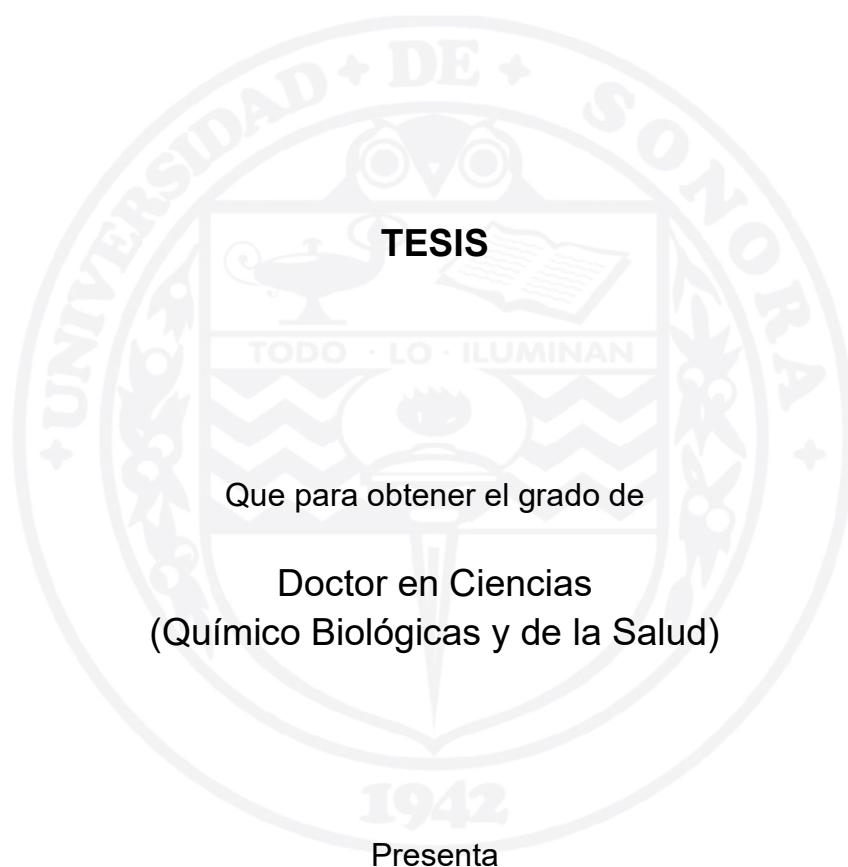


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS

Bioaccesibilidad del ácido ferúlico presente en salvado de trigo extrudido y su impacto sobre biomarcadores de obesidad asociados a inflamación en un modelo murino



TESIS

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias
(Químico Biológicas y de la Salud)

Presenta

José Rogelio Ramos Enríquez

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2019

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



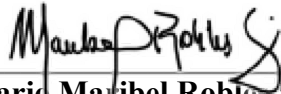
**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



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

FORMA DE APROBACIÓN


Los miembros del Jurado Calificador designado para revisar el trabajo de Tesis de **José Rogelio Ramos Enríquez** lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias.



Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez
Director académico



Dr. Benjamín Ramírez Wong
Co-Director



Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda
Secretario



Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Sinodal

Dr. Humberto Francisco Astiazarán García
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad de Sonora, al Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, al Programa de Posgrado en Ciencias de la Salud y al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) por permitirme llegar a la etapa de mis estudios de doctorado.

A mis sinodales por todo el apoyo brindado para la realización del escrito y el trabajo experimental.

A mis amigos que de alguna u otra forma participaron en la realización de este trabajo.

Muchas Gracias.

DEDICATORIA

A mi familia Ramos Enríquez, en especial al Q.F.B. Jesús Antonio Alcántar Bojórquez (†) y Rosa Enríquez Argüelles (†) aunque ya no se encuentran conmigo físicamente, su energía positiva sigue presente por el resto de mi vida y en mi cuerpo.

A MÍ

RESUMEN

La prevalencia de obesidad a nivel mundial ha incrementado en los últimos años, esta condición predispone al desarrollo de otras enfermedades crónico no degenerativas como la diabetes, enfermedad cardiovascular y cáncer. La obesidad se define como un incremento de grasa en el tejido adiposo lo que conlleva a la producción de radicales libres y citocinas proinflamatorias, por lo que se considera que la obesidad es un estado inflamatorio de bajo grado. Estudios clínicos y experimentales han asociado el consumo de dietas altas en compuestos fenólicos con la reducción de estas enfermedades. El salvado de trigo destaca por su alto contenido de ácido ferúlico, no obstante, su disposición estructural en la matriz alimenticia reduce su potencial biológico a nivel sistémico. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del proceso de extrusión de salvado de trigo (H:30%,140°C y H:30%,180°C) sobre los compuestos fenólicos libres y su impacto sobre su bioaccesibilidad y absorción aparente. Así mismo, se llevó a cabo un estudio *in vivo* en el cual se evaluó el efecto del consumo de estos extrudidos sobre perfil de lípidos y producción de citosinas proinflamatorias en suero de ratas alimentadas con dieta alta en grasa. Se encontró que el contenido de fenoles totales libres se incrementó en salvados extrudidos independientemente de temperatura aplicada (+31%) respecto al salvado no extrudido. Mientras que el contenido de ácido ferúlico libre se incrementó en mayor medida ($p<0.05$) en salvado de trigo extrudido a 140°C. Por otra parte, el proceso de extrusión no mejoró el % de bioaccesibilidad ni de absorción aparente de compuestos fenólicos con relación al salvado no extrudido, no así para ácido ferúlico que mostró un incremento significativo en ambos tratamientos de extrusión, correspondiendo los valores más altos al tratamiento de H:30%, 140°C. Los resultados derivados del bioensayo demostraron que el consumo de la dieta alta en grasa suplementada con salvado de trigo (extrudido y sin extrudir) retrasó el incremento de colesterol total y triglicéridos en ratas. Mientras que el tratamiento de extrusión a H:30%, 140°C favoreció la reducción de LDL-C ($p<0.05$). Estos resultados impactaron el índice aterogénico el cual se vio disminuido en los grupos experimentales que consumieron dietas suplementadas con salvado de trigo ($p<0.05$).

Se observó un incremento en la producción de citocinas IL-1 α y GM-CSF y una reducción de IL-1 β , IL-4 e IL-6 en el suero de ratas alimentadas con dieta alta en grasa y salvado de trigo (extrudido y sin extrudir). No obstante, fue el tratamiento de extrusión a H:30%, 140°C fue el que mostró los cambios con mayor significancia ($p < 0.05$) respecto a las ratas alimentadas solo con dieta alta en grasa. Los resultados anteriores permiten concluir que el salvado de trigo no extrudido posee potencial biológico con capacidad para modular cambio en el perfil de lípidos y citosinas proinflamatorias. No obstante, la aplicación de extrusión a temperatura de H:30%, 140°C puede mejorar estos efectos. Lo anterior justifica la utilización de salvado de trigo como parte de dietas saludables.

ABSTRACT

The prevalence of obesity worldwide has increased in recent years; this condition is associated with the development of chronic non-degenerative diseases such as diabetes, cardiovascular disease and cancer. Obesity is defined as an increase in fat in adipose tissue, which entails the production of free radicals and proinflammatory cytokines, so obesity is considered as a first-degree inflammation state. Clinic and experimental studies have shown a relationship between high phenolic compound diets with the decrease of chronic non-degenerative diseases. Wheat bran stands out for its high content of ferulic acid; however, its structural disposition in the food matrix reduces its biological potential at systemic level. The objective of the present study was to evaluate the effect of the extrusion process (H:30%, 140°C y H:30%,180°C) on free phenolic compounds and its impact over bioaccessibility and apparent absorption. The effect of extrudates consumption over lipid profile and proinflammatory cytokines production was evaluated in serum of rats fed with a high fat diet. The results showed that total free phenolic compounds was increased in extruded wheat bran regardless temperature (+ 31%) compared with the non extruded wheat bran, while free ferulic acid content increase to a greater extent ($p<0.05$) on wheat bran extruded at H:30%, 140°C. On the other hand, the extrusion process did not improve bioaccessibility nor apparent absorption of phenolic compounds compared to wheat bran non extruded, however ferulic acid showed a significant improve in both extrusion treatments, being H:30%, 140°C the one with the highest values. The results derived from the bioassay showed that the consumption of high fat diet supplemented with wheat bran (extruded and non-extruded) delay the increase of total cholesterol and triglycerides in rats, while the extrusion treatment at H:30%, 140°C reduced LDL-C ($p<0.05$). These results had an impact on the atherogenic index which was diminished on the experimental groups fed with wheat bran supplemented diets ($p<0.05$).

The production of cytokines such as IL-1 α y GM-CSF were increased while IL-1 β , IL-4 e IL-6 decreased in the experimental groups fed with wheat bran, however the treatment at H:30%, 140°C was the one that showed the most significant changes ($p<0.05$) compared

to the experimental groups fed with the high fat diet only. The previous results allow us to conclude that non-extruded wheat bran has biological potential with capacity to modulate changes in pro inflammatory cytokines and lipid profile. Nevertheless, the process of extrusion at H:30%, 140°C improve these effects, which justifies the use of extruded wheat bran as part of healthy diets.

CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
OBJETIVOS	xiv
Objetivo General	xiv
Objetivos Específicos.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	4
Aspectos Generales de los Cereales: Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	4
Morfología y Composición Química del Trigo.....	5
Compuestos Fenólicos	7
Ácido Ferúlico en Trigo	8
Arabinosilanos Ferulados en Cereales.....	11
Figura 3. Estructura química de un arabinosilano ferulado.....	12
Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de los Compuestos Fenólicos.....	13
Extrusión en Cereales.....	16
Proceso de Extrusión.....	19
Beneficios a la Salud por Consumo de Alimentos Funcionales	22
MATERIALES Y MÉTODOS	29
Obtención y Preparación de la Muestra	29
Acondicionamiento del Salvado de Trigo.....	29
Proceso de Extrusión.....	29
Extracción de Compuestos Fenólicos	30
Extracción Metanólica	30
Extracción Alcalina.....	30
Determinación de Fenoles Totales.....	31

Cuantificación de Ácido Ferúlico por UHPLC-DAD.....	31
Determinación de Actividad Antioxidante	32
Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil).....	32
Ensayo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)	32
Ensayo de Simulación Gastrointestinal <i>in vitro</i>	33
Determinación de Absorción Aparente.....	34
Ensayo <i>in vivo</i>	35
Perfil Bioquímico.....	37
Inmunoensayo de Citosinas Séricas	37
Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico.....	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
Contenido de Fenoles Totales (Folin-Ciocalteu) en Salvado de Trigo	39
Cuantificación de Ácido Ferúlico por UHPLC-DAD.....	41
Actividad Antioxidante del Salvado Extrudido	43
Ensayo de Simulación Gastrointestinal <i>in vitro</i>	48
Determinación de Absorción Aparente.....	48
Cuantificación del Perfil de Lípidos en Suero (perfil bioquímico).....	53
Biomarcadores de Inflamación	56
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS.....	67

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Contenido de compuestos fenólicos en trigo.....	10
Tabla II. Estudios de extrusión en cereales.....	18
Tabla III. Composición de las dietas experimentales (g/kg).	36
Tabla IV. Contenido de fenoles totales antes y después del proceso de extrusión de salvado de trigo	40
Tabla V. Contenido de Ácido ferúlico en salvado de trigo antes y después del proceso de extrusión	42
Tabla VI. Actividad Antioxidante ($\mu\text{molET/g}$) de extractos metanólicos y alcalinos de salvado de trigo (ST) y salvado de trigo extrudido (STE).....	44
Tabla VII. Bioaccesibilidad y absorción aparente de fenoles totales presentes en salvado de trigo (1 g) antes y después de la extrusión.....	47
Tabla VIII. Bioaccesibilidad y absorción aparente de ácido ferúlico presente en salvado de Trigo (1 g) antes y después de la extrusión	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes anatómicas del grano del trigo.....	6
Figura 2. Estructura química del ácido ferúlico.....	9
Figura 3. Estructura química de un arabinoxilano ferulado.....	12
Figura 4. Mecanismos que afectan la biodisponibilidad de un nutriente/compuesto bioactivo	15
Figura 5. Esquema de los componentes de un extrusor de tornillo simple.....	20
Figura 6. Tejido adiposo durante la inflamación.	27
Figura 7. Representación de la interacción entre los componentes bioactivos en los cereales con algunas enfermedades.....	28
Figura 8. Contenido de fenoles totales (A) y ácido ferúlico (B) determinado a partir de salvado de trigo (1 g) extrudido y no extrudido, después del proceso de digestión <i>in vitro</i>	46
Figura 9. Actividad antioxidante determinada a partir de salvado de trigo (1 g) extrudido y no extrudido, después del proceso de digestión <i>in vitro</i>	49
Figura 10. Capacidad antioxidante dializable medida por DPPH ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra) de salvado de trigo antes y después de la extrusión.	52
Figura 11. Concentración (mg/dL) de colesterol total (A) y triglicéridos (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación.....	54
Figura 12. Concentración (mg/dL) de HDL-C (A) y LDL-C (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación..	55
Figura 13. Índice aterogénico de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación	57

Figura 14. Producción (%) de interleucina-1 (IL-1 α) (A) e interleucina 1 β (IL-1 β) (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB)..... 59

Figura 15. Producción (%) de interleucina-4 (IL-4) (A) e interleucina-6 (IL-6) (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB)..... 62

Figura 16. Producción (%) de factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB)..... 63

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la bioaccesibilidad del ácido ferúlico presente en salvado de trigo extrudido y su efecto sobre biomarcadores de obesidad asociados a inflamación en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa.

Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto del proceso de extrusión en salvado de trigo sobre el contenido de fenoles totales, actividad antioxidante y ácido ferúlico.
2. Evaluar la bioaccesibilidad y absorción aparente de fenoles totales y ácido ferúlico presentes en salvado de trigo extrudido.
3. Evaluar el efecto del consumo de salvado de trigo extrudido sobre biomarcadores de inflamación y perfil de lípidos en un modelo murino.

INTRODUCCIÓN

El trigo junto con el arroz y el maíz son los cereales de mayor consumo a nivel mundial, juntos contribuyen con el 70% del requerimiento energético de la población (Ruiz, 2005). Estos cereales comparten características químicas y anatómicas similares y a partir de su procesamiento se pueden obtener una gran variedad de productos y subproductos alimenticios (Smith et.al., 2003).

Particularmente el trigo, anatómicamente constituido por germen, endospermo y pericarpio es uno de los cereales de mayor consumo dada la gran diversidad de productos de panificación que se pueden derivar de su proceso de molienda. De los flujos de molienda del trigo destaca el salvado como principal subproducto. El salvado lo constituye el pericarpio que es la parte más externa del grano y que a su vez se compone de varias capas y en total representa alrededor del 10-15% del peso del grano. La capa de aleurona representa el 50% y se compone de paredes celulares no lignificadas gruesas a las cuales pueden estar unidos algunos compuestos bioactivos, además, contiene la mayoría de los minerales, vitaminas, antioxidantes fenólicos y lignanos del grano de trigo (Mateo-Anson et.al., 2011).

En los últimos años, las tendencias en alimentación han venido enfocándose hacia el consumo de alimentos que además del aporte nutricional puedan proporcionar un beneficio a la salud, esto es los que define a un alimento funcional (Burdock et.al., 2006; Hemery et.al., 2007). Es por esto que el interés hacia el uso de subproductos de la industria alimentaria con potencial biológico ha venido incrementándose y con ello las investigaciones clínicas y experimentales.

El término bioactividad se refiere a un efecto modulador en cualquier proceso biológico en una célula viva o un organismo, sin embargo, se utiliza a menudo para los componentes de los alimentos con beneficios para la salud. El grupo más grande y diverso de compuestos bioactivos en el salvado de trigo es el grupo de los compuestos fenólicos.

Ellos son considerados metabolitos secundarios en la fisiología de las plantas (Hemery et.al., 2007; Abozed et.al., 2014).

Los compuestos fenólicos que predominan en el grano de trigo son básicamente los del grupo de ácidos hidroxicinámicos, los cuales contienen un anillo aromático, entre estos pueden mencionarse el ácido ferúlico, ácido sinápico y *p*-cumárico (Mateo-Anson y col., 2011). A estos compuestos fenólicos se les han atribuido efectos protectores en algunos procesos patológicos degenerativos tales como cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares entre otros, los mecanismos asociados a estos efectos sugieren una posible interrelación entre actividad antioxidante, estrés oxidativo e inflamación (Baublis et.al., 2000).

Uno de los compuestos fenólicos más abundantes en el salvado de trigo, es el ácido ferúlico, que representa el 90% de los polifenoles totales en el grano de trigo (Mateo-Anson et.al., 2009). No obstante, alrededor del 95% del ácido ferúlico total, se encuentra ligado estructuralmente a las paredes celulares de aleurona y pericarpio, específicamente formando enlaces covalentes tipo éster con polisacáridos complejos no almidonados de los denominados arabinoxilanos (Mateo-Anson et.al., 2011). Los arabinoxilanos ferulados son capaces de formar geles covalentes resistentes a cambios de pH, temperatura y de fuerza iónica. Estos geles no son degradados durante su paso por el sistema gastrointestinal y alcanzan a llegar intactos al intestino grueso en donde son metabolizados por la microbiota.

Se han probado diversos procedimientos tecnológicos para mejorar el contenido de ácido ferúlico libre en matrices de salvado de trigo con el fin aumentar su bioaccesibilidad y por tanto su biodisponibilidad. De los procedimientos más estudiados, destaca la extrusión como un proceso termo-mecánico que ha demostrado que impacta significativamente en los componentes estructurales del salvado resultando en un aumento en los niveles de los ácidos fenólicos, atribuido por una parte a la liberación de los mismos de las paredes celulares o bien a un aumento en la solubilización de los arabinoxilanos ferulados (formación de oligómeros ferulados) favoreciendo su extractabilidad y posterior

cuantificación (Saulnier et.al., 2001). Brennan et., al., (2008), mencionan que las características finales de un producto extrudido están fuertemente influenciadas por las condiciones de extrusión entre las que se pueden mencionar las características de la materia prima, el acondicionamiento previo al proceso de extrusión, la temperatura de las chaquetas internas y externas del extrusor, velocidad del tornillo, contenido de humedad, tiempo de residencia, entre otros. El producto final posterior al proceso de extrusión no solamente debe de cumplir con características sensoriales aceptables, sino también mantener o mejorar su valor nutricional, pero adicionalmente a estos efectos el mejoramiento de potencial bioactivo pudiera ser una finalidad relevante.

Diversos estudios han demostrado que el proceso de extrusión en productos de cereales mejora el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante por ejemplo en trigo (Adom y Liu 2002), cebada (Altan et.al., 2009), maíz (Escalante-Aburto et.al., 2014), sorgo (Salazar-López et.al., 2016).

A pesar de que ya ha sido reportada la actividad biológica del ácido ferúlico en diferentes sistemas alimentarios incluyendo el salvado de trigo, existe una falta de información relacionada con el impacto del consumo sobre un sistema biológico. Los estudios epidemiológicos han relacionado el consumo de dietas integrales con una disminución entre el 20 y 30% a desarrollar algunos trastornos metabólicos, tales como las enfermedades cardiovasculares (ECV) (Hajhashemi et.al., 2010), diabetes tipo 2 (Jenkins et.al., 2002) y algunos tipos de cáncer (Zhou et.al., 2004); esto se atribuye a una variedad de componentes integrales, como la fibra, vitaminas, minerales y fitoquímicos (Slavin, 2004). El salvado de trigo con potencial biológico puede ser una alternativa viable al consumo de alimentos saludables ya sea como aditivo alimentario o bien para consumo directo formando parte de los alimentos denominados “cereales para desayuno”.

Por todo lo anterior, en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos: 1) evaluar la bioaccesibilidad del ácido ferúlico presente en salvado de trigo extrudido y 2) evaluar el efecto del consumo de dietas suplementadas con salvado de trigo extrudido sobre biomarcadores de inflamación asociados a obesidad en un modelo murino.

ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

Aspectos Generales de los Cereales: Trigo (*Triticum aestivum*)

Los cereales se pueden definir como un grano o semilla comestible de la familia de las gramíneas (Gani et.al., 2012). Los cereales son la fuente más importante de energía, proteínas, vitaminas y minerales en los alimentos para la población mundial (Borneo y de León, 2012). El trigo es el nombre común del cereal del género *Triticum*, de la familia de las gramíneas |cultivado como alimento humano desde tiempos prehistóricos por los pueblos de las regiones templadas y es uno de los tres cereales más ampliamente producidos globalmente, junto con el arroz y el maíz, y ha sido asociado principalmente como producto panificable, destinado a la alimentación humana (Shewry et.al., 2018).

Los principales productores de trigo son la Unión Europea, China e India, que en conjunto son los responsables en promedio de un 53% de la producción global, le sigue Estados Unidos con el 9.4%. El consumo de este producto agrícola está íntimamente relacionado con el crecimiento de la población (FAO, 2018).

México contribuye con el 0.3% de la producción mundial de trigo y se distinguen las regiones Noroeste y Bajío por su preponderancia en la producción de este cereal, siendo los principales estados productores Sonora, Sinaloa, Baja California, Guanajuato, Michoacán y Jalisco. La región Noroeste aporta en promedio el 55% de la producción nacional del cereal y el Bajío el 28% lo que conjuntamente representa más de las tres cuartas partes del total nacional (SADER, 2018).

En todo el mundo se cultivan distintos tipos de trigos, de los cuales el trigo panadero o común (*Triticum aestivum*), que se utiliza en la elaboración de panes, tortillas galletas y repostería; y el trigo cristalino o pastero (*Triticum durum*) destinado para la elaboración de pastas alimenticias (Serna, 2001).

Las directrices dietéticas internacionales recomiendan aumentar el consumo de granos. En la actualidad, Estados Unidos es el único país que especifica las cantidades exactas de alimentos que contengan grano entero, curiosamente, los estadounidenses no

dan recomendaciones específicas dentro de sus directrices dietéticas, simplemente declaran, "elegir una variedad de granos, especialmente granos enteros", sin embargo, se recomienda tres porciones por día por el Departamento de Servicios de Salud. En el Reino Unido, siempre ha fomentado el consumo de alimentos ricos en almidón y fibra, pero no hay ninguna recomendación específica para granos enteros (Shewry and Hey, 2015).

Las tendencias en alimentación enfocadas hacia la promoción de la salud es comer de preferencia alimentos integrales, bajos en azúcar, bajos en sal, más fibra y menos aditivos, así pues, el pan ideal debe tener un índice glucémico bajo, que sea una fuente importante de proteínas y que contenga fibra, vitaminas, magnesio, oligoelementos y antioxidantes (Poutanen, 2012).

Morfología y Composición Química del Trigo

El grano de trigo tiene una longitud de 8 mm y un peso aproximado de 35 mg, sin embargo, el tamaño de los granos varía según la variedad y posición de la espiga (Hoseney, 1991). En la Figura 1, se muestra una representación del grano de trigo y sus componentes principales. El pericarpio es la capa que envuelve al grano y es lo que constituye el salvado. Su función principal es la de proteger al grano contra insectos y microorganismos, impedir la pérdida de humedad y distribuir el agua de otros nutrientes durante la germinación. Se caracteriza por su alto contenido de vitaminas, fibra y cenizas y carece de almidón, en estas capas externas es donde se pueden encontrar altas concentraciones de fitoquímicos (Belobrajdic et.al., 2013). El endospermo es la parte de mayor tamaño, la más abundante y voluminosa del grano, siendo hasta el 85% del peso total.

Desde el punto de vista alimenticio es la parte más importante del grano y está constituido en su mayoría por gránulos de almidón embebidos en una matriz proteica; en el endospermo el contenido de minerales es mucho más bajo que en otros constituyentes y en esta parte del grano se encuentran las proteínas del gluten, que le dan las propiedades viscoelásticas para obtener un pan con alto volumen y pastas con mayor firmeza.

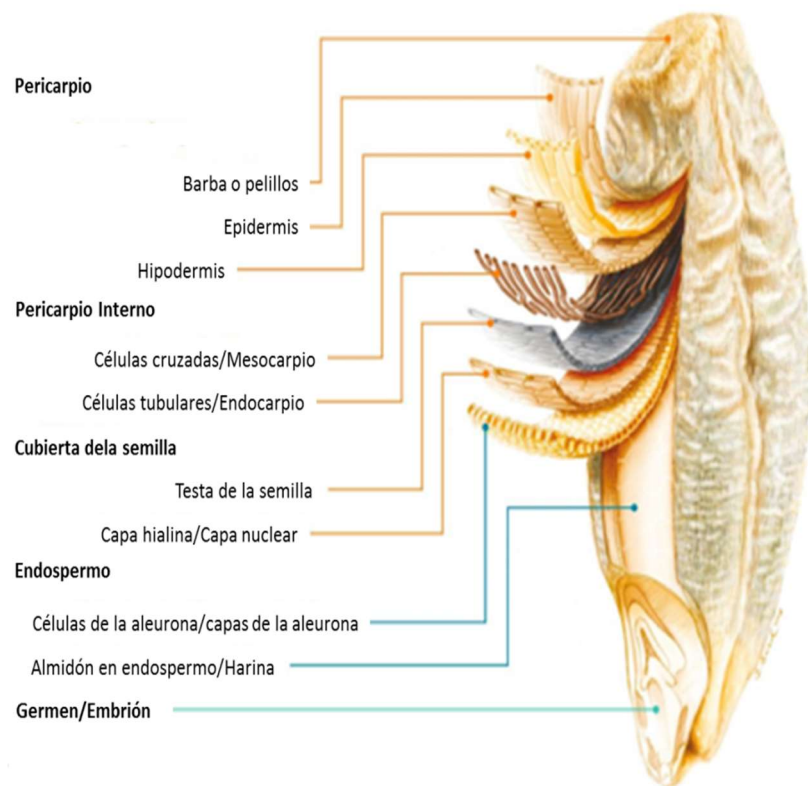


Figura 1. Partes anatómicas del grano del trigo.

Fuente: Hosney (1991).

La capa de aleurona rodea al endospermo, esta capa es rica en proteínas, grasas, vitaminas, minerales, enzimas y junto con el pericarpio constituyen la fuente más importante de compuestos fenólicos.

Compuestos Fenólicos

Desde el punto de vista de la estructura química, los fenoles son un grupo muy diverso que comprende desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos. Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, durante el desarrollo normal y en respuesta a condiciones de estrés tales como la infección, heridas y la radiación UV, entre otros (Beckman, 2000).

Las plantas pueden contener fenoles simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolizables y condensados, lignanos y ligninas. En las plantas, los fenoles pueden actuar como fitoalexinas, antialimentadores, atrayentes para los polinizadores, contribuyentes a la pigmentación de la planta, antioxidantes y agentes protectores contra la luz UV, entre otros (Shahidi et.al., 2004).

En los alimentos, los compuestos fenólicos pueden contribuir a la astringencia, sabor amargo, color, olor y estabilidad oxidativa de los alimentos. La distribución de los compuestos fenólicos en plantas no es uniforme, las capas externas contienen niveles más altos que los situados en sus partes internas (Bunzel et.al., 2000). Los compuestos fenólicos están presentes en los cereales en las formas libres y conjugadas, donde la concentración de estos compuestos se encuentra en la capa de aleurona de los granos de los cereales, sin embargo, estos compuestos también se encuentran en el embrión y en la cubierta de la semilla de los granos y de forma muy abundante en la pared. En cereales predominan los ácidos hidroxicinámicos entre los cuales destacan el ácido coumárico, ácido caféico, ácido sinápico y ácido ferúlico. Este último como el principal contribuyente de la actividad antioxidante del grano (Yu et.al., 2003).

Ácido Ferúlico en Trigo

El contenido total y la composición de ácidos fenólicos en los cereales varían de acuerdo con el tipo y variedad del cereal, condiciones de cultivo, fracción morfológica y el tiempo de la cosecha. Las condiciones de extracción también influyen en el contenido de estos compuestos (Yu y col., 2003). Otros estudios han puesto de manifiesto que las concentraciones totales de ácidos fenólicos están típicamente en el rango de 200-900 $\mu\text{g/g}$ en el grano de trigo entero (Belobrajdic et.al., 2013).

En los granos de trigo destaca el ácido ferúlico, que representa hasta un 90% de los ácidos fenólicos totales. El ácido ferúlico se encuentra, predominantemente, en las paredes de las células del centro de la aleurona y es esterificada con arabinosa, estanoles y esteroides y con la glucosa. El salvado de trigo también contiene dehidrodímeros de ácido ferúlico (DiFA) que fortalecen las paredes de la aleurona durante la maduración del grano de trigo por la formación de puentes entre dos cadenas de arabinoxilano un polisacárido no amiláceo presente en la pared celular del grano (Naczki et.al., 2006).

La función principal del ácido ferúlico en las plantas es otorgar rigidez en la estructura y resistencia a la degradación por parte de los microorganismos (Anvar, 2009). Su nombre sistemático es 3-(4-hidroxifenil)-2-propenoico, generalmente existe como el isómero trans, su masa molecular es de 194.0 g/mol y su punto de fusión es de 174°C (Figura 2).

El ácido ferúlico pertenece al grupo de los ácidos hidroxicinámicos o fenilpropanoides ($\text{C}_6\text{-C}_3$) están formados básicamente por un anillo aromático, un grupo alifático y un ácido carboxílico en el extremo. Son denominados hidroxicinámicos por poseer un grupo (OH^-) en el anillo aromático, el cual es un grupo muy relacionado con su actividad en sistemas biológicos (Shaidi y Chandrasekara, 2010). En la Tabla I se muestra el contenido de compuestos fenólicos individuales para trigo tanto en el grano entero como en la fracción de salvado.

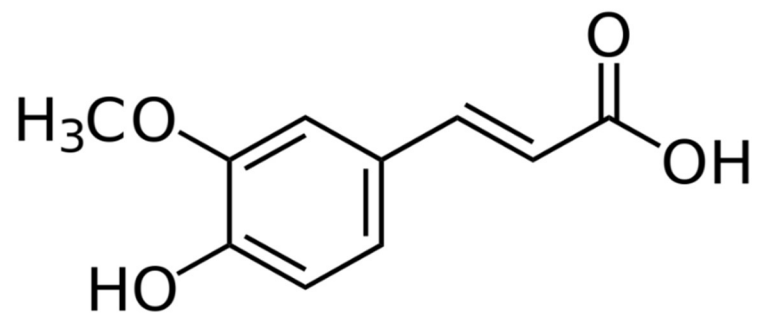


Figura 2. Estructura química del ácido ferúlico.

Fuente: Srinivasan (2007).

Tabla I. Contenido de compuestos fenólicos en trigo.

Ácidos Hidroxicinámicos	Trigo	
	Grano entero (µg/g)	Salvado (µg/g)
Ácido ferúlico	4.5-1,270	1,942-5,400
Ácido p-cumárico	0.2-37.2	100-457
Ácido vanílico	0.6-35	100-164
Ácido sinápico	1.3-63	300
Contenido fenoles totales	350-1,505	2,800-5,643

Fuente: Fardet et al., (2008); Vitaglione et al., (2008).

Los compuestos fenólicos se encuentran presentes en la matriz alimentaria en forma libre, como glucósidos o asociados a los componentes de la pared celular (Bordenave et.al., 2014). Los compuestos fenólicos poseen anillos aromáticos hidrofóbicos y grupos hidroxilo hidrofílicos que tienen la capacidad de unirse a los polisacáridos de la pared celular (Serrano et.al., 2009). Este tipo de interacciones puede darse por puentes de hidrógeno entre el grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos y los átomos de oxígeno de los enlaces glucosídicos de los polisacáridos, interacciones hidrofóbicas y enlaces éster, éste último entre ácidos fenólicos y polisacáridos.

En la ciencia de los cereales, los polisacáridos no amiláceos (PNA) es un término genérico para los arabinoxilanos (AX), β -glucano, celulosa y péptidos-arabinogalactanos, es decir, polisacáridos que difieren de amilosa y amilopectina. Aproximadamente, el 75% del peso de la materia seca en las paredes celulares del endospermo de trigo se compone de PNA de los cuales los AX son el grupo más importante (85%), sin embargo, solo entre 1.5 y 2.5% son extraíbles en agua (Goesaert et.al., 2005).

Arabinoxilanos Ferulados en Cereales

Los AX están formados por una cadena lineal de xilosas unidas por enlaces glicosídicos β -(1 \rightarrow 4), a la cual se unen residuos de arabinosas mediante enlaces glicosídicos α -(1 \rightarrow 3) o α -(1 \rightarrow 2), o ambos, algunos residuos de arabinosa se encuentran esterificados con el ácido ferúlico por lo que son llamados arabinoxilanos ferulados, que se localizan en las paredes celulares del endospermo, en la capa aleurona y en el pericarpio, (Figura 3) (Morales et.al., 2013).

Los arabinoxilanos ferulados 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 estos. Estos polisacáridos se han reportado en los cereales más importantes, como trigo (*Triticum aestivum* L.), centeno (*Secale cereale* L. M. Bieb.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), avena (*A. Sativa*), arroz (*Oryza sativa* L.), sorgo (*Sorghum vulgare*), maíz (*Zea mays* L.) y mijo (*Panicum miliaceum* L.).

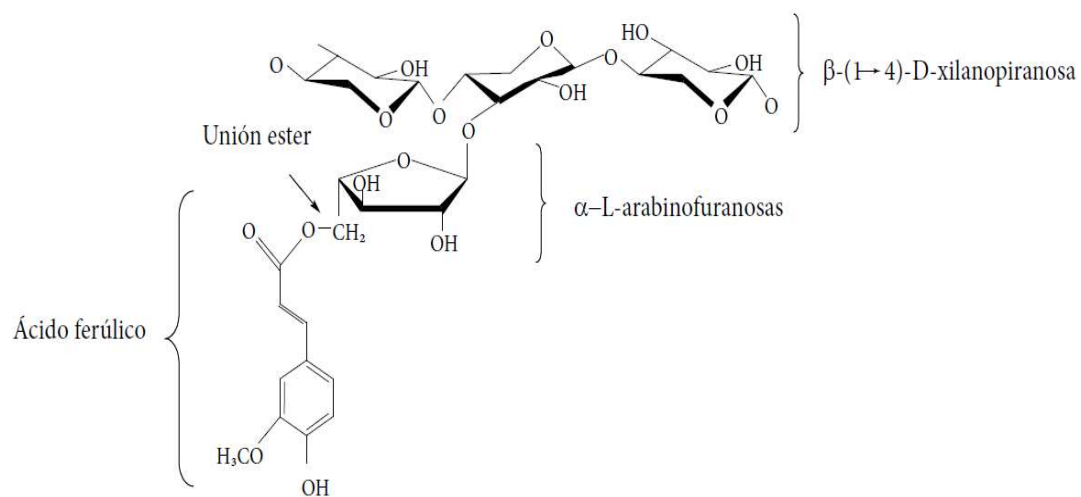


Figura 3. Estructura química de un arabinoxilano ferulado.

Fuente: Morales-Ortega et.al., (2013).

Varios subproductos de procesamiento de cereales han sido investigados como posibles fuentes de arabinosilanos ferulados con capacidad antioxidante, anti mutagénica, anti proliferativa, antibacteriana, anti fúngica, anti inflamatoria; tal es el caso del pericarpio del trigo (*Triticum aestivum* L.), así como el “nejayote” (líquido residual de la nixtamalización del maíz) (Carvajal-Millán et.al., 2005).

Los compuestos fenólicos asociados a la fibra dietética se caracterizan por presentar diferentes propiedades biológicas como capacidad antioxidante en plasma y colon, además de otras propiedades relacionadas con la salud (Saura-Calixto, 2010). Este tipo de asociación ha sido aprovechada para el desarrollo de alimentos saludables y suplementos dietéticos que combinan los efectos benéficos de la fibra dietética y los compuestos fenólicos (Sánchez et.al., 2007; Pérez et.al., 2008). Sin embargo, una de las desventajas de este tipo de interacciones es que la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos puede verse afectada, lo que a su vez repercute en las propiedades biológicas que puedan ejercer a nivel de intestino delgado, entre ellas la actividad antioxidante (Palafox et.al., 2011).

Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de los Compuestos Fenólicos

Los principales efectos biológicos atribuidos a los compuestos fenólicos dependen principalmente de su bioaccesibilidad en el tracto gastrointestinal y en segundo lugar de su biodisponibilidad. Mateo-Anson et.al., (2009) definen a la bioaccesibilidad, como la liberación del compuesto de su matriz natural para que esté disponible al momento de la absorción intestinal, mientras que la biodisponibilidad se define como la cantidad de un determinado compuesto que está presente en el intestino humano, a causa de su liberación de la matriz del alimento y que puede atravesar la barrera intestinal (Shim et.al., 2009). El término biodisponibilidad aborda cuatro aspectos importantes; 1) bioaccesibilidad, 2) absorción, 3) distribución en tejidos y 4) bioactividad (Mateo-Anson y col., 2009). En la Figura 4, se muestran los posibles mecanismos que pueden afectar un proceso de biodisponibilidad en función de la interacción que tenga el nutriente/compuestos bioactivo

con la matriz alimentaria. De acuerdo con Parada Aguilar et.al., 2007, discute que entre más “libre” se encuentre el componente mayor puede ser su biodisponibilidad.

La bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos se ve afectada por diferentes factores tales como la matriz alimentaria y las interacciones con otros componentes de los alimentos (Boyer et.al., 2004). La bioaccesibilidad del ácido ferúlico presente en salvado de trigo es muy baja y se han desarrollado diferentes técnicas de bioprocesamiento que incluyen fermentación o tratamientos enzimáticos con el objetivo de mejorar la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos en panes conteniendo salvado.

De acuerdo con Mateo-Anson et.al., (2009), el tratamiento más efectivo para incrementar la bioaccesibilidad de fenoles en salvado de trigo fue la combinación de enzimas y fermentación que aumentó la bioaccesibilidad del ácido ferúlico de 1.1% a 5.5%.

Combinando estos resultados con datos de otros estudios *in vivo*, se llegó a la conclusión de que la biodisponibilidad del ácido ferúlico en los productos de cereales es limitada por su bioaccesibilidad. En estudios *in vivo*, también se ha reportado actividad en algunas esterasas por las células epiteliales del intestino delgado. Sin embargo, la actividad de la esterasa en el contenido del lumen del intestino grueso fue 10 veces más alta que en las células epiteliales del intestino delgado (Mateo-Anson et.al., 2009). Además, cuando se administró ácido ferúlico la mayor liberación tuvo lugar en el intestino grueso, mientras que no se detectó una liberación significativa durante el paso al íleon (Zhao et.al., 2003).

Por lo tanto, la liberación del ácido ferúlico y posiblemente otros compuestos unidos a los polisacáridos de la pared celular se producen principalmente en el intestino grueso por esterasas bacterianas. Sin embargo, en el intestino grueso, los compuestos libres o no unidos a la pared de la matriz del salvado de trigo pueden ejercer su actividad localmente o por conversión en metabolitos en colon.

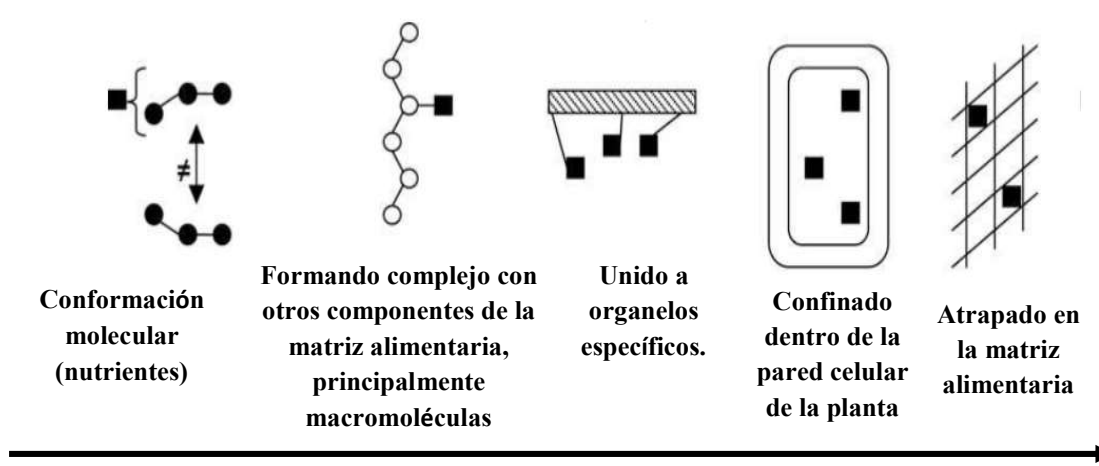


Figura 4. Mecanismos que afectan la biodisponibilidad de un nutriente/compuesto bioactivo. La dirección de la flecha indica posible mayor biodisponibilidad.

Fuente: Adaptado de Aguilar-Parada (2007).

El metabolismo del ácido ferúlico a ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico ha sido demostrado en la microbiota de rumiantes y recientemente en microbiota humana, pero si se requiere mayor estudio para la verificación de este proceso (Mateo-Anson et.al., 2009).

Los compuestos fenólicos bioactivos en granos de los cereales se encuentran principalmente en la fracción de salvado y se unen covalentemente a los polisacáridos no digeribles, como se ha venido mencionando. Tienen una biodisponibilidad muy baja porque la matriz del salvado es muy compleja y dificulta gravemente su acceso a las enzimas necesarias que contribuyen a su liberación en el tracto gastrointestinal humano. Se ha demostrado que la liberación de estos compuestos fenólicos en el salvado y/o el aumento de su accesibilidad son eficaces para mejorar su biodisponibilidad. Para ello, se han desarrollado diversas tecnologías de procesamiento como es el caso del tratamiento mecánico, el tratamiento térmico, la cocción por extrusión y el bioprocesamiento enzimático entre otros (Wang, 2014).

Extrusión en Cereales

La cocción por extrusión es un proceso continuo que utiliza combinaciones de altas temperaturas, altas presiones y condiciones de cizalla. La cocción por extrusión tiene dos efectos opuestos sobre los compuestos fenólicos en cereales. Por un lado, provoca la descomposición de los termolábiles y por otro lado la polimerización de algunos compuestos fenólicos, provocando una disminución en el contenido fenólico extraíble (Altan et.al., 2009). Por otro lado, se altera la matriz de las paredes celulares y rompe enlaces covalentes, lo que provoca una mejor bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos (Awika et.al., 2003).

En la última década, el proceso de extrusión ha sido estudiado extensivamente para producir una variedad de alimentos especiales que incluyen pastas y cereales listos para desayuno, alimentos para bebés, alimentos texturizadas, alimentos para mascotas, y sopas secas. Esto debido a que no solo mejora la digestibilidad (Singh et.al., 2010), sino que también mejora la biodisponibilidad de los nutrientes (Gu et.al., 2008) en comparación

con la cocina convencional. Varios estudios han demostrado que la extrusión causa una disminución en el contenido fenólico total en diversos granos de cereales. En un estudio por Sharma et.al., (2012) reportaron que la extrusión disminuyó significativamente el contenido fenólico total y el contenido de flavonoides total en sémola de cebada descascarillada. Del mismo modo, Dlamini et.al. (2007), observaron que la extrusión de sorgos enteros y decorticados redujo significativamente el contenido de fenoles y taninos. En otro estudio, el contenido fenólico total se redujo hasta 3 veces cuando se descascaron las semillas de trigo sarraceno y fueron extrudidos; esto pudo ser provocado debido a la descomposición o descarboxilación de algunos compuestos fenólicos y polimerización de fenoles (Zielinski et.al., 2006). En un estudio realizado por Sharma et.al., (2012), se encontró que la disminución en los compuestos bioactivos dependía de los parámetros del proceso de extrusión, observándose una tendencia en el incremento para el contenido de fenoles y flavonoides totales cuando la humedad de alimentación y la temperatura de extrusión se incrementó. Se observó que los compuestos fenólicos individuales en granos de cereales fueron afectados de manera diferente por la cocción por extrusión debido a sus diferencias en su estructura química y en su estabilidad bajo las condiciones del proceso de extrusión.

En otro estudio se encontró que el contenido de ácidos fenólicos (libres y ligados) aumentó de 200-300% cuando se extrudieron granos de trigo, cebada, centeno y avena, predominando el aumento de ácido ferúlico, seguido del ácido vanílico y p-coumárico. El incremento de cada ácido dependió en cada tipo de grano (Zielinski et.al., 2001). Particularmente, los ácidos sinápico y cafeico no se detectaron en forma libre en los cuatro granos enteros extrudidos. Esto podría deberse a que algunos compuestos fenólicos (*ácido sinápico y cafeico*) pudieron convertirse de una u otra forma durante el proceso a sus formas conjugadas o fueron más termolábiles que los demás compuestos fenólicos (Anton et.al., 2008). Además, la extrusión condujo a aumentos significativos en los ácidos fenólicos unidos a ésteres a diferentes grados para los cuatro granos enteros, aunque los efectos fueron menores (Tabla II).

Tabla II. Estudios de extrusión en cereales.

Referencia	Estudios
Ti et.al., 2015	El proceso de extrusión aumentó el contenido de fenoles libres en salvado de arroz (17%) y disminuyó el contenido de fenoles ligados en un (15%). En general, el contenido de fenoles totales aumentó en un 12.6%.
Zeng et.al., 2016	En este estudio, se evaluó el proceso de extrusión sobre el contenido de fenoles totales, actividad antioxidante y el perfil de ácidos fenólicos en cereales: arroz integral, trigo y avena. La bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y antioxidantes influenciados por el proceso de extrusión fueron investigados después de la digestión in vitro. El arroz integral proporcionó los compuestos fenólicos y antioxidantes más bioaccesible, seguido de avena y trigo.
Choi et.al., 2017	El salvado de trigo extrudido mejoró la actividad fagocítica de los macrófagos y mostró actividad antiinflamatoria en ratones y aumentó las células TCD4, con un efecto reductor de la respuesta Th2.
Salazar-López et.al., 2018	Los compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante en salvado de sorgo extrudido aumentaron durante la simulación de la digestión debido a los procesos térmicos de extrusión a 180° C y 20% de humedad. El proceso de extrusión podría utilizarse para producir alimentos a base de salvado de sorgo con potencial biológico.
Bhat et.al., 2019	El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto del proceso de extrusión sobre la capacidad antioxidante de un cereal para desayuno elaborado de trigo integral enriquecido con licopeno, polvo de tomate y extractos de azafrán. La mayor actividad antioxidante medida por DPPH se observó en la muestra que contenía licopeno.

Proceso de Extrusión

El proceso de extrusión consiste en tratamientos térmicos y mecánicos bajo diferentes condiciones de humedad, corte y presión e incluye una combinación de varias operaciones unitarias que incluyen mezcla, cocción, amasado, corte y afilado dentro del extrusor. El extrusor se considera un biorreactor de alta temperatura de corta duración que transforma una variedad de ingredientes crudos en productos alimenticios intermedios y acabados modificados debido al efecto térmico y la tensión de abrasión, causando rápidamente alteraciones estructurales y cambios en las propiedades funcionales del material extruido, (Alam et.al., 2016; Jacques-Fajardo, 2017).

En la Figura 5 se presenta el esquema de un extrusor y sus componentes mecánicos y a continuación se describen. El sistema de alimentación es una tolva, en el que el material a procesar se alimenta en forma de mezcla acondicionada con agua. El dispositivo está constituido un tornillo sencillo que gira en el interior calentando generalmente con resistencias eléctricas o vapor de agua. En la parte del cilindro más alejada de la tolva de alimentación se acopla un cabezal cuya boquilla de salida tiene un diseño adecuado (dado) para que tenga lugar el conformado del producto. La parte esencial de la máquina es el sistema cilindro-tornillo que como consecuencia del giro, compacta el alimento sólido, da lugar a la fusión del material y lo transporta hacia la boquilla, produciendo al mismo tiempo la presurización y el mezclado del material (Serna, 2009). El desarrollo del proceso de extrusión es un proceso continuo que utiliza combinaciones de altas temperaturas, altas presiones y condiciones de cizalla. La cocción por extrusión ha ganado popularidad en las últimas dos décadas por un número de razones: (1) Versatilidad. Es posible producir fácilmente con el proceso de extrusión una amplia gama de productos fácilmente que no se pueden fabricar por cualquier otro proceso, con el solo hecho de cambiar las condiciones de extrusión; (2) Costos. El costo de procesamiento es bajo y mucha productividad a diferencia de otros procesos de cocción; (3) Productividad. El proceso de extrusión puede operar continuamente con un alto rendimiento; (4) Calidad del producto.

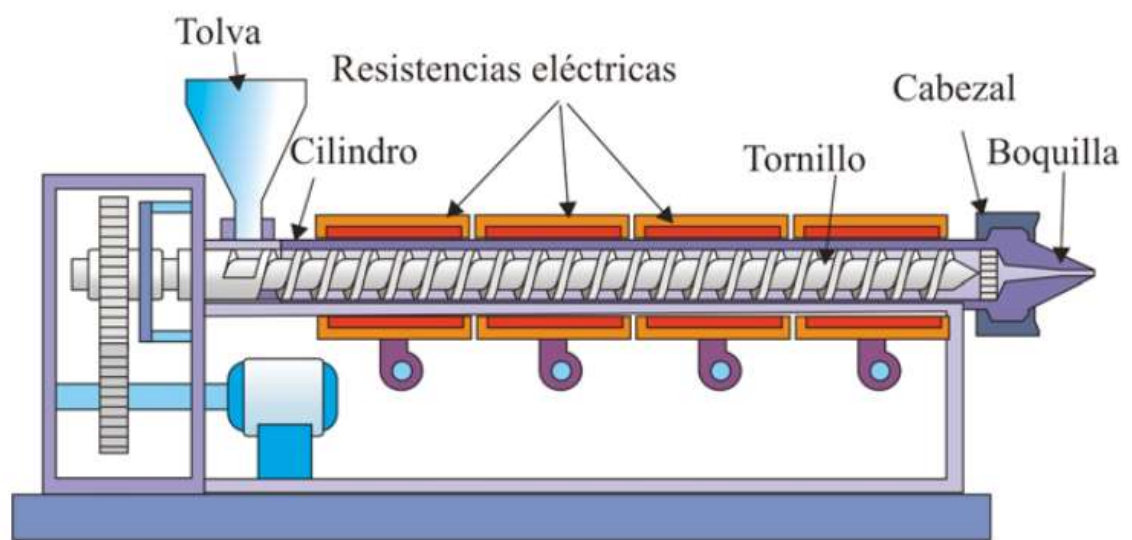


Figura 5. Esquema de los componentes de un extrusor de tornillo simple.

Fuente: Adaptado de <https://www.google.com/search?q=textos+cientificos+extrusor>.
(Fecha de consulta: mayo 7, 2019).

La cocción por extrusión implica altas temperaturas aplicadas para corto tiempo, conservando muchos de los componentes sensibles al calor de un alimento; (5) Medio ambiente. Debido a que es un proceso de baja humedad, el proceso de extrusión mantiene un ambiente amigable por lo que el proceso no produce efluentes significativos lo que reduce el costo en el tratamiento de aguas y niveles de contaminación ambiental (Guy, 2001).

El proceso de extrusión puede verse afectado por algunas variables entre las cuales se puede mencionar, la naturaleza de la materia prima que puede afectar de manera significativa las características de los productos terminados: por ejemplo el contenido de lípidos puede influenciar en la característica de expansión del producto; el contenido de fibra insoluble también puede afectar la expansión; materias primas con alta proporción de amilosa en el almidón desarrollan productos extrudidos duros/densos; mientras que aquellos con alta proporción de amilopectina desarrollan productos con mayor expansión y son más ligeros (Singh et.al., 2007). El fraccionamiento del tamaño de partícula también se ha observado que influencia en el producto extrudido terminado para el caso particular del salvado de trigo en los últimos años se han venido ensayando nuevos procesos de fraccionamiento con el fin de obtener las partes con mayor contenido de compuestos bioactivos. De hecho, la aleurona contiene compuesto de interés nutricional, pero la disponibilidad de estos compuestos está limitada por las fibras de la pared celular complejas circundantes (Amrein et.al., 2003).

La mayoría de los procesos de molienda comprenden dos pasos. Durante la etapa de molienda, los tejidos de salvado se descomponen y/o se disocian. Existen diferentes tipos de molinos como son de impacto, cizallamiento, compresión, trituración, desgaste. Esto da como resultado partículas que exhiben diferentes propiedades (Chamayou y Fages, 2003).

Diversos estudios han demostrado que al aumentar el contenido de humedad en la materia prima se reduce la presión en el dado, lo que resulta un producto con menor grado de cocción pero que incrementa la velocidad de flujo a través del extrusor. Por otro lado,

la temperatura en las chaquetas del extrusor juega un papel primordial en la transformación de la materia prima. El cañón es un contenedor con forma de tubo dentro del cual gira el tornillo del extrusor y posee chaquetas o zonas de calentamiento/enfriamiento para la circulación de agua fría, vapor u otro medio de calentamiento como aceite (algunos equipos poseen calentadores eléctricos directos). Al incrementar la temperatura de las diferentes zonas de calentamiento, se crea un producto con una textura más suave. La velocidad del tornillo afecta la capacidad de transferencia del tornillo y la velocidad de producción. La velocidad puede modificarse para variar la velocidad de corte mecánico y producir diferentes texturas en un alimento con la misma formulación. Por ejemplo, al incrementar la velocidad del tornillo se origina una mayor presión en el dado, lo que produce materiales con mayor estructura celular. Finalmente, la geometría del dado es una variable de gran importancia en el tamaño, forma y densidad de los productos durante su creación. El dado causa una resistencia al flujo, provocando una retro-mezcla hasta que la presión de la extrusión excede el efecto ejercido por el dado. Generalmente, el incremento en la dimensión de la apertura causa una reducción en la temperatura de la mezcla y un menor cocimiento. Por el contrario, la disminución en la apertura del dado incrementa la temperatura de la mezcla y el grado de cocimiento (Eastman y Lee, 2005).

Beneficios a la Salud por Consumo de Alimentos Funcionales

El oxígeno es esencial para la vida, pero presenta una incongruencia en los organismos que lo utilizan, esto debido a que es un importante aceptor de electrones durante la respiración celular.

Es el principal causante para producir un tipo de daño conocido como estrés oxidativo ya que juega un papel muy importante en el espacio subendotelial de la pared arterial.

Si bien, más del 95% del oxígeno consumido por los organismos aerobios es reducido completamente a agua durante la respiración mitocondrial al recibir 4 electrones, un pequeño porcentaje se escapa a esta reducción (<5%) y es convertido a especies reactivas

de oxígeno (EROs) como es el radical superóxido, sin embargo, las EROs se pueden formar también durante los procesos enzimáticos endógenos como la NADPH oxidasa de membrana, ciclooxigenasas (COX), xantina oxidasa (XO), óxido nítrico sintasa (ONS), entre otras (Khullar et.al., 2010).

El estrés oxidativo se produce por un desbalance a corto o a largo plazo del equilibrio de los antioxidantes/pro-oxidantes, lo que provoca oxidación de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos; como consecuencia induce cambios en su estructura y función. La experiencia clínica y por estudios científicos ha permitido establecer una asociación entre el estrés oxidativo y las enfermedades cardiovasculares, diabetes, y algunos tipos de cáncer entre otras. Por otra parte, se ha observado que la presencia de obesidad puede ser una causa subyacente al desarrollo de estas enfermedades (Li et.al., 2014).

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial que puede ser un detonante de numerosas complicaciones en la salud. Se desarrolla bajo un proceso gradual, que suele iniciarse desde la infancia y adolescencia y en la mayoría de los casos se debe a un desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético (Lima, 2014; Pinheiro et.al., 2004). En su origen se involucran diversos factores ambientales y genéticos que conducen a una excesiva acumulación de grasa corporal. El aumento de su incidencia y prevalencia representa un riesgo grave para los sistemas de salud por las grandes pérdidas económicas derivadas de tratar sus complicaciones y también para la calidad de vida de los individuos.

Diversos estudios han mostrado evidencia de que la obesidad es un proceso inflamatorio de bajo grado. Los primeros indicios que apoyaron la participación del proceso inflamatorio con la obesidad se remontan desde hace casi medio siglo, sin embargo, desde la década de los 90's comenzó a atraer interés particularmente después de que se demostró que en el tejido adiposo en roedores obesos se expresó el TNF- α y después de inhibir esta citoquina mejoró la resistencia a la insulina (Rocha et.al., 2011).

Durante muchos años se consideró al tejido adiposo, además de amortiguador físico y térmico, como un almacén de energía, capaz de liberarla en forma de triacilglicéridos según las necesidades fisiológicas. A la luz del conocimiento actual se le han atribuido

funciones endócrinas muy importantes en muchos procesos fisiológicos y metabólicos, esto se debe a que está compuesto por células llamadas adipocitos inmersos en fibras de colágeno y otras células como fibroblastos, que expresan una gran variedad de péptidos con actividad biológica conocidos en su conjunto como adipocinas o adipocitocinas (Bon, 2008).

Estas moléculas desempeñan un papel importante en la regulación del metabolismo local y sistémico. Tienen actividad endocrina típica y son responsables de las interacciones entre el tejido adiposo, el muscular, el cortico adrenal y el sistema nervioso central y simpático (Wozniak et.al., 2009).

También participan en el mantenimiento del balance energético e influyen en la sensibilidad a la insulina, la regulación de la presión sanguínea, los procesos inmunológicos, la angiogénesis, el metabolismo lipídico y en la homeostasis. Por ello, las alteraciones fisiopatológicas en el tejido adiposo como consecuencia de la obesidad, provocan cambios en las concentraciones séricas de adipocinas, desencadenando numerosas patologías tales como resistencia a la insulina, hiperglicemia, dislipidemia, hipertensión arterial y estados pro inflamatorios y protrombóticos (Garg et.al., 2012).

Es importante subrayar el término adipocina, que está generalmente asociado a sustancias biológicamente activas encontradas en los adipocitos del tejido blanco adiposo (TBA). La obesidad y sus complicaciones han sido los factores principales que han estimulado las investigaciones sobre el tejido adiposo blanco. De hecho, hoy en día, la obesidad es considerada como un estado pro inflamatorio, ya que se observó que diversos marcadores de inflamación estaban elevados en individuos obesos. Las adipocinas incluyen una gran variedad de péptido pro inflamatorio, entre los que se encuentra el TNF α ; su secreción se observó incluso antes del descubrimiento de la leptina.

Existen numerosos estudios que muestran la relación del proceso obesidad e inflamación ya que existe una expansión de los adipocitos y la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo, donde hay un aumento en la secreción de citosinas pro inflamatorias tales como IL-6, IL-8, TNF- α , complemento C₃ y proteínas quimiotácticas de monocitos-

1 (MCP-1) (Volp et.al, 2012). Esto resulta en un estado de inflamación crónica de bajo grado asociado con enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad (Jung y Choi, 2014; Hassan y El-Gharib, 2015). Esta condición aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades arteriales coronarias, hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, enfermedad del hígado graso no alcohólico y trastornos respiratorios (Jung y Choi, 2014).

Ya se ha venido mencionando que el ácido ferúlico es uno de los fitoquímicos que puede tener un impacto positivo sobre la obesidad a través del control del metabolismo de los lípidos, inflamación y metabolismo de los carbohidratos. El ácido ferúlico es un ácido hidroxicinámico con potencial benéfico para la salud debido a su capacidad antioxidante y antiinflamatoria y se distribuye ampliamente en alimentos de origen vegetal (Alam et.al., 2016).

En un estudio por Navarrete et al., (2015), el ácido ferúlico inhibió la expresión de TNF- α e IL-1 β por el lipopolisacárido derivado de monocitos activados por macrófagos mediante la inhibición de la activación del factor nuclear kappa B (NF- κ B), que podría contribuir para prevenir enfermedades inflamatorias crónicas. En otro estudio por Senaphan y col., (2015), demostró que el ácido ferúlico induce cambios en el síndrome metabólico en ratas mediante la supresión del estrés oxidativo, aumentando la sintasa óxido nítrico endotelial (eNOS) y disminución del TNF- α .

A pesar de que existe una gran cantidad de información acerca de la relación del proceso obesidad e inflamación, los factores que desencadenan esta condición permanecen sin identificar. Sin embargo, estudios recientes han traído respuesta a esta área de investigación. Una hipótesis razonable postula que la sobrecarga de nutrientes en las células de los adipocitos induce estrés oxidativo y esto conduce a un aumento de la actividad de las quinasas para producir mayor expresión de citoquinas proinflamatorias y una deficiencia en la señalización hacia los receptores de insulina.

En la obesidad se produce ampliación del tejido adiposo que trae consigo la hipoxia y que también conduce a una mayor activación de la vía inflamatoria (Figura 6). El término bioactividad se refiere al efecto modulador en cualquier proceso biológico, particularmente en una célula o en un organismo vivo, sin embargo, a menudo se usa en términos de salud humana. La bioactividad ya no se limita únicamente a los medicamentos, sino que también se usa para alimentos con beneficios para la salud.

Estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de granos integrales (Figura 7) se ha relacionado constantemente con una disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes y cáncer (Ye, 2012; Fardet, 2010). Estos efectos protectores han sido atribuidos a compuestos bioactivos localizados principalmente en las membranas exteriores del grano, las cuales se obtienen del salvado durante el proceso de molienda (Brouns, 2012).

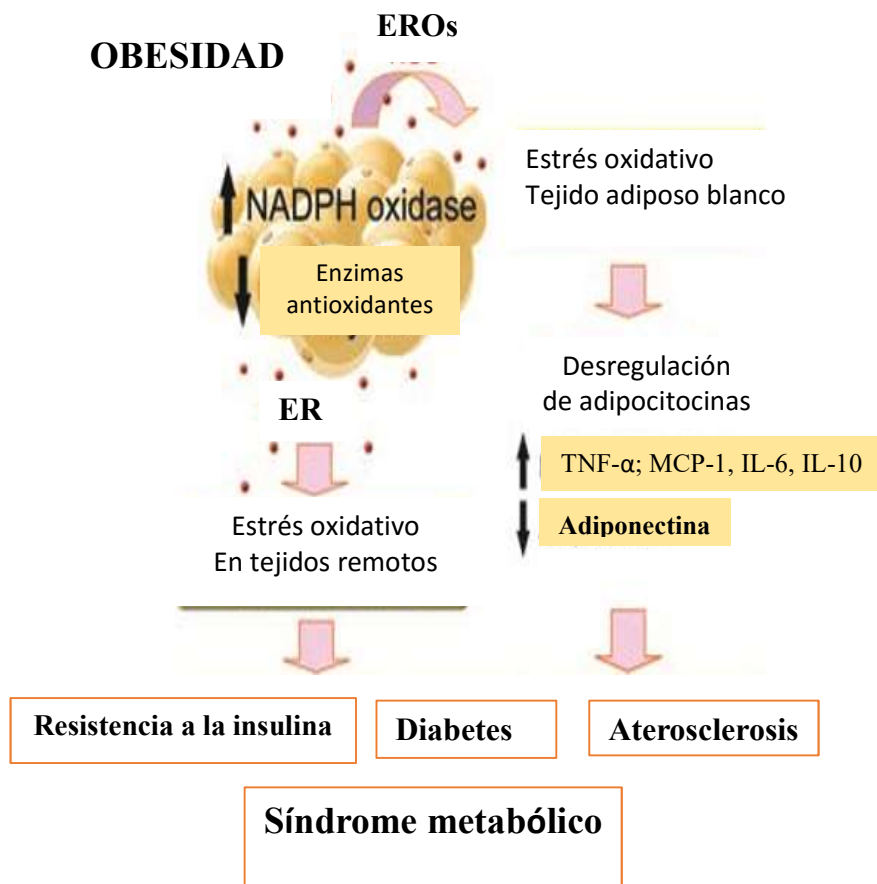


Figura 6. Tejido adiposo durante la inflamación.

Fuente: Zorzanelli et al., (2011).

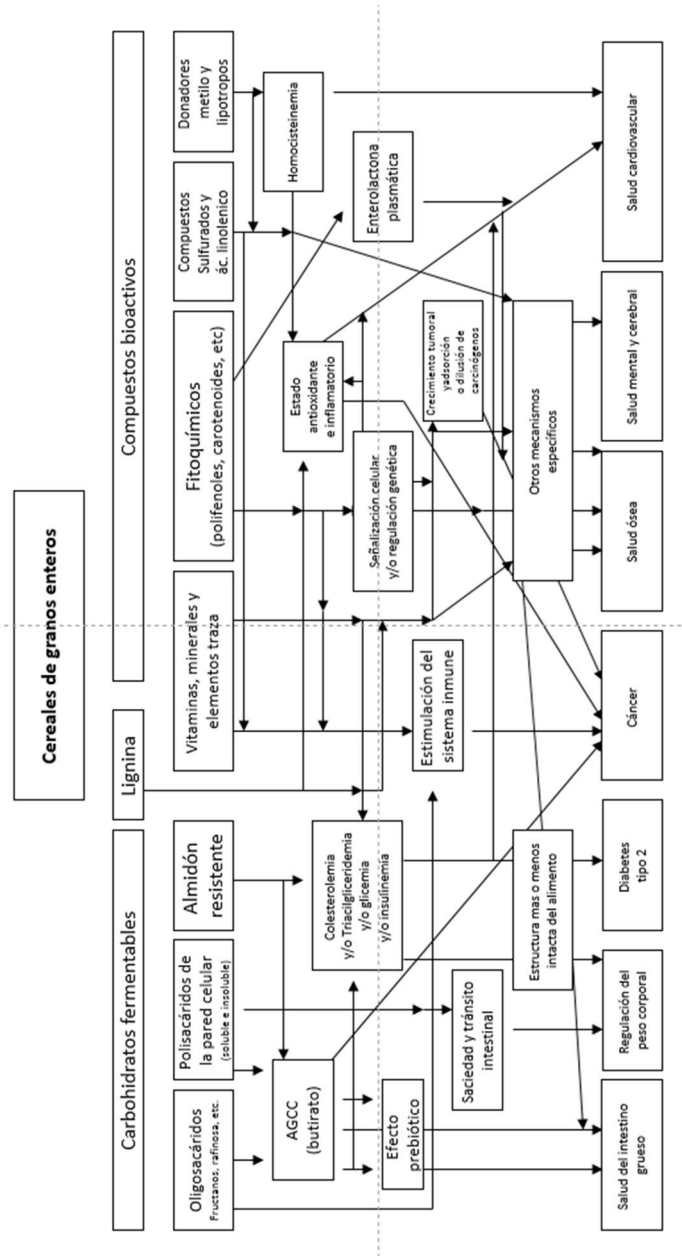


Figura 7. Representación de la interacción entre los componentes bioactivos en los cereales con algunas enfermedades.

Fuente: Adaptado de: Fardet, (2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y Preparación de la Muestra

Se utilizó trigo variedad Kronstad proporcionado por el molino “La Fama” ubicado en la ciudad de Hermosillo, Sonora, México. Previo al proceso de molienda del grano para la obtención del salvado fue necesario llevar a cabo un acondicionamiento del grano a 15% de humedad y reposarlo por 24 h. El salvado se obtuvo a partir de la separación de las otras fracciones del grano (harina blanca y salvadillo), para lo cual se utilizó un molino experimental (Model 880220002, Brabender mill Quadrumat Senior mill, Duisburg, Alemania). El salvado de trigo fue sometido a un segundo proceso de molienda utilizando un molino (Thomas-Willey Laboratory Mill), con el fin de obtener un tamaño de partícula <0.5mm. El salvado de trigo (ST) fue empacado en bolsas de polietileno en lotes de 300 g cada uno y sometido a proceso de acondicionamiento de humedad previo al proceso de extrusión.

Acondicionamiento del Salvado de Trigo

El salvado de trigo (ST) fue dividido en 2 lotes de 300 g y acondicionado a humedad del 30% siguiendo la metodología propuesta por Escalante-Aburto et.al., (2014). Brevemente, la mezcla salvado de trigo:agua destilada fue homogenizada durante 20 minutos en un mezclador (Modelo MK45SSWH-Kinchen Aid Hobart, Monterrey, NL, México). Posteriormente cada lote de (ST) fue colocado en bolsas de polietileno y en condiciones de oscuridad, se mantuvieron en reposo durante 12 h a 4°C para después continuar con el proceso de extrusión.

Proceso de Extrusión

El proceso de extrusión consistió en someter las muestras de salvado de trigo acondicionado a un contenido de humedad de 30% a cuatro zonas de calor; la primera, segunda y tercera zonas fueron 90, 60 y 120°C, respectivamente, y la temperatura de la cuarta zona fue 140 o 180°C. Para el proceso de extrusión se utilizó un extrusor (Modelo

E19/25 D, Brabender Instruments, OHG, Disburg, Alemania). Las condiciones de extrusión fueron: tornillo número 2 (una relación de compresión nominal de 2:1 y un diámetro de 19 mm); velocidad del tornillo de 100 rpm; velocidad de alimentación de la tolva de 50 rpm; y la apertura del dado de 3 mm de diámetro. El producto extrudido se secó a 60°C durante 30 minutos en un secador tipo túnel(s/m). Posteriormente las muestras de salvado de trigo extrudido fueron molidas con una malla de 0.5 mm y almacenadas a 4°C en bolsas de plástico selladas protegidas de la luz hasta análisis posteriores. Las muestras fueron etiquetadas como STE-I (salvado de trigo extrudido a 30% de humedad a 140°C) y STE-II (salvado de trigo extrudido a 30% de humedad a 180°C).

Extracción de Compuestos Fenólicos

Extracción Metanólica

Para la extracción de fenoles libres se siguió la técnica propuesta por Chiremba, (2012). En tubos falcon de 50 mL se pesaron 1.0 g de muestra de salvado extrudido y se añadieron 15 mL de metanol 80%. Se homogenizó la muestra y posteriormente sometida a sonicación (Branson 2510) durante 1 hora a temperatura ambiente. Las muestras sonicadas fueron centrifugadas a 100 rpm durante 15 minutos. Se recuperó el sobrenadante y el residuo se volvió a extraer dos veces con 15 ml de metanol 80% y colectados los sobrenadantes se filtraron con papel whatmann # 1 y enseguida sometidos a evaporación con vacío hasta sequedad. Enseguida fueron resuspendidos con 5 mL de metanol 50%. La concentración final del extracto fue de 0.2 mg/mL.

Extracción Alcalina

Para la extracción de fenoles ligados se siguió la técnica propuesta por Guo and Beta (2013). Brevemente, el residuo obtenido a partir de la extracción de fenoles libres fue sometido a proceso de secado a 70°C durante dos horas. Posteriormente se pesaron 0.1 g y se colocó en un vial de extracción ámbar, al cual se le añadió 5 mL NaOH 2N degasificado por 15 minutos. Se dejó desplazar el oxígeno del espacio vacío por N₂ por

30 segundos y se sonicó por 3 horas. Después de realizar la hidrólisis alcalina de la solución esta se acidificó a pH 1.5-2.0 con HCl 6 N. Los ácidos fenólicos liberados a partir de la hidrólisis alcalina fueron extraídos con acetato de etilo (7 volúmenes). Se procedió a agitar durante 30 segundos y se centrifugó a 100 rpm durante 15 minutos. Posteriormente fue separada cuidadosamente la fase de acetato de etilo y el proceso fue repetido dos veces en el residuo. Las fases de acetato de etilo recuperadas se evaporaron a sequedad en un rota vapor a 40°C, y enseguida se reconstituyó en 5 mL de metanol 50%. Los extractos fueron almacenados a 4°C. La concentración final de los extractos fue de 0.02 g/mL.

Determinación de Fenoles Totales

La determinación de los fenoles totales (libres y ligados) se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Singleton y Rossi, (1965) con modificaciones. Esta metodología se basa en la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu (solución de ácido fosfomolibdico y ácido fosfowolfrámico) en presencia de un agente reductor. En este caso los compuestos fenólicos, en medio alcalino formando un complejo de molibdeno-tungsteno de color azul. Esta reacción se llevó a cabo mezclando 30 µL de cada una de las muestras a las que se le añadieron 150 µL de reactivo de Folin (1:10) y 120 µL de carbonato de sodio (7.5%). Las mediciones se realizaron en un lector de microplaca (FLUOstat Omega BMG LABTECH) a una longitud de onda de 765 nm, reportando los resultados como µg EAG/g de muestra. Todos los extractos fueron realizados por triplicado.

Cuantificación de Ácido Ferúlico por UHPLC-DAD

El ácido ferúlico presente en los extractos se cuantificó usando un sistema UHPLC (Agilent Technologies 1260, USA) con un detector de arreglo de diodos (DAD). La separación se llevó a cabo en una columna de resolución rápida (Zorbax Eclipse Plus. 50 mm x 2.1 mm i.d.). Se utilizó un sistema binario de elusión correspondiendo a la Fase A: Agua-ácido acético (99.9:0.1); Fase B: metanol-ácido acético (99.9:0.1). El gradiente de elusión fue el siguiente: 0-9 min 91% fase A; 9-11 min 86% fase A; 11-15 min 84 % fase A. La velocidad de flujo fue de 0.7 mL/min y el ácido ferúlico fue detectado a 280 nm de

acuerdo con el tiempo de retención, y para lo cual se utilizó una curva de referencia de ácido ferúlico a diferentes concentraciones. Los resultados se expresaron en μg ácido ferúlico/g (Salazar-López et.al., 2016).

Determinación de Actividad Antioxidante

Ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrácil)

La capacidad antioxidante de los extractos para inactivar al radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrácil) se determinó de acuerdo con el método descrito por Brand-Williams, Cuvelier y Berset (1995). Se preparó una solución de trabajo pesando 2.5 mg del radical y disolviendo en 100 mL de metanol 80%. Se ajustó la absorbancia de la solución a 0.7 ± 0.2 a una longitud de onda de 515 nm. La reducción del radical se determinó en un lector de microplaca (FLUOstar Omega BMG Labtech Inc., USA). Para esta reacción se utilizaron placas Nunc 96 de 300 μL , donde se incubaron 20 μL de muestra, en reacción con 280 μL de radical DPPH durante 30 min en oscuridad. Para conocer su porcentaje de inhibición, se tomó en cuenta la absorbancia inicial del radical DPPH y la absorbancia final, expresándose como % de inhibición de radical DPPH. Los valores generados fueron reportados como μmoles de equivalentes Trolox (ET)/g.

Ensayo TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

La capacidad antioxidante de las muestras evaluadas como TEAC se determinó de acuerdo con el procedimiento reportado por Pellegrini et al., (1999). Esta técnica se basa en los valores de absorbancia obtenidos por la decoloración del radical ABTS⁺ (2-2-Azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) al reaccionar con compuestos antioxidantes. La activación del radical ABTS se llevó a cabo pesando 19.2 mg del radical y disolviendo con 5 mL de agua destilada. Aparte se pesaron 0.0032 mg de persulfato de potasio y se disolvieron en 1 mL de agua destilada. Posteriormente se agregaron 88 μL de la solución de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ a la solución de ABTS y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 16 horas. Enseguida se preparó una solución de trabajo mezclando 1 mL de la solución de radical y se

mezclaron con aproximadamente 88 mL de etanol y se ajustó la absorbancia del radical a 0.7 ± 0.2 nm a longitud de onda de 762 nm. La reducción del radical se determinó a 762 nm en un lector de microplaca (FLUOstar Omega BMG Labtech Inc., USA). Para esta reacción se utilizaron placas Nunc 96 de 300 μ L, donde se incubaron 5 μ L de muestra, en reacción con 245 μ L de radical ABTS⁺ 5 min en oscuridad. Para conocer su porcentaje de inhibición, se tomó en cuenta la absorbancia inicial del radical ABTS⁺ y la absorbancia final transcurrido el tiempo de incubación, expresándose como % de inhibición de radical ABTS⁺. Los valores generados fueron reportados como μ moles de equivalentes Trolox (ET)/g.

Ensayo de Simulación Gastrointestinal *in vitro*

Se realizó un ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro*, el cual consistió en un procedimiento que simula los procesos digestivos en la boca, estómago e intestino delgado. El estudio de digestión se realizó por la técnica desarrollada por Amaya-Villalva et.al., (2018). Brevemente el ensayo consistió en la participación de tres voluntarios aparentemente sanos quienes masticaron 1 g de salvado de trigo y salvado de trigo extrudido (STE-I y STE-II) por 15 segundos. Después de este tiempo, el salvado masticado se depositó en tubos falcón, los voluntarios se enjuagaron la boca dos veces con 5 ml de agua durante 60 segundos y se mezclaron estos enjuagues con las muestras masticadas iniciales. Las muestras mezcladas fueron mantenidas durante tres minutos y posteriormente centrifugadas 100 \times g durante 15 minutos a 4°C, los sobrenadantes fueron separados y fueron etiquetados como digestos de la fase oral.

Para la digestión estomacal, tres tubos adicionales de digestión oral fueron diluidos con 5 ml de buffer KCl-HCl (0.2 M pH=1.5), y la solución se mezcló con 667 μ L de una solución de pepsina (300 mg/mL) en buffer HCl/KCl. La mezcla se agitó durante 1 hora a 37°C, posteriormente se obtuvo el sobrenadante posterior al proceso de centrifugado a 100 \times g durante 15 minutos a 4°C, a esta muestra se le etiquetó como fase de digestión gástrica. Para la digestión intestinal, los digestos que siguieron la digestión oral y gástrica fueron diluidos con 9 ml de buffer de fosfato (pH=7.5), la solución se mezcló con 1 ml de

pancreatina (17 mg/ml) en buffer de fosfato (pH=7.5). Para esta etapa, se añadieron 80 mg de sales biliares y la mezcla se agitó a 37°C durante 6 h; posterior al proceso de centrifugado fue obtenido el sobrenadante y etiquetado como fase de digestión intestinal. Los sobrenadantes fueron congelados a -80°C y liofilizados y después resuspendidos en 5 mL de metanol 50%.

A cada uno de los digestos de las diferentes muestras se les determinó fenoles totales, ácido ferúlico y actividad antioxidante por los métodos descritos anteriormente. El porcentaje de bioaccesibilidad de fenoles totales y ácido ferúlico se calculó mediante la siguiente formula:

$$\% B = \frac{\text{contenido de FT/AF en digesto intestino}}{\text{contenido de FT/AF (libre+ligado) en la muestra original}} \times 100$$

Determinación de Absorción Aparente

Para la determinación de absorción aparente de cada una de las muestras, se realizó un ensayo independiente de simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* de acuerdo con lo reportado por Bouayed et.al., (2011), con ligeras modificaciones. Brevemente, se procedió a realizar un proceso de digestión oral y gástrica bajo las condiciones descritas anteriormente, para la fase de digestión intestinal el digesto gástrico obtenido fue colocado en un vaso de 250 mL y en este digesto fue sumergida una bolsa de diálisis de 12 cm de largo x 1 cm de ancho la cual fue cerrada por uno de sus extremos y posteriormente se le adicionaron 5 mL de NaCl 0.9% y NaHCO₃, y en estas condiciones se dejó en agitación durante 45 min con el fin de equilibrar las solución con el digesto gástrico. Enseguida al digesto gástrico se le añadieron pancreatina, sales biliares y NaHCO₃ y se continuó agitando por 6 horas a 37°C. Al término de este tiempo se retiraron las bolsas de diálisis y el contenido fue transferido a un tubo falcón y congelado a -80°C para su posterior liofilización.

Los liofilizados fueron resuspendidos en 5 mL de metanol 50% y se determinó contenido de fenoles totales, ácido ferúlico y actividad antioxidante. Los resultados fueron considerados para el cálculo de absorción aparente mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Absorción aparente} = \frac{\text{contenido de FT/AF en las bolsas de diálisis}}{\text{contenido de FT/AF (libre + ligado) en la muestra original}} \times 100$$

Ensayo *in vivo*

Para evaluar el efecto del consumo de dietas suplementadas con ST, STE-I (H:30% y 140°C) y STE-II (H:30% y 180°C) sobre biomarcadores de obesidad asociados a inflamación se utilizaron 30 ratas macho variedad “Wistar” de ocho semanas de edad, con un peso inicial entre 240 y 250 g. Los animales de experimentación se obtuvieron del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) de la Universidad de Sonora (México). La metodología llevada a cabo para este ensayo fue de acuerdo con lo reportado por Salazar-López et.al., (2017).

Las ratas fueron colocadas individualmente en jaulas de malla de acero inoxidable y durante una semana fueron sometidas a proceso de adaptación a la iluminación en la sala (ciclos de luz: 12 h luz/12 h oscuridad), temperatura (22°C) y humedad relativa (40-70%). Posterior a este tiempo se formaron de manera aleatoria 5 grupos (seis ratas/grupo) los cuales fueron etiquetados de la siguiente manera: (1) Dieta Basal (DB); (2) DB + dieta alta en grasa (DAG); (3) DB + DAG + ST (18%); (4) DB + DAG + STE-I; (H:30% y 140°C) (18%) y (5) DB + DAG + STE-II; (H:30% y 180°C) (18%).

Las dietas basales se formularon de acuerdo con la dieta AIN-93G con ligeras modificaciones (Reeves et.al., 1993). La dieta alta en grasa (DAG) fue formulada para contener 19% aceite de soya y 24% de grasa animal. En la Tabla III se muestra la composición de las dietas administradas a los cinco grupos de ratas.

Tabla III. Composición de las dietas experimentales (g/kg).

Ingrediente	DB	DAG	DAG-ST	DAG-STE-I	DAG-STE-II
Caseína	200	200	200	200	200
Grasa	19	316	316	316	316
Aceite de soya	24	32	32	32	32
Almidon	501	0	0	0	0
Maltodextrina	118	185	37	37	37
Sucrosa	0	129	129	129	129
Metionina	18	18	18	18	18
Colina	25	25	25	25	25
Celulosa	50	50	18	18	18
Vitaminas	10	10	10	10	10
Minerales	35	35	35	35	35
ST	0	0	180	0	0
STE-I	0	0	0	180	0
STE-II	0	0	0	0	180

DB=Dieta basal; DAG=Dieta alta en grasa; DAG+ST= Dieta alta en grasa+salvado de trigo; DAG+ STE-I = dieta alta en grasa + salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; DAG + STE-I I = dieta alta en grasa + salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

Las dietas fueron preparadas semanalmente y almacenadas a 4°C. El ensayo tuvo una duración de 8 semanas tiempo en el cual las dietas y agua fueron administradas ad libitum. Semanalmente se registró peso y consumo de los alimentos. Al término de las ocho semanas de alimentación las ratas fueron anestesiadas usando fenobarbital sódico (60 mg/kg). Se tomaron muestras de sangre por punción cardiaca posterior a un periodo de ayuno (12 h) y transferida a tubo de centrifuga con y sin EDTA sódico. Suero y plasma de cada rata fueron separadas por centrifugación (2000 g/15 min) y aliquoteado en fracciones 0.5 mL y almacenado a -80°C para análisis posteriores.

Todos los procedimientos llevados a cabo en este bioensayo fueron conducidos en estricto apego a los lineamientos establecidos por la NIH (National Institute of Health) para uso y cuidado de animales de laboratorio. Asimismo, el estudio fue aprobado por Comité de Bioética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C), Hermosillo, Sonora, México (permiso num. CE/004/2017).

Perfil Bioquímico

Las concentraciones de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) y lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) se midieron en suero mediante el uso de kits comerciales, siguiendo las instrucciones del proveedor (Randox, Crumlin, Antrim, Reino Unido). El índice aterogénico se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice Aterogénico} = \frac{\text{Colesterol total} - \text{HDL-C}}{\text{HDL-C}}$$

Inmunoensayo de Citosinas Séricas

En suero de ratas se midió la concentración de interleucina-1 α (IL- α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interleucina-12 (IL-12), interleucina-13 (IL-13), interferón- γ (INT- γ), factor de necrosis tumoral- α (FNT- α), y factor estimulante de colonias de macrófagos y

granulocitos (FE-CMG). Para este ensayo se utilizó el kit comercial ELISA de QIAGEN (Germantown, MD, EE. UU). Los resultados fueron expresados como porcentaje de producción de citocina considerando la dieta basal como el 100% de producción.

Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico

El diseño de experimentos fue completamente al azar, donde los datos se presentaron como la media aritmética \pm media error estándar. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado. Las variables respuesta fueron fenoles totales (libres y ligados), ácido ferúlico (libre y ligado) y actividad antioxidante (fracciones metanólicas y alcalinas).

El efecto de los tratamientos (ST, STE-I; H:30% y 140°C y STE-II; H30% y 180°C) sobre las variables respuesta se evaluó mediante un análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias entre medias fueron comparadas mediante la prueba Tukey ($p \leq 0.05$). Los análisis estadísticos fueron realizados mediante el uso del paquete estadístico JMP 5.0.1 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de Fenoles Totales (Folin-Ciocalteu) en Salvado de Trigo

La Tabla 4, muestra el contenido de fenoles totales obtenidos a partir de los extractos metanólicos y alcalinos para salvado de trigo extrudido a temperaturas de H:30%, 140 y H:30%, 180°C para STE-I y STE-II, respectivamente y salvado no extrudido (ST). Se considera que en los extractos metanólicos se solubilizan los fenoles que se encuentran libres, mientras que a partir de los extractos alcalinos se obtienen aquellos fenoles que se encuentran ligados. Se encontró que el proceso de extrusión incrementó los fenoles totales tanto libres como ligados en los extrudidos con respecto al ST. En la fracción libre, no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de extrusión aplicados ($p>0.05$). Se encontró también que el fenol libre se incrementó +31%. Por otra parte, se observó que los compuestos fenólicos presentes en la fracción ligada de los salvados extrudidos mostraron un incremento significativo con relación al salvado no extrudido. Encontrándose que los fenoles ligados se incrementaron +65%.

Se ha reportado que la mayor cantidad de compuestos fenólicos en cereales se encuentran en su forma ligada, lo que quedó confirmado en este estudio al presentarse alrededor del 70% de este tipo de fenoles en las muestras de salvado extrudido y sin extrudir (Tabla IV). Un estudio llevado a cabo por Verma et.al., (2009) en salvado proveniente de 6 cultivares de trigo demostró que alrededor del 70-80% de los compuestos fenólicos presentes fueron extraídos mediante hidrólisis alcalina indicando que estos compuestos pudieran encontrarse ligados a otras estructuras de la matriz. Vaher et.al., (2010), en un estudio similar en trigo cultivado de manera tradicional y orgánica demostraron que la mayor proporción de compuestos fenólicos se encuentra en el salvado comparado con el grano entero o la fracción del endospermo.

El contenido de fenoles totales indica la suma de las fracciones libres y ligadas, y se observa que hubo un incremento en el salvado de trigo extrudido con respecto al no extrudido. En STE-I (H:30% y 140°C) el contenido de fenoles ligados fue de 3656.7 ± 48.09 , mientras que en STE-II los valores de fenoles totales fueron de 3093.18 ± 41.6 $\mu\text{gEAG/g}$.

Tabla IV. Contenido de fenoles totales antes y después del proceso de extrusión de salvado de trigo. ^{1,2,3,4}

Fenoles totales			
Tratamientos	Extracto Metanólico	Extracto Alcalino	Fenoles Totales
(µg EAG/g)			
ST	1096.58 ± 36.4 ^b (31)	2528.42 ± 48.09 ^c	3624.42 ± 42.6 (100)
		(69)	
STE-I	1585.39 ± 36.4 ^a (31)	3656.7 ± 48.09 ^a (69)	5242.09 ± 42.6 (100)
STE-II	1648.41 ± 29.7 ^a (35)	3093.18 ± 41.6 ^b (65)	4741.59 ± 35.6 (100)

¹Los valores corresponden al promedio±error estándar. ²Letras diferentes dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes a un nivel de p<0.05. ³El contenido de fenoles totales indica la suma de las fracciones libres y ligados. ⁴Valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de cada fracción respecto al contenido total. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H: 30% y 180°C.

Estos resultados por un lado pueden sugerir que el proceso de extrusión contribuyó a la liberación de fenoles totales ya que los valores se mostraron más altos respecto al salvado no extrudido. Una posible explicación a lo anterior es que las condiciones de extrusión particularmente la temperatura utilizada pudo haber dado lugar a que se promovieran reacciones de polimerización y no solamente de compuestos fenólicos sino también de otras moléculas como carbohidratos, proteínas o cualquier otra sustancia que diera positiva la reacción de óxido-reducción llevada a cabo durante la determinación de fenoles totales. Salazar-López et.al., (2016) encontraron que el proceso de extrusión aumentó el contenido de fenoles totales en salvado de sorgo en comparación con el sorgo no extruido, particularmente para la extrusión a 180°C con un contenido de humedad del 20%, valores muy parecidos a nuestros resultados. Resultados similares a los obtenidos en este estudio fueron reportados por Amaya Villalva et.al., (2018), quien llevó a cabo un estudio en salvado de trigo fermentado y encontró que la mayor proporción de compuestos fenólicos correspondió a la fracción ligada y que independientemente del tratamiento de fermentación aplicado estas proporciones se mantuvieron.

De lo anterior se puede asumir que el incremento de fenoles libres en las muestras extrudidas no es atribuible en su totalidad a fenoles que estuvieran ligados. Probablemente pudiera ser atribuida a fenoles atrapados en la matriz alimenticia o unidos por interacciones más débiles (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas) que por acción del proceso de extrusión pudieron haber sido modificadas, dando lugar a la liberación de compuestos fenólicos.

Cuantificación de Ácido Ferúlico por UHPLC-DAD

La Tabla V, muestra el efecto del proceso de extrusión del salvado sobre el contenido de ácido ferúlico comparado con salvado no extrudido. Se encontró que el contenido de ácido ferúlico (fracción libre) se incrementó significativamente para ambos tratamientos de extrusión, siendo mayor el incremento en el salvado extrudido a H:30% y 140°C (STE-I) (+44%).

Tabla V. Contenido de Ácido ferúlico en salvado de trigo antes y después del proceso de extrusión. ^{1,2,3,4}

Tratamientos	Ácido Ferúlico		
	Extracción Metanólica	Extracción Alcalina	Ácido Ferúlico Total
	μgAF/g		
ST	42.84± 0.46 ^c (11)	3530.7±10.4 ^c (88.9)	3968.74 ±9.72 (100)
STE-I	76.54±0.46 ^a (1.7)	4384.3±10.4 ^b (98.3)	4460.84 ±6.32 (100)
STE-II	73.12±0.46 ^b (1.3)	5398.9±10.4 ^a (98.6)	5472.02 ±6.69 (100)

¹Los valores corresponden al promedio±error estándar.²Letras diferentes dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes a un nivel de $p<0.05$. ³El contenido de ácido ferúlico total indica la suma de las fracciones libres y ligados. ⁴Valores entre paréntesis corresponden al porcentaje de cada fracción respecto al contenido total. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

Respecto al ácido ferúlico ligado se observó un incremento significativo en ambos tratamientos de extrusión con relación al salvado no extrudido. Es posible sugerir una explicación similar a la dada para fenoles totales en donde probablemente pudo haberse presentado polimerización del ácido ferúlico o conjugación de los que pudieron haberse liberado o de los que se encontraban en su forma libre.

Por otra parte, es importante destacar que el incremento de ferúlico libre bien puede atribuirse por un lado a rompimiento de interacciones no covalentes. Aunque también ya ha sido reportado que el proceso de extrusión puede llegar incluso a romper enlaces de tipo covalente (Saulnier, 2001). En el mismo estudio presentado por Amaya Villalva et al., (2018), se reportó que el ácido ferúlico se incrementó cuando se aplicó un proceso fermentativo, no obstante, el ferúlico en su forma ligada se modificó ligeramente. Hemery et.al., (2010) demostraron que la mayor concentración de ácido ferúlico se encontraba en la fracción de salvado en comparación con harina (endospermo) y grano entero.

Actividad Antioxidante del Salvado Extrudido

En la Tabla VI, se muestran los resultados de actividad antioxidante en ST y en los salvados extrudidos (H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II)). Se puede observar que el proceso de extrusión en el salvado no afectó significativamente la actividad antioxidante en los extractos metanólicos por ambos ensayos (DPPH y TEAC) con respecto al salvado no extrudido, manteniéndose solo una tendencia hacia la reducción de los valores. Por otra parte, un efecto contrario se observó en la fracción ligada en donde la actividad antioxidante se incrementó de manera significativa para ambos salvados extrudidos con respecto al no extrudido.

Aparentemente el incremento en el contenido de fenoles totales y ácido ferúlico en su forma libre encontrados en los salvados extrudidos no fue suficiente como para marcar un incremento de la actividad antioxidante, en cambio el incremento de los fenoles ligados en los salvados extrudidos si mostró una relación con el incremento de la actividad antioxidante en la fracción alcalina.

Tabla VI. Actividad Antioxidante ($\mu\text{molET/g}$) de extractos metanólicos y alcalinos de salvado de trigo (ST) y salvado de trigo extrudido (STE).^{1,2,3}

Tratamiento	Extracto Metanólico	Extracto Alcalino	Total³
DPPH ($\mu\text{molET/g}$)			
ST	2.11 ± 0.06^a	8.18 ± 0.4^b	10.29 ± 0.7^c
STE-I	1.98 ± 0.04^a	10.15 ± 0.3^a	12.13 ± 0.5^b
STE-II	2.07 ± 0.04^a	10.07 ± 0.3^a	12.14 ± 0.4^a
TEAC ($\mu\text{molTE/g}$)			
ST	2.25 ± 0.03^a	13.87 ± 1.01^b	16.12 ± 0.3^c
STE-I	2.17 ± 0.03^a	19.50 ± 0.78^a	21.67 ± 1.3^b
STE-II	2.21 ± 0.03^a	21.02 ± 0.78^a	23.23 ± 0.03^a

¹Los valores corresponden al promedio de 3 repeticiones \pm error estándar.

²Letras diferentes dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes a un nivel de $p < 0.05$.

³El contenido de DPPH TEAC Total indica la suma de las fracciones libres y ligados. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H: 30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

Es relevante mencionar en primera instancia que el proceso de extrusión en salvado independientemente de la temperatura utilizada mejoró tanto el contenido de fenoles totales como el de ácido ferúlico en su fracción libre. No obstante, la temperatura de 180°C mostró un efecto, aunque no significativo sobre la liberación de fenoles totales comparado con el salvado tratado a H:30% y 140°C. Mientras que la temperatura de H:30% y 140°C mostró ser de mayor influencia para la liberación de ácido ferúlico.

Cabe destacar que las extracciones químicas de compuestos fenólicos no siempre van a ser reflejo del comportamiento que pudieran tener bajo condiciones fisiológicas, por ejemplo, durante el proceso de digestión gastrointestinal es posible que las condiciones de digestión conduzcan a otro proceso de liberación totalmente diferente al llevado a cabo por una extracción química. En la Figura 8 A se muestran los resultados para simulación de digestión gastrointestinal *in vitro* de fenoles totales libres para las fases de digestión en boca, gástrica e intestinal. Los resultados mostraron que los compuestos fenólicos presentes en ST, H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II) se incrementaron a medida que transcurrió el proceso de digestión, observándose los valores más altos en la fase intestinal. En esta fase de la digestión, el salvado extrudido a H:30% y 180°C (STE-II) fue el que presentó el mayor contenido de fenoles totales ($2062.1 \pm 87.7 \mu\text{gEAG/g}$) comparado con STE-I (H:30% y 140°C) ($1847.34 \pm 96.6 \mu\text{gEAG/g}$) y ST ($1847.34 \pm 96.6 \mu\text{gEAG/g}$) ($p < 0.05$).

Considerando el contenido de fenoles libres en las muestras antes del proceso de digestión (Ver Tabla VII) es posible considerar que hasta el proceso de digestión intestinal hubo un % de recuperación del 168%, 116% y 125% para ST, H:30%, 140°C (STE-I) y H:30%, 180°C (STE-II) respectivamente. Estos resultados pudieran indicar que las condiciones de digestión fueron favorables para la recuperación de más del 100% de los fenoles libres presentes en las muestras. No obstante, los salvados extrudidos no mostraron mejores porcentajes de recuperación en relación a los salvados sometidos a proceso de extrusión.

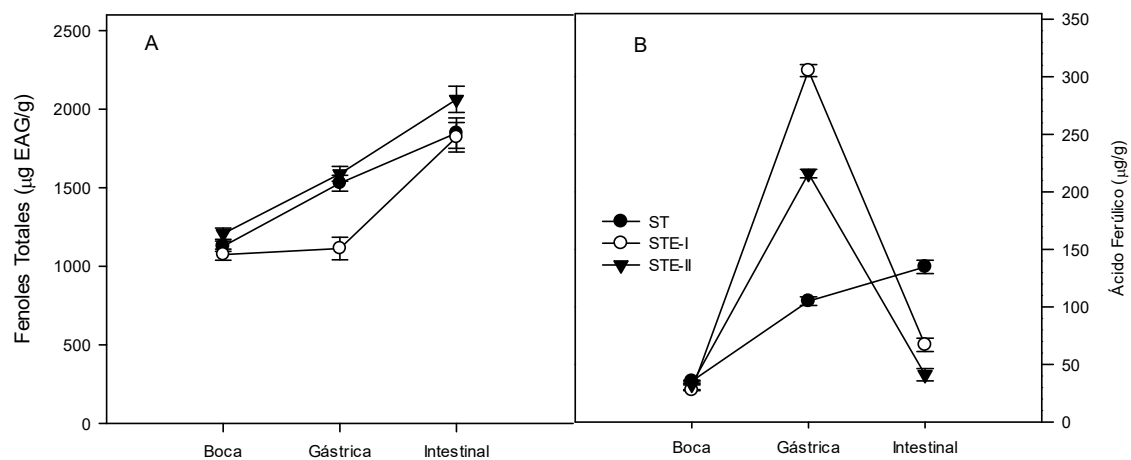


Figura 8. Contenido de fenoles totales (A) y ácido ferúlico (B) determinado a partir de salvado de trigo (1 g) extrudido y no extrudido, después del proceso de digestión *in vitro*. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

Tabla VII. Bioaccesibilidad y absorción aparente de fenoles totales presentes en salvado de trigo (1 g) antes y después de la extrusión.

Tratamiento	Fenoles Totales				
	Extracción Química ¹	Digestión Intestinal ² µgEAG/g	Fracción Dializable ³	%B ⁴	Absorción Aparente ⁵ %
ST	3624.42 ± 42.6 c	1891.8±36.1 ^b	260.7±3.0 ^b	52	7
STE-I	5214.8±94.1 ^a	1705.2± 121.9 ^b	303.8±7.0 ^a	32.6	5.8
STE-II	4741.5±81.5 ^b	2073.0±124.4 ^a	282.1±14.6 ^{ab}	43	5.9

1. Corresponde a los compuestos fenólicos totales (fracción libre + fracción ligada) obtenido por extracción química
2. Contenido de fenoles totales recuperado de la digestión intestinal
3. Contenido de fenoles totales recuperado de las bolsas de diálisis
4. % B= Porcentaje de bioaccesibilidad calculado como el contenido de fenoles totales recuperado de la etapa intestinal en relación al contenido de fenoles totales (extracción química) presente en las muestras
5. % Absorción aparente calculado como el contenido de fenoles totales recuperado en la bosas de diálisis en relación al contenido de fenoles totales (extracción química) presente en las muestras.
6. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:40% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

Ensayo de Simulación Gastrointestinal *in vitro*

Con relación al proceso de digestión gastrointestinal del ácido ferúlico presente en las muestras de salvado se observó una fluctuación en los valores a medida que avanzó la digestión, de tal manera que en la digestión gástrica se observaron los valores más altos para las muestras extrudidas (H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II), para posteriormente disminuir en la fase intestinal en donde STE-I presentó el valor más alto de ácido ferúlico ($67.0 \pm 5.8 \mu\text{gAF/g}$) comparado con H:30%, 180°C STE-II ($41.1 \pm 5.3 \mu\text{gAF/g}$), sin embargo, en ambos tratamientos no se alcanzaron valores de ácido ferúlico mayores al control (Figura 8 B). Los valores de actividad antioxidante para el ensayo de TEAC mostrados en esta etapa se presentaron más altos para el ST ($231.7 \pm 3.8 \mu\text{molET/g}$) comparados con STE-I (H:30% y 140°C) y STE-II (H:30% y 180°C) los cuales presentaron valores de $124.8 \pm 3.4 \mu\text{molET/g}$ y $119.1 \pm 3.4 \mu\text{molET/g}$ respectivamente (Figura 9 A). En relación con el ensayo de DPPH, los valores de actividad antioxidante mostraron un comportamiento distinto al presentado para el ensayo TEAC, en donde H:30%, 180°C (STE-II) mostro el mayor valor comparado con ST y H:30%, 140°C (STE-I) (Figura 9 B). Salazar-López y col., 2018 encontraron en su estudio que la actividad antioxidante es debida a los compuestos fenólicos totales y ácido ferúlico.

Determinación de Absorción Aparente

Además de determinar el porcentaje de recuperación de fenoles y ácido ferúlico libre durante el proceso de digestión gastrointestinal, la bioaccesibilidad es otra manera de evaluar la capacidad que tiene un componente de ser liberado de la matriz alimentaria por las condiciones de digestión gastrointestinal.

En la Tabla VII se puede observar que ninguno de los tratamientos de extrusión logró incrementar la bioaccesibilidad de fenoles totales con relación al salvado sin extrudir. Sin embargo, es posible resaltar que de los dos tratamientos el STE-II (H:30% y 180°C) mostró la mayor bioaccesibilidad (43%) comparado con STE-I (H:30% y 140°C) (32.6%).

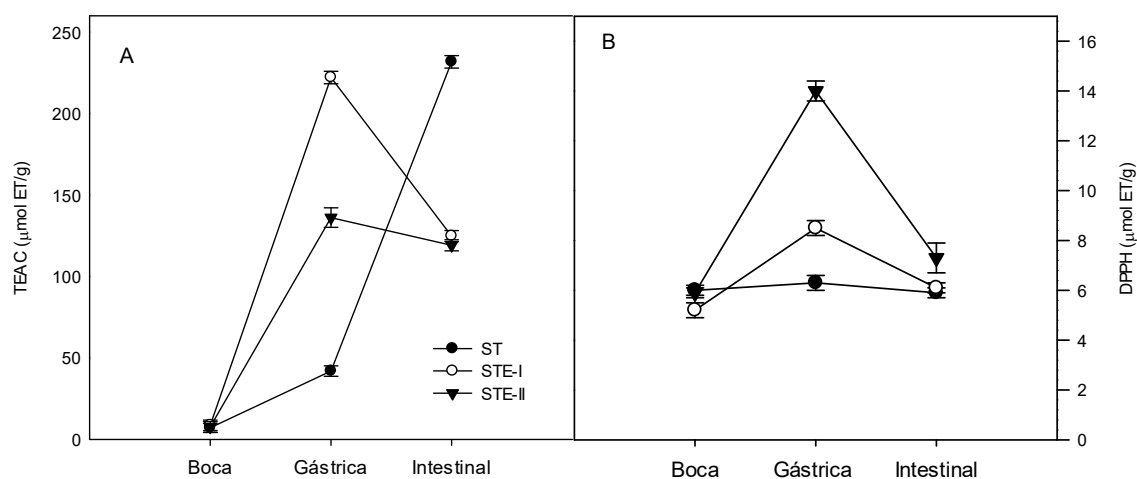


Figura 9. Actividad antioxidante determinada a partir de salvado de trigo (1 g) extrudido y no extrudido, después del proceso de digestión *in vitro*. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C (A) DPPH y (B) TEAC.

Por definición la bioaccesibilidad es la capacidad que tiene un componente para ser liberado de la matriz alimentaria por enzimas digestivas y disponibles para su absorción.

En la Tabla VII se muestra el porcentaje de absorción aparente de compuestos fenólicos la cual se obtuvo a partir de la cantidad de fenoles totales encontrados en la fracción dializables con relación a la reportada por extracción química para 1 g de muestra. Los resultados mostrados indican que la absorción aparente de fenoles totales provenientes de muestras de salvado H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II) fue menor comparada con la obtenida para salvado sin extrudir.

El comportamiento de la bioaccesibilidad de ácido ferúlico fue distinto al presentado para fenoles totales ya que en este caso el proceso de extrusión de salvado mostró una influencia sobre el porcentaje de bioaccesibilidad ya que se presentaron en ambos tratamientos los valores más altos con relación al salvado sin extrudir. El tratamiento H:30% y 140°C (STE-I) presentó un 1.5% de bioaccesibilidad lo que corresponde a un incremento del 72%, mientras que el H:30% y 180°C (STE-II) el incremento fue de 13% con relación al ST (Tabla VIII). Amaya-Villalva, y col., (2018) encontraron en su estudio con sujetos hombres sanos que la biodisponibilidad del ácido ferúlico del pan bioprocesado fue de 2-3 veces mayor que el pan elaborado con ST control. Por otro lado, es importante tener en cuenta que el ácido ferúlico libre AF libre puede ser absorbido directamente a nivel gastrointestinal, transportado, biotransformado ejerciendo su acción biológica.

De estos resultados es posible reportar el porcentaje de absorción aparente es decir la cantidad de ácido ferúlico que fue aparentemente absorbido (fracción dializable) a partir de 1 g de muestra. Estos resultados se reflejaron en el proceso de absorción aparente, en donde la mayor absorción de ferúlico se presentó de igual manera en H:30% y 140°C (STE-I) con un incremento del 60%.

Con relación a la actividad antioxidante durante el proceso de absorción aparente los resultados mostraron cierta consistencia con los presentados para la fracción dializable particularmente el ensayo de DPPH mostró los valores más altos en los salvados extrudidos comparado con el salvado sin extrudir (Figura 10).

Tabla VIII. Bioaccesibilidad y absorción aparente de ácido ferúlico presente en salvado de Trigo (1 g) antes y después de la extrusión.

Tratamiento	Ácido Ferúlico				
	Extracción Química ¹	Digestión Intestinal ²	Fracción Dializable ³	Bioaccesibilidad ⁴	Absorción Aparente ⁵
	µgAF/g			%	
ST	3968.7±9.7 ^c	34.8±5.8 ^a	42.8±0.01 ^c	0.87	1.07
STE-I	4460.1±7.2 ^b	67.0±5.8 ^b	76.5±0.6 ^a	1.5	1.71
STE-II	5472.7±8.7 ^a	41.1±5.3 ^b	73.1±0.5 ^b	0.75	1.33

1. Ácido ferúlico total (Ácido ferúlico libre + ácido ferúlico ligado) obtenido por extracción química
2. Contenido de ácido ferúlico recuperado de la digestión intestinal
3. Contenido de ácido ferúlico recuperado de las bolsas de diálisis
4. % Bioaccesibilidad calculado como el contenido de ácido ferúlico recuperado de la etapa intestinal en relación al contenido de ácido ferúlico total (extracción química) presente en las muestras
5. % Absorción aparente calculado como el contenido de ácido ferúlico recuperado en la bosas de diálisis en relación al contenido de ácido ferúlico total (extracción química) presente en las muestras
6. ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C.

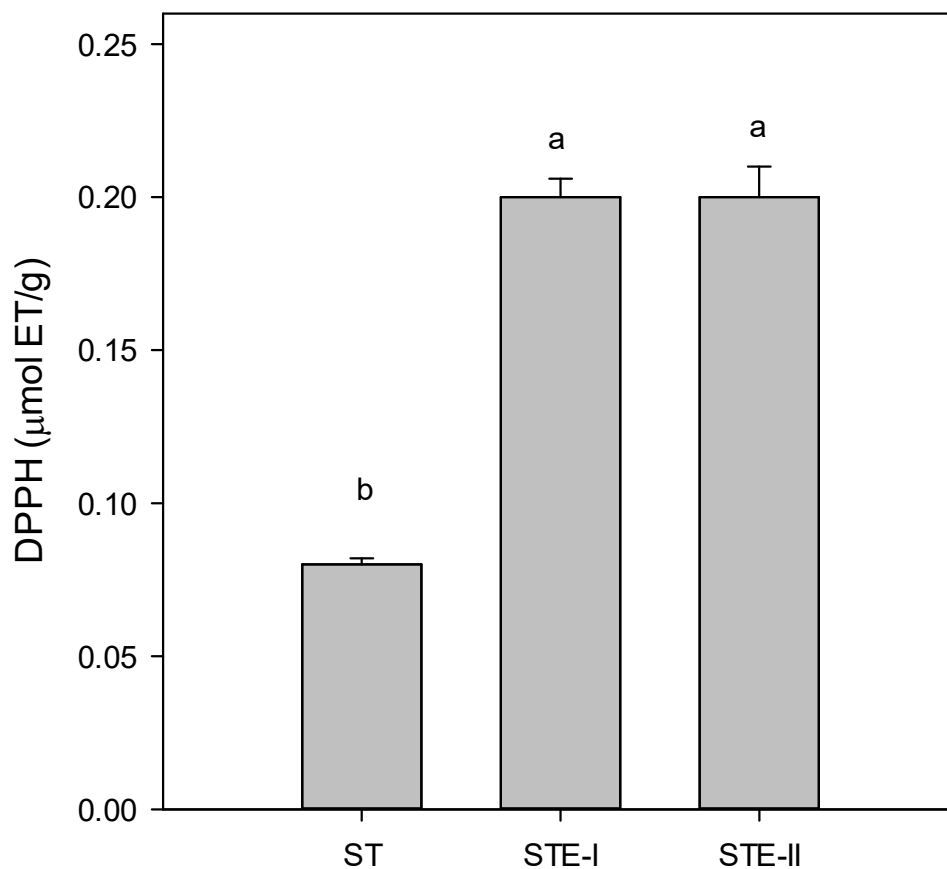


Figura 10. Capacidad antioxidante dializable medida por DPPH ($\mu\text{mol ET/g}$ de muestra) de salvado de trigo antes y después de la extrusión. Letras diferentes entre barras indican diferencia significativa ($p < 0.05$). ST: Salvado de trigo; STE-I: salvado de trigo extrudido a H:30% y 140°C ; STE-II: salvado de trigo extrudido a H:30% y 180°C .

Hasta esta parte del estudio es posible establecer que el proceso de extrusión en salvado de trigo mejoró el contenido de fenoles totales y ácido ferúlico libre, independientemente de la temperatura de extrusión aplicada. Estos resultados impactaron de manera significativa en el porcentaje de bioaccesibilidad y absorción aparente solo para el ácido ferúlico presente en el salvado extrudido a H:30% y 140°C (STE-I).

Cuantificación del Perfil de Lípidos en Suero (perfil bioquímico)

Se evaluó el efecto del consumo de dietas conteniendo 18% de salvado de trigo (STE-I y STE-II) y salvado no extrudido (ST) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa sobre el perfil de lípidos. En primer término, se estableció la condición de obesidad en las ratas, (hiperlipidemia) a través de la comparación con una dieta basal. Se observó que, para colesterol total, triglicéridos, y LDL-C la inducción fue estadísticamente significativa y a partir de estos resultados se analizaron los efectos de los tratamientos sobre las ratas con obesidad inducida.

En la Figura 11 A y B se muestra que las ratas obesas alimentadas con ST, H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II) retrasaron el incremento de colesterol y triglicéridos en el plasma de las ratas después de 60 días de administración de las dietas con respecto a las ratas que fueron alimentadas con DAG. En promedio se observó para colesterol total un retraso en el incremento del 20% para las tres muestras evaluadas, mientras que para triglicéridos la disminución fue del 62% en promedio para los tres tratamientos.

Con respecto al HDL-C (Figura 12 A) se mostró un retraso en el incremento de esta fracción del colesterol en las muestras conteniendo salvado de trigo, esta reducción fue menor en aquellas muestras con salvado de trigo extrudido sin mostrar diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p>0.05$). Con relación al LDL-C (Figura 12 B) se observó un retraso en el incremento en las muestras conteniendo salvado de trigo, esta reducción fue menor en aquellas muestras con salvado de trigo extrudido sin diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p>0.05$).

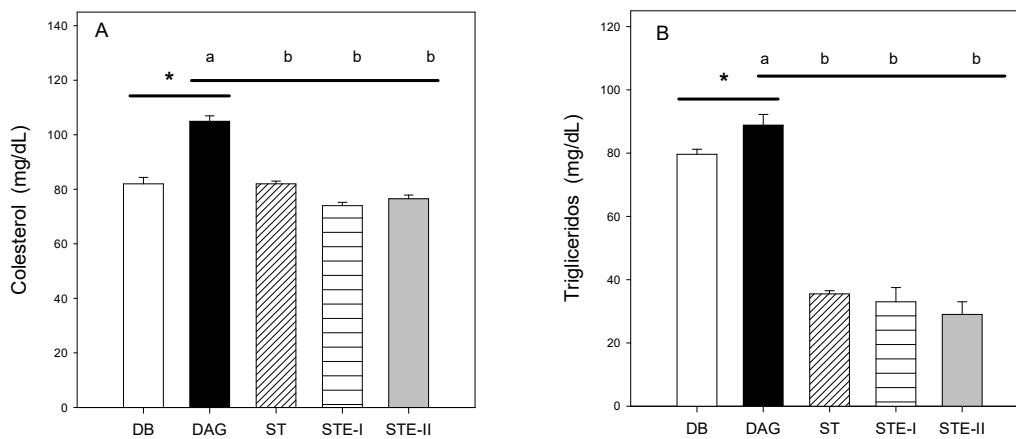


Figura 11. Concentración (mg/dL) de colesterol total (A) y triglicéridos (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación. Cada barra representa la media±CME. (*) representa diferencia significativa entre dieta basal (DB) y DAG. Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG.

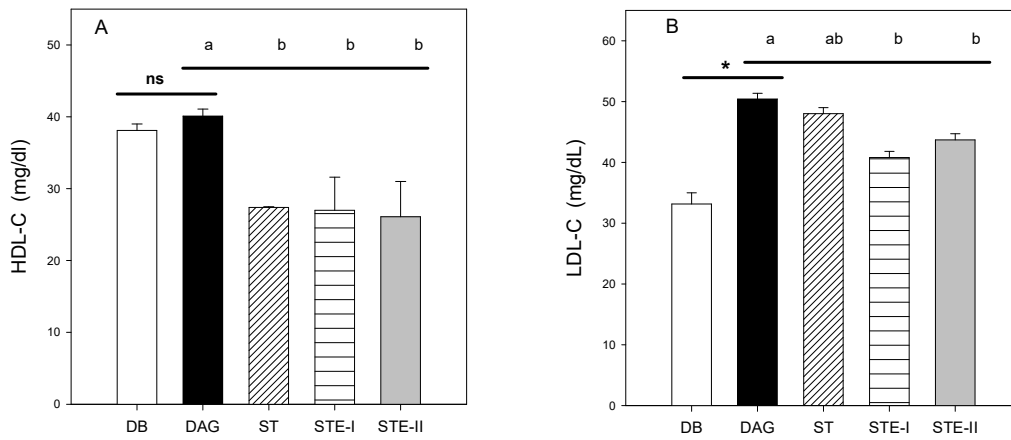


Figura 12. Concentración (mg/dL) de HDL-C (A) y LDL-C (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación. Cada barra representa la media±CME. (*) representa diferencia significativa entre dieta basal (DB) y DAG. Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG.

Las dietas conteniendo H:30% y 140°C (STE-I) y H:30% y 180°C (STE-II) lograron retrasar el incremento hasta en un 20% y 13% respectivamente. Las dietas altas en grasa conteniendo salvado de trigo mejoraron el índice aterogénico, particularmente las dietas conteniendo STE-I y STE-II lograron un retraso del 31% y 32% respectivamente ($p>0.05$) (Figura 13).

Salazar-Lopez et.al., (2017), encontraron un retraso en el incremento para colesterol total (16%), LDL-C (20%), triglicéridos (12% y el IA (22%) en un estudio con ratas alimentadas con una (DAG+Acido ferulico). Junejo, (2019), encontraron que hubo un retraso en el incremento del colesterol total (19%), triglicéridos (23.77%) y LDL-C (18.07%) en ratas Sprague–Dawley alimentadas con una dieta alta en grasa. Kwon et al, (2010) y Salazar-López et.al., (2017), reportaron que la ingesta de ácido ferúlico podría disminuir el riesgo de enfermedad coronaria asociado con sobrepeso y obesidad mediante la reducción del perfil de lípidos. Ya que tiene propiedades anterogénicas. Salazar-López et.al., (2017), encontraron que la DAG+AF mejoró el índice aterogénico aproximadamente (22%).

Biomarcadores de Inflamación

Se evaluó el efecto del consumo de dietas altas en grasa suplementadas con ST, STE-I (H:30% y 140°C) y STE-II (H:30% y 180°C) sobre biomarcadores de inflamación. Comparando dieta basal (DB) y dieta alta en grasa (DAG), se encontró que de los 12 biomarcadores analizados solamente cinco de ellos resultaron ser significativos ($p<0.05$). La obesidad es considerada una inflamación crónica de baja intensidad, que puede contribuir de varias maneras provocando un desequilibrio en el estrés oxidativo (Rosa et.al., (2014); Deng et.al., (2016).

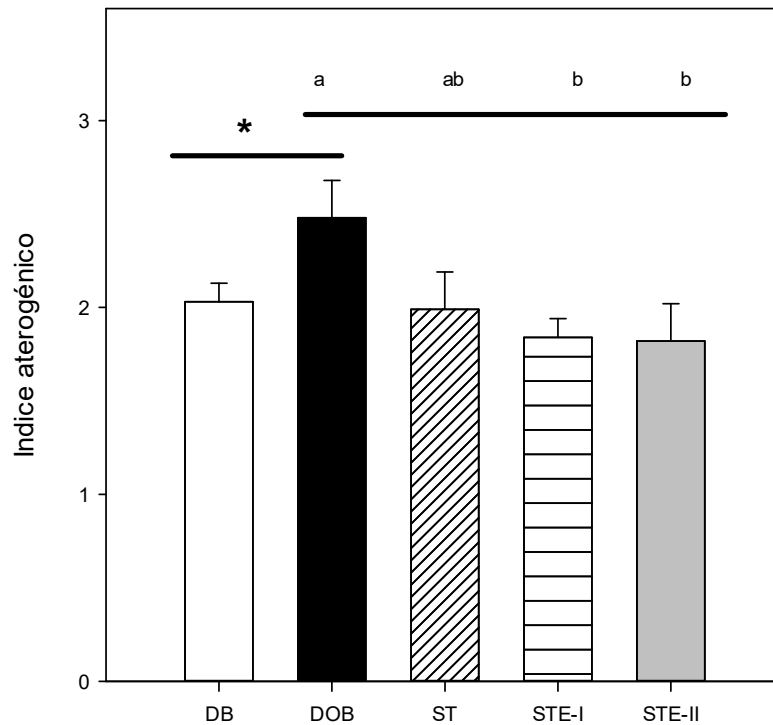


Figura 13. Índice aterogénico de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación. Cada barra representa la media±CME. (*) representa diferencia significativa entre dieta basal (DB) y DAG. Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG.

En el presente estudio, el síndrome metabólico inducido por una dieta alta en grasas está asociado a la liberación de citocinas inflamatorias, La inhibición de estas citocinas inflamatorias mediante la suplementación dietética de salvado de trigo extrudido y sin extrudir puede contribuir a la disminución de las citosinas. Además, un estado inflamatorio crónico es una de las características importantes del síndrome metabólico (Senaphan et al., 2015). Nuestros resultados demuestran que el salvado de trigo extrudido en la dieta disminuyó la inflamación al inhibir en gran medida la liberación de citocinas inflamatorias.

En la Figura 14 (A) se puede observar una reducción de la producción de IL-1 α en las ratas alimentadas con DAG comparado con DB (93% vs 100%). Cuando se administraron dietas conteniendo DAG-ST, DAG-STE-I y DAG-STE-II, se observó un incremento significativo en la producción de esta interleucina con respecto a las ratas alimentadas con DAG, correspondiendo los valores más altos a las ratas alimentadas con DAG-STE-I (300%).

La interleucina 1 α (IL-1 α) y la IL-1 β (Figura 14 B) son citocinas inflamatorias igual de potentes que activan el proceso inflamatorio, su señalización descontrolada provoca enfermedades que se manifiestan por una inflamación aguda o crónica. A pesar de que se han estudiado ampliamente, hasta la fecha el papel en el proceso inflamatorio no ha sido completamente comprendido. La IL-1 α se expresa constitutivamente en muchos tipos de células en tejidos sanos y su expresión se puede incrementar en respuesta a estímulos proinflamatorios o asociados al estrés. Las cantidades de IL-1 α varían entre los tipos de células, sin embargo, las células epiteliales y el tejido endotelial es una barrera para expresar las cantidades suficientes de esta citosina. Las propiedades moleculares de IL-1 α e IL-1 β presentan similitud entre estas citosinas. A pesar de estas semejanzas tienen diferentes secuencias de aminoácidos, y los factores que controlan su función y biodisponibilidad son muy diferentes.

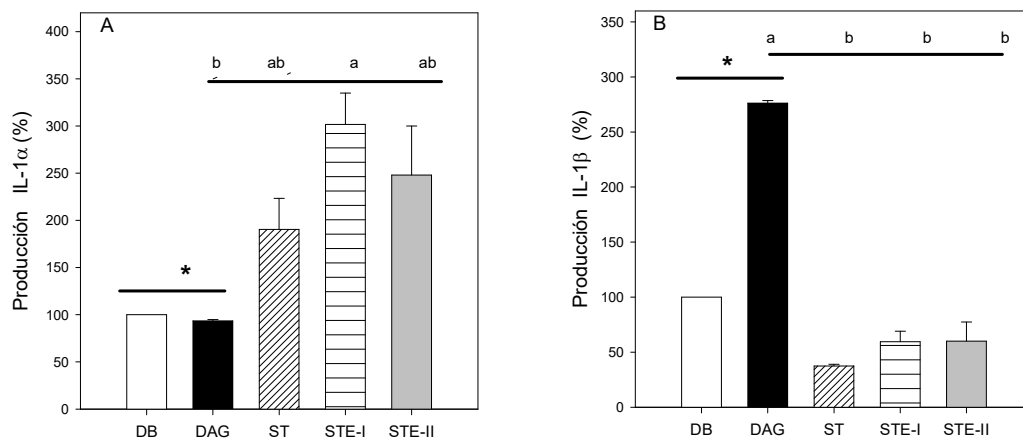


Figura 14. Producción (%) de interleucina-1 (IL-1 α) (A) e interleucina 1 β (IL-1 β) (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB). Cada barra representa la media \pm CME. (*) representa diferencia significativa entre DB y DAG. Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG

En este estudio se encontró que cuando se administraron dietas conteniendo DAG-STE, se observó un incremento significativo en la producción de esta IL-1 α con respecto a las ratas alimentadas con DAG. Esto podría ser la causa de este aumento que a pesar de que IL-1 α es pro-inflamatoria incrementó significativamente. La IL-1 α tiene una serie de características únicas, tiene una respuesta muy amplia de estímulos. Existen muchas preguntas relacionadas con la biología de IL-1 α y sin respuesta, esto puede deberse también al efecto sinérgico de los compuestos fenólicos, y pudo haber facilitado la reducción de la inflamación (Paolo y Shayakhmetov, 2017). En la Figura 14 B se puede observar que IL-1 β aumentó su producción (276%) en las ratas alimentadas con DAG comparado con DB (100%).

Cuando se administraron dietas conteniendo DAG-ST, DAG-STE-I y DAG-STE-II, se observó una reducción de la producción con respecto a las ratas alimentadas con DAG, sin diferencias significativas entre los tratamientos administrados. Salazar-López et.al., (2017), observó en su estudio que al alimentar a ratas con una DAG+ácido ferúlico (AF) disminuyó la IL-1 β .

En un estudio realizado por Salazar-López et.al., (2016), evaluaron las principales citocinas producidas después de ocho semanas con una dieta alta en grasa (DAG), encontraron un aumento significativo en la producción de IL-1 β , IL-4 y IL-6 en comparación con los niveles séricos en el grupo de la dieta basal (BD). En ese estudio, se investigó el efecto del ácido ferúlico adicionado a las (DAG) sobre los biomarcadores de inflamación los cuales disminuyeron. Estos resultados indicaron que el ácido ferúlico reguló los biomarcadores inflamatorios inducidos por la (DAG), que son factores determinantes en la homeostasis de los lípidos, glucosa e inflamación.

La producción de IL-4 aumentó en las ratas alimentadas con DAG con respecto a la DB (115% vs 100%). Las ratas alimentadas con DAG-STE-I mostraron los valores más bajos de producción de IL-4 comparado con la presentada en ratas alimentadas con DAG ($p < 0.05$).

La interleucina-4 (IL-4) es una glucoproteína del grupo de las citocinas, y es producida por las células T de tipo 2 (Th2). Actúa indirectamente como antiinflamatorio al bloquear la síntesis de IL-1 α , TNF-alfa, IL-6. La IL-4 es una citosina que participa en la regulación del sistema inmune e interviene de en la regulación de la inmunidad humoral (Deng et.al., 2016).

Interleucina IL-6 incrementó su producción en las ratas alimentadas con DAG comparada con DB. Cuando se administraron las dietas con salvado de trigo se observó una reducción tanto en las dietas con salvado no extrudido como en ambos tratamientos comparado con las dietas DAG, correspondiendo la menor producción a las ratas alimentadas con STE-I (72% vs 110%) (Figura 15 A y B).

Un estudio llevado a cabo por Wang et.al. (2018), tuvo como objetivo principal inducir la obesidad a ratones por una dieta alta en grasa. La IL-6 y TNF- α en suero se elevaron cuando se indujo la obesidad a los ratones ($p < 0.05$). Además, el tratamiento con ácido ferúlico disminuyó el proceso de inflamación en gran medida cuando se disminuyó la liberación de citosinas (IL-6 y TNF- α) en ratones alimentados con una dieta alta en grasa ($p < 0.05$). Los resultados de Wang et.al., (2018) sugieren que el ácido ferúlico podría ser un tratamiento potencial en las enfermedades asociadas con la obesidad, como la diabetes tipo 2 e inflamación y síndrome metabólico, el cual es el conjunto de trastornos metabólicos que consisten en resistencia a la insulina, hiperglucemia, dislipidemia, adiposidad central e hipertensión (Wang et.al., 2018).

La Figura 16 muestra una ligera reducción en la producción de factor estimulante de formadores de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) (por sus siglas en inglés Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating) en ratas alimentadas con dieta alta en grasa comparada con la dieta basal, cuando se administró salvado de trigo a las ratas obesogénicas la mayor producción de este biomarcador se encontró en las que recibieron H:30%, 140°C (STE-I). Este comportamiento se presentó en el estudio de Salazar-López et.al., (2016) al agregarle ácido ferúlico.

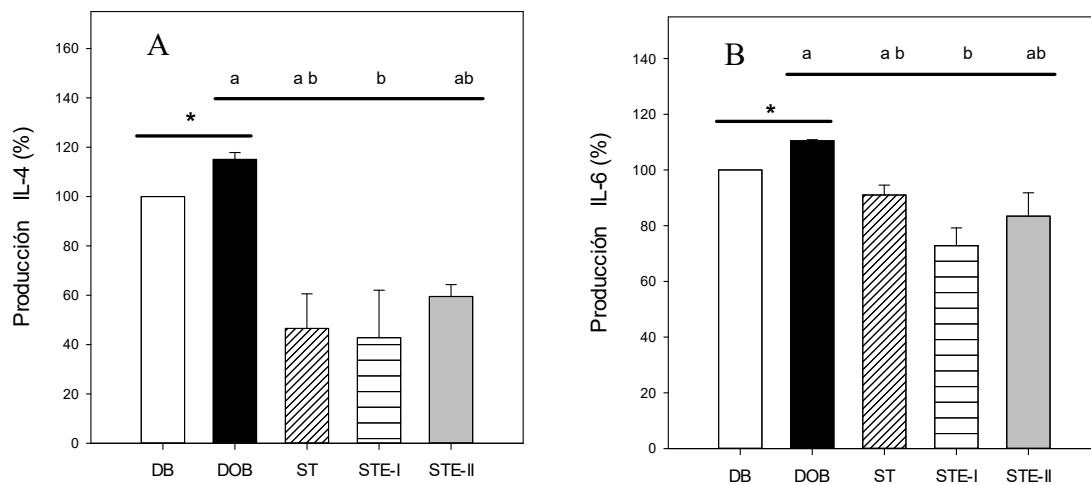


Figura 15. Producción (%) de interleucina-4 (IL-4) (A) e interleucina-6 (IL-6) (B) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB). Cada barra representa la media±CME. (*) representa diferencia significativa entre DB y DAG). Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG.

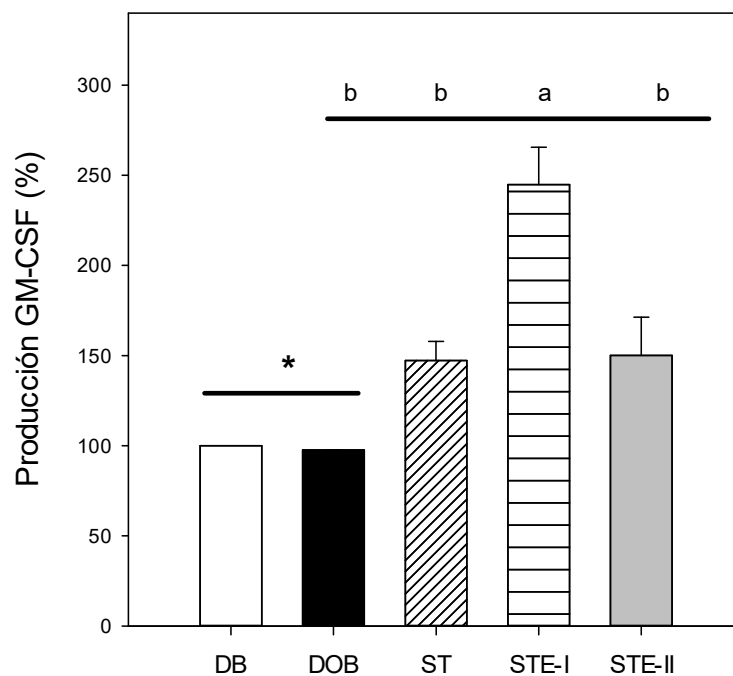


Figura 16. Producción (%) de factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF) en plasma de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG), DAG + salvado de trigo (ST), DAG + ST extrudido a H:30% y 140°C, DAG+ST extrudido a H:30% y 180°C después de 60 días de alimentación, comparado con la producción (100%) de dieta basal (DB). Cada barra representa la media±CME. (*) representa diferencia significativa entre DB y DAG). Letras diferentes en las barras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos dietarios versus DAG.

El GM-CSF es una glucoproteína producida por linfocitos T, monocitos, células endoteliales y fibroblastos. Estimula de forma preferencial la formación de colonias de granulocitos y macrófagos, y en menor medida la formación de colonias de eosinófilos. Igualmente, en combinación con la eritropoyetina, interviene en el desarrollo de los eritrocitos. De igual manera que la interleucina 1 α (IL-1 α), el GM-CSF se encontró en las ratas alimentadas con (DAG+STE). Esto puede deberse al efecto sinérgico de compuestos fenólicos, fibra dietética en harina de sorgo extruido que pudo haber facilitado la reducción de la inflamación (Marques-Arbex et.al., 2018).

CONCLUSIONES

El proceso de extrusión en salvado de trigo mejora el contenido de fenoles totales libres independientemente de la temperatura aplicada con relación a salvado de trigo no extrudido. Con respecto a la temperatura de extrusión a una humedad de alimentación a 30% y a 140°C mejora el contenido de ácido ferúlico en el salvado de trigo comparada con la humedad de alimentación a 30% y a 180°C, mientras que la actividad antioxidante mejoró con el proceso de extrusión del salvado de trigo y puede ser atribuido al contenido de fenoles ligados y ácido ferúlico ligado.

Por otra parte, el salvado extrudido no mejora la bioaccesibilidad ni absorción aparente de fenoles totales presentes en el salvado de trigo, pero si la de ácido ferúlico, en donde la temperatura de extrusión con mayor efecto fue a una humedad de alimentación a 30% y a 140°C. El salvado de trigo modula cambios en las citocinas independientemente del proceso de extrusión. Sin embargo, se observó un incremento en la producción de citocinas anti inflamatorias como la IL-1 α y GM-CSF y una reducción de interleucinas pro inflamatorias como la IL-1 β , IL-4 e IL-6 en el suero de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa y salvado de trigo (extrudido y sin extrudir) mostrando el mayor efecto en el salvado de trigo extrudido a una humedad de alimentación a 30% y 140°C, en cuanto a la producción de estas citocinas comparado con las ratas alimentadas con una dieta alta en grasa. No obstante, el tratamiento de extrusión a una humedad de alimentación a 30% y 140°C quien fue el que mostró los cambios con mayor significancia. Las dietas altas en grasa conteniendo salvado de trigo mejoraron el índice aterogénico, particularmente las dietas conteniendo salvado de trigo extrudido a una humedad de alimentación de 30% y 140°C) y a una humeada de alimentación de 30% y 180°C. El salvado de trigo extrudido a una humedad de alimentación de 30% y 180°C retrasó el incremento de colesterol total y triglicéridos en el suero de ratas alimentadas con una dieta alta en grasa. El salvado de trigo extrudido a cualquier temperatura mejoró el índice aterogénico.

En el salvado de trigo extrudido con una humedad de alimentación a 30% y 140°C se incrementó la IL-1 α y el GM-CSF y disminuyó la IL-4 y la IL-6 en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa+salvado de trigo extrudido.

REFERENCIAS

- Abozed, S.S. El-kalyoubi, M., Abdelrashid, A., Salama, M.F. 2014. Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. *Annals of Agricultural Sciences*. 59:(1),63-67.
- Adom, K.K and Liu R.H. 2002. Antioxidant Activity of Grains. *J. Agric. Food Chem.*, 50:6182-6187.
- Alam, M.S, Kaur J, Khaira H, Gupta K. 2016. Extrusion and extruded products: Changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 56:3,445-75.
- Altan, A., McCarthy, K.L., Maskan, M. 2009. Effect of extrusion process on antioxidant activity, total phenolics and beta-glucan content of extrudates developed from barley-fruit and vegetable by-products. *International Journal of Food Science and Technology*. 44:1263-1271.
- Amaya-Villalva, M.F., González-Aguilar, G.A., Rouzaud-Sáñez, O., Astiazarán-García H.F., Ledesma-Osuna, A.I., López-Ahumada G.A. y Robles-Sánchez R.M. 2018. Bioprocessing of wheat (*Triticum aestivum* cv. Kronstad) bran from Northwest Mexico: effects on ferulic acid bioaccessibility in breads *CyTA. Journal of Food*. 16:(1),570-579.
- Amrein, T.M., Gränicher P., Arrigon, E., Amadò R. 2003. *In vitro* digestibility and colonic fermentability of aleurone isolated from wheat bran *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*. 36,451-460.
- Anton, N., Benoit, J.P., Saulnier, P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates A review. *Journal of Controlled Release*. 128:(3),185-199.
- Anvar, U., Buranov G., Mazza, G. 2009. Extraction and purification of ferulic acid from flax shives, wheat and corn bran by alkaline hydrolysis and pressurised solvents. *Food Chemistry*. 115:(4),1542-1548.

- Awika, J.M. Rooney, L.W., Wu, R.X., Prior, L., Cisneros-Zevallos Luis. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *J. Agric. Food Chem.*, 51:(23),6657-6662.
- Baublis, A.J., Clydestale, F.M., and Decker, E.A 2000. Antioxidants in wheat-based breakfast cereals. *Cereal Foods World*, 45:71-75.
- Beckman, CH. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants?. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 57:101-110.
- Belobrajdic, D.P. y Bird, A.R. 2013. The Potential role of phytochemicals in wholegrain cereals for the prevention of type-2 Diabetes. *Nutrition Journal*. 62:12-62.
- Bhat, N.A., Wani, I.A., Hamdani, A.M., Gani, A. 2019. Effect of extrusion on the physicochemical and antioxidant properties of value added snacks from whole wheat (*Triticum aestivum L.*) flour. *Food Chemistry*. 276, 22-32.
- Bon, G.B. 2008. Adipose tissue: a multifunctional organ. *Giornale Italiano di cardiologia (2006)*, 9(4 Suppl 1):23S-8S.
- Bordenave, N., Hamaker, B.R, y Ferruzi, M.G. 2014. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food and Function*. 5:(1),18-34.
- Borneo, R. and del León A.E. 2012. Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food Funct.*, 3:110-119.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. 2011. Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*. 128:(1),14-21.
- Boyer, J.S., Westgate, M.E. 2004. Grain yields with limited water. *Journal of Experimental Botany*. 55:407,2385-2394.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28:(1),25-30.

- Brennan, M.A., Monro, J.A., Brennan, C.S. (2008). Effect of inclusion of soluble and insoluble fibres into extruded breakfast cereal products made with reverse screw configuration. *International Journal of Food Science and Technology*. 43:2278-2288.
- Brouns, F., Hemery, Y., Price, R. y Mateo, N. 2012. Wheat aleurone: Separation, composition, health aspects, and potential food use. *Crit Rev Food.*, 52:(6),553-68.
- Bunzel, M., Ralph, K., Marita, J. y Steinhart, H. 2000. The importance of GRAS to the functional food and nutraceutical industries *J. Agric. Food Chem.* 48, 3166-3169.
- Burdock, G.A., Carabin, I.G., Griffiths, J.C. (2006). *Toxicology*, 22:(1),17-27.
- Burdock, G.A., Carabin, I.G., Griffiths, J.C. 2006. The importance of GRAS to the functional food and nutraceutical industries. *Toxicology*. 22:(1),17-27.
- Carvajal-Millan, E.V. Landillon, Morel, M.H., Rouau, X., Doublier, J.L, Micard, V. 2005 Arabinoxylan gels: impact of feruloylation degree on their structure and properties. *Biomacromolecules*. 6,309-317.
- Chandrasekara, A. Shahidi, F. 2010. Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.*, 58:6706-6714.
- Chamayou, A. and Fages, J. 2003. Broyage dans les industries agroalimentaires. *Sciences and Techniques Agroalimentaires*, 978,375-406.
- Chiremba, C., J.R.N. Taylor, Ll.W. Rooney and T. Beta 2012. Phenolic acid content of sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Food Chemistry.*, 134:81-88.
- Choi, Y., Lee, J., Lee, M., Lee, S., Jeong, H., Kang, H. 2017. Splenic T cell and intestinal IgA responses after supplementation of soluble arabinoxylan-enriched wheat bran in mice. *Journal of Functional Foods*. 28:246-253.
- Dlamini, N.R., Taylor, J.R.N. Rooney, Ll.W. 2007. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. *Food Chemistry*. 105:(4),1412-1419.
- Eastman, J., Lee, G. 2005. Whole grains in extruded products. *Cereal Foods World*. 50 (4), 168-172.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P.I., López-Cervantes, J, Figueroa-Cárdenas, J.D., Barrón-Hoyos, J.M., Morales-Rosas, I., Ponce-García, N.

- and Gutiérrez-Dorado, R. 2014. Obtaining ready-to-eat blue corn expanded snacks with anthocyanins using an extrusion process and response surface methodology. *Molecules*. 19:21066-21084.
- FAO OCDE/FAO. 2018. *Perspectivas Agrícolas 2018-2022*, Texcoco, Estado de México, Universidad Autónoma Chapingo.
- Fardet, A. 2010. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre?, *Nutr Res Rev.*, 23:65-134.
- Fardet, A., Rock E. and Rémésy Ch. 2008. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. *Journal of Cereal Science*. 48:258-276.
- Gani, A., Wani, S.M., Masoodi, F.A. and Hameed G. 2012. Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: A Review. *J Food Process Technol.*, 3:(3),146-156.
- Garg M.K., Dutta M.K., Mahalle N. 2012. Adipokines (adiponectin and plasminogen activator inhibitor-1) in metabolic syndrome. *Ind J Endocrinol Metabol.*, 16:(1),116.
- Goesaert, Brijs, K., Veraverbeke, W.S., Courtin, C.M., Gebruers, K. y Delcour, J.A. 2005. Wheat flour constituents: How they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science and Technology*.,16:12-30.
- Gu, L., House, S. E., Rooney, L.W., Prior, R.L. 2008. Sorghum extrusion increases bioavailability of catechins in weanling pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:(4),1283-1288.
- Guo, W. and Beta T. 2013. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Research International*. 51:518-525.
- Guy, R. 2001. *Extrusion cooking Technologies and applications*. Woodhead Publishing Limited. Washington, DC.
- Hajhashemi, V., Vaseghi, G., Pourfarzam, M., and Abdollahi, A. 2010. Are antioxidants helpful for disease prevention?. *Res Pharm Sci.*, 5:(1),1-8.

- Hassan, H.A.; El-Gharib, N.E. 2015. Obesity and clinical riskiness relationship: Therapeutic management by dietary antioxidant supplementation-A Review. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 173,647-669.
- Hemery, Y., Rouau, X., Lullien-Pellerin, V., Barron, C., Abecassis, J. 2007. Dry Processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *J. Cereal Sci.*, 46:327-347.
- Hemery, Y.M., Mateo Anson, N., Havenaar, R., Haenen, G.R.M.M., Noort, M.W.J. and Rouau, X. 2010. Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Research International*. 43:1429-1438.
- Hoseney, C.R. 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. 1ra, Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). Pág. 4-6, 14, 27, 96, 97.
- Jacques-Fajardo, G.E, Prado-Ramírez R, Arriola-Guevara E, Pérez-Carrillo, E, Espinosa-Andrews H, Guatemala-Morales G.M. 2017. Physical and hydration properties of expanded extrudates from a blue corn, yellow pea and oat bran blend. *LWT. Food Sci Technol.*, 84,804-814.
- Jenkins, D.J.A., Kendall, C.W.C., Augustin, L.S.A., Martini, M.C., Axelsen, M., Faulkner D., Vidgen, E., Parker, T. Lau, H., Connelly, P.W., Teitel, J., Singer, W., Vandenbroucke, A.C., Leiter, L.A., and Josse, R.G. 2002. Effect of wheat bran on glycemic control and risk factors for cardiovascular disease in Type 2 Diabetes. *American Diabetes Association*. 25:(9),1522-1528.
- Jung, U.J.; Choi, M. 2014. Obesity and its metabolic complications: The role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 15,6184-6223.
- Khullar, M., Al-Shudiefat, A.A.R.S., Ludke, A., Binopal, G., y Singal, P.K. 2010. Oxidative stress: a key contributor to diabetic cardiomyopathy, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 88:(3),233-240.
- Li, H., Horke, S., Förstermann, U. 2014. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 237:208-219.

- Lima-Viera, R.L., Nascimento de Freitas, R. y Pinheiro A.C. 2014. Adhesion molecules and chemokines: Relation to anthropometric, body composition, biochemical and dietary variables., *Nutricion Hospitalaria*. 30:(2),223-236.
- Marques-Arbex, P., de Castro-Moreira, M.E., Lopes-Toledo, R.C., de Moraes-Cardoso L. Pinheiro-Sant'ana, H.M., dos Anjos-Benjamin, L., Licursi, L., Piler-Carvalho, C.W., Vieira-Queiroz, V.A., Duarte-Martin, H.S. 2018. Extruded sorghum flour (*Sorghum bicolor L.*) modulate adiposity and inflammation in high fat diet-induced obese rats. *Journal of Functional Foods*. 42:346-355.
- Mateo-Anson, N., Selinheimo, E., Havenaar, R., Aura, A.M., Mattila, I, Lehtinen, P., Bast, A., Poutanen, K. y Haenen, G.R.M.M. 2009. Bioprocessing of wheat bran improves *in vitro* bioaccessibility and colonic metabolism of phenolic compounds., *J. Agric. Food Chem.*, 57:6148-6155.
- Mateo-Anson, N., Aura, A.M., Selinheimo, Mattila, E.I., Poutanen, K, Van den Berg, R, Havenaar, R., Bast, A., Haenen, G.R. 2011. Bioprocessing of wheat bran in whole wheat bread increases the bioavailability of phenolic acids in men and exerts antiinflammatory effects *ex vivo*. *J Nutr.*, 141:137-143.
- Morales-Ortega, A., Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Gardea-Béjar, A., Torres-Chávez, P., López-Franco, Y., Rascón-Chu, A., y Lizardi-Mendoza, J. 2013. Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics and gelling capability., *Rev. Fitotec. Mex.* 36:(4),439-446.
- Naczki, M. y Shahidi, F. 2006 Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis Review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41:1523-1542.
- Navarrete, S., Alarcón, M., Palomo, I. 2015. Aqueous extract of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) and ferulic acid reduce the expression of TNF- α and IL-1 β in LPS-Activated macrophages. *Molecules*. 20:15319-15329.
- Paolo, N.C. Di y Shayakhmetov, D.M. 2017. Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nat. Immunol.* 17(8):906-913.

- Palafox-Carlos, H., Ayala-Zavala, J.F. y González-Aguilar, G.A. 2011. The Role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*. 76:(1),R6-R15.
- Parada, J., y Aguilera, J. M. 2007. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of food science*. 72:(2),R21-R32.
- Pellegrini N., K. R., Yang M. and Rice-Evans C. 1999). Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation decolorization assay. *Methods in Enzimology*. 299,379-389.
- Pérez-Jiménez, J., Serrano, J., Tabernero, M., Arranz, S., Díaz-Rubio, M.E., García-Diz, L., Goñi, I., 2008. Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular diseases Risk Factors. *Nutrition*. 24:(7-8),646-653.
- Pinheiro A.R.O., Freitas S.F.T., Corso A.C.T. 2004. Uma abordagem epidemiológica da Obesidade. *Rev Nutr.*, 17:(4),523-33.
- Poutanen, K. 2012. Past and future of cereal grains as food for health. *Trends in Food Science and Technology*. 25:(2),58-62.
- Reeves, P.G.; Nielsen, F.H.; Fahey, G.C.J. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 123:1939-1951.
- Rocha, V.Z. y Folco, E.J. 2011. Inflammatory concepts of obesity. *International Journal of Inflammation*, Article ID 529061,14.
- Rosa, N.N., Pekkinen, J., Zavala, K., Fouret, G., Korkmaz, A., Feillet-Coudray, Ch., Atalay M., Hanhineva, K., Mykkänen, H., Poutanen, K., Micard, V. 2014. Impact of Wheat Aleurone Structure on Metabolic Disorders Caused. *J. Agric. Food Chem.*, 62,10101-10109.
- Ruíz, N.A. 2005. Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros. *Rev Chil Nutr.*, 32:(3),191-199.
- SADER 2018. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://www.gob.mx/agricultura>.

- Salazar-López, N., Astiazarán-García H., González-Aguilar, G.A., Loarca-Piña G., Ezquerro-Brauer, J.M., J. Domínguez Ávila A. and Robles-Sánchez M. 2017. Ferulic acid on glucose dysregulation, dyslipidemia, and inflammation in diet-induced obese rats: An integrated study, *Nutrients*. 9:675.
- Salazar-López, N.J., Loarca-Piña, G., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Morales-Sánchez E., Esquerro-Brauer, J.M., González-Aguilar, G.A. and Robles-Sánchez, M. 2016. The extrusion process as an alternative for improving the biological potential of sorghum bran: phenolic compounds and antiradical and anti-inflammatory capacity. *Hindawi publishing corporation*. 8387975,1-8.
- Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, Saura-Calixto, F. and Borderías, A.J. 2007. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by Different Methodologies. *Food Chemistry*. 101:(1),372-378.
- Saulnier, L., Marot, C., Elgorriaga, M., Bonnin E. and Thibault, J.F. 2001. Thermal and enzymatic treatments for the release of free ferulic acid from maize bran. *Carbohydrate Polymers*. 4:(5),269-275.
- Saura-Calixto, F. 2010. Dietary Fiber as a carrier of dietary antioxidants: As essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:(1),43-49.
- Senaphan, K. Kukongviriyapan, U., Sangartit, W., Pakdeechote, P., Pannangpetch, P., Prachaney, P., Greenwald, S.E. and Kukongviriyapan, V. 2015. Ferulic acid alleviates changes in a rat model of metabolic syndrome induced by high-carbohydrate, high-fat diet. *Nutrients*. 7(8):6446-6464.
- Serna, S.S.O. 2009. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. (pp. 521). México, DF: AGT.
- Serna, S.S.R.O. 2001. Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales. AGT Ed., S.A., México, D.F.
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A.M. y Saura-Calixto, F. 2009. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological Effects. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53:(S2),S310-S329.

- Senaphan, K., Kukongviriyapan, U., Sangartit, W., Pakdeechote, P., Pannangpetch, P., Prachaney, P., Kukongviriyapan, V. 2015. Ferulic acid alleviates changes in a rat model of metabolic syndrome induced by high-carbohydrate, high-fat diet. *Nutrients*, 7,6446-6464.
- Shahidi, F. y Naczki, M., 2004. Functional foods: Their role in health promotion and disease prevention. *Journal of food science*. 69:5,146-149.
- Sharma P., Gujral, H.S., Gujral, H.S. and Singh, B. 2012. Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*. 131:1406-1413.
- Shewry, P.R. 2018. Do ancient types of wheat have health benefits compared with modern bread wheat?. *Journal of Cereal Science*. 79:469-476.
- Shewry, P.R. and Hey, S.J. 2015. Review, The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*. 4:(3),178-202.
- Singh, S., Gamlath, S. y Wakeling L. 2007. Nutritional aspects of food extrusion: a review. *International Journal of Food Science and Technology*. 42,916-929.
- Singleton, V. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journals of enology and viticulture*.16:144-158.
- Shim S.M, Ferruzzi M.G., Kim Y.C., Janle E.M. y Santerre C.R. 2009. Impact of phytochemicals-rich foods on bioaccessibility of mercury from fish. *Food Chemistry*. 112: (1),46-50.
- Slavin, J. 2004. Whole grains and human health. *Nutr. Res. Rev.*, 17,99-110.
- Smith, A.T., Kuznesof, S., Richardson, D.P., Seal, C.J. 2003. Behavioural, attitudinal and dietary responses to the consumption of wholegrain foods. *Proc Nutr Soc.*, 62:(2),455-467.
- Srinivasan, M., Sudheer, A.R., Menon, V.P. 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 40,92-100.
- Ti, H., Zhang, R., Zhang, M. Wei, Z. Chi, J. Deng, Y., Zhang, Y. 2015. Effect of extrusion on phytochemical profiles in milled fractions of black rice. *Food chemistry*. 178:94-186.

- Vaher M., Matso, K., Levandi, T., Helmja, K. and Kaljurand, M. 2010. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. *Procedia Chemistry*. 2:76-82.
- Verma, B., Hucl, P. and Chibbar, R.N. 2009. Phenolic acid composition and antioxidant capacity of acid and alkali hydrolysed wheat bran fractions. *Food Chemistry*. 116:(4), 947-954.
- Vitaglione, P., Napolitano, A. and Fogliano, V. 2008. Cereal dietary fibre: A natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science and Technology*. 19:(9),451-463.
- Volp, A.C.P, Barbosa K.B.F., Bressan J. 2012. Triacylglycerols and body fat mass are possible independent predictors of C₃ in apparently healthy young brazilian adults. *Nutrition*. 28:(5),544-50.
- Yorimitsu M, Nishida K, Shimizu A et al. 2008. Intra-articular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints. *Osteoarthritis Cartilage*, 16:764-771.
- Wang, T., He F., Chen, G. 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: *A concise review*. 7,101-111.
- Wozniak S.E., Gee L.L., Wachtel M.S., Frezza E.E. 2009. Adipose tissue: The new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci.*, 54:(9),1847-56.
- Ye, E.Q., Chacko, S.A., Chou, E.L., Kugizaki, M., Liu, S. 2012. Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J Nutr.*, 142:1304-1313.
- Yu, P., McKinnon J., Maenz D., Olkowski A., Racz V.J. Christensesn D.A. 2003. Enzymatic release of reducing sugars from oat hulls by cellulose, as influenced by *Aspergillus ferulic acid esterase* and *Trichoderma xylanase*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51:218-223.

- Zeng, Z., Liu, C., Luo, S., Chen, J., Gong, E. 2016. The Profile and bioaccessibility of phenolic compounds in cereals influenced by improved extrusion cooking treatment. *National Taiwan University, Taiwan*. 11:(8),11-21.
- Zhao, Z., Egashira, Y., Sanada, H. 2003. Digestion and absorption of ferulic acid sugar esters in rat gastrointestinal tract. *J Agric Food Chem.*, 51:5534-5539.
- Zhou, K., Su, L., Yu, L. 2004. Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran. *J. Agric. Food Chem.*, 52:(20),6108-6114.
- Zielinski, H., Kozłowska, H., Lewczuk, B. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydro thermal processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2:(3),159-169.
- Zorzanelli, V., and Folco, E.J. 2011. Review article inflammatory concepts of obesity. *International Journal of Inflammation*. ID 529061,14.