2011. Influence of breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours, *Food Research International* 44, 2806–2813.
- Wang P., Tao H., Jin Z. and Xu, X., 2016. Impact of water extractable arabinoxylans from rye bran on the frozen steamed bread dough quality, *Food Chemistry* 200, 117–124.

CAPITULO 6

BIOACCESIBILIDAD Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENÓLICOS ASOCIADOS A FIBRA DIETARIA ANTIOXIDANTE (ARABINOXILANOS FERULADOS) EXTRAÍDA DE PERICARPIO DE MAÍZ DURANTE DIGESTIÓN *IN VITRO*

**Daniela D. Herrera-Balandrano^{1,4}, Trust Beta², Juan G. Báez-González¹,
Elizabeth Carvajal-Millán³, Beatriz Rodríguez-Romero⁴, Guillermo Niño-
Medina^{4*}**

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av. Universidad s/n, Col. Cd. Universitaria, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

²University of Manitoba, Department of Food and Human Nutritional Sciences. R3T 2N2, Winnipeg, Manitoba, Canada.

³Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) A.C., Coordinación Hermosillo, Laboratorio de Biopolímeros. Carretera a la Victoria Km 0.6, C.P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.

⁴Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Laboratorio de Química y Bioquímica. Francisco Villa S/N, Col. Ex-Hacienda El Canadá, C.P. 66050, General Escobedo, Nuevo León, México.

*Autor de correspondencia: guillermo.ninomd@uanl.edu.mx

6.1 Resumen

La fibra dietaria antioxidante se define como: fibra dietaria rica en compuestos fenólicos asociados que combinan en un solo material tanto el efecto fisiológico de la fibra dietaria como la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Los arabinosilanos ferulados cumplen con lo establecido en esta definición ya que están formados por una cadena lineal de xilosas que se unen por enlaces β -1-4 con ramificaciones de arabinosa en α -1-3 que su vez tienen unido ácido ferúlico por medio de un enlace éster en la posición *O*-5. La bioaccesibilidad en fenoles totales después del proceso digestivo fue de 30.18%, 22.22% y 50.57% en los arabinosilanos ferulados extraídos durante 2h, 4h y 6h, respectivamente. Por otro lado, los arabinosilanos ferulados extraídos en 2h, 4h y 6h tuvieron una biodisponibilidad de ácido ferúlico después del proceso digestivo de 86.01%, 92.87% y 97.83, respectivamente. Además, la capacidad antioxidante DPPH después del proceso digestivo se mantuvo en proporciones del 66.29%, 65.41% y 66.76% en los arabinosilanos ferulados extraídos en 2h, 4h y 6h, respectivamente. Mientras que la capacidad antioxidante FRAP después del proceso digestivo se mantuvo en 58.40%, 64.46% y 65.46% en los arabinosilanos ferulados extraídos a las 2h, 4h y 6h, respectivamente. Los AX presentaron niveles importantes de bioaccesibilidad de ácido ferúlico y contenido de fenoles totales.

6.2 Introducción

De acuerdo a la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC 2001) la fibra dietaria se puede definir como “las partes comestibles de plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La fibra dietética incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. Las fibras dietéticas promueven efectos fisiológicos beneficiosos que incluyen laxación y/o atenuación del colesterol en la sangre y/o atenuación de la glucosa en sangre”. Fibra

dietaria antioxidante se define como la fibra dietaria rica en compuestos fenólicos asociados que combinan en un solo material tanto el efecto fisiológico de la fibra dietaria como la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Saura-Calixto (1998).

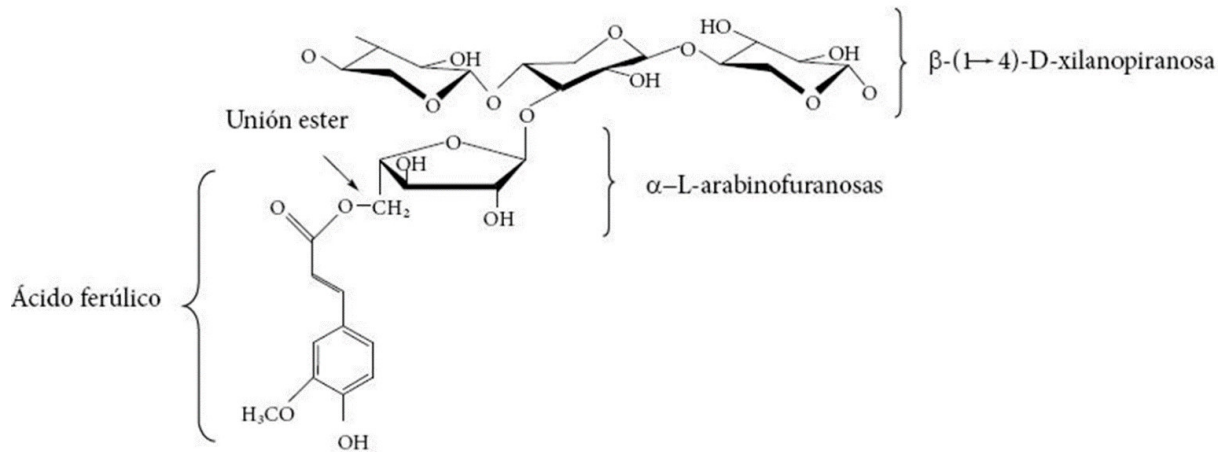


Figura 6.1 Estructura química de una fracción de arabinoxilanos ferulados identificados en cereales. (Tomado de Morales-Ortega et al. 2013)

Los arabinoxilanos ferulados (Fig. 6.1) son los principales polisacáridos no almidonosos de los granos de cereales, que se localizan en las paredes celulares del endospermo, en la capa aleurona y en el pericarpio. Los arabinoxilanos se forman de una cadena de xilosa a la cual se le pueden unir algunos residuos de arabinosa, los cuales pueden contener ácido ferúlico unido por medio de enlaces ésteres (Figura 6.1).

La importancia de la evaluación de la biodisponibilidad de compuestos bioactivos y otros micronutrientes de alimentos funcionales y nutraceuticos, es consiguiente al estudio de la bioaccesibilidad *in vitro* donde se puede establecer la relación de la fibra dietaria en la matriz alimentaria y así se pueda conocer la liberación de estos compuestos (González-Aguilar et al. 2017).

La digestión *in vitro* se utiliza para determinar la cantidad de compuestos bioactivos presentes y/o incorporados en diferentes matrices puede ser potencialmente absorbidos por el sistema digestivo (bioaccesibilidad) y cuáles de ellos son realmente absorbidos y metabolizados por el organismo, llegando al plasma sanguíneo y produciendo el efecto buscado (biodisponibilidad). Un requisito importante en la biodisponibilidad de un compuesto es su bioaccesibilidad, la cual se define como la potencial cantidad que puede ser absorbida por el lumen, la cual va a depender de la matriz alimentaria, la digestión gástrica además de la composición química de sus nutrientes (Holst y Williamson 2008).

Las interacciones entre compuestos fenólicos y fibra dietaria han sido estudiados recientemente (Saura-Calixto, Serrano y Goñi, 2007; Tagliazucchi et al. 2010); Wang, He y Chen, 2014; Mercado-Mercado et al. 2015), las cuales forman matrices ordenadas entre grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos y grupos polares de moléculas de polisacáridos. Estos enlaces formados pueden ser volverse inestables a medida del cambio de pH o disolventes en el tracto gastrointestinal ya que son enlaces débiles. Los compuestos fenólicos que sean hidrolizados por ciertas enzimas en el intestino serán potencialmente bioaccesibles para su respectiva absorción, de lo contrario terminarían en el intestino grueso (Figura 6.2).

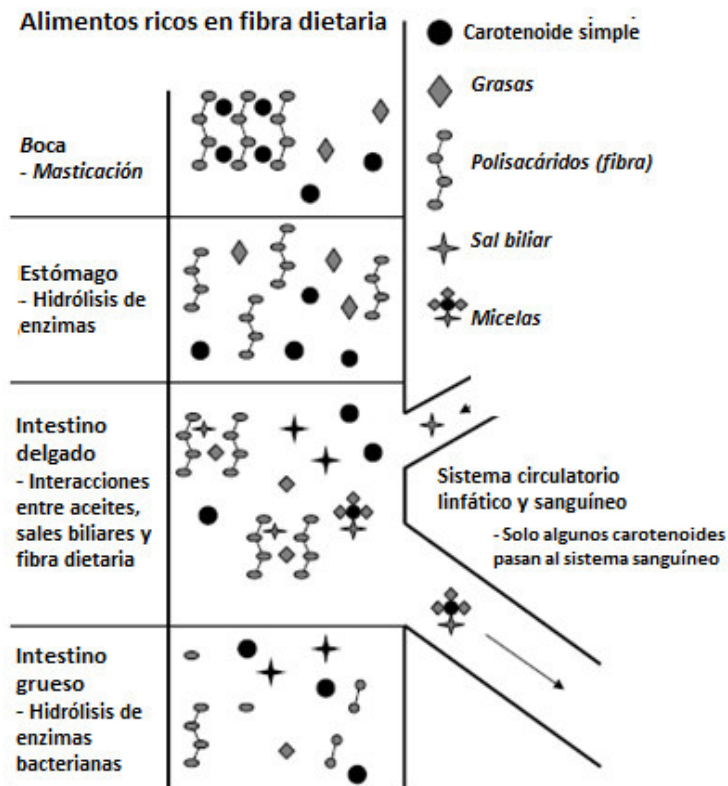


Figura 6.2 Absorción general humana de compuestos fenólicos contenidos en alimentos ricos en fibra dietaria, como frutas y vegetales. (Tomado de Palafox-Carlos et al. 2011; derechos otorgados por John Wiley and Sons).

6.3 Materiales y Métodos

6.3.1 Extracción de arabinosilanos ferulados

Los arabinosilanos utilizados en este estudio se obtuvieron como se describe en nuestro proyecto previamente reportado (Herrera-Balandrano et al. 2018). En resumen, el pericarpio de maíz nixtamalizado fue desgrasado con etanol (1:5; p/v), secado a 40 °C durante 12 h, después se eliminó el almidón mediante gelatinización (1:7; p/v) durante 30 min. El pericarpio de maíz fue tratado con NaOH 0.5 N, los arabinosilanos fueron extraídos a diferentes tiempos de extracción (2, 4, 6 y 8 h).

1. Digestión *in vitro* de arabinosilanos ferulados

La digestión *in vitro* de los arabinosilanos ferulados se llevó a cabo en tres etapas como se describe a continuación, siguiendo el método establecido por Dinella et al. (2007). Fase 1 - Digestión gástrica; se tomaron 2.8 g de muestra y se diluyeron en 70 mL de agua destilada, la muestra fue acidificada con HCl 6 N a un pH de 2.0, posteriormente se adicionó 1.5 mL de solución de pepsina porcina (160 mg/mL en HCl 0.1 N) llevándose a un volumen de 50 mL, la mezcla se agitó durante 1.5 h a 37 °C. Fase 2 - Digestión pancreática; Se retiró la solución pre-digerida y se adicionó una mezcla de 10 mL de pancreatina y bilis (pancreatina 4 mg/mL, bilis 25 mg/mL en NaHCO₃), ajustando el pH a 7.0 con NaHCO₃ 0.9 N, se agitó durante 1 h a 37 °C. Fase 3 -Diálisis; se tomó una alícuota de la solución digerida (40 mL) y se colocó en contacto con un tubo de diálisis de celulosa (12 kDa) con 25 mL de NaCl (9 mg/mL). La solución se mantuvo en agitación constante durante 1 h y 37 °C.

6.3.3 Extracción de compuestos fenólicos durante la digestión *in vitro*

En cada una de las 3 etapas se tomó una alícuota de 5 mL para extraer los compuestos fenólicos. La extracción se llevó a cabo mediante una extracción de fase sólida empleando un cartucho de resina C18 (Bond Elut, Agilent 1g, 3mL). El cartucho C18 se activó con metanol (5 mL) y agua destilada (5 mL). De la solución dializada se tomó 1 mL y se acidificó con 1 mL de agua acidificada (H₂SO₄ 0.01N). La mezcla se pasó por la resina C18, las posibles impurezas se eliminaron pasando 10 mL de agua acidificada y el extracto de interés se recuperó con 2 mL de metanol, por último la resina fue lavada con 5 mL de metanol y 5 mL de agua destilada. Los extractos recuperados se mantuvieron en refrigeración hasta su utilización.

6.3.4 Cuantificación de ácido ferúlico mediante HPLC

La cuantificación de ácido ferúlico en cada una de las etapas de la digestión *in vitro* fue realizada utilizando un HPLC 1260 (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) equipado con un detector con arreglo de diodos (Agilent 1260 Infinity Diode Array and Multiple Wavelength Detector), un automuestreador (Agilent 1260 Infinity Standard Autosampler) y una bomba cuaternaria (Agilent 1260 Infinity Quaternary Pump VL). Se utilizó una Columna Nucleosil C18 Phenomenex, (5 μ m, LC Column 250 x 3.2 mm) a 35 °C. Los extractos obtenidos mediante la extracción de fase sólida fueron introducidos en el HPLC con las siguientes condiciones; volumen de 10 μ L de inyección a un flujo 0.8 mL/min, utilizando como fases móviles Acetonitrilo/Agua Acidificada (0.5%)/MeOH. Se realizó una curva de calibración de ácido ferúlico en concentraciones de 0 a 2 mg/L. Los resultados fueron reportados por microgramo de ácido ferúlico por miligramo de muestra (μ gAF/mg).

6.3.5 Fenoles Totales y Capacidad Antioxidante

La determinación de Fenoles Totales se llevó a cabo siguiendo la metodología reportada por López-Contreras et al. (2015). Fueron tomados 200 μ L de extracto y se agregaron 2600 μ L de agua destilada, después 200 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu. Después de 5 minutos, se agregaron 2000 μ L de Na₂CO₃ al 7%, la solución se agitó durante 30 s, se llevó a cabo la reacción en oscuridad durante 90 minutos y luego se midió la absorbancia de las muestras a 750 nm. La concentración se obtuvo utilizando la ecuación de regresión lineal de la curva de calibración establecida con ácido ferúlico en concentraciones de 0 a 200 mg/L, el resultado se expresó en miligramos equivalentes de ácido ferúlico por gramo de muestra (mgEAF/g). Para la determinación de capacidad antioxidante se realizó el ensayo de decoloración radical

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) tomando 50 μ L del extracto y posteriormente adicionando 1500 μ L de DPPH, la reacción se realizó durante 30 min en oscuridad y la absorbancia de las muestras se midió a 515 nm. El ensayo de FRAP se realizó mezclando las siguientes soluciones madre; buffer de acetato de sodio 300 mM, TPTZ 10 mM (complejo 2, 4, 6-tripiridiltriazina), hexahidrato de cloruro de hierro 20 mM en proporción (10:1:1) a una temperatura de 37 °C. La solución de FRAP obtenido por la mezcla de las soluciones se hizo reaccionar de la siguiente manera; 1500 μ L de la solución FRAP + 50 μ L del extracto durante 30 min a 37 °C. Las lecturas se tomaron a 593 nm en el espectrofotómetro. Para los resultados de cada una de las técnicas de capacidad antioxidante se realizó una curva de 0 a 500 μ mol de Trolox. Los resultados se expresaron en μ molET/g de arabinoxilanos.

6.3.6 Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como el valor medio de tres muestras \pm la desviación estándar. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba Tukey para todas las muestras, utilizando el programa Minitab. Se estableció un nivel de probabilidad de $P < 0.05$ (5%) como significancia estadística.

6.4 Resultados y Discusión

6.4.1 Cuantificación de ácido ferúlico durante digestión *in vitro* y su bioaccesibilidad

El ensayo de la digestión *in vitro* simula las condiciones fisiológicas de la digestión *in vivo* y sus resultados son utilizados para estudiar la interacción y la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos y nutrientes (Holst y Williamson, 2008). En la tabla 6.1

se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de ácido ferúlico de las muestras obtenidas durante la digestión *in vitro* de los arabinosilanos mediante HPLC. En la fase 1 (Digestión gástrica) el valor más alto fue el del tratamiento 2h que fue dos horas de extracción alcalina, con un valor de 1.132 $\mu\text{gAF/mg}$, por lo contrario, el tratamiento con ocho horas de extracción fue el de menor contenido de ácido ferúlico con un valor de 0.520 $\mu\text{gAF/mg}$ encontrando diferencias estadísticamente significativas para los 4 tratamientos. En cuanto a la fase pancreática se observaron resultados similares a los de la fase 1, el valor más alto fue el 2h (0.836 $\mu\text{gAF/mg}$), encontrando 0.434, 0.200 y 0.245 $\mu\text{gAF/mg}$ para los tratamientos 4h, 6h y 8h respectivamente. En la fase de diálisis el tratamiento 2h fue el mayor con un valor de 0.668 $\mu\text{gAF/mg}$ en comparación con los demás tratamientos y no se encontraron diferencias estadísticas significativas, con valores entre 0.328 – 0.185 $\mu\text{gAF/mg}$ (4h–8h). El porcentaje de bioaccesibilidad para los 4 tratamientos fue de 58.92, 30.15, 25.15 y 35.58% para 2h, 4h, 6h y 8h respectivamente, estos resultados indican los compuestos fenólicos que no están ligados a la fibra dietaria se liberaron durante la digestión y estuvieron disponibles para la absorción, pero los fenoles ligados con a la fibra dietaria no se liberaron y podrían llegar al colon donde podían contribuir a la salud intestinal (Blancas-Benítez et al. 2015). Los arabinosilanos ferulados utilizados en este proyecto fueron caracterizados previamente en el capítulo 2. Los resultados obtenidos en este proceso de digestión fueron similares a los reportados previamente, siendo que a mayor tiempo de extracción el contenido de ácido ferúlico de los tratamientos fue menor incluso durante la digestión *in vitro*. Algunos factores que pueden afectar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos pueden ser sus características químicas, solubilidad, peso molecular entre otros (Barba et al. 2017). La extracción alcalina afecta el porcentaje de bioaccesibilidad del ácido ferúlico, incrementando hasta un 58.92% con una hidrólisis de 2h. Buniowska et al. (2017) aplicaron un tratamiento de ultrasonido a mezclas de diferentes jugos de frutas con el fin de observar si aumentaba o disminuía el porcentaje de bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos, encontrando que incrementaba hasta un 40%. Por otro lado, Ortega et al. (2011) evaluaron el efecto de la composición de la matriz de la harina de

algarroba sobre la digestibilidad de los fenoles mediante un modelo de digestión in vitro, en el cual los resultados mostraron que la fracción dietaria soluble mejoró la estabilidad de los compuestos fenólicos durante la fase de digestión duodenal. Dependiendo que tipo de matriz se evalúa, en este caso fibra dietaria asociada con polifenoles Herrera-Balandrano et al. (2018) se espera que los compuestos fenólicos resistan a las enzimas digestivas para su hidrólisis y fermentación parcial en el colon (Saura-Calixto, 2011).

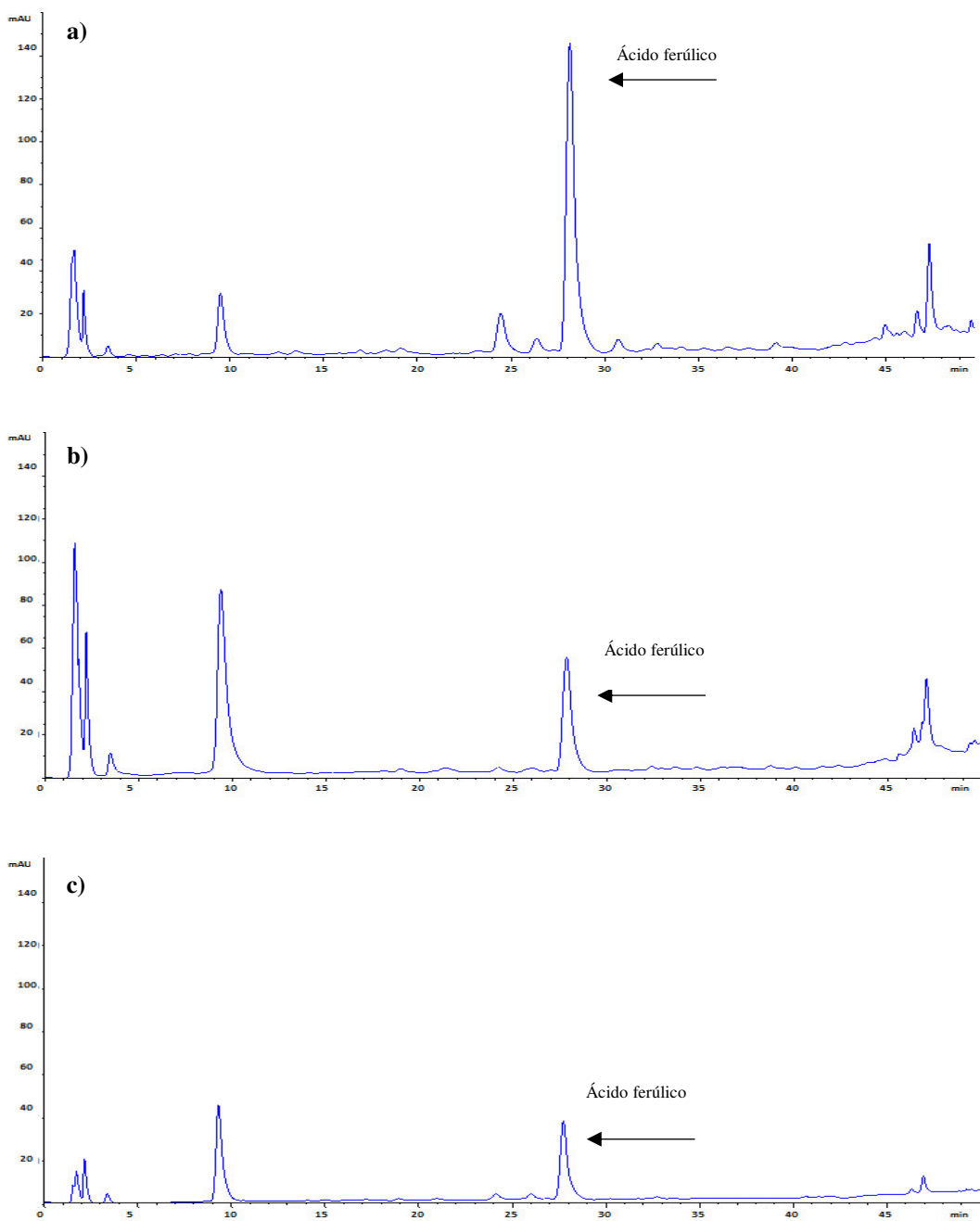


Fig. 6.3 Cromatogramas de identificación de ácidos fenólicos mediante HPLC en las diferentes fases de digestión *in vitro* a) AX_2h; Digestión gástrica, b) AX_2h; Fase Pancreática y c) AX_2h; Diálisis

Tabla 6.1 Resultados obtenidos en la cuantificación de ácido ferúlico mediante HPLC

AX	F1	F2	F3	% Bioaccesibilidad
	μgAF/mg			
2h	1.132±0.029 ^a	0.836±0.003 ^a	0.668±0.069 ^a	58.92
4h	1.087±0.007 ^a	0.434±0.016 ^b	0.328±0.078 ^b	30.15
6h	0.871±0.009 ^b	0.200±0.007 ^c	0.219±0.007 ^b	25.15
8h	0.520±0.212 ^c	0.245±0.046 ^c	0.185±0.801 ^b	35.58

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado, Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa. F1: Digestión gástrica, F2: Fase Pancreática, F3: Diálisis

6.4.2 Cuantificación de Fenoles Totales de arabinoxilanos ferulados durante digestión *in vitro*

Los resultados de la cuantificación de Fenoles Totales por medio del método Folin-Ciocalteu se muestran en la tabla 6.2. En la etapa 1 (digestión gástrica) y 2 (fase pancreática) los tratamientos de 4 y 6 h fueron los que obtuvieron los valores mayores con diferencias estadísticamente significativas (9.892 y 10.172 μgEAF/mg) para la fase 1, obteniendo 9.451 y 9.338 μgEAF/mg para la fase 2, siendo los tratamientos 2h y 8h con valores más bajos (8.136 y 6.241 μgEAF/mg) en la digestión gástrica y 7.912, 6.917 μgEAF/mg para la fase pancreática. En la fase final de la diálisis el tratamiento de 2h fue el que obtuvo el valor más alto con 7.754 μgEAF/mg, seguido de 6.652, 6.340 y 5.786 para los demás tratamientos. El porcentaje de bioaccesibilidad obtenido en la cuantificación de fenoles totales obtuvo el mismo comportamiento que la cuantificación de ácido ferúlico donde el porcentaje de bioaccesibilidad es mayor en 2h > 8h > 4h > 6h. Al contrario de nuestros resultados Chandrasekara y Shahidi (2011) reportaron un aumento de compuestos fenólicos después de la digestión *in vitro* en fracciones de diferentes clases de mijo hasta en un 20%, bajo diferentes condiciones fisiológicas, así mismo encontrando una relación en la capacidad antioxidante, estos resultados se pueden deber a los diferentes tipos de muestras y extracciones.

Tabla 6.2 Resultados obtenidos en la cuantificación de Fenoles Totales durante digestión *in vitro*

AX	F1	F2	F3	%
	μgEAF/g			Bioaccesibilidad
2h	8.136±0.399 ^b	7.912±0.268 ^b	7.754±0.416 ^a	95.36
4h	9.893±0.733 ^a	9.451±0.420 ^a	6.652±0.422 ^b	67.31
6h	10.172±0.230 ^a	9.338±1.063 ^a	6.340±0.518 ^b	62.33
8h	6.241±0.424 ^c	6.917±0.809 ^c	5.786±0.091 ^b	92.71

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa. F1: Digestión gástrica, F2: Fase Pancreática, F3: Diálisis

6.4.3 Capacidad Antioxidante (DPPH y FRAP)

Una característica importante de los compuestos bioactivos es su capacidad antioxidante, la cual es fundamental en los compuestos que no son absorbidos ya que mantienen un balance redox en el tracto gastrointestinal al ser expuestos a las especies reactivas de oxígeno (ROS) como lo pueden ser peróxidos, superóxido, radicales hidroxilo etc. (Barba et al. 2017). La capacidad antioxidante y el porcentaje de CA de compuestos bioaccesibles de los arabinosilanos ferulados durante digestión se muestran en las tablas 6.3 (DPPH) y 6.4 (FRAP). Para los resultados de DPPH en la fase 1 el tratamiento de 2 horas fue el que obtuvo mayor CA en comparación con los demás valores con un resultado de 24.601 μmolET/g, siendo menores los tratamientos de 4 y 8 h con valores de 18.129 y 19.452 μmolET/g respectivamente. En la fase pancreática se obtuvo el mismo comportamiento al encontrar el tratamiento con menor tiempo de extracción como el de mayor valor de CA con 23.963 μmolET/g, por lo contrario en los tratamientos de 4, 6 y 8 h no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos en la fase de diálisis demostraron que en los tratamientos de 2, 4 y 6 h no hubo diferencia significativa con valores de 21.015, 19.948 y 19.693 μmolET/g y siendo el tratamiento de ocho horas el que resultó con menor CA con 17.853 μmolET/g.

El porcentaje de CA de compuestos bioaccesibles fue entre 85.42 a 110.03%, siendo el valor más alto para el tratamiento de 4 horas de extracción. En cuanto a los resultados obtenidos mediante el ensayo de FRAP (Tabla 6.4).

Los valores obtenidos en la fase gástrica fueron entre 26.329 a 36.042 $\mu\text{molET/g}$ siendo los tratamientos de 2 y 4 h diferentes de 6 y 8 h. En la fase de diálisis los tratamientos de 2 y 4 h fueron los que obtuvieron mayor CA con valores de 26.311 y 25.182 $\mu\text{molET/g}$ respectivamente. El porcentaje de CA de compuestos bioaccesibles fue mayor para el tratamiento de 2 horas con un valor de 109.3%, por el contrario del menor porcentaje fue el tratamiento 6 h con 71.25 %. Mercado-Mercado et al. (2017) evaluaron la capacidad antioxidante durante la digestión *in vitro* mediante los métodos de DPPH y FRAP de flores secas de Jamaica y de los residuos obtenidos después de la elaboración de la bebida de Jamaica, encontrando que después de la cocción, las hojas disminuían sus propiedades antioxidantes de un valor de 72.26 a 35.27 $\mu\text{molET/g}$, esto quizá debido a que después de la cocción y el aumento de temperaturas puede cambiar la estructura de las proteínas liberando o no los polifenoles presentes.

Tabla 6.3 Capacidad antioxidante (DPPH) de arabinosilanos ferulados durante digestión *in vitro*

AX	F1	F2	F3	% de CA de Compuestos Bioaccesibles
	$\mu\text{molET/g}$			
2h	24.601±0.903 ^a	23.963±0.802 ^a	21.015±1.890 ^a	85.42
4h	18.129±1.669 ^c	19.393±0.192 ^b	19.948±1.948 ^a	110.03
6h	21.457±1.303 ^b	20.083±2.120 ^b	19.693±0.692 ^a	91.81
8h	19.452±1.219 ^c	19.011±0.254 ^b	17.853±0.080 ^b	91.78

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa. F1: Digestión gástrica, F2: Fase Pancreática, F3: Diálisis

Tabla 6.4 Capacidad antioxidante (FRAP) de arabinosilanos ferulados durante digestión *in vitro*

AX	F1	F2	F3	% de CA de Compuestos Bioaccesibles
	μmolET/g			
2h	31.295±1.170 ^a	26.311±2.950 ^a	34.070±0.656 ^a	109.03
4h	31.971±2.031 ^a	25.182±0.386 ^a	30.712±1.591 ^b	96.06
6h	36.042±0.391 ^a	17.766±1.506 ^b	25.683±3.648 ^c	71.25
8h	26.329±1.089 ^b	17.582±1.273 ^b	21.281±1.252 ^c	80.81

Todos los resultados fueron obtenidos por triplicado. Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadística significativa. F1: Digestión gástrica, F2: Fase Pancreática, F3: Diálisis

6.5 Conclusión

El presente estudio reportó la influencia del tiempo de extracción sobre la bioaccesibilidad del ácido ferúlico de arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz nixtamalizado. Los arabinosilanos ferulados (fibra dietaria antioxidante) presentaron niveles importantes de bioaccesibilidad de ácido ferúlico y fenoles totales, la cantidad de este compuesto fue menor después de la digestión, aunque cabe mencionar la importancia de la bioaccesibilidad ya que es un factor importante para la biodisponibilidad de un compuesto bioactivo y su absorción. En cuanto a la capacidad antioxidante después del proceso de digestión *in vitro* se puede observar el mismo comportamiento que el ácido ferúlico, siendo que los resultados encontrados indican que hay una pérdida de capacidad antioxidante al final del proceso digestivo, esto puede deberse a la matriz en la que están los compuestos fenólicos, siendo mayormente fibra dietaria pueden atrapar los compuestos fenólicos dificultando su liberación durante el proceso de digestión.

6.6 Referencias

- Barba, F. A., Mariutti L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa, G. V. and Orlien, V., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing, *Trends in Food Science & Technology* 67, 195e206.
- Blancas-Benítez F. J., Mercado-Mercado G., Quirós-Sauceda A. E., Montalvo-González E., González-Aguilar G. A. y Sáyago-Ayerdi S., G. 2015. Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican ‘Ataulfo’ mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food Funct*, 6:859-868.
- Buniowska, M., Carbonell-Capella, J. M., Frigola, A., & Esteve, M. J., 2017. Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with *Stevia rebaudiana*. *Food Chemistry*, 221, 1834e1842.
- Chandrasekara, A. and Shahidi, F., 2017. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated in vitro digestion and microbial fermentation, *Journal of Functional Foods*, 226-237.
- Dinnella, C., Minichino, P., D’andrea, A. M. and Monteleone, E., 2007. Bioaccessibility and Antioxidant Activity Stability of Phenolic Compounds from Extra-Virgin Olive Oils during *in Vitro* Digestion, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 8423–8429.
- González-Aguilar G. A., Blancas-Benítez F., J. and Sáyago-Ayerdi S. G., 2017. Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: molecular interactions and bioaccessibility, *Food chemistry and biochemistry*, 2214-7993.

Herrera-Balandrano D.D., Baez-Gonzalez J. G., Carvajal-Millan E., Muy-Rangel D., Urias-Orona V., Martinez-Lopez A.L., Marquez-Escalante J.A., Heredia J.B., Beta T. and Nino-Medina M., 2018. Alkali-Extracted Feruloylated Arabinoxylans from Nixtamalized Maize Bran Byproduct: A Synonymous with Soluble Antioxidant Dietary Fiber, Waste and Biomass Valorization, <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0462-z>.

Holst, B. and Williamson, G., 2008. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants, *Current Opinion in Biotechnology*, 19:73–82.

López-Contreras, J. J., Zavala-García, F., Urías-Orona, V., Martínez-Ávila, G.C.G., Rojas, R., Niño-Medina, G. (2015). Chromatic, phenolic and antioxidant properties of *Sorghum bicolor* genotypes. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Nap*, 43, 366–370.

Mercado-Mercado G., Blancas-Benitez, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., Alvarez-Parrilla, E. and Sáyago-Ayerdi, S.G, 2015. Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), *Journal of Functional Foods* 18,171–181.

Morales-Ortega A., Niño-Medina G., Carvajal-Millán E., Gardea-Béjar A., Torres-Chávez P., López-Franco Y., Rascón-Chu A. y Lizardi-Mendoza, Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics, *Artículo de Revisión, Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (4): 439 - 446, 2013.

Ortega, N., Macià, A., Romero, M. P., Reguant, J. and Motilva, M. J., 2011. Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model, *Food Chemistry* 124, 65–71.

- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J.F. and González-Aguila, G. A., 2011. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants, *Journal of Food Science* _ Vol. 76, Nr. 1.
- Saura-Calixto, F., 1998. Antioxidant dietary fiber product: a new concept and a potential food ingredient. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4303–4306.
- Saura-Calixto F., Serrano J. and Goñi, I., 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet, *Food Chemistry* 101 492–501. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 43–49
- Saura-Calixto F, Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function, 2011. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 59, No. 1.
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D. and Conte, A., 2010. In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols, *Food Chemistry* 120, 599–606.
- The definition of dietary fiber: Report of the dietary fiber definition committee to the board of directors of the American Association of Cereal Chemists. *Cereal Foods World* 46, 112–126 (2001).
- Wang T., Hea, F. and Chena, G., 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review, *journal of functional foods*, 10–111.

APÉNDICE I

Artículos Publicados

APÉNDICE II

Participación en Congresos

Feruloylated arabinoxylans from nixtamalized maize bran as an antioxidant dietary fiber. AACC International Annual Meeting (Cereal & Grains). Londres, Reino Unido. Octubre 2018. Presentación Oral.

Bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de compuestos fenólicos asociados a fibra dietaria antioxidante (arabinosilanos ferulados) extraída de salvado de maíz durante digestión in vitro. 3er Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos. Mazatlán, Sinaloa, México. Junio 2018. Presentación Oral.

Evaluación funcional y nutracéutica de salchichas tipo Frankfurt adicionadas con fibra dietaria antioxidante (arabinosilanos ferulados). 3er Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos. Mazatlán, Sinaloa, México. Junio 2018. Póster.

Functional and antioxidant evaluation of feruloylated arabinoxylans from nixtamalized maize bran byproduct. CIATEJ, PIIT. Apodaca, N.L., México. Junio 2018. Presentación Oral.

Functional and antioxidant evaluation of arabinoxylans from corn bran. 1st Mini-Workshop on Cereals. Food and Human Nutritional Sciences Department, University of Manitoba. Manitoba, Canadá. Mayo 2018. Presentación Oral.

Arabinosilanos Ferulados de Salvado de Maíz: Una Real Fibra Dietaria Antioxidante. 2do Congreso Internacional de Alimentos Funcionales y Nutracéuticos. Querétaro, México. Junio 2016. Presentación oral.

Evaluación funcional y antioxidante de pan de caja adicionado con arabinosilanos ferulados extraídos de pericarpio de maíz (*Zea mays* L.). XX Reunión Universitaria de investigación de materiales. Hermosillo, Sonora. Diciembre 2015. Póster.