

Extracción de β -glucanos de cebada (*Hordeum vulgare*) y champiñón (*Agaricus bisporus*) por ultrasonido

Extraction of β -glucans from barley (*Hordeum vulgare*) and mushroom (*Agaricus bisporus*) by ultrasound

Arelly Vega Domínguez¹, Aurora Quintero Lira^{1*}, Javier Piloni Martini¹, Rubén Jiménez Alvarado¹, Teresita Spezzia Mazzocco²

¹Instituto de Ciencias Agropecuarias (UAEH), Avenida Universidad Km. 1 s/n Exhacienda Aquetzalpa, 43600 Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México

²Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica, Luis Enrique Erro 1, Tonantzintla, Puebla, México

Autor de correspondencia: *aurora_quintero1489@uaeh.edu.mx

Resumen

Los β -glucanos son polisacáridos bioactivos, los cuales tienen aplicaciones en diversas áreas como en los alimentos, cosméticos, farmacéutica y en los últimos años han tenido gran relevancia en la salud, debido a su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana y anticancerígena. Se encuentran presentes en fuentes naturales, algunos son los cereales y los hongos, los cuales se pueden extraer de diferentes métodos, pero el ultrasonido ha tenido mucha relevancia por sus diversas ventajas, tanto ambientales como rendimiento. Por lo que se realizó un análisis químico proximal de las materias primas que son la cebada (*Hordeum vulgare*) y el champiñón (*Agaricus bisporus*) para saber su composición. Posteriormente, se realizaron extracciones mediante ultrasonido a 100% de amplitud, una relación soluto-solvente 1:10 para la cebada y 1:25 para el champiñón y tiempo de 20, 30 y 40 minutos. Se realizó la determinación del rendimiento de cada extracción, mostrando como resultados el de mayor porcentaje, tanto de la cebada como del champiñón, la extracción a 40 minutos obteniendo 5.82% y 4.96%, respectivamente.

Palabras clave: β -glucanos. Ultrasonido. Cebada. Champiñón.

Abstract

β -glucans are bioactive polysaccharides, which have applications in various areas such as food, cosmetics, pharmaceuticals and in recent years have had great relevance in health, due to their antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and anticancer activity. They are present in natural sources, some are cereals and mushrooms, which can be extracted by different methods, but ultrasound has been very relevant for its various advantages, both environmental and performance. Therefore, a proximal chemical analysis of the raw materials that are barley (*Hordeum vulgare*) and mushroom (*Agaricus bisporus*) was carried out to know their composition. Subsequently, extractions were carried out using ultrasound at 100% amplitude, a solute-solvent ratio of 1:10 for barley and 1:25 for mushroom and time of 20, 30 and 40 minutes. The yield of each extraction was determined, showing the highest percentage for both barley and mushrooms, the extraction at 40 minutes obtaining 5.82% and 4.96%, respectively.

Keywords: β -glucans. Ultrasound. Barley. Mushroom.

Introducción

Los β -glucanos están compuestos por glucosa y diferentes tipos de enlaces glucosídicos tipo β , y han sido de gran importancia por sus aplicaciones, como son en el área de alimentos como aditivo para reducir el colesterol en yogurt, leche y pan, y son utilizados en bebidas por su efecto espesante. Además, en productos dérmicos son utilizados por sus beneficios de hidratación, cicatrizante y antienvjecimiento. Del mismo modo, son empleados en medicamentos para complementar sus fórmulas. En los últimos años han sido de gran importancia en el área de salud por su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana y anticancerígena (Bai *et al.*, 2019; Morales *et al.*, 2019). Estos polisacáridos se encuentran presentes en la pared celular de diferentes fuentes como los cereales, hongos, levaduras y algas marinas (Bobade *et al.*, 2021). Dentro de los cereales con mayor composición es la cebada (*Hordeum vulgare*) con aproximadamente entre 5 y 11%, y también es considerado uno de los cuatro cereales con mayor producción en el mundo (Bobade *et al.*, 2021; Simón & Golik, 2022) y a nivel nacional el estado de Hidalgo es el segundo mayor productor (INEGI, 2023). Por otro lado, los hongos pueden llegar a presentar entre 3.1 a 46.5% de β -glucanos, (Bobade *et al.*, 2021), de los cuales existen entre 53,000 y 110,000 especies de hongos macroscópicos y el que mayor se produce tanto en México como en el mundo es el champiñón (*Agaricus bisporus*), debido a sus compuestos que aportan beneficios a la salud (Mata *et al.*, 2016; Pires *et al.*, 2017). Para la extracción de β -glucanos existen diferentes métodos como son por agua caliente, enzimático y con medio alcalino y ácido, pero actualmente el más eficaz para su obtención es el ultrasonido (Fu *et al.*, 2019), es un método que utiliza una sonda o baño de ultrasonido, produciendo ondas sonoras de frecuencias de 20 kHz y 40 kHz. Esta técnica consiste en el fenómeno de cavitación, causado por las ondas que se propagan en el líquido y crean ciclos de baja presión (rarefacción) y alta presión (compresión), y así produciendo microburbujas que transportan energía en su interior, que se comprimen y se expanden hasta llegar a un punto donde el sistema tiene una presión mínima y la burbuja implosiona (Esclapez *et al.*, 2011; Benito-Román *et al.*, 2013), afectando las paredes celulares y facilitando así la entrada del disolvente en el material vegetal y permitiendo la liberación de los compuestos intracelulares (Shalmashi, 2009). Siendo ampliamente aplicado en el área de alimentos para la deshidratación, emulsificación, pasteurización a temperaturas bajas, desespumante, activación e inactivación de enzimas, homogenización y extracción (Picó, 2013), dentro de esta última, el ultrasonido presenta diversas ventajas, como minimizar el consumo de energía, reducción del tiempo de extracción, así como también las emisiones de dióxido de carbono, permite el uso de solventes reutilizables y sobre todo, obtención de productos con alta pureza (Yuniarto *et al.*, 2022).

Metodología

Análisis químico proximal

La cebada (*Hordeum vulgare*) se obtuvo de manera comercial de la empacadora "Mi granero" ubicada en Cholula, Puebla y el champiñón (*Agaricus bisporus*) del mercado de Tulancingo de Bravo, Hidalgo. Se realizaron análisis químico proximal por triplicado, se determinó humedad, cenizas, grasa, fibra y proteína. Para la humedad se empleó el método 934.01 (AOAC, 2015), se pesaron 10 g de muestra en una charola de aluminio y se colocaron en una estufa de secado a 110°C durante 4 h hasta alcanzar un peso constante. Para la determinación de cenizas se utilizó el método 942.05 (AOAC, 2015), en un crisol de porcelana se pesó 5 g de muestra, se sometieron al fuego hasta carbonizarla y posteriormente se calcinó en una mufla a 550°C durante 4 h, al término de este tiempo se posicionó en un desecador para su enfriamiento y se registró el peso final. Se empleó el método 920.39 (AOAC, 2015) para la determinación de grasa, donde se agregó la muestra resultante de la determinación de humedad en un cartucho de celulosa, como solvente orgánico se agregó 50 mL de éter de petróleo, se colocó en un extractor Soxhlet (Büchi), el proceso se realizó en un tiempo de 4 h, al término del tiempo se posicionó en un desecador y se registró el peso. En fibra se utilizó el método 962.09 (AOAC, 2015), la muestra que resultó de la determinación de grasa se agregó en un vaso Berzelius, en el que se añadió 200 mL de H₂SO₄ 0.255 N y se colocaron en un determinador de fibra (Novatech) en el que hirvió durante 30 min. Posteriormente se filtró, se añadió agua destilada para alcanzar un pH neutro para volver a hervir por 30 min con 200 mL de NaOH 0.313 N, nuevamente se filtró y se lavó con 25 mL de H₂SO₄ 0.255 N, 150 mL de agua destilada y 25 mL de alcohol. Finalmente, el resultante se colocó en un crisol de porcelana para calcinarlo en una mufla a 550°C durante 30 min, al terminar se registró el peso. Para la determinación de proteína se empleó el método 2001.11 (AOAC, 2015), fundamentado en el método Kjeldahl, en el que se llevó a cabo en tres fases. La primera fue la digestión, donde se agregaron en un tubo Kjeldahl 0.5 g de muestra, una pastilla digestora y 15 mL de H₂SO₄ concentrado y se posicionó en el digestor (Büchi). Posteriormente, para la segunda fase que fue la destilación, se añadió 20 mL de agua

destilada y se ubicó en un destilador Büchi, en el tubo terminal del equipo se colocó un matraz con 50 mL de H_3BO_3 2% y como indicador 3 gotas de rojo de metilo para iniciar con el proceso. Finalmente, se procedió a titular con H_2SO_4 0.1 N.

Extracción de β -glucanos

La extracción de β -glucanos se realizó de acuerdo a Morales *et al.*, (2019) y Cao *et al.*, (2024) con algunas modificaciones, las cuales se basan en tres fases generales, el pretratamiento, la extracción y la purificación (Bobade *et al.*, 2021). El champiñón se rebanó en láminas de 3 mm de grosor aproximadamente, y debido a su alto contenido de humedad se secó en una estufa (TERLAB) a 45°C durante 24 h, posteriormente se molió en un procesador de alimentos (Nutri Bullet) a 25,000 rpm hasta obtener un polvo que se tamizó en malla número 80. Para la eliminación de algunas proteínas, grasas y pigmentos el polvo se suspendió en etanol al 90% a 70°C con una relación soluto solvente (1:4), durante 2 h y se mantuvo en agitación a 200 rpm. Posteriormente, se filtró y se conservó el soluto para secarlo a 50°C durante 12 h, seguido de una molienda. En el caso de la cebada, debido a su bajo contenido de humedad se omitió el secado, se continuó con el mismo proceso que el del champiñón. Para la extracción de los β -glucanos se utilizó un procesador ultrasónico (Sonics Materials), donde las constantes fueron la temperatura 40°C y a una amplitud del 100%, como variables la relación soluto-solvente de 1:10 para la cebada y 1:25 para el champiñón, en el cual se utilizó como solvente agua destilada, y el tiempo de 20, 30 y 40 min. Por último, en la purificación de los concentrados se centrifugaron a 5,000 rpm, 4°C durante 20 min para eliminar el precipitado y conservar el sobrenadante. Posteriormente, la solución de la cebada se elevó su pH hasta 10, el cual fue alcanzado con la adición de Na_2CO_3 20% (p/v), manteniendo una agitación de 200 rpm a 50°C durante 1 h, que provocó daños en la estructura del almidón, el cual se eliminó por centrifugación a 5,000 rpm, 4°C durante 15 min. Enseguida, se redujo a un pH de 4.5, que fue alcanzado con la adición de HCl 2 M, esto para la desnaturalización de proteínas que se desecharon nuevamente por centrifugación a las mismas condiciones. Después se enfrió a 5°C y se agregó etanol al 90% a la misma temperatura con una relación 3:1 durante 12 h para la precipitación de β -glucanos, se continuó con la centrifugación a 5,000 rpm, 4°C durante 20 min para desechar el sobrenadante y secar el precipitado a 40°C durante 3 h y se molió en un procesador de alimentos a 25,000 rpm. Debido a que el champiñón no presenta almidón en su estructura se omitió el proceso de exposición en el medio alcalino, y se continuó en el de medio ácido y así continuar con el proceso restante.

Rendimiento de extracción

Los rendimientos de extracción de β -glucanos se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento de extracción (\%)} = \frac{\text{masa de } \beta - \text{glucano (g)}}{\text{masa de polvo de cebada o champiñón (g)}} \times 100$$

Análisis estadísticos

Los datos obtenidos se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), con un diseño completamente al azar y un método Tukey para la comparación de medias entre tratamientos con un nivel de significancia de ($p \leq 0.05$). El análisis se realizó con el software SPSS Statistics 21.

Resultados y discusión

En la Tabla 1, se observa los resultados del análisis químico proximal de la cebada y del champiñón. En la cebada se muestra los componentes de mayor porcentaje, que son la humedad con 9.47%, fibra 13.34% y proteínas 9.75%, comparados con los resultados de Aro-Aro & Calsin-Cutimbo, (2019) que utilizó cebada y otros cereales para la preparación de mezclas alimentarias, obtuvo una humedad de la cebada de 7.92%, lo que representa una diferencia de 1.55%, sin embargo, de acuerdo con la NMX-FF-043-SCFI-2003 se encuentran por debajo de lo establecido como humedad máxima entre 11.5 y 13.5%, cabe mencionar que es un componente importante debido a que es considerada humedad crítica al 14% y al sobrepasar puede estar propenso a crecimiento de hongos filamentosos que pueden provocar micotoxinas, causando daño a la estructura del grano y a sus componentes intracelulares (Marrez & Ayesh, 2022). Dentro de la fibra reportaron el 1.08%, es una concentración baja en comparación con el dato obtenido, esto es relevante en el presente trabajo, debido a que los β -glucanos son un tipo de fibra soluble (Vizuite & Anta, 2016). El contenido proteico difiere en distintos cereales e incluso en el mismo cereal de diferente cosecha, en el cual Aro-Aro & Calsin-

Cutimbo, (2019) reportaron 8.63%, un dato cercano a lo que se obtuvo de 9.75%. Conocer este compuesto es crucial, ya que puede tener diferentes usos, por ejemplo, aquellos con alto contenido de proteína se destinan tanto a la alimentación de animales como a la panificación.

Por otro lado, la humedad del champiñón conforma la mayor concentración del hongo con un 91.86%, en comparación con Valchev, (2020), quien obtuvo un 90.88%, son resultados similares debido a que este componente es el que proporciona textura y sabor a los hongos. De igual manera, en contenido de cenizas se obtuvo un 0.9%, un dato muy cercano con lo reportado por el mismo autor que fue de 0.88%. Los hongos son característicos generalmente de poseer un bajo contenido de grasa en un rango normal entre 2 a 6% (Gómez-Flores et al., 2019), donde se adquirió un 1.45% siendo un dato mayor a Valchev, (2020) con 0.20% pero continúa siendo un beneficio para la salud. Para el contenido proteico se obtuvo 3.52%, mientras que Valchev, (2020) fue de 1.28%, a pesar de haber utilizado la misma especie de hongo esto puede atribuirse a la zona y a los sustratos que poseen diversos nutrientes que son proporcionados en el proceso de desarrollo, y así alternado su composición (Gómez-Flores et al., 2019).

Tabla 1. Análisis químico proximal de la cebada y el champiñón

Componente (%)	Cebada	Champiñón
Humedad	9.47±0.09	91.86±0.03
Cenizas	1.68±0.02	0.90±0.00
Grasa	1.73±0.02	1.45±0.03
Fibra	13.34±0.05	0.50±0.01
Proteínas	9.75±0.08	3.52±0.09

En la Tabla 2, se observa los resultados de rendimiento en porcentaje de las extracciones de β -glucanos de la cebada. En el rendimiento a 20 min se obtuvo 3.03%, en 30 min 3.22%, y 40 min el 5.82%, en el que no presentan diferencias significativas entre el primer y segundo tiempo, sin embargo, si se presentan diferencias significativas en el minuto 40. Comparados con extracciones por ultrasonido de Li et al., (2021) que obtuvieron un rendimiento de la cebada sin cáscara, conocida como “qingke” en China de 1.45%, con una amplitud de 50%, relación soluto-solvente de 1:25 y 20 min, los resultados obtenidos se encuentran superiores, esto se le atribuye a que existen variables que afectan en las extracciones como son la frecuencia, el tiempo, la temperatura, los disolventes, la relación soluto-solvente, potencia ultrasónica y tamaño de partícula de la muestra. Mientras que el rendimiento de extracto seco del champiñón a 20 min se obtuvo un 4.36%, en 30 min 4.41%, y 40 min el 4.96%, de igual manera que en el de la cebada se observan diferencias significativas en el último tiempo. En comparación con los resultados de Alzorqi et al., (2017) que utilizaron el hongo (*Ganoderma lucidum*) para la extracción de β -glucanos por el mismo método, con una relación soluto-solvente de 1:25 en tiempos de 20, 40, 60 y 80 min, en la que obtuvieron 31.4% en 20 min y 55.1% en 40 minutos, esta diferencia con los datos obtenidos puede atribuirse a que el hongo que se utilizó (*Agaricus bisporus*) presenta mayor cantidad de humedad como se observa en la Tabla 1, por lo que el rendimiento disminuye al someterlo al proceso de secado para el pretratamiento.

Tabla 2. Porcentaje del rendimiento de las extracciones de la cebada y del champiñón

	Tiempo (minutos)		
	20	30	40
Cebada	3.03% ^a	3.22% ^a	5.82% ^b
Champiñón	4.36% ^a	4.41% ^a	4.96% ^b

Conclusiones

El análisis de químico proximal de las materias primas, que fueron la cebada (*Hordeum vulgare*) y el champiñón (*Agaricus bisporus*), se obtuvo algunos resultados muy similares comparados con diferentes autores, como fue la humedad (9.47%) y la proteína (9.75%) en el caso del grano, y del hongo fue humedad (91.86%) y cenizas (0.90%).

Además, la extracción asistida por ultrasonido para obtener β -glucanos de la cebada y el champiñón, la condición de tiempo que presentó diferencias significativas y se obtuvo el mejor rendimiento fue la de 40 minutos en las dos fuentes, en las que se obtuvo 5.82% en la cebada y 4.96% en el champiñón. Del mismo modo, fueron comparados con otros autores que extrajeron estos componentes por ultrasonido, obteniendo que los rendimientos de la cebada fueron mayores con una diferencia de 1.52% en el minuto 20, mientras que el del champiñón fue menor debido a su alto porcentaje de humedad.

Referencias

- Alzorqi, I., Sudheer, S., Lu, T. J., & Manickam, S. (2017). Ultrasonically extracted β -D-glucan from artificially cultivated mushroom, characteristic properties and antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 35, 531–540. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.04.017>
- Aro Aro, J. M., & Calsin Cutimbo, M. (2019). Revista de Investigaciones Altoandinas. *Journal of High Andean Research*, 21(2), 293–303. <https://doi.org/10.18271/ria.2019.506>
- AOAC (2015) Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 18th Edition, AOAC, Arlington, 806-814.
- Bai, J., Ren, Y., Li, Y., Fan, M., Qian, H., Wang, L., Wu, G., Zhang, H., Qi, X., Xu, M., & Rao, Z. (2019). Physiological functionalities and mechanisms of β -glucans. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 57-66. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.023>
- Benito-Román, Ó., Alonso, E., & Cocero, M. J. (2013). Ultrasound-assisted extraction of β -glucans from barley. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.006>
- Bobade, H., Gupta, A., & Sharma, S. (2021). Beta-glucan. *Nutraceuticals and Health Care* (pp. 343–358). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89779-2.00013-2>
- Cao, H., Li, R., Li, S., Song, H., Huang, K., Zhang, Y., Lu, J., & Guan, X. (2024). Unravelling the synergistic effect of incorporation of β -glucan and high intensity ultrasound treatment on the stability of highland barley milk. *Food Hydrocolloids*, 147. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109396>
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3, 108-120. <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>
- Fu, Y., Lin, S., Lu, M., Wei, S. Y., Zhou, J., Zhao, L., Zhang, Q., Lin, D. R., Liu, Y. T., Chen, H., Qin, W., & Wu, D. T. (2019). Quantitative evaluation of ultrasound-assisted extraction of 1,3- β -glucans from *Dictyophora indusiata* using an improved fluorometric assay. *Polymers*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/polym11050864>
- Gómez-Flores, L. D. J., Martínez-Ruiz, N. D. R., Enríquez-Anchondo, I. D., Garza-Ocañas, F., Nájera-Medellín, J. A., & Quiñónez-Martínez, M. (2019). Análisis proximal y de composición mineral de cuatro especies de hongos ectomicorrízicos silvestres de la Sierra Tarahumara de Chihuahua. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 22, e184. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.184>
- INEGI. (2023, November 21). Resultados definitivos del censo agropecuario 2022 en el estado de Hidalgo. Censo Agropecuario.
- Li, Y., You, M., Liu, H., & Liu, X. (2021). Comparison of distribution and physicochemical properties of β -glucan extracted from different fractions of highland barley grains. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.094>
- Marrez, D. A., & Ayes, A. M. (2022). Mycotoxins: The threat to food safety. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(1), 353-372. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2021.80490.3987>



- Mata, G., Medel, R., Callac, P., Billette, C., & Garibay-Orijel, R. (2016). Primer registro de *Agaricus bisporus* (Basidiomycota, Agaricaceae) silvestre en Tlaxcala y Veracruz, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(1), 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.01.019>
- Morales, D., Smiderle, F. R., Villalva, M., Abreu, H., Rico, C., Santoyo, S., Iacomini, M., & Soler-Rivas, C. (2019). Testing the effect of combining innovative extraction technologies on the biological activities of obtained β -glucan-enriched fractions from *Lentinula edodes*. *Journal of Functional Foods*, 60. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103446>
- NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-cereal-cebada maltera (*Hordeum vulgare* L. y *Hordeum distichum* L.)-especificaciones y métodos de prueba
- Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84-99. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
- Pires, A. do R. A., Ruthes, A. C., Cadena, S. M. S. C., & Iacomini, M. (2017). Cytotoxic effect of a mannogalactoglucan extracted from *Agaricus bisporus* on HepG2 cells. *Carbohydrate Polymers*, 170, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.050>
- Shalmashi, A. (2009). Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. *Journal of Food Lipids*, 16(4), 465-474.
- Simón, M. R., & Golik, S. I. (2022). Cereales de invierno. EDULP. <https://doi.org/10.35537/10915/154685>
- Valchev, N. (2020). Nutritional and amino acid content of stem and cap of *Agaricus bisporus*, Bulgaria. *Bulg. J. Agric. Sci*, 26, 192–201.
- Vizuite, A. A., & Anta, R. M. O. (2016). Effects of oat beta-glucan intake on blood cholesterol: A review. *Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica*, 20(2), 127–139. <https://doi.org/10.14306/renhyd.20.2.183>
- Yuniarto, K., Welt, B. A., Muvianto, C. M. O., & Muiz, A. (2022). Ultrasound Application for Oil Extraction of Lemongrass Parts. *Makara Journal of Technology*, 26(3), 124–130. <https://doi.org/10.7454/mst.v26i3.1605>