

## **OBTENCION DE FRACCIONES CON POTENCIAL BIOACTIVO A PARTIR DE LA FIBRA DE HEZ DE MALTA.**

**Heinen, Gabriel<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA-FIQ-UNL)*

Directora: Drago, Silvina R.

Codirector: Cian, Raúl E.

Área: Ingeniería

Palabras claves: Hez de malta, Compuestos fenólicos, Bioactividad.

### **INTRODUCCIÓN**

La hez de malta (HM) es un subproducto que se obtiene en el proceso de elaboración de cerveza, luego de la maceración y filtrado del mosto. Es el principal subproducto de la industria cervecera, y sólo en el 2019 se generaron 470 mil toneladas. Es un material ligno-celulósico formado principalmente por 28% de lignina, 25% de hemicelulosa, 17% de celulosa y 30% de proteínas (MC Carty y col., 2013b). La obtención de productos bioactivos a partir de este residuo de alta disponibilidad generaría valor agregado al proceso.

La hemicelulosa consiste principalmente de arabinosilanos (AX) que pueden estar presentes hasta en 40% en peso seco, constituyendo el principal carbohidrato no celulósico de cereales y hierbas (Lynch y col., 2016). Están formados por una cadena lineal de xilosas unidas por enlaces glicosídicos  $\beta$ 1-4 a la cual se unen residuos de arabinosa mediante enlaces glicosídicos  $\alpha$ 1-3 o  $\alpha$ 1-2, o ambos. Además de las unidades de arabinosa es común encontrar otros sustituyentes minoritarios como el ácido glucurónico y la galactosa (Morales Ortega, 2013). A su vez, las moléculas de arabinosa suelen presentar ácido ferúlico (AF) en su estructura, unido en la posición O-5. La estructura tiene un gran impacto no sólo en las propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y la viscosidad, sino también en las propiedades bioactivas, asociadas a los ácidos hidroxicinámicos unidos a estos compuestos. Chen y col., (2019) estudiaron la actividad antioxidante y diferentes propiedades bioactivas de AX extraídos de trigo, y reportaron que cuando se utilizan métodos enzimáticos de extracción predomina el AF ligado, mientras que si se utiliza extracción química, el AF se encuentra en forma libre. Así, los extractos de AX obtenidos por métodos químicos, demostraron mayor inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa digestiva.

Por otra parte, la lignina es un polímero amorfo tridimensional compuesto de monómeros de fenilpropano metoxilado, formados a través de un proceso de polimerización radical de tres monolignoles, alcohol p-cumarílico, coniferílico y sinapílico (Chio y col., 2019). Además, la presencia de varios grupos funcionales en su estructura ofrece diferentes posibilidades de modificación química y, en consecuencia, un amplio rango de utilización (Laurichesse y col., 2014).

Título del proyecto: Revalorización de subproductos de la industria cervecera. Extracción, propiedades tecno y biofuncionales y aplicaciones para la industria alimentaria de proteínas, carbohidratos no digeribles y compuestos fenólicos presentes en la hez de malta.

Instrumento: PICT-2879

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: FONCYT

Director/a: Drago, Silvina R.

## OBJETIVOS

Los objetivos fueron obtener fracciones ricas en arabinoxilanos, compuestos fenólicos (CF) y lignina a partir del residuo lignocelulósico de la HM, caracterizar el perfil de CF y evaluar su potencial bioactivo a través de su actividad antioxidante y anti-diabetogénica.

## METODOLOGÍA

La hez de malta fue proporcionada por la Cervecería Santa Fe (Cervecería Santa Fe – Compañías Cerveceras Unidas o CCU, Calchines 1401 – Santa Fe (3000), Argentina). Luego del proceso de extracción de las proteínas (Viera y col., 2014), se obtuvieron dos fracciones: el concentrado proteico y el residuo de extracción. Posteriormente este residuo fue sometido a una extracción alcalina, seguido de una precipitación con etanol, obteniéndose una fracción rica en AX en el precipitado (fAX) y una fracción rica en lignina en el sobrenadante (fL1). La fL1 fue sometida a una precipitación ácida para separar los CF solubles (fL2) de la lignina insoluble (fL3). Estos procesos fueron realizados por triplicado a escala laboratorio y se presentan los resultados del cambio de escala a nivel semi-piloto en un reactor de 20 Litros en instalaciones del Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA).

El contenido de polifenoles totales se midió en los extractos utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu y siguiendo la metodología de Singleton y col. (1999), usando ácido gálico (AG) como estándar.

El perfil de ácidos fenólicos de dichos extractos fue evaluado por HPLC acorde a Garzón y col., (2019), utilizando estándares de: ácido gálico, hidroxibencil alcohol, ácido hidroxibenzóico, ácido venílico, ácido cafeico, ácido cumárico, ácido ferúlico y ácido sinápico.

La capacidad antioxidante se midió a través de la inhibición de los radicales ABTS<sup>+</sup> y DPPH (Cian y col., 2018), y la capacidad anti-diabetogénica, mediante la inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa (Donkor y col., 2021). Además se determinó la concentración de CF que inhiben el 50% de esta enzima (IC<sub>50</sub>).

Se utilizó el software Statgraphic Centurion XVI para realizar los estudios estadísticos de ANOVA y test LSD para comparación de medias a un nivel de confianza de 95%.

## RESULTADOS/CONCLUSIONES

En la Tabla 1 se muestra el contenido total de CF, y la proporción de cada uno de ellos. Se observa que sólo se detectó ácido ferúlico y p-cumárico.

**Tabla 1. Contenido de compuestos fenólicos de las fracciones**

| Fracción | Total CF<br>(mg AG/g sólidos) | Ácido ferúlico (%) | Ácido p-cumárico (%) |
|----------|-------------------------------|--------------------|----------------------|
| fAX      | 1,26±0,03                     | 84,07±3,29         | 15,93±1,35           |
| fL1      | 11,18±0,45                    | 85,19±4,02         | 14,81±0,68           |
| fL2      | 11,87±0,22                    | 86,08±5,20         | 13,92±0,74           |
| fL3      | 4,66±0,14                     | 83,15±1,97         | 16,85±0,08           |

La proporción de ácido ferúlico fue similar y mayoritaria en las diferentes fracciones, por lo que no fue afectada en las diferentes etapas de la extracción. Asimismo, Chen y col. (2019) reportaron que los AX extraídos de forma alcalina contienen mayor cantidad de ácido ferúlico libre y mayor peso molecular con respecto a los extractos acuosos y enzimáticos de HM.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de propiedades bioactivas: actividad antioxidante y anti-diabetogénica.

Todas las fracciones presentaron actividad antioxidante, siendo fL1 y fL2 las que presentaron mayor potencial, medido tanto como la inhibición de ABTS como DPPH. Esto estaría indicando que la mayor actividad se encuentra presente en los extractos que tienen compuestos fenólicos libres o de bajo peso molecular y que no precipitan en medio ácido. Además, los valores obtenidos fueron mayores a aquellos reportados por Connolly y col. (2021), quienes analizaron la actividad antioxidante de diferentes extractos alcalinos y enzimáticos de HM e informaron que la mayor actividad antioxidante de estos extractos fue 0,273 mmol Trolox Eq/g b.s.

**Tabla 2. Actividad antioxidante y anti-diabetogénica**

| Fracción | Antioxidante                                  |  | Anti-diabetogénica  |
|----------|---|--|---|
|          | Inhibición de ABTS<br>(mmol Trolox/g sólidos) | Inhibición de DPPH<br>(mg ácido ascórbico/g sólidos) | IC <sub>50</sub> - inhibición de α-amilasa<br>(mg ácido gálico/100 g sólidos) |
| fAX      | 0,90±0,05 <sup>b</sup>                        | ND   | 0,157±0,021 <sup>a</sup>  |
| fL1      | 2,10±0,10 <sup>d</sup>                        | 7,63±0,90 <sup>b</sup>                               | 0,986±0,001 <sup>b</sup>  |
| fL2      | 1,91±0,02 <sup>c</sup>                        | 5,96±0,76 <sup>b</sup>                               | 1,686±0,083 <sup>c</sup>  |
| fL3      | 0,40±0,02 <sup>a</sup>                        | 3,13±0,02 <sup>a</sup>                               | 0,214±0,027 <sup>a</sup>  |

Letras diferentes en una columna implican diferencias significativas entre muestras ( $p < 0,05$ ). ND: no detectado.

Se realizó una correlación de la actividad AO medida a través de ABTS y la concentración de CF totales, obteniéndose una relación lineal ( $r^2: 0.7274$ ), corroborando lo antes mencionado.

Por otro lado, las fracciones presentaron un alto potencial anti-diabetogénico medido como la inhibición de la enzima α-amilasa, siendo las fracciones fAX y fL3 las más activas (menor valor de IC<sub>50</sub>). Esto estaría indicando que los AX (fAX) y la lignina (fL3) de mayor peso molecular serían los compuestos más activos para inhibir la enzima presente en el lumen intestinal.

Otros investigadores también reportaron actividad anti-diabetogénica de extractos fenólicos y proteicos de HM, medidos a través de la inhibición de α-glucosidasa, α-amilasa y Dipeptidil Peptidasa 4 (DPP IV) (Cian y col. 2018, Connolly y col. 2021).

Se concluye que el ácido ferúlico fue el principal compuesto fenólico en estos extractos, y que la actividad antioxidante correlacionó con el contenido de compuestos fenólicos de cada extracto. Sin embargo, las fracciones ricas en AX y lignina fueron las más activas para la inhibición de α-amilasa, lo cual podría estar relacionado con una estructura de mayor peso molecular.

Sería factible la obtención de productos bioactivos a partir del residuo lignocelulósico de hez de malta de alta disponibilidad, lo que generaría valor agregado al proceso de refinera de residuos de la industria.

## BIBLIOGRAFIA BASICA

**Chen, H., Chen, Z., Fu, Y., Liu, J., Lin, S., Zhang, Q. & Qin, W.** 2019. Structure, antioxidant, and hypoglycemic activities of arabinoxylans extracted by multiple methods from triticale. *Antioxidants*, 8(12), 584.

**Chio, C., Sain, M., & Qin, W.** 2019. Lignin utilization: a review of lignin depolymerization from various aspects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107, 232-249.

- Cian, R. E., Garzón, A. G., Martínez-Augustin, O., Botto, C. C., & Drago, S. R.** 2018. Antithrombotic activity of brewers' spent grain peptides and their effects on blood coagulation pathways. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73(3), 241-246.
- Connolly, A., Cermeño, M., Alashi, A. M., Aluko, R. E., & FitzGerald, R. J.** 2021. Generation of phenolic-rich extracts from brewers' spent grain and characterisation of their in vitro and in vivo activities. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 68, 102617.
- Garzón, A. G., Torres, R. L., Drago, S. R.** 2019. Changes in phenolics,  $\gamma$ -aminobutyric acid content and antioxidant, antihypertensive and hypoglycaemic properties during ale white sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) brewing process. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(5), 1901-1908.
- Lynch, K. M., Steffen, E. J., Arendt, E. K.** 2016. Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(4), 553-568.
- Laurichesse, S., & Avérous, L.** 2014. Chemical modification of lignins: Towards biobased polymers. *Progress in polymer science*, 39(7), 1266-1290.
- McCarthy, A. L., O'Callaghan, Y. C., Connolly, A., Piggott, C. O., FitzGerald, R. J., O'Brien, N. M.** 2012. Phenolic extracts of brewers' spent grain (BSG) as functional ingredients—Assessment of their DNA protective effect against oxidant-induced DNA single strand breaks in U937 cells. *Food Chemistry*, 134(2), 641-646.
- Morales-Ortega, A., Niño-Medina, G., Carvajal-Millán, E., Gardea-Béjar, A., Torres-Chávez, P., López-Franco, Y., Lizardi-Mendoza, J.** 2013. Los arabinoxilanos ferulados de cereales: Una revisión de sus características fisicoquímicas y capacidad gelificante. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(4), 439-446.
- Qiu, Y., Liu, Q., Beta, T.** 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry*, 121(1), 140-147.
- Vieira, E., Rocha, M. A. M., Coelho, E., Pinho, O., Saraiva, J. A., Ferreira, I. M., Coimbra, M. A.** 2014. Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Industrial Crops and Products*, 52, 136-143.