

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIA

Evaluación del Efecto Antioxidante de Arabinoxilanos del  
Maíz (*Zea Mays*) en Aceites Comerciales Utilizando el Método

Rancimat

TESIS

Que para obtener el Título de

Químico Biólogo Clínico

Presenta:

**Santiago Gómez Lubitza Berenice**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## VOTOS APROBATORIOS

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de **Lubitza Berenice Santiago Gómez** hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado **Evaluación del Efecto Antioxidante de Arabinoxilanos del Maíz (*Zea Mays*) en Aceites Comerciales Utilizando el Método Rancimat** y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de Químico Biólogo Clínico.

Atentamente

---

Dra. Dora Edith Valencia Rivera  
Presidente

---

Dr. Jesús Ortega García  
Secretario

---

M.C. Mayra Alejandra Méndez Encinas  
Vocal

---

Dra. Elizabeth Carvajal Millán  
Suplente

## **DEDICATORIA**

A mi hermana Laura Santiago, por su gran amistad y cariño, por estar en cada uno de los momentos importantes de mi vida. Gracias por siempre estar a mi lado y regalarme tu amor incondicional.

A mis compañeros de laboratorio, que durante los últimos meses siempre estuvieron dispuestos a dar una mano cuando más lo necesitaba.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, estoy agradecida con Dios por darme vida, fuerza y voluntad de realizar mis metas.

A mis padres, por su apoyo incondicional, infinito amor y otorgarme tantas oportunidades en mi vida. Por ser un gran ejemplo de excelentes personas, haciendo de mí una mejor persona.

A la Dra. Dora Edith Valencia Rivera por brindarme un lugar en su laboratorio, así como alentarme a iniciar el camino como investigadora. Por sus incansables ganas de trabajar sin importar la hora o el día, siempre estuvo apoyándome en este proyecto de tesis. Por los buenos momentos compartidos. Por su ayuda como directora de este trabajo de investigación, por sus invaluable aportes y sugerencias. Y por estar siempre, confiando en mi aun cuando había momentos difíciles, pero sobre todo por su gran amistad. Muchas gracias por todo.

Dr. Jesús Ortega García, por su valiosa participación en este proyecto de tesis, por sus sugerencias realizadas en este trabajo, por sus consejos cuando hubo presentación de carteles. Muchas gracias.

M.C. Mayra Encinas y Dra. Elizabeth Carvajal, muchas gracias por su colaboración en este proyecto de tesis, por invitarme a conocer el mundo de los arabinosilanos; gracias por todas sus aportaciones.

A mi amigo Carlos Vásquez, que sin pedir nada a cambio siempre estuvo apoyándome en todo, aun cuando quería desistir, él siempre me animo a seguir con este proyecto.

A la Universidad De Sonora, mi Alma Mater, por haber sembrado en mi la semilla del éxito; infinitamente agradecida por las enseñanzas en sus aulas, en las cuales realicé mi formación no solo profesional sino personal, para ser un mejor ciudadano.

*A todos, de corazón ¡¡muchas gracias!!*

## CONTENIDO

	Página
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	6
<b>LISTA DE TABLAS</b>	7
<b>RESUMEN</b>	8
<b>INTRODUCCIÓN</b>	9
<b>OBJETIVOS</b>	11
General	11
Específicos	11
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	12
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	13
Lípidos	13
Rancidez	14
Formación de Radicales Libres	16
Antioxidantes	17
Antioxidantes Sintéticos	17
Toxicidad de Antioxidantes Sintéticos y Enfermedades Relacionadas	18
Antioxidantes Naturales	19
Arabinosilanos	20
Método Rancimat para Evaluar la Capacidad Antioxidante	22
<b>METODOLOGÍA</b>	23
Muestra	23
Evaluación de la Capacidad Antioxidante por Método Químico	24
Cuantificación de Fenoles Totales	24
Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)	25
Tratamiento por Ultrasonificación	25
Análisis por Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier	26
Cuantificación de Ácido Ferúlico Libre y Total	26
Análisis de los Datos	26
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	27
Actividad Antioxidante y Cuantificación de Fenoles Totales	27
Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)	29
Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier	30

Cuantificación de Ácido Ferúlico Libre y Total	32
<b>CONCLUSIONES</b>	33
<b>RECOMENDACIONES</b>	34
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	35

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Tipos de rancidez: hidrolítica y oxidativa.	15
2	Estructura química de una fracción de arabinosilanos ferulados identificados en cereales.	21
3	Actividad antioxidante arabinosilanos (AX). Diferentes concentraciones de AX fueron utilizadas (16.650 a 533.300 µg/mL).	27
4	Espectro FT-IR de AX, AX-1 y AX-2. Los espectros muestran la región de absorción típica para AX y evidencia de que los tratamientos de sonicación (1) y (2) no afectan la identidad molecular del arabinosilano.	31



## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
1	Composición química y características moleculares de los arabinoxilanos (AX).	23
2	Concentración inhibitoria media del radical DPPH• (EC50) de los arabinoxilanos.	28
3	Actividad antioxidante de arabinoxilanos.	28
4	Contenido de fenoles totales en arabinoxilanos.	29
5	Actividad antioxidante (Test Rancimat) de arabinoxilanos con y sin tratamiento de ultrasonificación, antioxidantes sintéticos y naturales.	30
6	Contenido de ácido ferúlico total en arabinoxilanos.	32

## RESUMEN

Los aceites experimentan cambios químicos que generan compuestos volátiles, responsables del mal olor y sabor, conocido como rancidez. Uno de los procesos que más afectan a los aceites es la oxidación lipídica. Esta transformación química es causante de la pérdida de las propiedades organolépticas del producto y la generación de compuestos primarios y secundarios que pueden llegar a ocasionar padecimientos, tales como enfisema, mutagénesis, cardiopatías y carcinogénesis. Debido a esto, las industrias añaden compuestos químicos llamados antioxidantes para retrasar la oxidación lipídica. En las industrias actualmente utilizan antioxidantes sintéticos, pero la utilización de éstos está siendo debatida en algunos países debido a la alta toxicidad que presentan. Una alternativa más saludable son los antioxidantes naturales como los arabinosilanos del maíz. Los arabinosilanos (AX) son polisacáridos extraídos de los granos de cereales. Estos compuestos aportan efectos benéficos en la salud, siendo la capacidad antioxidante una de ellas. El objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto antioxidante de arabinosilanos del maíz (*Zea mays*) en aceites comerciales de soya utilizando el método Rancimat. Los AX se sometieron a dos tratamientos distintos de ultrasonificación con la finalidad de valorar el efecto sobre su capacidad antioxidante; se determinó la capacidad de los arabinosilanos de neutralizar el radical DPPH, obteniéndose  $32.09 \pm 4.77$ ,  $44.30 \pm 2.27$  y  $39.59 \pm 0.24$   $\mu\text{mol}$  equivalentes a trolox/g de muestra para AX, AX-1 y AX-2, respectivamente. En general, el porcentaje de la actividad antioxidante se ve favorecido con los tratamientos aplicados, siendo el orden de la capacidad anti-radical AX-1 > AX-2 > AX. Al determinar contenido de compuestos fenólicos se observó una correlación directa entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales. Sin embargo, no se observó ese efecto favorable en la actividad antioxidante al valorar esta por el método Rancimat, ya que fue el AX nativo el que presentó mayor índice de estabilidad oxidativa, y los AX-1 y AX-2 no presentaron actividad.

## INTRODUCCIÓN

Un antioxidante dietético es una sustancia que forma parte de los alimentos de consumo cotidiano y que puede prevenir los efectos adversos de especies reactivas (radicales libres) sobre las funciones fisiológicas normales de los humanos (Coronado y col., 2015). En la actualidad la industria alimenticia adiciona antioxidantes con el propósito de retardar la oxidación, sin embargo, la adición de antioxidantes sintéticos a los alimentos ha resultado contraproducente ya que tiene efectos adversos a la salud. Por esta razón, se buscan alternativas que logren la estabilidad oxidativa, pero sin el efecto dañino de los antioxidantes sintéticos (Valenzuela y col., 2016). La adición de antioxidantes es una práctica común que se utiliza para retrasar la oxidación de los aceites comestibles. Por esta razón, en la actualidad diversos grupos de investigación han reconocido la necesidad de encontrar y caracterizar nuevos antioxidantes naturales para utilizarse como aditivos confiables en la industria alimentaria.

Los antioxidantes sintéticos son definidos por la Administración de Alimentos y Medicinas de los Estados Unidos (FDA, Food and Drug Administration) como conservadores alimenticios que retardan específicamente el deterioro, rancidez o decoloración, debidos a la oxidación lipídica. Los antioxidantes sintéticos que comúnmente se adicionan a los aceites son la TBHQ (terbutilhidroquinona), BHA (butilhidroxianisol) y BHT (butilhidroxitolueno). Actualmente, es muy cuestionado su uso, dado que publicaciones y estudios clínicos han demostrado que algunos de ellos ocasionan efectos nocivos para animales de experimentación, como es el caso de los roedores (Ito, N. y Tsuda, H., 1985). Adicionalmente, los consumidores a nivel mundial han provocado una tendencia a consumir alimentos naturales y a eliminar de la dieta todos aquellos productos que no posean estas características de origen (Mathews, 2002).

Dentro de los antioxidantes naturales se encuentran “fitoquímicos” de diversa naturaleza química, los cuales se encuentran principalmente en productos de origen vegetal, por ejemplo, las vitaminas antioxidantes (C y E), los compuestos pro-vitamina A, como carotenos y criptoxantina, otros carotenoides como luteína, licopeno y zeaxantina, y varios compuestos fenólicos tanto flavonoides como no flavonoides (Duthie, 2000). En los últimos años ha surgido el interés por el uso de plantas y semillas como fuente de antioxidantes naturales, puesto que el consumo de estos promueve la salud y reducen el riesgo de contraer enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), desde diabetes mellitus hasta el desarrollo de algún tipo de cáncer (Park y col., 2009).

Los arabinosilanos (AX) son los principales polisacáridos no celulósicos en los cereales y forman parte de la fracción soluble de la fibra dietética. Estos compuestos despliegan grandes beneficios en la salud ya que actúan como antioxidantes naturales y prebióticos. Metabólicamente, los AX regulan tanto la glucemia como el colesterol plasmático. Las investigaciones sobre estos compuestos han incrementado en los últimos años ya que se ha demostrado que tienen múltiples efectos benéficos (Morales y col., 2013).

En los aceites, la presencia de ácidos poliinsaturados define en gran parte la estabilidad oxidativa de éstos. La estabilidad oxidativa de los aceites se puede determinar por diversos métodos estáticos como el índice de peróxidos, *p*-anisidina, dienos y trienos conjugados, así como por métodos dinámicos que están estandarizados, como el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) por el método Rancimat (AOCS, Cd 12b-92). El fundamento del método Rancimat es trabajar bajo condiciones aceleradas de almacenamiento a altas temperaturas induciendo así la salida de compuestos volátiles, midiendo el tiempo en que estos compuestos tardan en producirse bajo las condiciones ya descritas. Actualmente es altamente utilizado, ya que es confiable, reproducible, no demanda consumo de reactivos y las medidas pueden ser monitoreadas automáticamente a través del tiempo (Gámez-Meza y col., 1999).

Considerando los reportes de la literatura sobre las aportaciones benéficas que podrían aportar los AX a la salud humana y con base a su potencial actividad antioxidante, en este estudio se determinó el efecto antioxidante de los AX a través del método Rancimat, con la finalidad de aportar información sobre el uso de éstos como antioxidantes naturales, y evaluar si representan una alternativa como sustitución del uso de antioxidantes sintéticos en la industria de los alimentos.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar el efecto antioxidante de arabinosilanos del maíz (*Zea mays*) en aceites comerciales de soya utilizando el método Rancimat.

### **Objetivos específicos**

- 1) Determinar la actividad antioxidante de los arabinosilanos utilizando el método químico de DPPH.
- 2) Cuantificar el contenido de fenoles totales por método espectrofotométrico.
- 2) Evaluar el efecto antioxidante de los arabinosilanos sobre aceite de soya libre de antioxidantes mediante el uso del equipo Rancimat.
- 3) Evaluar el efecto de tratamiento ultrasónico sobre la capacidad antioxidante de los arabinosilanos por medio de métodos químicos y el método Rancimat.

## JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, las industrias aceiteras utilizan antioxidantes sintéticos como aditivos en sus productos con la finalidad de retrasar la oxidación. Una ventaja de éstos es que poseen alta efectividad, pero en ocasiones se pierden las propiedades organolépticas del producto, además que tienen alto nivel de toxicidad para el ser humano, ocasionando múltiples problemas de salud. Por este motivo se hace imperativa la búsqueda de antioxidantes de fuentes naturales que posean la capacidad de detener los procesos de oxidación de los aceites aumentando su vida útil y además, su consumo no represente un riesgo para la salud. Esta investigación busca la aplicación de un nuevo antioxidante natural, extraído a partir del maíz, una alternativa para incrementar la conservación de la estabilidad de los aceites.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### Lípidos

Los lípidos son un grupo diverso de compuestos orgánicos presentes en los tejidos vegetales y animales, insolubles en agua, pero solubles en los solventes orgánicos comunes. El conjunto de los lípidos presentes en los alimentos recibe comúnmente el nombre de grasa de la dieta. Una de las moléculas lipídicas con mayor interés nutricional son los ácidos grasos unidos al glicerol, triglicéridos, glicolípidos y fosfolípidos (Martínez, 2010).

Los ácidos grasos están formados por una cadena lineal hidrocarbonada más o menos larga, que puede estar saturada o tener una o más insaturaciones, por lo general en posición *cis*. Hay dos clases básicas de ácidos grasos, uno son los saturados, con estructura de átomos lineales de carbono, unidos mediante enlaces simples. Éstos predominan en los animales terrestres, especialmente en los mamíferos, así como en algunos aceites vegetales como el de coco y palma. Por otra parte, se encuentran los ácidos grasos insaturados que presentan enlaces dobles. Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), en este grupo se encuentra principalmente el ácido oleico (*cis* 18:1<sup>Δ9</sup>), el cual está presente en la mayoría de las grasas animales y en algunos aceites vegetales, especialmente en el aceite de oliva, donde puede alcanzar hasta un 80%. Mientras que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) se clasifican de acuerdo a la posición del último doble enlace respecto al metilo terminal de la molécula; de acuerdo a esto, existen dos familias: los AGPI n-6 y n-3 (Spector, 1999).

Gran parte de los ácidos grasos pueden ser sintetizados por los mamíferos a partir de los carbohidratos que consumimos en la dieta. Sin embargo, existen dos de ellos que no pueden ser sintetizados por el organismo mamífero: el ácido linoleico (LA, 18:2 n-6) y el ácido  $\alpha$ -linolénico (LNA, 18:3 n-3). Éstos son necesarios como precursores de los ácidos grasos poliinsaturados para que el organismo lleve a cabo las funciones necesarias del organismo. A estos ácidos grasos se les denomina ácidos grasos esenciales ya que debemos consumirlos necesariamente de los alimentos vegetales (Wijendran y Hayes, 2004).

La ausencia de lípidos puede alterar funciones estructurales y reguladoras en nuestro organismo. Podemos mencionar 5 funciones que realizan y son de suma importancia: 1) es

mediante la beta oxidación, en la cual las grasas son una fuente de energía inmediata para las células; 2) segunda es que existen ácidos grasos esenciales que no pueden sintetizarse por el organismo, por lo que deben ser ingeridos en la dieta diaria, tales como el ácido araquidónico, linoleico y linolénico; 3) los fosfolípidos, colesterol y proteínas que establecen las características fisicoquímicas de la membrana celular, las cuales sirven para el reconocimiento celular, transmisión de mensajes, transporte de nutrientes, metabolitos y diversas actividades enzimáticas; 4) el transporte de vitaminas liposolubles, y por último, 5) a nivel digestivo retardan el vaciado del estómago, de esta manera producen un efecto de saciedad (Hoyo, 2014).

### **Rancidez**

La estabilidad de un aceite se refiere a la capacidad para mantener su frescura, sabor y color durante su almacenamiento y uso. Esto está relacionado con la composición de los lípidos, su naturaleza y la presencia o ausencia de antioxidantes y de inhibidores que pueden ser naturales o sintéticos; los aceites vegetales, a pesar de su insaturación, tienden a ser más estables que las grasas animales debido a sus antioxidantes naturales. Los aceites se descomponen desde el momento en que son aislados de su ambiente natural; la presencia de ácidos grasos libres es un indicador de la actividad de la lipasa u otra acción hidrolítica. Durante su almacenamiento ocurren cambios en sabor y olor. La rancidez es acelerada por exposición al calor, luz, la humedad y por la presencia de trazas de metales de transición como cobre, níquel, hierro, así como de colorantes y pigmentos naturales residuales. La oxidación de las grasas o aceites es lenta y se conoce como periodo de inducción; al final de este periodo, se alcanza una cantidad de peróxido que provoca un aumento de la velocidad oxidativa, y el aceite empieza a tener un olor y sabor rancios. El índice de peróxido establece un grado de avance de la oxidación o rancidez (Jiménez y col., 2001).

Existen dos tipos de rancidez en los aceites que reducen su estabilidad durante su almacenamiento: rancidez hidrolítica y rancidez oxidativa (figura 1).

La rancidez hidrolítica sucede debido al contacto de las enzimas lipasas en presencia de calor y humedad, lo cual ocasiona la liberación de tres ácidos grasos libres y el glicerol, y como consecuencia la producción de la acidez. Este tipo de rancidez no es un problema grave en los aceites refinados, ya que en el proceso de refinación se inactivan las enzimas hidrolíticas. La rancidez oxidativa, también llamada autooxidación, se trata de la reacción de oxígeno atmosférico



con dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados. Esta reacción genera los productos primarios de la oxidación (peróxidos e hidroperóxidos), los cuales por una serie de reacciones paralelas producen los compuestos secundarios de la reacción, sean estos volátiles, como aldehídos, cetonas y ácidos o no volátiles como dímeros, trímeros y polímeros, característicos de productos rancificados (Villanueva y col., 2013). La autooxidación es el proceso más común en los alimentos que tienen sustancias insaturadas, y consiste principalmente en la oxidación de los ácidos grasos con dobles ligaduras. El nombre de autooxidación se debe a que es un mecanismo que produce compuestos que a su vez conservan y aceleran la reacción. La autooxidación se promueve a medida que aumenta la concentración de ácidos grasos insaturados. Entre otros factores causantes de la autooxidación se encuentran la temperatura, la presencia de cobre o hierro, la luz ultravioleta, entre otros (Pereyra y col., 2009).

Debido a esto es importante tomar en cuenta el tipo de almacenamiento que se le debe de dar al producto, siendo este un factor importante para la conservación de las grasas y aceites comestibles.

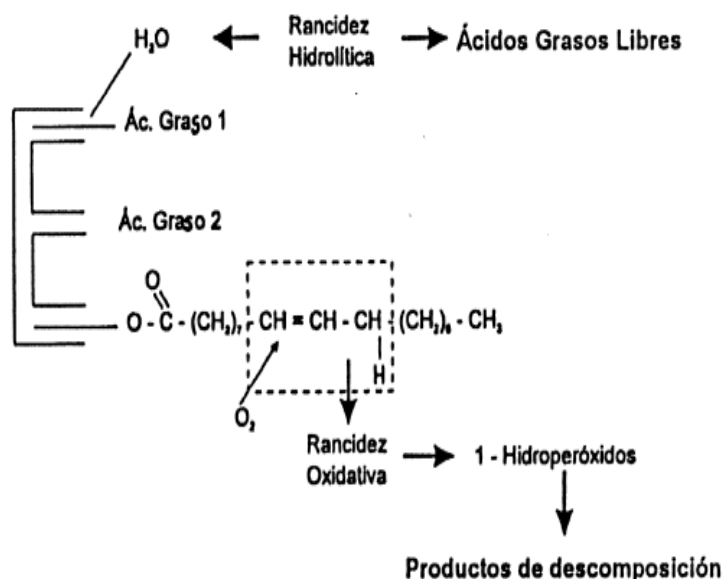


Figura 1. Tipos de rancidez: hidrolítica y oxidativa. Fuente: Daniel Barrera-Arellano y col., 1998.

## Formación de Radicales Libres

Recientemente se ha tomado gran interés en el estudio del estrés celular y de los radicales libres en el campo de la medicina, con el fin de conocer a profundidad los mecanismos de autocontrol celular y mejorar la calidad de vida del ser humano (Corrales y col., 2012). El cuerpo humano mantiene un balance de óxido-reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción de pro-oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidantes; la pérdida en este balance de óxido-reducción lleva a un estado de estrés oxidativo (Dorado y col., 2003).

Se considera radical libre (RL) o especie reactiva de oxígeno (ERO) aquella molécula que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad. Dentro de las especies reactivas de oxígeno se encuentran: anión súper óxido ( $\cdot\text{O}_2$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), radical hidróxido ( $\text{HO}\cdot$ ) y oxígeno singulete ( $1\text{ O}_2$ ) (Mayor, 2010).

Los radicales libres son generados continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula e inactivados por un conjunto de mecanismos (unos enzimáticos y otros de atrapamiento). Son componentes normales de células y tejidos, existiendo una cantidad de radicales libres en cada estirpe celular y en algunos tipos celulares permiten la mejor adaptación a su hábitat. Al elevarse o disminuir las concentraciones fisiológicas de las especies reactivas de oxígeno (EROS) puede acarrear importantes alteraciones funcionales (Rodríguez y col., 2001).

Los radicales libres pueden formar a partir de diversos mecanismos, siendo la adición de un electrón a una molécula estable el más común (Cheeseman y col., 1993). Una vez que éstos son formados, buscan el modo de conseguir una configuración electrónica estable, razón por la cual interactúan con otras moléculas a través de reacciones de óxido reducción (redox). Este mecanismo genera que la producción de radicales libres sea una reacción en cadena, ya que al reaccionar un radical libre con una molécula no radical ésta última pasa a ser un radical libre y solamente se detendrá cuando dos radicales libres se encuentren y reaccionen entre sí (Halliwell y col., 1993).

Estas reacciones bioquímicas de óxido-reducción se encuentran clasificadas en tres grupos: Reacciones de iniciación que es la formación de un radical libre a partir de no radicales; reacciones de propagación, las cuales consisten en la formación de un radical libre cuando reacciona una molécula estable con un radical libre; y por último, reacciones de terminación que

hacen referencia a la reacción química entre dos radicales libres, en donde sus electrones desapareados son cancelados y se genera un producto estable (Corrales y col., 2012).

## **Antioxidantes**

Los antioxidantes se definen como una sustancia que incluso en pequeñas cantidades, es capaz de prevenir o retrasar la oxidación de materiales de fácil oxidación, o bien puede definirse como una sustancia que es capaz de inhibir algunas enzimas oxidantes específicas o sustancia que reacciona con agentes oxidantes antes de que cause daño a otras moléculas. (Bhatt y col., 2013). En la industria de los alimentos, se utilizan una variedad de antioxidantes sintéticos y naturales con distintas eficiencias. El uso de antioxidantes, no solo permite mantener la calidad del producto, sino también extender su vida de anaquel.

Los antioxidantes pueden ser sintéticos o naturales. Entre los antioxidantes sintéticos que más se utilizan como aditivos en alimentos se encuentran la terbutil hidroxiquinona (TBHQ), el butil hidroxianisol (BHA) y el butil hidroxitolueno (BHT). Estos compuestos tienen la desventaja de ser muy volátiles y se ha reportado en la literatura que son perjudiciales para la salud. Por este motivo, en la actualidad existe una importante presión del medio consumidor que incentiva a la utilización de antioxidantes naturales, que posean mayor efectividad y no representen riesgos para la salud.

## **Antioxidantes Sintéticos**

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al interactuar de manera más rápida con los radicales libres del oxígeno. La acción de los antioxidantes es el sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones en moléculas como lípidos, proteínas, ADN, etc. Su acción la realizan en medios hidrofílicos como hidrofóbicos (Venereo, 2002). La oxidación de los aceites vegetales se puede controlar o retardar usando adecuadamente antioxidantes. Los antioxidantes se clasifican en primarios y secundarios según su modo de acción. Los de tipo primario o interruptores de cadena, actúan en la etapa de propagación reaccionando con los

radicales para convertirlos en compuestos más estables; los antioxidantes secundarios, reducen la velocidad de la etapa de iniciación de formación de radicales libres (Delgado y col., 2015)

En la industria oleoquímica, los antioxidantes tanto sintéticos como naturales, son adicionados a las grasas y aceites con el fin de retrasar o prevenir la rancidez oxidativa. Los antioxidantes sintéticos más utilizados en la industria son el butil hidroxitolueno (BHT), el butil hidroxianisol (BHA), la terbutil hidroxiquinona (TBHQ), los galatos de propilo u octilo, o los tocoferoles (vitamina E), entre otros (Valenzuela y col., 1996).

Los antioxidantes fenólicos monovalentes de origen sintético más utilizados son el BHT Y BHA, los cuales presentan una solubilidad alta en grasas. El BHT es un compuesto de apariencia cristalina y el BHA es un compuesto en forma de copos de cera blanca (Villanueva y col., 2017).

### **Toxicidad de Antioxidantes Sintéticos y Enfermedades Relacionadas**

El BHA, presenta una alta eficacia en grasas animales y panificación, es insoluble en agua, pero muy soluble en aceites y grasas. Este al utilizarse como aditivo en los aceites, se acumula en la grasa corporal, lo que provoca cáncer, así como cambios en el balance hormonal en ratones, causando daños en sus aparatos reproductivos. En algunos países como Australia y Japón (desde 1958), se ha restringido el uso de este aditivo (Espinoza y col., 2016). Al igual que el BHA, el BTH es soluble en aceites e insoluble en agua, se utiliza para retardar la oxidación de los aceites vegetales. Éste es añadido a productos alimenticios, tales como grasas comestibles, arroz, productos de confitería, así como en lubricantes de origen vegetal (Tuner y Korkmaz, 2007; Igoe, 2011; Marteau y col., 2014).

La carcinogénesis generada por el BHT y el BHA se ha probado en ratas y ratones. Según los investigadores el BHA después de las 41 semanas de ser administrado en determinadas concentraciones a estos animales en su dieta diaria, generaron en algunos de ellos, tumores en la glándula pituitaria, algunos presentaron pérdida de peso, aumento de colesterol total en sangre y aumento de globulos rojos (Ito y col., 1996).

Por otra parte, la TBHQ, también conocido como el antioxidante E-319, es considerado como el mejor antioxidante sintético para las aplicaciones de fritura. El TBHQ es un sólido blanco o marrón rojizo, cristalino y muy poco soluble en agua (aproximadamente 5% a 100 °C), se disuelve en etanol al 100%, ácido acético, éster etílico, éter, aceite vegetal y grasas animales. Es

un componente orgánico aromático y tiene la ventaja de que no forma un complejo con el hierro y el cobre porque no requiere especial presencia de agentes quelantes en el medio para impedir complejos coloreados (Vázquez, C., 2000).

Astill y col. (1967) reportaron que en ratas que consumieron 5.7 mg/kg de peso de TBHQ durante 17 días mostraron restos de éste en hígado, riñones, cerebro y grasa de aproximadamente 15%. También evaluaron las cantidades de TBHQ excretadas en orina de humanos después de un consumo de 125 y 100 mg, encontrando en promedio 34 y 8 mg de TBHQ por litro, 3 horas después de su consumo, respectivamente. Lo anterior indica que el TBHQ, como posiblemente cualquier otro aditivo, no es 100% excretado después de consumirse (Vázquez, C., 2000).

### **Antioxidantes Naturales**

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritario (Avello y col., 2016).

La vitamina E, se centra concretamente en la inhibición de la peroxidación lipídica causada por los radicales libres, acción que tiene lugar en los fosfolípidos de la membrana celular, lipoproteínas, tejido adiposo, cerebro y en todos los tejidos que contengan una alta proporción de ácidos grasos polinsaturados, al impedir la oxidación de las membranas celulares. Por su parte, la vitamina E permite una buena nutrición y regeneración de los tejidos. Además, está demostrado por varios estudios que ayuda a reducir el riesgo de padecer cáncer de pulmón, páncreas y cuello de la matriz (Vilaplana, 2017).

Los carotenoides son un grupo de pigmentos vegetales liposolubles ampliamente distribuidos, químicamente son terpenoides con diferentes estructuras, constituidos por átomos de carbono. Para que los carotenoides produzcan coloraciones intensas, necesitan al menos de siete enlaces dobles conjugados, estas coloraciones oscilan entre el amarillo (por ejemplo, el

betacaroteno), el rojo (el licopeno) y el naranja, responsables del color de frutas, raíces, flores, pescados, invertebrados y en algunas especies de pájaros. Todos los organismos que dependen del sol para obtener energía sean bacterias o plantas, contienen carotenoides (Marchena y col., 2009).

Los tocoferoles y tocotrienoles son antioxidantes liposolubles, que difieren estructuralmente por la presencia de tres dobles enlaces en la cadena carbonada en los segundos. Se encuentran en gran variedad de alimentos como son los aceites de origen vegetal de soya, maní, algodón y girasol; las leguminosas, y algunos cereales sin refinar (Hidalgo y col., 2006).

Los compuestos fenólicos son un grupo compuestos presentes en verduras y frutas, en los que ejercen una potente acción antioxidante necesaria para el funcionamiento de las células vegetales. Éstos están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol. (Avello y col., 2006).

Un aumento en la ingesta de antioxidantes fenólicos naturales se correlaciona con una reducción de las enfermedades coronarias, efectos sobre la fragilidad capilar, y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. Estos compuestos pueden moderar la peroxidación de los lípidos involucrados en la aterogénesis, trombosis y carcinogénesis. Sus propiedades conocidas incluyen la captura de radicales libres, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas.

### **Arabinosilanos**

Los arabinosilanos (AX) son los polisacáridos no celulósicos más importantes en los cereales, son un grupo heterogéneo de polisacáridos en el cual varían los patrones de sustitución y el grado de polimerización. Están formados por una cadena lineal de xilosas unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$ -(1→4), a la cual se unen residuos de arabinosas mediante enlaces glucosídicos  $\alpha$ -(1→3) o  $\alpha$ -(1→2), o ambos (figura 2). La xilosa puede presentar dos grados de sustitución, de acuerdo con el número de residuos de arabinosa (monosustituído o disustituído). Además de las

unidades de arabinosa es común encontrar otros sustituyentes minoritarios como son el ácido glucurónico y la galactosa (Morales y col., 2013).

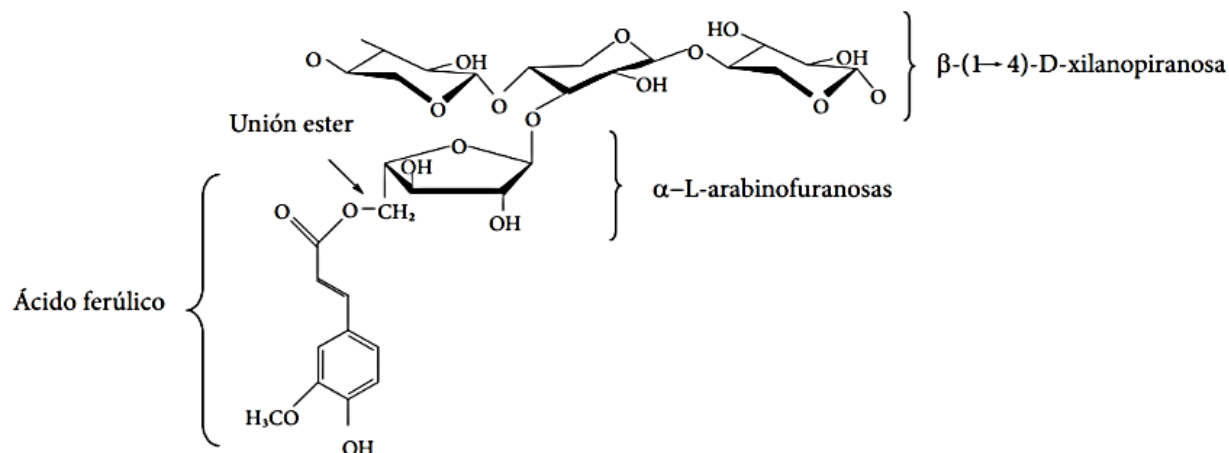


Figura 2. Estructura química de una fracción de arabinoxilanos ferulados identificados en cereales. Fuente: Morales y col., 2013.

Los arabinoxilooligosacáridos (AXOS) y xilooligosacáridos (XOS) son resultado de la hidrólisis enzimática de los AX por las xilanasas y las arabinofuranosidasas y son considerados fibra dietética, además tienen múltiples efectos beneficiosos para la salud como el efecto inmunomodulador, el hipocolesterolémico, hipoglucémico, coadyuvante en la absorción de ciertos minerales y efecto prebiótico (Ciudad M., 2017).

La actividad antioxidante de los AX se relaciona estrechamente con el contenido total de fenoles unidos a su estructura. Las sustancias antioxidantes inhiben a los radicales libres y detienen a mecanismos de oxidación para evitar la lesión a tejidos y el daño a moléculas de gran tamaño como DNA, lípidos y proteínas. Los AX tienen unidos covalentemente ácido ferúlico, el cual posee propiedades antioxidantes que se han demostrado por estudios *in vivo* en ratas, las cuales después de ser tratadas con arabinoxilooligosacáridos, mostraron una reducción elevada de la peroxidación lipídica en suero (Ciudad M., 2017).

## **Método Rancimat para Evaluar la Capacidad Antioxidante**

La estabilidad oxidativa de grasas y aceites puede ser medida en condiciones aceleradas, en las cuales el aumento de la temperatura y el suministro de oxígeno le permiten una reacción con mayor rapidez. En la mayoría de los métodos utilizados para estos procesos, muestran el mismo fenómeno; la velocidad de reacción es baja por un periodo inicial de tiempo y después se vuelve más elevada. Este periodo de tiempo se conoce como periodo de inducción, que se refiere al tiempo necesario para que los cambios organolépticos como el mal sabor, mal olor, decoloración etc., puedan ser detectados. Este es un parámetro muy importante, ya que su extensión se considera una medida de estabilidad oxidativa de aceites y grasas, pudiendo así reflejar la capacidad en resistir la oxidación, la cual es de suma importancia porque esta se relaciona con la vida de anaquel de los productos (Rauen y col.,1992).

El valor del periodo de inducción se puede determinar con ayuda de las curvas obtenidas por métodos físicos y químicos tradicionales que ayudan al proceso de reacción. Aunque por algunas ventajas operacionales el método que utiliza el aparato Rancimat se hace más popular en la actualidad.

El método Rancimat, incluido en los estándares nacionales e internacionales (OSI, AOCS Cd 12b-92), es la prueba automatizada del AOM (Active Oxygen Method), que mide el grado en el que un aceite se oxida cuando se hace burbujear aire a través de él. El producto de desdoblamiento, que es el ácido fórmico, es conducido hacia el agua destilada que se encuentra en una celda. El instrumento monitorea en forma continua la conductividad eléctrica del agua. En el momento en que la conductividad aumenta agudamente indica en forma inmediata el momento final de la prueba. En este método la estabilidad oxidativa se define como el tiempo (en horas) necesario para que la reacción de oxidación alcance el punto de inflexión en la representación gráfica de la conductividad contra tiempo (Navas, 2010).

El aparato Rancimat obtiene rápidamente una determinación de la estabilidad oxidativa de muestras de aceites o grasas, y también su periodo de inducción, por medio de la oxidación acelerada de la muestra y la toma constante de datos de los cambios en la conductividad eléctrica del agua, que recoge los compuestos volátiles que se forman durante la reacción. Gracias a este equipo se pueden obtener resultados más precisos que con los métodos tradicionales (Rauen y Barrera, 1992).



## METODOLOGÍA

### Muestra

Los arabinoxilanos (AX) utilizados en este estudio fueron proporcionados por la Dra. Elizabeth Carvajal Millán del Centro en Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD Hermosillo). Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente y conservadas a -20 °C hasta su uso. El aceite de soya refinado libre de antioxidantes fue donado por la industria aceitera mexicana Derivados de Oleaginosas del Valle, Obregón, México. En la Tabla 1 se muestran la composición química y características moleculares de los arabinoxilanos utilizados en este estudio.

Tabla 1. Composición química y características moleculares de los arabinoxilanos (AX).

<b>Composición química</b>	
Arabinosa (%)	28.81 ± 1.30
Xylosa (%)	41.70 ± 1.95
Glucosa (%)	3.36 ± 0.31
Galactosa (%)	4.20 ± 0.06
Proteína (%)	7.20 ± 0.05
Ácido ferúlico (µg/mg AX)	5.30 ± 0.06
Ácido diferúlico (µg/mg AX)	1.74 ± 0.02
Ácido triferúlico (µg/mg AX)	0.23 ± 0.01
<b>Características moleculares</b>	
Peso molecular (kDa)	206 ± 20
Viscosidad intrínseca (mL/g)	280 ± 26

## Evaluación de la Capacidad Antioxidante por Método Químico

La actividad antioxidante se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Malunga y Beta (2015), con ligeras modificaciones. Se utilizó una solución de AX de 5 mg/mL en agua, y se prepararon diluciones seriadas (1:2) en un rango de concentraciones de 2000 a 62.5 µg/mL. Posteriormente, 800 µL de cada una de las diluciones obtenidas se mezclaron con 700 µL de metanol absoluto. Finalmente, para evaluar la actividad antirradical, en una placa de 96 pozos, se agregaron por triplicado 100 µL de cada una de las concentraciones y se adicionaron 100 µL de DPPH (45 µM, metanol/agua), obteniendo concentraciones de prueba de 533 – 16.5 µg/mL. La mezcla se agitó vigorosamente y se mantuvo por 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 517 nm en un lector de placas (Thermo Scientific Multiskan Go). Se utilizó como blanco control metanol absoluto y como control de referencia se utilizó vitamina C (70 µM, 12.6 µg/mL). Los resultados fueron expresados como EC<sub>50</sub> y la actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración de acuerdo a la siguiente formula:

$$\frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del estándar}} \times 100 = \% \text{ inhibición}$$

$$100\% - \% \text{ inhibición} = \% \text{ de actividad antioxidante}$$

El EC<sub>50</sub> se determinó a partir de la gráfica concentración contra el porcentaje de inhibición y corresponde a la concentración en la que se neutraliza el 50 % de los radicales libres. Adicionalmente, los resultados se expresaron como µmol equivalentes a Trolox por gramo de muestra, para lo cual se construyó una curva estándar de Trolox de 0.25 a 8 µg/mL.

## Cuantificación de Fenoles Totales

La cuantificación del contenido fenoles totales se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Popova y colaboradores con ligeras modificaciones, (Singleton y Rossi

1965; Ainsworth y Gillespie 2007; Popova y col., 2004). En una placa de 96 pozos se agregaron 10  $\mu\text{L}$  de muestra (10 mg/mL), 60  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio 7 %, 40  $\mu\text{L}$  del reactivo de Folin 0.2 N y 90  $\mu\text{L}$  de agua destilada, la placa fue incubada en oscuridad y a temperatura ambiente durante 1 hora. La absorbancia fue medida a 750 nm en un lector de microplacas (Thermo scientific Multiskan Go). Los resultados fueron calculados utilizando una curva estándar de ácido gálico y fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco (mg EAG/g).

### **Determinación del Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)**

Una cantidad de 3.5 g de aceite de soya con las diferentes concentraciones de AX (0.25, 0.1 y 0.01 %) fue colocado en las celdas de reacción utilizando un flujo de aire de 20 L/h y una temperatura de 110 °C. El tiempo de inducción (medido en horas) de cada muestra fue medido automáticamente por el equipo, y representó el tiempo en el cual la mezcla de aceite-arabinoxilano inició su deterioro produciendo compuestos polares responsables de provocar cambio en la conductividad.

La actividad antioxidante de los arabinoxilanos se comparó con la de los antioxidantes sintéticos y naturales comerciales (tocoferol y TBHQ). Para estas determinaciones tanto el tocoferol como el TBHQ fueron utilizados a una concentración de 0.02% (concentración utilizada a nivel industrial). Adicionalmente, se utilizó aceite de soya sin ningún tipo de aditivos como blanco control.

### **Tratamiento por Ultrasonificación**

Una solución acuosa de 5 mg/mL se sometió a un tratamiento por ultrasonificación bajo dos condiciones diferentes: 1) durante 15 min, con ciclos interrumpidos de 5 minutos cada uno a una potencia del 25% de acuerdo a la capacidad del equipo; 2) durante 15 min, con ciclos interrumpidos de 5 minutos cada uno a una potencia del 50% de acuerdo a la capacidad del equipo. Este procedimiento se llevó a cabo en un sonicador de punta (Omni Sonic Rupon 400). Posteriormente, las muestras fueron liofilizadas durante 24 horas, 0.18 mbar a -46 °C (Labconco).

## **Análisis por Espectroscopia de Infrarrojo con Transformadas de Fourier (FT-IR)**

Los espectros FT-IR de los arabinosilanos se obtuvieron en un espectrofotómetro Nicolet iS50 FT-IR (Thermo Scientific Inc., Waltham, USA). Los espectros se registraron en el modo de absorbancia de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  a 20 C. Se obtuvo el promedio de 32 mediciones con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  (Méndez y col., 2018).

## **Cuantificación de Ácido Ferúlico Libre y Total**

La cuantificación de ácido ferúlico, dímeros y trímero de ácido ferúlico se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa después de una etapa de desesterificación de acuerdo al método previamente descrito (Vansteenkiste y col., 2004; Rouau y col., 2003). Para la determinación de ácido ferúlico libre se omitió la etapa de desesterificación. Se utilizó una columna Alltima C18 (250 x 4.6 mm; Alltech associates, Inc., Deerfield, Illinois) y un detector con arreglo de diodos Waters 996 (Millipore Co., Milford, Massachusetts). La detección se monitoreó por UV a una absorbancia de 320 nm.

## **Análisis de Datos**

Los resultados fueron capturados y guardados en Microsoft Excel. Se utilizó el programa GraphPad Prisma (versión 5.01) para graficar los datos obtenidos.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Actividad Antioxidante y Cuantificación de Fenoles Totales

Con la finalidad de evaluar la capacidad de los AX de neutralizar radicales libres, se determinó su capacidad antioxidante utilizando el método colorimétrico de estabilización del radical DPPH. Las concentraciones evaluadas estuvieron entre (533 y 16.5  $\mu\text{g/mL}$ ) y se utilizó vitamina C (70  $\mu\text{M}$ , 12.6  $\mu\text{g/mL}$ ) como control positivo. La actividad antioxidante de los arabinoxilanos sin tratamiento (AX), y los arabinoxilanos sometidos a la sonicación bajo la condición 1 y 2 descritas (AX-1 y AX-2), se muestra en la figura 3. Se puede observar de manera general que el porcentaje de la actividad antioxidante se ve favorecido con los tratamientos aplicados, siendo el orden de la capacidad anti-radical AX-1 > AX-2 > AX, obteniéndose porcentajes del  $75.7 \pm 2.80$ ,  $69.8 \pm 0.30$  y  $60.30 \pm 5.99$ , respectivamente. Los valores de  $\text{EC}_{50}$  se muestran en la Tabla 2.

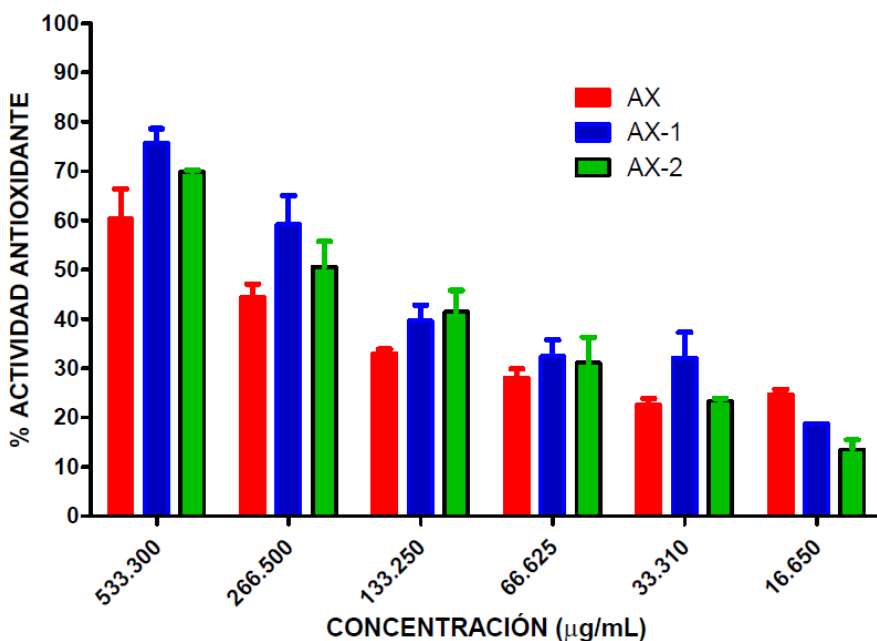


Figura 3. Actividad antioxidante arabinoxilanos (AX). Diferentes concentraciones de AX fueron utilizadas (16.650 a 533.300  $\mu\text{g/mL}$ ). Los resultados son representativos de por lo menos tres experimentos independientes. Todos los valores representan el promedio de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar.

Tabla 2. Concentración inhibitoria media del radical DPPH• (EC<sub>50</sub>) de los arabinoxilanos.

	EC <sub>50</sub> (µg/mL)
Arabinoxilanos (AX) sin tratamiento	332.96 <sup>a</sup> ± 4.08
Arabinoxilanos con tratamiento (AX-1)	225.17 <sup>b</sup> ± 3.05
Arabinoxilanos con tratamiento (AX-2)	270.99 <sup>c</sup> ± 8.75
Vitamina C	5.38 <sup>d</sup> ± 0.37

Todos los valores representan la media de tres experimentos independientes ± desviación estándar. Las medias en las columnas con diferentes letras en superíndices son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

Los resultados de actividad antioxidante fueron expresados como µmol equivalente a Trolox por gramo de muestra. En la Tabla 3 se puede observar que el valor obtenido para los arabinoxilanos sometidos al tratamiento 1 (AX-1) contienen mayor contenido de equivalentes trolox que los arabinoxilanos sin tratamiento; estos resultados correlacionan con los valores de EC<sub>50</sub>, donde a mayor valor de EC<sub>50</sub> corresponde mayor contenido de µmol TEAC/g de muestra.

Tabla 3. Actividad antioxidante de arabinoxilanos.

	µmol TEAC/g
Arabinoxilanos (AX) sin tratamiento	32.09 <sup>a</sup> ± 4.77
Arabinoxilanos con tratamiento (AX-1)	44.30 <sup>b</sup> ± 2.27
Arabinoxilanos con tratamiento (AX-2)	39.59 <sup>c</sup> ± 0.24

Expresado como µmol equivalente a Trolox por gramo de muestra.

Los resultados son representativos de por lo menos tres experimentos independientes. Todos los valores representan la media de tres experimentos independientes ± desviación estándar. Las medias en las columnas con diferentes letras en superíndices son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

Los compuestos de naturaleza fenólica juegan papel importante en los procesos de oxidación lipídica y se les asocia con la actividad antioxidante (Sokmen y col., 2005), específicamente, los ácidos fenólicos y flavonoides son reconocidos típicamente como poseedores de actividad antioxidante. Se realizó la cuantificación de fenoles totales utilizando un método espectrofotométrico (Popova y col., 2004). Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Contenido de fenoles totales en arabinoxilanos.

	AX	AX-1	AX-2
Fenoles totales <sup>Δ</sup>	11.67 <sup>a</sup> ± 0.37	11.84 <sup>a</sup> ± 0.53	12.20 <sup>a</sup> ± 0.24

<sup>Δ</sup>Expresado como mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco (mg EAG/g).

Los resultados son representativos de por lo menos tres experimentos independientes. Todos los valores representan la media de tres experimentos independientes ± desviación estándar. Las medias en las filas con diferentes letras en superíndices son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

### Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI)

El índice de estabilidad oxidativa (OSI) de AX, AX-1 y AX-2 en aceite de soya se muestran en la Tabla 5. Los arabinoxilanos nativos (sin tratamiento) a la concentración más alta evaluada (0.25 %) obtuvo el mayor tiempo de inducción ( $7.69 \pm 0.02$  h), seguido del AX-1 a esa misma concentración,  $7.69 + 0.0127$  y  $6.17 \pm 0.014$  horas, respectivamente; esto es indicativo de su potencial antioxidante como aditivo en aceites. En el caso de los AX-2, se presentaron valores de OSI muy similares al aceite control, que presentan menores tiempos de inducción, debido a la propia composición de ácidos grasos. Sin embargo, en todas las condiciones evaluadas se obtuvieron valores similares al del aceite control (libre de antioxidantes); y valores inferiores a los que corresponden a los antioxidantes sintéticos TBHQ ( $22.23 + 0.58$  h) y tocoferoles ( $13.5 + 1.10$  h).

Es importante mencionar que como consecuencia de la aplicación de los tratamientos de ultrasonificación a los arabinoxilanos, aumentó su solubilidad en agua, pero disminuyó en el aceite. Asimismo, la apariencia física del aceite sometido al tratamiento bajo la condición 2 (AX-2), aumentó en turbidez, lo cual no es deseable como parámetro de aceptación en los aceites comestibles.

Tabla 5. Actividad antioxidante (Test Rancimat) de arabinosilanos con y sin tratamiento de ultrasonificación, antioxidantes sintéticos y naturales.

Tratamiento	Tiempo de inducción * (horas a 110°C)
Aceite de soya (control)	5.39 <sup>a</sup> ± 0.52
Aceite de soya + 0.01 % de AX	4.23 <sup>b</sup> ± 0.09
Aceite de soya + 0.01 % de AX-1	5.54 <sup>a</sup> ± 0.02
Aceite de soya + 0.01 % de AX-2	4.95 <sup>c</sup> ± 0.04
Aceite de soya (control)	5.39 <sup>a,b</sup> ± 0.52
Aceite de soya + 0.1 % de AX	5.72 <sup>a</sup> ± 0.08
Aceite de soya + 0.1 % de AX-1	5.74 <sup>a</sup> ± 0.11
Aceite de soya + 0.1 % de AX-2	4.89 <sup>b</sup> ± 0.04
Aceite de soya (control)	5.39 <sup>a</sup> ± 0.52
Aceite de soya + 0.25 % de AX	7.69 <sup>b</sup> ± 0.02
Aceite de soya + 0.25 % de AX-1	6.17 <sup>c</sup> ± 0.02
Aceite de soya + 0.25 % de AX-2	5.45 <sup>a</sup> ± 0.24
Aceite de soya + 0.02% p/p de tocoferoles	13.5 <sup>d</sup> ± 1.10
Aceite de soya + 0.02% p/p de TBHQ	22.23 <sup>e</sup> ± 0.58

AX: arabinosilanos sin tratamiento. AX-1: Arabinosilanos sometidos a ultrasonificación bajo condición (1). AX-2: Arabinosilanos sometidos a ultrasonificación bajo condición (2). TBHQ: Terbutilhidroquinona.

\* Los valores son la media + desviación estándar de tres repeticiones. Las medias en las columnas con diferentes letras en superíndices son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

### **Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier**

La huella molecular fue analizada por espectroscopia de infrarrojo (figura 4). Los espectros obtenidos presentan similitud, lo cual indica que los AX después del tratamiento (AX-1 y AX-2) conservan su identidad molecular. Los espectros las bandas de absorción características para los polisacáridos en el rango de 1200–800  $\text{cm}^{-1}$  (Méndez y col., 2018).



AX, AX-1 y AX-2 presentaron el espectro FT-IR típico de los arabinoxilanos, con una banda de absorción máxima a  $1035\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a la flexión de C-OH, y las señales a  $1070$  y  $898\text{ cm}^{-1}$  relacionadas con el estiramiento asimétrico C-O-C del enlace glucosídico  $\beta$ -(1-4) entre las unidades de azúcar que forman el esqueleto de xilanos del arabinoxilano.

Asimismo, se aprecian dos bandas, una a  $3400\text{ cm}^{-1}$  asociada al estiramiento de OH y otra  $2900\text{ cm}^{-1}$  relacionado con los grupos  $-\text{CH}_2$ . Estos resultados sugieren que los tratamientos aplicados no modifican la identidad molecular de los arabinoxilanos.

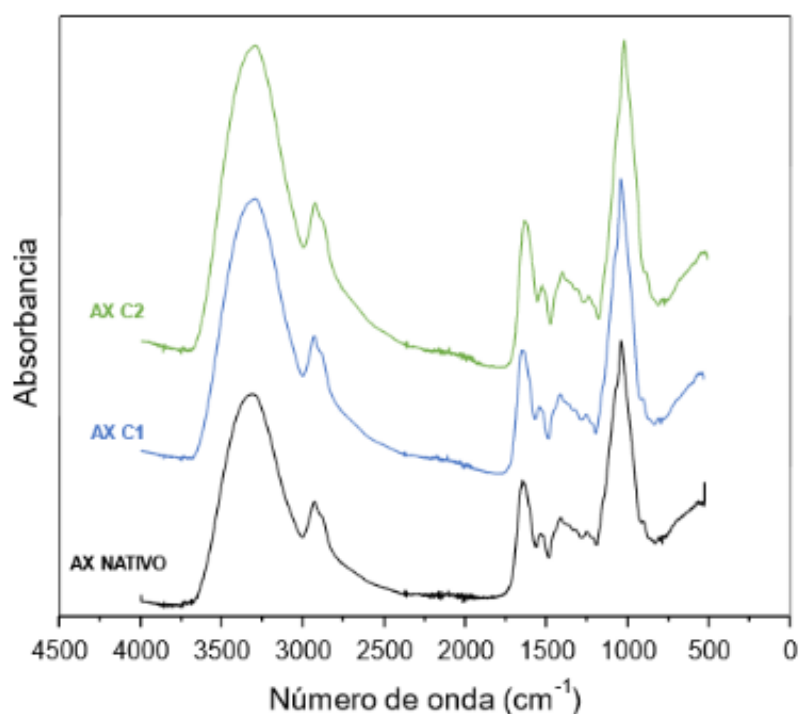


Figura 4. Espectro FT-IR de AX, AX-1 y AX-2. Los espectros muestran la región de absorbancia típica para AX y evidencia de que los tratamientos de sonicación (1) y (2) no afectan la identidad molecular del arabinoxilano.

## Contenido de Ácido Ferúlico Total

Las muestras no presentaron ácido ferúlico (AF) libre, solo logró cuantificarse AF total (esterificado) y no logró detectarse ni dímeros ni trímeros de AF, posiblemente a la poca cantidad de muestra. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Contenido de ácido ferúlico total en arabinosilanos.

	AX	AX-1	AX-2
Ácido ferúlico ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ AX)	$6.72 \pm 0.07$	$6.49 \pm 0.01$	$6.24 \pm 0.28$

Los valores son la media + desviación estándar de tres repeticiones.

## CONCLUSIONES

- La capacidad antioxidante que presentan los arabinosilanos (AX) se ve favorecida por el tratamiento de sonicación, ya que se pudo observar un aumento en el porcentaje de la actividad antioxidante de los AX.
- El orden de la capacidad antirradical fue AX-1 > AX-2 > AX, obteniéndose porcentajes del  $75.7 \pm 2.80$ ,  $69.8 \pm 0.30$  y  $60.30 \pm 5.99$ , respectivamente.
- Se observó una correlación directa entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales, es decir, a mayor contenido de fenoles totales, mayor capacidad antioxidante.
- La aplicación de los tratamientos a los arabinosilanos, aumentó su solubilidad en agua, pero disminuyó en el aceite y afectó la apariencia física de éstos, aumentando la turbidez del aceite.
- No se observó efecto favorable en la actividad antioxidante al valorar ésta por el método Rancimat.
- Los arabinosilanos nativos y los que fueron sometidos a tratamiento de sonicación conservaron su identidad molecular.

## RECOMENDACIONES

- Debido a que por el método químico del DPPH se determinó elevada actividad antioxidante en los AX, pero no se evidenció en el método Rancimat, podría ser favorable incluir en la formulación aceite-AX, un agente emulsificante con la finalidad de asegurar la incorporación total de estas moléculas en el aceite.

## BIBLIOGRAFÍA

- Avello, M., Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea Concepción*. 494, 161-172.
- Beckman, J.S., Koppenal, W.H. (1996). Nitric oxide superoxide, and peroxynitrite- the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol*. 40, 1424-1437.
- Bhatt, Indra D., Sandeep, Rawat. Ranbeer, S. Rawal. (2013). Antioxidants in Medicinal Plants. *Biotechnology for Medicinal Plants*. 3, 642-2997.
- Carvajal E., Rascón A., Márquez J., Micard V., Ponce N., Gardea A. (2007). Maize bran gum: Extraction, characterization and functional properties. *Carbohydrate polymers*. 69:2, 280–285.
- Ciudad M. (2017). Arabinosilanos y su importancia en la salud. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 11:1, 97-102.
- Corrales, L., Muñoz, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Ciencias Biomédicas*. 10, 214-225.
- Coronado M., Vega S., Gutiérrez T., Vázquez M., Radilla C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*. 42:2, 206-2012.
- Delgado, E., Palacio, O., Aperador, W. (2015). Efecto de Butil Hidroxitolueno (BHT) en la Estabilidad Oxidativa de un Lubricante a Base de Aceite de Ajonjolí. *Información tecnológica*. 26:4, 81-88.
- Dorado, C., Vargas, C., Arancibia, S. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev Fac Med UNAM*. 46, 229-235
- Espinoza F., Flores Y., Lugo R., Valencia D., Rueda E., Ortega J. (2016). Comparación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de espárrago, TBHQ y tocoferoles sobre aceite de soya utilizando el método Rancimat. *INVURNUS*. 11:2, 21-26.
- Expósito, L.A., Kokoszka J.E., Waymire K.G. (2000). Mitochondrial oxidative stress in mice lacking the glutathione peroxidase-1 gene. *Free Radic Biol Med*. 28:5, 54-66.
- Gámez-Meza, N., Noriega-Rodríguez, J.A., Medina-Juárez, L.A., Ortega-García, J., Cazares-Casanova, R. and Angulo-Guerrero, O. (1999). Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 1445–1447.
- George, S., Park, Y., Leitzmann, M., Freedman, N., Dowling, E., Reedy, J., Schatzkin, A., Hollenbeck, A., Subar, A. (2009). Fruit and vegetable intake and risk of cancer: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*. 89:3, 47-53.

- Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C., Piscozzi, R. (2006). Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *Monococcum* L.) *J Cereal Sci.* 44, 182.
- Hoyos-Serrano. (2014). Maddyne Lípidos: Características principales y su metabolismo. *Rev. Act. Clin. Med.* 41.
- Ito, N., Fukushima, S., & Tsuda, H. (1985). Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *CRC Critical Reviews in Toxicology.* 15:2, 109-150.
- Jiménez, M.A., Aguilar, M.R., Zambrano, M.L., Kolar, E. (2001). Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Revista de la Sociedad Química de México.* 45:2, 89-92.
- Mayor, R. (2010). Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2, 23-29.
- Medina, G. (2016). Grasas y aceites comestibles vegetales. *Revista Virtual Pro.* 107, 4.
- Morales, A., Niño, G., Carvajal, E., Gardea, A., Torres, P., López, Y., Ráscón, A., Lizardi, J. (2013). Los arabinosidos ferulados de cereales. Una revisión de sus características fisicoquímicas y capacidad gelificante. *Revista Fitotecnología Mexicana.* 36:1, 439-446.
- Naqui, A., Britton, C., Cadenas, E. (1996). Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem.* 55:1, 37-66.
- Navas, P. (2010). Componentes minoritarios y propiedades antioxidantes de aceites vírgenes y tortas residuales obtenidos por presión en frío a partir de fuentes vegetales convencionales y no convencionales. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla La Mancha, Facultad de Ciencias Químicas. 1, 302.
- Núñez-Sellés., Alberto, J. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública.* 37:5, 644-660.
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J.L., Bravo, J.A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química.* 31.
- Pereyra, M., Costamagna, D., Rodríguez, P., Speltini, C., Coppo, G. (2009) Autoxidación de aceites vegetales comerciales. *Revista Rumbos Tecnológicos.* 1:1, 53-6
- Popova, M., V. Bankova, D. Butovska, V. Petkov, B. Nikolova-Damyanova, A. G. Sabatini, G. L. Marcuzzan S. Bogdanov. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochem. Analysis.* 15, 235-240.
- Rauen, M., Estoves, W., Barrera, D. (1992). Determinación del período de inducción de aceite de soja - Correlación entre el Rancimat y otros índices. *Revista Grasas y Aceites,* 43:3, 119-122.

- Robledo, S., Bocalón, J., Giacomelli, L., Ceballos, C., Mattea, M. (2011). Estudios de la influencia de antioxidantes en aceites vegetales durante la oxidación térmica forzada.
- Rodríguez, J., Menéndez, J., Trujillo, Y., (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 30:1, 15-20.
- Rodríguez, G., Villanueva, E., Glorio, P., Baquerizo, M. (2015). Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) *Revista Scientia Agropecuaria*. 6:3, 155-163.
- Sikwese, F., Duodu, K. (2007). Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. *Food chemistry*. 104:1, 324-331.
- Sokmen M. et.al. (2005). *In vitro* antioxidant activity of polyphenol extracts with antiviral properties from *Geranium sanguineum* L. *Life Sciences*: 76:25, 2981-2993.
- Spector, A.A. (1999). Essentiality of fatty acids. *Lipids*. 34:1-3.
- Tello, R., Yahuaca, B., Martínez, H. (2010). Evaluación de la calidad oxidativa de tres aceites comerciales en condiciones de almacenamiento acelerado. XII congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. 1-8.
- Urango, L., Montoya G., Cuadro, M., Henao, D., Zapata, P, Serna, A, Vanegas, C, Loaiza, M., Gómez. D. (2009). Efecto de los compuestos bioactivos de algunos alimentos en la salud. *Perspectivas en nutrición humana*. 11:1, 27-38.
- Valenzuela. V. C., Pérez, M. P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Rev. chilena*. 43:2.
- Valenzuela, A., Nieto, S. (1996). Synthetic and natural antioxidants food quality protectors. *Grasas y Aceites*. 47, 186-196.
- Valenzuela, A., Sanhueza, J., (2009). Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. *Revista Chilena Nutricional*. 36:3, 246-257.
- Venereo-Gutiérrez, Justo, R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31:2, 126-133.
- Vilaplana, M., (2017). Antioxidantes presentes en los alimentos. Vitaminas, minerales y suplementos. 26:10, 11-141.
- Wijendran, V., Hayes, K.C. (2004). Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annu Rev Nutr*. 24, 597-615.
- Zamora, D. (2007) Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*. 34 (1).