

Digestibilidad, perfil de metabolitos y capacidad antioxidante de harinas sin gluten

M.M. Sánchez-Rivera, L.A. Bello-Pérez* y O. Patiño-Rodríguez

Departamento de Desarrollo Tecnológico, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional. *labellop@ipn.mx.

RESUMEN: Las harinas sin gluten, con actividad antioxidante, alto contenido de fibra dietaria y bajo contenido calórico, son atractivas para formular alimentos funcionales, especialmente para individuos con enfermedad celiaca, quienes presentan una estricta adherencia a una dieta sin gluten. Los compuestos polifenólicos presentan actividad antioxidante, por lo que son de gran interés por sus usos terapéuticos, como agentes antioxidantes, antimutagénicos, anticarcinogénicos, y actividad para eliminar radicales libres, responsables de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo; también disminuyen complicaciones cardiovasculares. Las antocianinas, pigmentos primarios del maíz morado, también están asociadas con el potencial de reducir riesgo de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes y cáncer. El objetivo del estudio fue evaluar la composición química proximal, digestibilidad del almidón, contenido de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y metabolitos presentes en harinas de maíz pigmentado, pulpa de plátano verde y garbanzo. Las harinas mostraron potencial para aportar nutrientes esenciales, carbohidratos no digeribles de importancia para la salud y capacidad antioxidante para captar radicales libres, lo cual apoya estudios adicionales para formular matrices alimenticias enriquecidas con compuestos fenólicos de estas harinas como ingredientes funcionales, o una mezcla de ellas, para producir productos nutraceuticos de alto valor agregado y nutricional.

Palabras clave: Harinas alternativas, metabolitos, actividad antioxidante.

ABSTRACT: Gluten-free flours with antioxidant activity, high content of dietary fiber and low caloric content, constituent an innovation source to formulate flours, especially to individuals with celiac disease, who present a strict adherence a gluten-free diet. Polyphenolic compounds present antioxidant activity, so they are of great interest, for their therapeutic uses, as antioxidant agents, antimutagenic, anticarcinogenic and activity to eliminate free radicals, responsible for diseases related with oxidative stress, they also decrease cardiovascular complications. Anthocyanins, primary pigments of purple corn, they also are associated with the potential to reduce risk of cardiovascular disease, obesity, diabetes, cancer, and chronic diseases. The objective was to evaluate flours from pigmented maize, pulp of green banana, and chickpea, in proximal chemical composition, starch bioavailable, phenolic compounds content, antioxidant activity and metabolites present. Alternatives flours evaluated showed potential to contribute essential nutrients, non-indigestible carbohydrates of importance of health and antioxidant capacity to capture free radicals, which supports additional studies to formulate dietary matrices enriched with phenolic compounds of these flours as functional ingredients or a mixture of them, to produce nutraceuticals products of high aggregate value and nutritional.

Keywords: Alternative flours, polyphenols, antioxidant activity.

Área: Desarrollo de nuevos productos

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha incrementado el interés en la funcionalidad de los alimentos sobre la nutrición y salud. Uno de estos es la actividad antioxidante de compuestos para proteger contra daños oxidativos a las células, lo cual se relaciona con la prevención de enfermedades como cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares [1], por ello se ha sugerido la incorporación de ingredientes en

alimentos con propiedades nutraceutica [2]. Los compuestos fenólicos son reportados con actividad antioxidante [3], entre estos se encuentran las antocianinas, que están asociadas con el potencial de reducir riesgo de enfermedades crónico-degenerativas [4]. En general, los polifenoles actúan como antioxidantes, sustancias que previenen, reducen o reparan daños inducidos por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno a una biomolécula conocidos como radicales libres, y su producción es balanceada por el sistema de defensa antioxidativo [5]. Actualmente, los compuestos fenólicos están involucrados en la formulación de suplementos dietarios, aditivos alimentarios y medicamentos [6]. Según su solubilidad, se dividen en polifenoles extraíbles (PE) y no extraíbles (PNE), lo que permite entender su comportamiento fisiológico en el tracto intestinal para ser total, o parcialmente absorbidos y metabolizados. La mayoría de los PE están disueltos, por lo tanto, estarán biodisponibles en los fluidos intestinales para atravesar la barrera intestinal (mucosa) y después ser metabolizados para posteriormente ejercer efectos sistémicos a diferentes niveles. Los PNE son transportados por el tracto gastrointestinal y llegan al colon sin cambios en sus características químicas, considerados polisacáridos indigestibles de la pared celular. Allí, podrían ser metabolizados por la microbiota colónica para ser metabolitos absorbibles o bien no absorbibles para permanecer en el lumen colónico donde contribuirán al efecto antioxidante y protector frente a sustancias pro-oxidantes [16]. Los métodos más usados para medir la actividad antioxidante (AAO) son por los métodos de iones reductores de fierro (FRAP), y captación de radicales libres, por DPPH (1-1-difenil-2-picrilhidrazilo) y ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina ácido-6-sulfónico) [7]. La producción de alimentos sin gluten también ha recibido interés para la salud humana [8], debido a un mayor incremento de individuos celíacos, quienes presentan una estricta adherencia a una dieta libre de gluten. La celiaquía es una enteropatía inmuno, mediada por la ingesta de gluten, relacionadas con proteínas de cereales que causan inflamación crónica en el intestino delgado, daño en la mucosa intestinal y mal absorción de nutrientes [9]. El objetivo del trabajo fue evaluar harinas alternativas sin gluten de maíz azul (*Zea mays* L), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y pulpa de plátano (*Musa paradisiaca* L.) verde en su composición proximal, digestibilidad del almidón, contenido de polifenoles y AAO. Los resultados mostraron que las harinas podrían ser utilizadas como ingredientes nutraceuticos en la formulación de matrices alimenticias enriquecidas con compuestos bioactivos, con AAO, nutrientes esenciales y carbohidratos no digeribles de importancia para la salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron harinas de granos secos de garbanzo (HG) provenientes de la UAS de Culiacán, Sinaloa, de maíz azul (HMA) (ciclo 2012-2013, INIFAP-Texcoco, Edo. México), utilizando un molino de turbina (INMIMEX, M200, Méx.), una zaranda (RWU, *Testing Equipment*) y malla No. 50 (USA, *Standard Test Sieve*, ASTM, E-11 *Specification*). También se obtuvo harina de pulpa de plátano (HP) verde. Se determinó análisis químico proximal y almidón total (AT) [10], almidón resistente y almidón disponible. Se evaluó la AAO (% inhibición de radicales) por los métodos de DPPH [14], ABTS y FRAP a partir de extractos fenólicos de las harinas, y cuantificados por el método de *Folin-Ciocalteu* [11], utilizando ácido gálico (AG) (Sigma-Aldrich) y Trolox como estándares. El contenido de antocianinas (CAT) se determinó por pH diferencial con la ecuación: $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} = (\text{Abs.}) (\text{PM}) (\text{FD}) (100) / \epsilon (1)$; la absorbancia final se calculó con $\text{Abs.}_{\text{final}} = (A_{\lambda_{\text{max,vis}}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH} = 1.0 - (A_{\lambda_{\text{max vis}}} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH} = 4.5$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición proximal, digestibilidad de carbohidratos y compuestos fenólicos.

La composición química proximal puede observarse en la Tabla I. El almidón resistente (AR), es de contenido calórico reducido, con efectos fisiológicos similares a la fibra dietaria [12]. El almidón es el carbohidrato más abundante en las leguminosas (22-45 % del grano), la HG presentó 40.55 g/100 g b.s., similar a lo reportado, garantizando la calidad del grano y de la harina nutraceutica. La HP y HMA con mayor almidón disponible (Tabla I); bajos valores, es una característica nutraceutica deseable en

productos alimenticios libres de gluten (espaguetis), relacionado con niveles bajos de glucosa en sangre postprandial [9]. Cultivares de garbanzo, presentaron azúcares solubles de 1.97 (*Kabuli*) y 2.44 (*Desi*) [13]. Los polifenoles totales (PT), taninos solubles (TS) y taninos condensados (TC) (Tabla I), se observó mayor contenido de PT en la HMA, con 74.67 ± 0.024 de CAT su ingesta diaria recomendada es de varios miligramos a cientos de miligramos [39]. Los maíces morados, púrpura o magenta son los más estudiados por su uso en la elaboración de extractos comerciales de pigmentos tipo antociano, fenoles predominantes y principales responsables de la AAO [14]. Granos pigmentados de maíz morado y azul presentan cantidades altas de antocianinas, en maíz morado con $1277 \mu\text{g/g}$, genotipo importante para el desarrollo de alimentos funcionales y/o colorantes naturales [15]. En harinas de maíz rojo y azul se reportó un CAT de 27.71 y 70.44 mg de cianidina 3-glucósido/100 g de harina, respectivamente. Los TS (Tabla I), fue mayor en la HMA y menor en la HG. Los TC (Cuadro 1) se obtuvieron de la curva tipo de cianidina-3-glucósido ($\text{mg Cianidina g}^{-1}$ muestra/mL); el contenido más bajo fue en la HG y las HMA y la HP con valores muy cercanos entre sí. Las harinas alternativas y libres de gluten evaluadas en este trabajo presentaron mayor contenido de TS que TC.

Tabla I. Composición química (g/100 g), carbohidratos disponibles (%) y contenido de polifenoles totales (mg EAG/100 g) en harinas de maíz, pulpa de plátano verde y garbanzo.

	HMA	HP	HG
Humedad	4.45 ± 0.14^d	6.62 ± 0.04^a	6.31 ± 0.06^b
Proteína	11.23 ± 0.06^b	3.11 ± 0.04^d	21.90 ± 0.04^a
Lípidos	5.46 ± 0.01^b	0.55 ± 0.00^d	5.70 ± 0.05^a
Cenizas	1.55 ± 0.02^c	2.10 ± 0.08^b	3.49 ± 0.175^a
AT	63.94 ± 0.35^b	86.43 ± 0.45^a	42.61 ± 0.51^c
AR	39.13 ± 0.17	64.4 ± 0.03	31.15 ± 0.12
AD	24.81 ± 0.38	22.03 ± 0.45	11.46 ± 0.15
PT	136.05 ± 2.37	27.33 ± 2.27	44.41 ± 2.27
CAT	74.67 ± 0.024	-	-
TS	128.52 ± 5.57	30.26 ± 3.76	26.018 ± 3.94
TC	0.279 ± 0.113	0.269 ± 0.06	0.102 ± 0.021

HMA= harina de maíz azul, HP= harina de plátano, HG= harina de garbanzo, AT= almidón total, AR= almidón resistente, AD= almidón disponible, PT= polifenoles totales, CAT= contenido de antocianinas totales; TS= taninos solubles, TC= taninos condensados.

Actividad antioxidante

Por el método DPPH, la mayor AAO de PT fue en la HMA (Tabla II). Los TC (Tabla II), presentaron AAO mayor al 80% con baja variación entre las harinas. Los TS (Tabla II) de la HMA mostraron mayor AAO y ligeras variaciones entre las HP y HG. Maíces de grano azul-morado de seis poblaciones del Estado de México y Oaxaca, presentaron (% inhibición DPPH) de 34.0-60.3 (razas *Chalqueño*), 46.6-60.4 (raza *Elotes Cónicos*), 27.7-39.5 (*Bolita*) [49]. Por ABTS, los PT de la HMA con mayor AAO (Tabla II); la AAO en la HG, podría atribuirse a la interacción entre otros fitoquímicos presentes en la harina [16]. La AAO de los TC (Tabla II), fue baja, menor al 25%, la HMA con mayor AAO. La baja AAO para inhibir radicales de ABTS, se atribuye a la baja capacidad de estos antioxidantes para inhibir este radical, a diferencia de los PT, que mostraron mayor AAO. Los TS (Tabla II) con la menor AAO (menor al 10%), en las tres harinas evaluadas.

Tabla II. Actividad antioxidante (% de inhibición) de los compuestos fenólicos de las harinas sobre los radicales DPPH y ABTS. PT= Polifenoles totales extraíbles, y PNE: TC= taninos condensados y TS = taninos solubles.

	HMA	HP	HG
DPPH-PT	93.22±0.84	73.56±1.53	63.72±1.38
DPPH-TC	86.84±1.55	84.24±1.60	84.62±0.615
DPPH-TS	56.90±1.42	35.20±1.59	37.58±1.50
ABTS-PS	62.92±0.50	18.95±0.91	21.20±0.88
ABTS-TC	24.34±0.12	16.34±0.139	11.38±0.28
ABTS-TS	7.52±0.17	9.61±0.13	6.35±0.09

Actividad antioxidante reductora de Fe³⁺ (FRAP)

La AAO de los PT (Figura 1) fue mayor en la HMA. La HP con mayor AAO que la HG. La AAO (mg Trolox/100 g ms) de los TC (Figura 1), fue entre 58.27 y 311.34. La HP con menor AAO que la HMA y esta con AAO mayor para reducir iones Fe⁺² que la HG. La AAO de los TS, fue mayor en la HG, y la HP con mayor AAO que la HMA. Las HMA y HP, con AAO entre 314.90-353.69. La AAO del epicarpio del fruto de arazá fue mayor en estado verde y maduro que el mesocarpio, con mayor AAO en estado verde, seguida de los estados pintón y maduro, debido al contenido de fenoles en estado verde. Se ha reportado mayor AAO por FRAP que por ABTS, y las variaciones se deben a factores analíticos, método de extracción y muestra (agronómicos, varietales, tecnológicos etc.) [17]. La metodología de FRAP a diferencia de la de ABTS, es más adecuada para determinar AAO de compuestos polifenólicos [18].

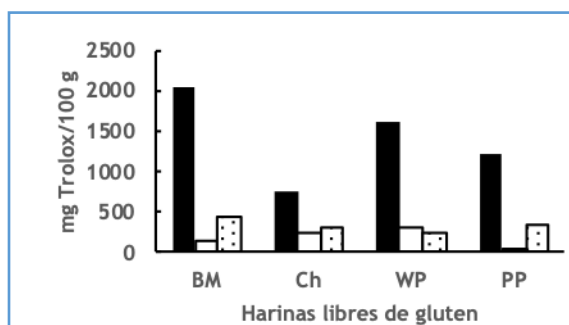


Figura 1. Actividad antioxidante (mg Trolox/100 g ext.) del ensayo de FRAP. Polifenoles (■), TC (□) y TH (⊞) de HMA, HP y HG.

Metabolitos encontrados en las harinas mediante LC-MS/MS

Diversos metabolitos fueron identificados en las harinas como *naringina*, *miricetina*, *hesperidina* y *rutina*, algunos como *limonina*, *colchicoside*, *nobiletina* y *papaverina* en la HG. La identificación se realizó con la base de datos de espectrometría de masas (MassBank: <http://www.Massbank.jp>, mzCloud: <https://www.mzcloud.org/>). La intensidad máxima de algunos de los metabolitos como *hesperetin*, *rutina* y *fenilacetilglutamina*, fue mayor en la HP. El área del pico de los diferentes metabolitos fue variable en cada harina. El metabolito *myricetin*, relacionado estructuralmente con compuestos fenólicos, son bien conocidos sus propiedades nutraceuticas y antioxidantes [19], con una variedad de actividades farmacológicas como antiinflamatorios, analgésicos, antitumorales, actividades hepatoprotectoras y antidiabéticas [20]. La *naringina*, un flavonoide del grupo de polifenoles de frutas y verduras con actividades farmacológicas como antibacteriano [21], actividad antioxidante [22], efecto reductor de lípidos [23], efecto citotóxico [24], y antiinflamatorio [25] y actividad hepatoprotectora [26]. La *hesperidina*, una flavonona, presenta propiedades antialérgicas, anticancerígenas, antihipotensivas, antimicrobianas y vasodilatadoras [27]. La *rutina* es un flavonoide dietético común y tiene una amplia gama de propiedades farmacológicas (por ejemplo, AAO) que se han explotado en la medicina y nutrición humanas, y como agente antimicrobiano, antifúngico y antialérgico [28].

CONCLUSIONES

Las harinas presentaron diferencias en su composición química, compuestos fenólicos y actividad antioxidante. La HG con mayor contenido de proteína, cenizas y bajo contenido de almidón disponible.

La HP con menor contenido de lípidos que las HG y HMP, y mayor contenido de almidón total y almidón resistente. Estas harinas libres de gluten resultan de interés por sus nutrientes esenciales y antioxidantes y podrían ser utilizadas como ingredientes novedosos para el desarrollo de productos nutracéuticos, de interés particular para los que padecen la enfermedad celiaca.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Mutlu, C., *et al.* 2018. Physicochemical, thermal, and sensory properties of blue corn (*Zea Mays* L.). *Journal of Food Science*, 83 (1): 53-59.
- [2] Camelo-Méndez, G.A., *et al.* 2017. Functional study of raw and cooked blue maize flour: Starch digestibility, total phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Cereal Science*, 76: 179-185.
- [3] Baskar, R., *et al.* 2011. FNS Antioxidant potential of peel extracts of banana varieties (*Musa sapientum*). *Food and Nutrition Sciences*, 2: 1128-1133.
doi:10.4236/fns.2011.210151.
- [4] Lao, F., *et al.* 2017. Health benefits of purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds. Institute of Food Technologists®. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2).
- [5] Aboul-Enein, *et al.* 2016. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradisiaca* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(4):46-55.
- [6] Passo-Tsamo, *et al.* 2015. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). *Food Chemistry*, 167: 197-204.
- [7] Amaro M. I., *et al.* 2009. Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesized naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*, 42 (8):1010-1017.
- [8] García-Solís, S. E., *et al.* 2018. Plantain flour: A potential nutraceutical ingredient to increase fiber and reduce starch digestibility of gluten-free cookies. *Starch/Staerke*, 70: 1700107.
- [9] Flores-Silva, *et al.* 2014. Gluten-free spaghetti made with chickpea, unripe plantain and maize flours: functional and chemical properties and starch digestibility. *International Journal of Food Science and Technology*, 49: 1985-1991.
- [10] AACC. 2000. Approved Methods of the AACC. 10th Methods. St. Paul, MN: AACC.
- [11] Saura-Calixto, F. and Goñi, I. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry*, 94: 442-47.
- [12] Delcour, J.A. and Eerlingen, R.C. 1996. Analytical implication of the classification of resistant starch as dietary fiber. *Cereal Foods World*, 41: 85–86.
- [13] Ghribi, A.M., *et al.* 2015. Nutritional and compositional study of Desi and Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours from Tunisian cultivars. *Advances in Food Technology and Nutritional Sciences Journal*, 1(2): 38-47.
doi: 10.17140/AFTNSOJ-1-107.
- [14] Xu, Y., *et al.* 2014. Chemical composition, functional properties and microstructural characteristics of three kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by different cooking methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 49: 1215-1223.
- [15] Abdel-Aal, E.S and Hull, P. 2002. Amino acid composition and *in vitro* protein digestibility of selected ancient wheat and their end products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15: 737-47.
- [16] Juárez-Bernal, B. S. 2014. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de diversas variedades de maíz del Estado de México, sobre ABTS•+ y peróxido de hidrógeno como especie reactiva de oxígeno. Universidad del Estado de México, Toluca, México.
- [17] García-Alonso, J., *et al.* 2002. Evaluación de las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutas rojas. *An., Vet.*, (Murcia), 18: 103-114.
- [18] Imeh, U. and Khokhar, S. 2002. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: Antioxidant activity and cultivar variations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6301-6306.
- [19] Kumar, S. D., *et al.* 2016. Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities. *Nutrients*, 8 (90):1-31.
- [20] Ong, K. C.; Khoo, H. E. 1997. Biological effects of myricetin. *Gen. Pharmacol*, 29: 121–126.
- [21] Faisant, N., *et al.* 1995. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: Structural features of resistant starch. *British Journal of Nutrition*, 73: 111–123.
- [22] Jeon S. M., *et al.* 2001. Antioxidant activity of naringin and lovastatin in high cholesterol-fed rabbits. *Life Sci.* 69: 2855–2866.

- [23] Jung U. J., *et al.* 2006. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Intl J Biochem Cell Biol.* 38:1134–1145.
- [24] Kanno S., *et al.* 2004. Effects of naringin on cytosine arabinoside (Ara-C)-induced cytotoxicity and apoptosis in P388 cells. *Life Sci.* 75: 353–365.
- [25] Amaro M. I., *et al.* 2009. Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesis naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice. *Food Research International*, 42 (8):1010-1017.
- [26] Pari L. and Amudha K. 2011. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 650: 364–370.
- [27] Garg A., *et al.* 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother. Res.* 15: 655-669.
- [28] Hirdyani, H. 2014. Nutritional composition of Chickpea (*Cicer arietinum*-L) and value added products. *Indian Journal of Community Health*, 26(02).