

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS OBTENIDOS POR FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DEL OLOTE DE MAÍZ DESTINADOS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTICIA

Pilotzi-Mendoza, V., García-Ignacio, H.M., Sánchez Minutti, L., Grandes-Blanco, I.A.,
García Dávila, J., Castro-Corona, A y García-Barrientos, R. *

Universidad Politécnica de Tlaxcala, Lab. Procesos Biotecnológicos; Av. Politécnica No. 1,
San Pedro Xalcaltzinco, CP 90180 Tepeyanco, Tlaxcala, México

* raquel.garcia@uptlax.edu.mx

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad antioxidante que presentaron unos extractos obtenidos por fermentación en estado sólido, a partir de sustrato de maíz inoculados con 3 cepas diferentes de hongos denominadas ZAC, ATL y comparada con una comercial de *Aspergillus versicolor*. Se determinó la actividad antioxidante y la actividad quelante y el contenido de fenoles presente. Se analizaron los extractos crudos, y además se realizaron diluciones en metanol (MetOH), y etanol (ETOH), para evaluar la actividad de compuestos solubles en estos dos solventes, principalmente de fenoles. En general las cepas ZAC *A.versicolor* presentaron menor presencia de compuestos fenólicos que ATL, este mismo comportamiento lo tuvo la actividad antioxidante y quelante El extracto donde se obtuvo mayor contenido fenólico fueron en los extractos crudos, a diferencia de los demás extractos en MetOH y ETOH. El contenido de compuestos bioactivos producidos por fermentación, permite considerar su introducción en un sistema alimenticio podría aportar antioxidantes al consumidor con sus consecuentes efectos protectores.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the antioxidant activity (AA) that presented some extracts obtained by fermentation in solid state, from substrate of maize inoculated with 3 different strains of fungi called ZAC, ATL, and compared with a commercial *Aspergillus versicolor*. We were determined antioxidant activity, chelating activity and phenolic content. The extracts were analyzed raw, and dilutions were also diluted in methanol (MetOH), and ethanol (ETOH), to assess the activity of soluble compounds in these two solvents, mainly of phenols. In general the studied strains ZAC and *A. versicolor* presented less presence of phenolic compounds that ATL, this same behavior was seen and the chelating antioxidant activity where the extract is obtained a higher phenolic content were in crude extracts, unlike the other passages in MetOH and ETOH. The content of bioactives compounds produced by the fermentation of these strains, which to be introduced into a food system could provide antioxidants to the consumer with their consistent protective effects.

Palabras clave: Actividad Antioxidantes, actividad quelante, xilooligosacáridos

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

El maíz es el cultivo agrícola más importante de México, no sólo por la relevancia en materia de alimentación, representa para la población, sino por sus múltiples usos como materia prima en la industria, ya sea como insumo directo o los subproductos de éste.

El olote es una materia que es desechada y algunas veces utilizada como fertilizante y también como alimento de pastoreo, sin embargo el aprovechamiento para la obtención de metabolitos ha sido poco estudiado. Una de las alternativas para aprovechar este recurso es que sea utilizado como sustrato en una fermentación en medio sólido y generar metabolitos de interés agregado, tales como derivados de xilosa, y celulosa.

Estos derivados podrían presentar actividad biológica, en las que se podría destacar la actividad antioxidante.

Un antioxidante es una sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato (Halliwell et al., 1995). Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas, de los que se han identificado más de 8000 que difieren en estructuras químicas y en actividad. La distribución de compuestos fenólicos en tejidos y células vegetales varía considerablemente entre compuestos (Dai et al., 1995). En maíz se les ha encontrado principalmente en pericarpio, aleurona, endospermo y embrión (Nakatani et al., 1979; Fossen et al., 2001; Pascual et al., 2002; Jing y Giusti, 2005). Se ha descrito que algunos compuestos fenólicos de origen vegetal presentan dentro de la célula actividad antioxidante, reduciendo la concentración de radicales libres, y en algunos casos logran establecer grupos de quelación con iones metálicos. Los mecanismos involucrados de los agentes antioxidantes establecen donación de electrones o átomos de hidrógeno a los radicales libres.

Estos compuestos presentan interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a las propiedades benéficas a la salud de su actividad antioxidante (Rao y Agarwal, 2000).

El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar la actividad antioxidante y quelante presente en extractos obtenidos por la fermentación en medio sólido del olote de maíz, por la acción de tres cepas de hongos, y el efecto de su almacenamiento después de 30 días a -10°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fermentación en Medio Sólido

Fueron obtenidos a partir de la fermentación en estado sólido, utilizando como sustrato el olote de maíz esterilizado, y manipulando por separado se inocularon 3 cepas de hongos, denominados ZAC, ATL y una cepa comercial de *Aspergillus versicolor*. La fermentación se llevo por 7 días a 30°C.

Obtención de Extractos

Al finalizar la Fermentación, se tomaron muestras denominadas extractos crudos, y se realizaron diluciones en metanol (MetOH), y etanol (ETOH), para evaluar la actividad de compuestos solubles en estos dos solventes, principalmente de fenoles y poder averiguar su actividad antioxidante y quelante, quedando los extractos de la siguiente forma:

- 1.- Extracto crudo se obtuvo de una incubación de 7 días a 30°C previamente se inoculó con tres cepas de hongos ZAC, ATL, *A. versicolor* y se realizó una extracción.
- 2.- Extracto ETOH, se obtuvo de 1ml de extracto crudo en volumen conocido de etanol absoluto.
- 3.- Extracto MetOH se obtuvo de 1ml de extracto crudo, en volumen conocido de MetOH.
- 4.- Extracto ETOH 50%, se tomó 1ml de extracto crudo en ETOH 50%.

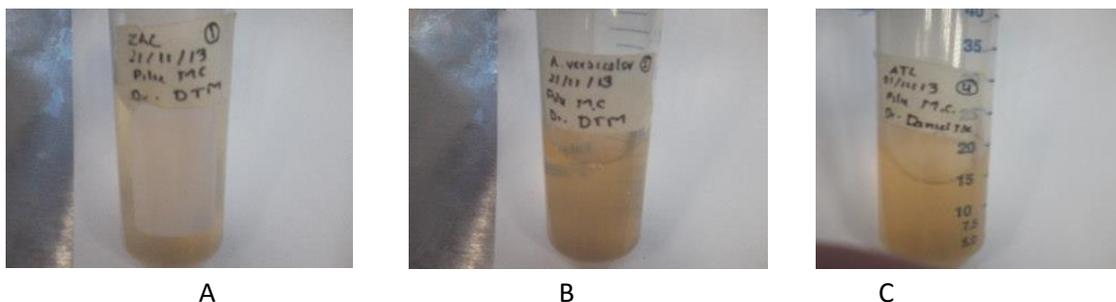


Figura 1. Extractos crudos de cepas

A: ZAC; B: ATL; C: *A.versicolor*

Se almacenaron los extractos crudos por 30 días a -10°C, y se realizaron nuevamente los extractos con solventes, y se determinó la actividad biológica y el contenido de fenoles totales presentes en cada sistema. Usando los tiempos de referencia como t_i para tiempo inicial y t_f para tiempo de 30 días.

Actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos en las tres diferentes cepas se utilizó el método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (Re et al., 1999), se realizó una solución radical con ABTS 7mM, y persulfato de potasio 2.45 mM, 16 hrs antes de su uso en oscuridad. Posteriormente se preparó una solución de ABTS ajustada a una absorbancia de

0.70 nm en una longitud de onda de 754 nm. Para la determinación de la actividad antioxidante se adicionaron 980 μ l de ABTS ajustado, y 20 μ l de muestra correspondiente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro (UV-Vis Cary 300). Se determinó la actividad antioxidante tomando como referencia a una curva estándar de ácido ascórbico y se reportó como cantidad equivalente a Vitamina C.

Actividad Quelante

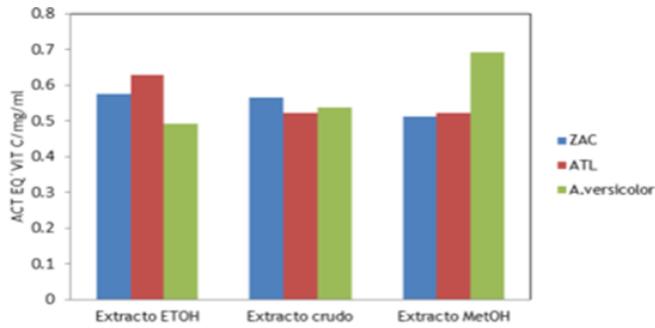
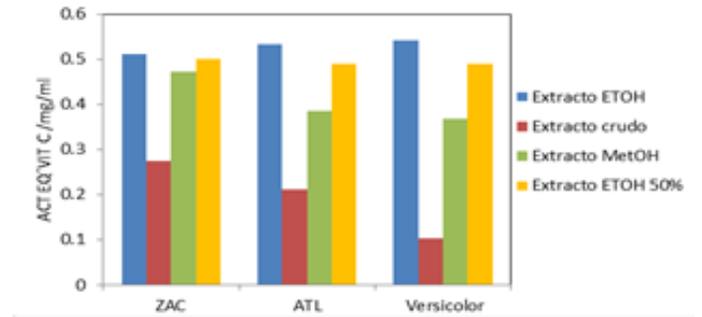
Esta técnica se determinó utilizando un control positivo de EDTA, debido a que este compuesto es un compuesto quelante por naturaleza, se tomaron 1ml de cada muestra correspondiente y se le añadió 1 mL de sulfato ferroso 0.125 mM, se dejó reposar 5 min, posteriormente se le agregó 1 ml de ferrosina 0.3125mM, se agito y se determinó la absorbancia de cada muestra, ajustando el espectrofotómetro a una longitud de onda 562nm.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

La determinación se llevó a cabo tomando 0.3 ml de cada muestra correspondiente y se añadió 1.5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu, y 1.2 ml de Carbonato de sodio (Na_2CO_3) 7%, se agitó y se determinó la absorbancia de cada muestra, ajustando el espectrofotómetro a una longitud de onda 765nm. Los valores obtenidos fueron ajustados a una curva de ácido gálico y fueron reportados como mg/EAG (Equivalente a ácido gálico).

RESULTADOS

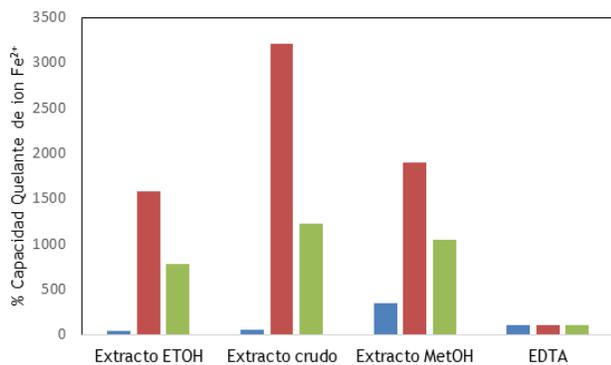
A continuación se presenta una comparación de los resultados obtenidos en dos tiempos, t_i , al inicio del estudio, (primeros días de obtención de extractos), t_f culminación del estudio.



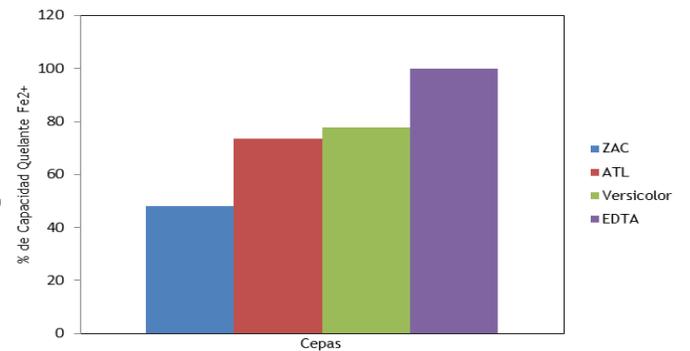
A

B

Figura 2: Comparación de la actividad antioxidante de las cepas estudiadas
A: tiempo inicial (ti); B: tiempo final (tf)



A



B

Figura 3: Actividad quelante de las muestras
A: tiempo inicial (ti); B: tiempo final (tf)

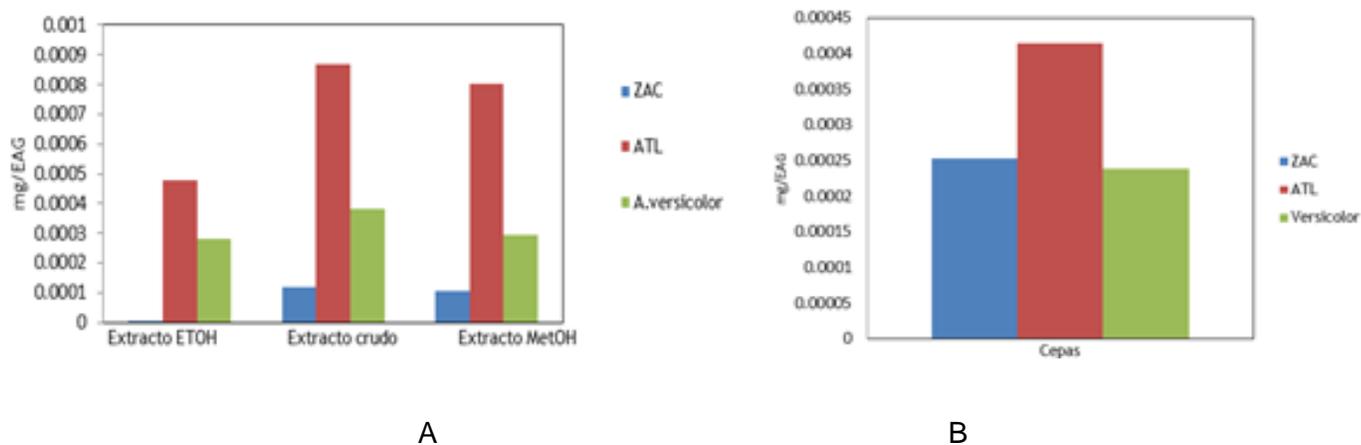


Figura 4: Contenido total de compuestos fenólicos
A: tiempo inicial (ti); B: tiempo final (tf)

DISCUSIÓN

El contenido de antioxidantes permite observar la presencia de actividad en las cepas estudiadas (Figura 2) considerando como alimento funcional al aporte de antioxidantes a su consumidor con sus consecuentes efectos protectores. Conforme a los datos obtenidos el extracto donde se obtuvo un mayor contenido de fenoles totales es el extracto crudo y en la cepa ATL, (Figura 4). De acuerdo a los datos obtenidos donde se presenta un mayor % de actividad quelante es en el extracto crudo, en la cepa ATL, y por muy poco ZAC (Figura 3). Encontrando mayor actividad quelante y fenólica en la cepa ATL. Con respecto a los demás extractos, el que se presenta con una menor actividad quelante es el extracto ETOH y coincidiendo con los demás extractos ZAC es la cepa en donde se encuentra menor % de actividad quelante, y contenido fenólico total. Conforme a los datos obtenidos y a la comparación entre extractos y cepas, el extracto con mayor contenido de fenoles totales es el extracto crudo, siendo ATL, la cepa en la que se encontró mayor contenido de fenoles totales. Y ZAC la cepa en donde la cantidad de fenoles totales se presenta en menor cantidad, con respecto a *A.versicolor*.

CONCLUSIÓN

Al aprovechar desechos agroindustriales tales como el olote, se pueden obtener molecular con actividad biológica, que puedan apoyar a la sociedad, y aun mas con fines benéficos para la salud. Por lo que podríamos sugerir que durante este proceso se obtienen moléculas derivadas de carbohidratos probablemente xilooligosacáridos los cuales se tienen reportes de su alta actividad biológica, como

sugerencia de este trabajo se propone averiguar específicamente sobre las moléculas formadas durante el almacenamiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Dai GH, Andary, C, Mondolot-Cosson, L, Boubals, D (1995). Involvement of phenolic compounds in the resistance of grapevine callus to downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Europ. Journal of Plant Pathology*. 101:541-547.
- Fossen T, R Sliestad, M O Andersen (2001) Anthocyanins from maize (*Zea mays* L.) and reed canarygrass (*Phalaris arundinacea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49:2318-2321.
- Halliwell B, Murcia, MA Chirico, SOI Aruoma OI. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 35:7-20.
- Jing P, M N Giusti (2005) Characterization of anthocyanin-rich waste from purple corncobs (*Zea mays* L.) and its application to color milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53:8775-8781.
- Lopez-Martinez LX, Oliart-Ros RM, Valerio-Alfaro G, Lee CH, Parkin KL, Garcia HS (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize LWT -*Food Science and Technology* 42 1187–1192.
- Lasrado, LD, Gudipati M. (2013) Purification and characterization of β -D-xylosidase from *Lactobacillus brevis* grown on xylo-oligosaccharides *Carbohydrate Polymers*. 15;92(2):1978-83
- Nakatani N, H Fukuda, H Fuwa (1979) Studies on naturally occurring pigments: major anthocyanin of Bolivian purple corn (*Zea mays* L.). *Agricultural and Biological Chemistry* 43:389-391.
- Pascual T S, B C Santos, G J C Rivas (2002) LCMS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82:1003-1006.
- Rao AV, Agarwal S (2000). Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *Journal of the American College of Nutrition*. 19:563-9.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evens C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9/10), 1231-1237.