

β - Glucanos en almidón nativo de fruta pan y su potencial uso en alimentos funcionales

Lady Quezada-Correa^{1*}; Edison Martínez-Mora ¹; Lisbeth, Matute- Castro¹; Verónica Bravo-Bravo¹; Esther Ramírez-Moreno²

Resumen

La investigación tuvo como objetivo fundamental determinar el contenido de β - glucanos presentes en el almidón nativo de la fruta pan (*Artocarpus altilis*) cultivado en la costa sur del Ecuador y su potencial uso en alimentos funcionales. El almidón fue obtenido utilizando el método húmedo, y para la determinación del contenido de β -glucanos, se sometió la muestra a un ataque enzimático de β -glucosidasa, para posteriormente, cuantificar la glucosa por técnicas de espectrofotometría UV visible, a una longitud de onda de 510 nm. El porcentaje de almidón presente en el cultivar de fruta pan fue de 55,40 %, y el contenido en β -glucanos de 4,39 %, este valor reportado es superior a los que presentan algunos cereales como la avena, cebada, centeno, trigo, entre otros, muy utilizados en la industria de alimentos. El contenido de β -glucanos, presentes en el almidón nativo de la fruta pan, convierten a este cultivar, en una atractiva fuente amilácea a ser considerada, como matriz o insumo, en la elaboración de alimentos funcionales o nutraceuticos.

Palabras Clave: Fruta pan; β -glucanos, glucosidasa; espectrometría UV visible.

β - Glucans in native starch from breadfruit and their potential use in functional foods

Abstract

The main objective of the research was to determine β - glucans content present in native starch from breadfruit (*Artocarpus altilis*) cultivated in Ecuador southern coast and its potential use in functional foods. The starch was obtained throughout the wet method; the sample was subjected to β -glucosidase enzymatic action to determine β -glucan content; glucose content was then quantified through visible UV spectrophotometry techniques at a wavelength of 510 nm. The starch percentage present in the breadfruit cultivar was 55.40%, whereas the β -glucan content was 4.39%. This value reported is higher than those reported previously for some cereals such as oats, barley, rye, wheat, among others, widely used in the food industry. The β -glucans content, present in native starch of breadfruit, makes this cultivar an interesting source of starch to be considered, as a matrix or input, in the manufacturing of nutraceuticals or functional foods.

Keywords: Breadfruit; B-glucans, glucosidase; UV visible spectrophotometry

¹Lady Quezada, Estudiante de Ingeniería en Alimentos, miembro del grupo de investigación Química y Alimentos de la Universidad Técnica de Machala - Ecuador. 0967562882, correo electrónico: lmquezada_est@utmachala.edu.ec orcid.org/0000-0002-5798-1845

¹Edison Martínez Mora, Doctor en Ciencias de los Alimentos, Director del grupo de Investigación Química y Alimentos de la Universidad Técnica de Machala - Ecuador. 0998404064, correo electrónico: eom13@hotmail.com

¹Lisbeth Matute Castro, Máster en Alimentos, miembro del grupo de investigación Química y Alimentos de la Universidad Técnica de Machala - Ecuador. 0939240023, correo electrónico: nmatute@utmachala.edu.ec

¹Verónica Bravo Bravo, Master en Alimentos, miembro del grupo de investigación Química y Alimentos de la Universidad Técnica de Machala - Ecuador. 0990739607, correo electrónico: vbravo@utmachala.edu.ec

²Esther Ramírez Moreno, Doctora en Nutrición, Docente - Investigadora Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo - México. 0998470914, correo electrónico: rme1234@yahoo.com

*Autor para la correspondencia: lmquezada_est@utmachala.edu.ec

I. INTRODUCCIÓN

La fruta pan (*Artocarpus altilis*) es de clima tropical que, aunque no es originaria de América, llegó a las Antillas desde Tahití, para su posterior cultivo en las colonias inglesas del Caribe [1]. La fruta pan puede comerse frita, tostada o hervida, o como ingrediente en la preparación de harina, pasteles y otros. En algunos países e islas en el mundo le han dado a esta fruta un importante sitio en la mesa, al igual que el banano y el plátano; pudiéndose comer madura o inmadura [2]. La fruta de pan es de forma oblonga, ovoide, redonda,

cilíndrica o en forma de pera de 12 a 20 cm de ancho y 12 cm de longitud [3]. La cantidad de semillas en su interior pueden llegar a un número de 60 (figura 1). Debido a las condiciones climáticas de la costa ecuatoriana, se puede obtener la fruta pan casi todo el año, sin embargo, en el mes de marzo es cuando existe una mayor producción. En Sudamérica y el Caribe, los frutos secos se convierten en harina, y se han explorado métodos para utilizarlos en productos panificables, la combinación se ha encontrado más nutritiva que la harina de trigo sola [4].



Figura 1. Semilla y árbol de fruta pan (*Artocarpus altilis*)

Estudios han demostrado que la fruta pan posee un elevado contenido en proteínas, almidón y fibras [5]. El almidón es un importante aditivo en la elaboración de alimentos ya que proporcionan características específicas y variables en cuanto a sus propiedades funcionales [6], puede ser utilizado como agente espesante, estabilizantes y gelificante; mejorando la textura, apariencia y consistencia de los productos donde sea adicionado [7]. El almidón es un hidrato de carbono fundamental en la dieta del hombre. Desde el punto de vista químico, el almidón es una mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa y la amilopectina (figura 2); el primero es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α - (1,4), que establece largas cadenas lineales con 200-2500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; por su parte, la amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que

le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa [8], asimismo, la amilopectina es parcialmente soluble en agua caliente y en presencia de yodo produce color rojizo violeta [9]. Propiedades tecnológicas - funcionales del almidón como la gelificación y pastificación son importantes determinar, cuando a este hidrato de carbono se lo requiere utilizar como estabilizante y espesante en los alimentos. Los gránulos de almidón, aunque provengan de la misma fuente botánica, tienen diferente relación amilosa/amilopectina y grado de cristalinidad, como por ejemplo los cereales y las frutas, estas condiciones provocan que unos gránulos de almidón sean más resistentes que otros, a efectos de altas temperaturas, y lleguen a presentar una diferencia de hasta 10 °C para alcanzar la gelatinización [8].

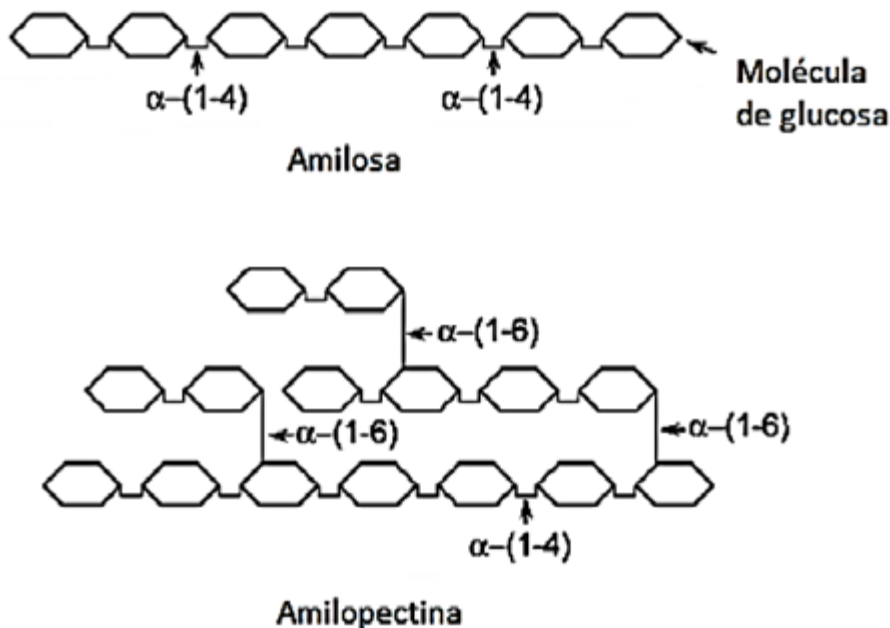


Figura 2. Representación de las estructuras de amilosa y amilopectina [7]

La fibra dietética es importante para la salud del ser humano a través de la ingesta en una dieta equilibrada. Los β – glucanos (Figura 3) son un tipo de fibra dietética soluble, tiene efectos sobre la glicemia, los niveles de insulinemia, el colesterol y la inmunidad. Cereales como la cebada y la avena son reconocidos como buenas fuentes de β – glucanos, pero también, se pueden encontrar en algas y hongos. Para efectos de su uso en alimentos procesados, es importante conocer su fuente. Los β -glucanos de avena y cebada compuestos

de cadenas no ramificadas con enlaces β (1→3) y β (1→4) mientras que los β -glucanos de levaduras y hongos por enlaces β (1→3) y cadenas laterales unidas por enlaces β (1→6) (1, 9). Las diferencias en el tipo de enlace y de ramificación influyen el tamaño de la molécula y sus propiedades de solubilidad, que van a repercutir en un grado mayor a menor de asimilación [10], factor importante a tomar en cuenta en su inclusión en alimentos con connotación funcional o nutraceutica.

Tipo de β -glucano	Estructura	Descripción
Bacteria	—————	Glucano lineal β -1,3 (ej: Curdlan)
Hongo		Glucano ramificaciones cortas β -1,6 y β -1,3 (ej: Esquizoflano)
Levadura	—┐ —┐	Glucano ramificaciones largas β -1,6 y β -1,3 (ej: β -glucano WGP, Betafectina)
Cereal	— — —	Glucano lineal β -1,3/1,4 (ej: avena, cebada, centeno)

Figura 3. Estructura de los Beta glucanos de diferentes fuentes [11]

No se conoce de investigaciones que reporten el contenido de β -glucanos en el cultivar de la fruta pan, sin embargo, en la literatura especializada se puede encontrar información sobre el contenido de β -glucanos presentes en algunos cereales de uso en la industria alimentaria, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido de β -glucanos presentes en cereales

Cereales	% β -glucanos
Avena	3,37
Cebada	4,36
Centeno	1,89
Trigo	0,65

Fuente: Miñambres, de la Fuente García [12]

La investigación tuvo como objetivo fundamental determinar el contenido de β – Glucanos presentes en el almidón nativo de la fruta pan (*Artocarpus altilis*) cultivado en la costa sur del Ecuador y su potencial uso en alimentos funcionales.

II. DESARROLLO

1. Materiales y Métodos

Obtención del almidón

El almidón se obtuvo de las semillas de la fruta pan (*Artocarpus altilis*), las mismas que fueron recolectadas en la zona agrícola de la provincia de El Oro – Ecuador, zona baja, en temporada seca, a 4 msnm, humedad relativa de 75 % y temperatura promedio de 28 °C. El almidón se obtuvo a través de la adaptación del método húmedo de otra investigación [13], el mismo que consistió en pesar 5 kg del fruto al que se retiró la cáscara, se cortaron rodajas de 1 cm de grosor, las que fueron colocadas dentro de un contenedor en una solución de ácido cítrico al 3 % (v/v), en relación 7:1 (peso disolución: peso rodajas banano). Se realizó una molienda en húmedo utilizando toda la disolución, en una licuadora semi industrial marca SKYMSSEN modelo LAR - 15/25 a 3000 rpm; inmediatamente se cribó en un sistema de tamices marca HUMBOLDT de mallas de: 0,841; 0,420; 0,149 y 0,074 mm. En cada malla, el residuo se lavó hasta que el líquido de salida no presentara turbidez. Transcurrido cuatro horas de reposo, el almidón precipitado se separó por decantación del exceso de agua, posteriormente, utilizando una estufa marca MEMMERT modelo VN 6400, se deshidrato el almidón a una temperatura de 50 °C, por 48 h, se pulverizó en un molino de martillo marca

SIRCA, y finalmente, se pasó nuevamente por el sistema de tamices para homogenizar el tamaño de los gránulos.

Contenido de β -glucano

La determinación de β -glucanos presentes en el almidón nativo de fruta pan, se la realizó por el método enzimático-espectrométrico que se fundamenta en el (1-3) (1-6)- β -D-glucano, (1-3) (1-4)- β -D-glucano; y (1-3)- β -D-glucanos, con disolución/hidratado en hidróxido de potasio 2 N con agitación, para que posteriormente esta solución sea ajustada a pH 4.0 - 4.5 con buffer 7 de acetato de sodio de 1,2 M. La mezcla se incubó de 16 h a 40 °C con enzimas Glucazyme™ (β -glucanasas, β -glucosidasa y chitinase), que vienen incluidas en el Kit ©Megazyme. Después de la dilución y centrifugación, se extrajo una alícuota para la determinación de la glucosa con el reactivo de GOPOD [14], a través de un espectrofotómetro situado a 510 nm.

Kit Megazyme©

El kit está compuesto de 6 botellas. A continuación se detalla el contenido de cada una:

Botella 1: preparación de Glucazyme™ (exo-1, 3- β -glucanasa, exo-1, 3- β -glucanasa, β -glucosidasa y chitinase suspensión), 2,2 mL.

Botella 2: GOPOD reactivo tampón. Tampón (48 mL, pH 7,4), ácido p-hidroxibenzoico y azida de sodio (0,4% w/v).

Botella 3: GOPOD reactivo enzimas. Glucosa Oxidasa y Peroxidasa y 4-aminoantipirina. Congelación de polvo seco.

Botella 4: D-glucosa solución estándar (1,5 mg/mL; 5 mL) en 0,2 % w/v ácido benzoico.

Botella 5: Control de preparación de β -glucano de levadura (~ 2 g, β -glucano contenido indicado en la etiqueta de la botella).

Botella 6: Control preparación de almidón (~ 2 g, 96 % almidón dwb).

Instrumentación

La presente investigación utilizó los siguientes instrumentos: Espectrofotómetro (lectura a 510nm), Agitador vórtex, Baño maría (termostatizado a 40° C) y Centrifuga (requiere velocidad 3.000 rpm).

Reactivos y acondicionamiento

Tampón de acetato de sodio (200 mM, pH 5,0). 11,6 mL de ácido acético glacial (1,05 g/mL) se añadió a 900 mL de agua destilada y se ajustó a pH 5,0 utilizando

4 M (16 g/100 mL) solución de hidróxido de sodio. Se aforó el volumen a un litro con agua destilada.

Tampón de acetato sodio (1,2 M, pH 3.8).

69,6 mL de ácido acético glacial (1,05 g/mL) se añadió a 800 mL de agua destilada y se ajustó a pH 3,8 utilizando 4 M de hidróxido de sodio. Se aforó el volumen a un litro con agua destilada.

Hidróxido de potasio (2 M).

112 g de KOH se añadió a 800 mL de agua destilada y se disolvió por agitación. Se aforó el volumen a un litro, la solución se almacenó a temperaturas de refrigeración.

Determinación

Se añadió muestra molida de almidón nativo de fruta pan (aproximadamente 20 mg, pesado con precisión con aproximación de 0,1 mg) en un tubo de vidrio 16 x 100 mm marca Fisher y se registró el peso. Se aplicó un toque al tubo para asegurarse de que la muestra vaya a la parte inferior. Se agregó 0,4 mL de 2 M KOH y una barra de agitación de 5 x 15 milímetros. Se agitó el contenido durante 30 minutos en un baño de agua helada sobre un agitador magnético. Se adicionó 1,6 mL de tampón de acetato de sodio de 1,2 M (pH 3,8), se mezcló bien y luego se añadió 40 µL de Glucazyme™ y se taparon los tubos. Se continuó batiendo en el baño de agua helada durante 2 min y luego se transfirió los tubos a un conjunto de baño de agua a 40° C y se incubó (sin revolver) durante la noche (~ 16 h). Pasado este tiempo, se añadió 10 mL de agua a cada tubo y se mezcló bien el contenido. Se centrifugó los tubos a 3000 rpm en una centrifugadora de banco durante 10 minutos. Cuidadosamente se transfirió una alícuota de 0,1 mL de la muestra por duplicado a la parte inferior de los tubos de 16 x 100 mm. Se agregó 4 mL del reactivo GOPOD a cada uno de los tubos de reacción, los controles, las normas y espacios en blanco de reactivo y se incubó los tubos durante 20 min a 40° C. Se realizó la lectura de la absorbancia a 510 nm de cada solución contra un blanco del reactivo.

El reactivo blanco consistió en 0,1 mL de tampón de acetato de sodio (200 mM, pH 5,0) + 4,0 mL glucosa oxidasa/peroxidasa reactivo.

La norma D-glucosa consta de 0,1 mL D-glucosa estándar (1,5 mg/mL) + 4,0 mL glucosa oxidasa/peroxidasa de reactivo.

Cálculos

$$\beta - \text{glucano} \left(\% \frac{w}{w} \right) = \Delta E \times F \times \frac{12,04}{0,1} \times \frac{100}{W} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180}$$

$$\beta - \text{glucano} \left(\% \frac{w}{w} \right) = \Delta E \times \frac{F}{W} \times 10.836$$

Dónde:

- ΔE = absorbancia leer contra el blanco del reactivo.
- F = conversión de absorbancia a µg (150 µg de D-glucosa) estándar dividida por la absorbancia GOPOD de este 150 µg).
- 12,04/0,1 = corrección de volumen (0,1 mL de 12,04 mL).
- 1/1000 = conversión de µg a mg. W = peso de la muestra analizada en mg. 100/W = Factor β-glucano de presentar como un porcentaje del peso de la muestra.
- 162/180 = factor de conversión de D-glucosa libre a anhidro-D Glucosa como ocurre en β-glucanos.

2. Resultados y discusión

El rendimiento en almidón de la fruta pan (*Artocarpus altilis*) encontrado en la presente investigación fue de 55,40 %, valor que se asemeja a los publicados por otros trabajos 56,43 % [15] y 58 % [16], empero, estuvo algo por debajo de 69,2 % [17] reportado por otros autores. Estos trabajos, a diferencia del presente, no detallan el método de extracción de este hidrato de carbono, así como tampoco, las condiciones ambientales y de terraza climática del cultivar de fruta pan.

El contenido en β-glucanos, presentes en el almidón nativo de fruta pan, fue de 4,39 %, superior a los que contienen algunos cereales como la avena (3,37 %), cebada (4,36 %), centeno (1,89 %), trigo (0,65%) [12], quinua (3,74 %) [18], triticale (0,33 %) [19] y arroz (0,13 %) [20].

III. CONCLUSIONES

No se han publicado investigaciones acerca del contenido de β-glucanos en el almidón nativo de fruta pan. De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, el contenido en β-glucanos presenta valores muy cercanos a los que poseen los cereales, en particular, como la avena. El haber podido cuantificar esta fibra soluble, convierte a este cultivar, en una atractiva fuente amilácea a ser considerada, como matriz o insumo, en la elaboración de alimentos con características funcionales o nutraceuticas.

IV. REFERENCIAS

- [1] Quiñonez, M., & Arias, T. (2013). Proceso de producción y distribución de harina de fruta de pan para el consumo familiar en la Ciudad de Milagro (tesis de pregrado), Universidad Laica Vicente Rocafuerte de Guayaquil, Guayaquil - Ecuador.
- [2] Eréz, A. (2013) Temperate Fruit Crops in Warm Climates, Israel: *SpringerScience & Business Media*.
- [3] Casanova, R., Morocho, K., Gallegos, S., y Toasa, H. (2013) Producción y distribución de muffins de fruta de pan como complemento alimenticio para los niños de la fundación "Acción Solidaria", Escuela Superior Politécnica Nacional, ESPOL, Guayaquil – Ecuador.
- [4] Volman, J., Mensink, R., Ramakers, J., Winther, M., Carlsen, H., Blomhoff, R., ... Plat, J. (2010) Dietary (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from oat activate nuclear factor- κ B in intestinal leukocytes and enterocytes from mice, *Nutrition Research*, 30 (1), 40-48.
- [5] Hsu, C., Shyu, M., Lin, J., Yeng, G., y Fangs, S. (2010) cytotoxic effects of geranyl flavonoid derivatives from the fruit of *Artocarpus communis* in SK-Hep-1 human hepatocellular carcinoma cells, » *Food Chemistry*, 127 (1), 127-134.
- [6] Miranda, A., Montañez, J., y García, I. (2008) Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea* spp), *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 9 (1), 81-88.
- [7] Martínez, O., Lapo, B., Pérez, J., Zambrano, C., y Maza, F. (2015) Mecanismo de gelatinización del almidón nativo de banano exportable del Ecuador, *Revista Colombiana de Química*, 44 (2), 16-21.
- [8] Badui, S., (2012), Química de los Alimentos, México: Pearson Educación.
- [9] Guan, J. & Hanna, A. (2004) Extruding foams from corn starch acetate and native corn starch., vol. 5
- [10] Volman JJ, Mensink RP, Ramakers JD, de Winther MP, Carlsen H, Blomhoff R, et al (2010). Dietary (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucans from oat activate nuclear factor- κ B in intestinal leukocytes and enterocytes from mice. *Nutrition Research*, 30(1):40-8.
- [11] S, Volman J, Ramakers J, Plat J (2008). Dietary modulation of immune function by β glucans. *Physiol Behav*, 94(2):276-84.
- [12] Flores, Miñambres Antonio; Fuente García José Manuel; Pérez de Ayala Esquivias Pedro; Villamide Díaz María Jesús. *Mundo Ganadero*. 12/94; 22-33, (1994).
- [13] Flores Gorosquera E; García Suarez J; Flores Huicochea; Nuñez Santiago M; Gonzalez Soto Rosalía; Bello Pérez, Luis. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55: 86-90.
- [14] Megazyme (2013). Beta - Glucano K - Ebjlg, 03/13 (50 Ensayos por Kit) © Megazyme International Irlanda.
- [15] Coralia Leyva, A. Ortiz, O. Martí y M. Valdivié (2013). Inclusión de la harina del fruto de *Artocarpus altilis* en dietas para cerdos en preceba. *Pastos y Forrajes* vol.36 no.4 ,471p.
- [16] Valdivié, M; Alvarez R (2003). Nota sobre la utilización del árbol de la fruta del pan (*Artocarpus communis*) en pollos de engorde. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 37(2), 171p.
- [17] Oladeji, Babatunde Stephen, Akanbi, Charles Taiwo and Gbadamosi, Saka Olasunkanmi (2013). Comparative studies of physico-chemical properties of yam (*Dioscorea rotundata*), cocoyam (*Collocasia taro*), breadfruit (*Artocarpus altilis*) and plantain (*Musa paradisiaca*) instant flours. 7(8) pp. 210-215
- [18] Moreano, F. (2011) Determinación del contenido de Beta- Glucanos en líneas avanzadas y en variedades de cebada, procesada y no procesada, por medio de un método enzimático (tesis de pregrado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato – Ecuador.
- [19] Tachibana, L., Pinto, L., Goncalves, G., Pezzato, L. (2010) Xilanase e-glucanase nadigestibilidad aparente de nutrientes do triticale pela Tilápia-domilo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, 62 (2), 445 – 452.
- [20] Pizarro, S., Ronco, A., Gotteland, M. (2014). β -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud?. *Revista Chilena de Nutrición*, 41 (4).