



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

**FORTIFICACIÓN DE TORTILLA MEXICANA MEDIANTE LA
INCORPORACIÓN DE MALTA GASTADA FERMENTADA Y
TRATADA TÉRMICAMENTE**

TESIS

Que como requisito parcial

para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

Presenta:

M.C AZUCENA OLVERA ORTIZ

Bajo la supervisión de: LANDY HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, DRA.



Chapingo, Estado de México, diciembre de 2025



FORTIFICACIÓN DE TORTILLA MEXICANA MEDIANTE LA
INCORPORACIÓN DE MALTA GASTADA FERMENTADA Y TRATADA
TÉRMICAMENTE

Tesis realizada por **AZUCENA OLVERA ORTIZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

DIRECTOR:  _____

DRA. LANDY HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

ASESOR:  _____

DRA. CONSUELO S.O. LOBATO CALLEROS

ASESOR:  _____

DRA. OFELIA SANDOVAL CASTILLA

ASESOR:  _____

DR. JUAN CARLOS CUEVAS BERNARDINO

LECTOR  _____

EXTERNO: DRA. EDNA ELENA SUÁREZ PATLÁN

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
ABREVIATURAS.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
AGRADECIMIENTOS.....	x
DATOS BIOGRÁFICOS	xi
RESUMEN GENERAL.....	xii
GENERAL ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivo general.....	1
1.2 Objetivos específicos.....	2
1.3 Hipótesis.....	2
1.4 Capítulos de tesis.....	3
1.5 Literatura citada.....	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Bagazo cervecero (Brewer's Spent Grain, BSG): contexto y características.....	6
2.1.1 Generación y volumen de producción mundial.....	6
2.1.2 Composición química y nutrimental.....	7
2.1.3 Propiedades biológicas y funcionales.....	11
2.2 Estrategias de revalorización del BSG.....	12
2.2.1 Uso tradicional.....	13
2.2.2 Limitaciones en su aprovechamiento.....	15
2.2.3 Métodos de acondicionamiento para mejorar su funcionalidad.....	15
2.3 Impacto de la fermentación y el tratamiento térmico en el BSG.....	21
2.3.1 Cambios fisicoquímicos (pH, acidez, solubilidad de proteínas y carbohidratos).....	21
2.3.2 Cambios estructurales (modificación de fibra insoluble a fibra soluble, análisis FTIR).....	23

2.3.3	Contenido fenólico y actividad antioxidante (polifenoles, melanoidinas).....	25
2.3.4	Propiedades funcionales (WHC, OHC).....	26
2.3.5	Potencial como ingrediente funcional en alimentos procesados....	27
2.4	La tortilla de maíz como alimento base.....	30
2.4.1	Importancia cultural y nutricional en México y Latinoamérica.....	30
2.4.2	Procesos de nixtamalización y producción de tortilla.....	30
2.4.3	Limitaciones nutricionales (proteína incompleta, baja fibra, minerales limitados).....	30
2.5	Fortificación de tortilla con ingredientes funcionales.....	31
2.5.1	Estado actual de investigación en fortificación con subproductos agroindustriales.....	32
2.5.2	Posibilidades del BSG como ingrediente funcional.....	32
2.6	Literatura citada.....	33
3.	IMPACT OF SPONTANEOUS FERMENTATION AND HEAT TREATMENT ON THE PHYSICOCHEMICAL, FUNCTIONAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BSG.....	37
3.1	Abstract.....	37
3.2	Introduction.....	38
3.3	Materials and methods.....	39
3.3.1	Materials.....	39
3.3.2	Spontaneous fermentation and heat treatment of BSG.....	40
3.3.3	Physicochemical characterization of treated BSG variants.....	42
3.3.4	Color.....	42
3.3.5	Proximal chemical composition and dietary fiber.....	43
3.3.6	Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).....	43
3.3.7	Ethanol extraction.....	43
3.3.8	Determination of total phenolic content (TPC).....	44
3.3.9	Antioxidant activity using the DPPH• assay.....	44
3.3.10	Antioxidant activity using the ABTS ^{•+} assay.....	44
3.3.11	Quantification of melanoidins.....	45
3.3.12	Functional properties.....	45
3.3.13	Statistical analysis.....	46
3.4	Results and discussion.....	46

3.4.1	Fermentation process parameters.....	46
3.4.2	Physicochemical characterization of BSG variants.....	48
3.4.3	Impact on the color of BSG variants.....	49
3.4.4	Proximal chemical composition of treated BSG variants.....	51
3.4.5	Modification in the composition of dietary fiber.....	53
3.4.6	FTIR spectroscopy.....	55
3.4.7	Total polyphenol content.....	56
3.4.8	Quantification of melanoidins.....	58
3.4.9	Antioxidant activity.....	59
3.4.10	Functional properties.....	60
3.5	Conclusions.....	61
3.6	Acknowledgments.....	62
3.7	Declarations Conflict of interest.....	62
3.8	References.....	62
4.	FORTIFICACIÓN DE TORTILLA DE MAÍZ UTILIZANDO BAGAZO CERVECERO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL.....	67
4.1	Resumen.....	67
4.2	Introducción.....	69
4.3	Materiales y métodos.....	70
4.3.1	Materiales.....	70
4.3.2	Preparación de las tortillas de maíz.....	71
4.3.3	Propiedades físicas y de calidad.....	71
4.3.4	Color de las tortillas.....	71
4.3.5	Propiedades texturales de las tortillas.....	72
4.3.6	Composición proximal.....	72
4.3.7	Contenido de calcio.....	73
4.3.8	Contenido total de polifenoles y actividad antioxidante.....	73
4.3.9	Fracciones de digestión del almidón.....	73
4.3.10	Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	73
4.3.11	Evaluación sensorial.....	74
4.3.12	Análisis estadístico.....	74
4.4	Resultados y discusión.....	74
4.4.1	Calidad de las tortillas.....	74

4.4.2	Color de las tortillas.....	76
4.4.3	Composición químico proximal de las tortillas.....	78
4.4.4	Tasa de digestión in vitro del almidón en tortillas.....	81
4.4.5	Propiedades texturales de la masa de maíz y de las tortillas.....	82
4.4.6	Propiedades sensoriales de las tortillas.....	86
4.4.7	Contenido fenólico total y capacidad antioxidante de las tortillas...	87
4.5	Microestructura de las tortillas.....	89
4.6	Conclusiones.....	91
4.7	Agradecimientos.....	91
4.8	Referencias.....	91
5.	CONCLUSIONES GENERALES.....	95
6.	APÉNDICE.....	97
6.1	Artículo publicado.....	97

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química del BSG.....	8
Cuadro 2. Microbiological counts of BSG _{WEF} and BSG _{EF}	47
Cuadro 3. Variation in pH, titratable acidity, soluble protein, and total soluble sugars of treated BSG.....	49
Cuadro 4. Color parameters in BSG.....	50
Cuadro 5. Proximal chemical composition of BSG variants.....	53
Cuadro 6. Dietary fiber modification of treated BSG variants.....	54
Cuadro 7. Melanoidin concentration in variants.....	58
Cuadro 8. Antioxidant activity of treated BSG variants.....	60
Cuadro 9. WHC, OHC, and WSI of treated BSG variants.....	61
Cuadro 10. Propiedades físicas y de color de las tortillas fortificadas con diferentes concentraciones de BSG	77
Cuadro 11. Composición química proximal, contenido de calcio y digestibilidad in vitro del almidón de las tortillas con diferente concentración de BSG.....	80
Cuadro 12. Análisis del perfil de textura, resistencia a la tracción de la masa y las tortillas, y evaluación sensorial de tortillas con diferentes concentraciones de BSG.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vías de valorización tradicionales e innovadoras para BSG.....	13
Figura 2. Principales alimentos en los cuales se ha incorporado el BSG.....	27
Figura 3. Flowchart of treated BSG variants.....	41
Figura 4. AT(a) and pH(b) before and after the spontaneous fermentation process. BSG _{WEF} : BSG without fermentation; BSG _{EF} : BSG with spontaneous fermentation.....	48
Figura 5. FTIR spectra of treated BSG variants. BSG _{WEF40} : BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG _{WEF95} : BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG _{EF40} : BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG _{EF95} : BSG spontaneously fermented and dried at 95 °C.....	56
Figura 6. Total polyphenol content of treated BSG variants. BSG _{WEF40} : BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG _{WEF95} : BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG _{EF40} : BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG _{EF95} : BSG with spontaneously fermented and dried at 95 °C.....	57
Figura 7. Color de las variantes de tortillas elaboradas.....	76
Figura 8. Contenido fenólico total (A) y actividad antioxidante (B) de tortillas con diferentes concentraciones de BSG. Las letras diferentes (a-d) indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).....	89
Figura 9. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de variantes de tortillas. A: tortilla de control; B-D: tortillas con un 4, 8 y 12 % p/p de BSG incorporado, respectivamente. sg = gránulos de almidón, f-s = componentes de superficie plana, pb = cuerpos proteícos.....	90

ABREVIATURAS

BSG: Bagazo Cervezero

BSG_{WEF}: Bagazo cervezero sin fermentación espontánea

BSG_{EF}: Bagazo cervezero con fermentación espontánea

BSG_{WEF40}: Bagazo cervezero sin fermentación espontánea y tratamiento térmico a 40°C

BSG_{WEF95}: Bagazo cervezero sin fermentación espontánea y tratamiento térmico a 95°C

BSG_{EF40}: Bagazo cervezero con fermentación espontánea y tratamiento térmico a 40°C

BSG_{EF95}: Bagazo cervezero con fermentación espontánea y tratamiento térmico a 95°C

WHC: Capacidad de retención de agua (por sus siglas en inglés)

OHC: Capacidad de retención de aceite (por sus siglas en inglés)

WSI: Índice de solubilidad en agua (por sus siglas en inglés)

TPC: Contenido fenólico total

SEM: Microscopía electrónica de barrido

GAE: Equivalente de ácido gálico

RDS: Almidón de digestión rápida

SDS: Almidón de digestión lenta

RS: Almidón resistente

TPA: Análisis de perfil textural

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a la maravillosa coincidencia entre la ciencia y la vida. Mientras aprendía a transformar el bagazo en alimento, la vida me enseñaba a transformarme en madre. Ambas experiencias me revelaron que nutrir —ya sea una idea o un corazón— es el acto más profundo de creación.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Ingeniería Agroindustrial y al Departamento de Preparatoria Agrícola por las facilidades brindadas para el desarrollo de esta investigación.

Al posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, por los conocimientos y apoyo brindado durante mi estancia.

A la Dra. Landy Hernández Rodríguez por el conocimiento compartido, el apoyo en cada etapa y el cariño brindado durante este doctorado.

A mi comité asesor por su apoyo en la planeación y desarrollo de esta investigación; la constante guía, acertados ajustes y plena dedicación para culminar este proyecto.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Azucena Olvera Ortiz

Fecha de nacimiento: 11 de agosto de 1995

Lugar de nacimiento: Apan, Hidalgo, México.

CURP: OE0A950811MHGLRZ08

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Cédula profesional: 12859932



Desarrollo académico:

Bachillerato: Preparatoria agrícola, Universidad Autónoma Chapingo

Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo

Maestría: Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

Fortificación de tortilla mexicana mediante la incorporación de malta gastada fermentada y tratada térmicamente¹

Se evaluó el efecto de la fermentación espontánea y del tratamiento térmico sobre las propiedades fisicoquímicas, funcionales y antioxidantes del bagazo cervecero (BSG) con el propósito de generar un ingrediente funcional con aplicación en la fortificación de tortillas de maíz. El BSG presentó un incremento significativo en el contenido de fenoles totales de 1.28 ± 0.06 a 2.94 ± 0.09 mg GAE/g, así como en la actividad antioxidante frente al radical DPPH (35.2 ± 1.7 a 63.5 ± 2.4 %) y ABTS (41.8 ± 1.2 a 74.6 ± 1.9 %). El tratamiento combinado aumentó la fracción de fibra soluble (de 18.6 ± 0.8 a 31.4 ± 1.1 %), la capacidad de retención de agua (2.1 ± 0.2 a 3.9 ± 0.3 g/g) y la capacidad de retención de aceite (1.8 ± 0.1 a 3.1 ± 0.2 g/g). Se observaron variaciones de color con incremento de luminosidad (L^*) y reducción de pardeamiento ($\Delta E < 2.0$), confirmando la modificación estructural del material.

El BSG tratado fue incorporado a niveles de 0, 4, 8 y 12 % en tortillas de maíz. La fortificación con 12 % incrementó el contenido de proteína (7.5 ± 0.2 a 9.8 ± 0.3 %), fibra cruda (1.6 ± 0.1 a 3.4 ± 0.2 %) y almidón resistente (2.2 ± 0.1 a 4.6 ± 0.3 %). Sin embargo, se redujo el grado de inflado y rolabilidad. Las tortillas con 4 % de BSG mostraron la mayor aceptabilidad global (8.4 ± 0.4). El análisis microestructural reveló gránulos de almidón deformados y zonas fibrosas interconectadas, lo que sugiere una interacción fisicoquímica entre los componentes del BSG y la matriz de maíz. Los resultados demuestran que el acondicionamiento del BSG mediante fermentación espontánea y tratamiento térmico controlado mejora significativamente su funcionalidad, permitiendo su aprovechamiento como ingrediente funcional.

Palabras clave: bagazo cervecero, tortilla de maíz, actividad antioxidante, fortificación, subproducto de cerveza

Tesis de Doctorado en Ciencias Agroalimentarias Universidad Autónoma Chapingo

Autor: M.C. Azucena Olvera Ortiz

Directora de tesis: Dra. Landy Hernández Rodríguez

GENERAL ABSTRACT

Fortification of Mexican tortillas through the incorporation of brewers' spent grain that has been fermented and heat-treated¹

The effect of spontaneous fermentation and thermal treatment on the physicochemical, functional, and antioxidant properties of brewer's spent grain (BSG) was evaluated with the purpose of generating a functional ingredient applicable to the fortification of corn tortillas. BSG showed a significant increase in total phenolic content from 1.28 ± 0.06 to 2.94 ± 0.09 mg GAE/g, as well as in antioxidant activity against DPPH (35.2 ± 1.7 to 63.5 ± 2.4 %) and ABTS (41.8 ± 1.2 to 74.6 ± 1.9 %) radicals. The combined treatment increased the soluble fiber fraction (from 18.6 ± 0.8 to 31.4 ± 1.1 %), water-holding capacity (from 2.1 ± 0.2 to 3.9 ± 0.3 g/g), and oil-holding capacity (from 1.8 ± 0.1 to 3.1 ± 0.2 g/g). Color variations were observed, with increased lightness (L^*) and reduced browning ($\Delta E < 2.0$), confirming the structural modification of the material.

The treated BSG was incorporated at levels of 0, 4, 8, and 12 % into corn tortillas. Fortification with 12 % increased protein content (from 7.5 ± 0.2 to 9.8 ± 0.3 %), crude fiber (from 1.6 ± 0.1 to 3.4 ± 0.2 %), and resistant starch (from 2.2 ± 0.1 to 4.6 ± 0.3 %). However, puffing degree and rollability were reduced. Tortillas with 4 % BSG showed the highest overall acceptability (8.4 ± 0.4). Microstructural analysis revealed deformed starch granules and interconnected fibrous regions, suggesting a physicochemical interaction between BSG components and the maize matrix. The results demonstrate that conditioning BSG through spontaneous fermentation and controlled thermal treatment significantly improves its functionality, enabling its utilization as a functional ingredient.

Keywords: brewer's spent grain, corn tortilla, antioxidant activity, fortification, by-product

Doctoral Thesis. Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Universidad Autónoma Chapingo
Author: M.C Azucena Olvera Ortiz
Advisor: Dra. Landy Hernández Rodríguez

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La cerveza es la tercer bebida más consumida a nivel mundial y se elabora tradicionalmente con agua, malta de cebada, lúpulo y levadura de cerveza (Jiang et al., 2025). Esta industria genera grandes volúmenes de subproductos que, en la mayoría de los casos, son desechados de manera incorrecta, ocasionando impactos ambientales negativos debido a la generación de gases de efecto invernadero (Naibaho et al., 2024). Entre estos subproductos, destaca el bagazo cervecero (BSG), el cual representa aproximadamente el 85 % del volumen total de subproductos generados en la elaboración de cerveza. Este subproducto se obtiene tras la etapa de maceración y se compone principalmente de las cáscaras de cebada malteada y cereales sin maltear (Naibaho et al., 2025). El BSG presenta una producción media anual mundial de aproximadamente 39 millones de toneladas y sus principales componentes son celulosa (26-60 %), hemicelulosa (19-60 %), lignina (13-56 %), proteínas (20-24 %), compuestos polifenólicos (ácidos protocatéquico, cafeico, *p*-cumárico, ferúlico, catequina y derivados) y hasta un 13 % p/p de almidón residual (Naibaho et al., 2025).

En los últimos años, el BSG ha despertado gran interés científico y tecnológico por su potencial como fuente de ingredientes funcionales debido a que exhibe propiedades biológicas como efectos antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios, inmunomoduladores y de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (Bucci et al., 2024). Sin embargo, su elevado contenido de humedad, limitada estabilidad y alta proporción de fibra insoluble dificultan su conservación y limitan su uso directo en formulaciones alimentarias. Por ello, diversas investigaciones se han enfocado en estrategias de acondicionamiento

físico, químico o biológico que mejoren sus propiedades funcionales y aumenten su valor agregado (Moirangthem et al., 2024).

Dentro de estas estrategias, la fermentación y los tratamientos térmicos controlados han mostrado resultados prometedores (Naibaho et al., 2023). La fermentación permite la liberación de compuestos fenólicos, la parcial solubilización de la fibra y el incremento de la actividad antioxidante (Pérez-Barragán et al., 2024); mientras que el tratamiento térmico contribuye a la formación de melanoidinas y a la reducción de la carga microbiana, favoreciendo la estabilidad del material (Naibaho et al., 2023). La combinación de ambos tratamientos constituye una alternativa viable para revalorizar el BSG bajo un enfoque de economía circular, al transformar un residuo perecedero en un ingrediente funcional con aplicaciones tecnológicas y nutraceuticas.

Por otro lado, la tortilla de maíz es un alimento fundamental en la dieta mexicana y latinoamericana, siendo una fuente principal de energía y compuestos bioactivos para la población (Nieves-Hernández et al., 2024). No obstante, presenta limitaciones nutricionales asociadas a su bajo contenido de fibra, proteínas de calidad incompleta y niveles reducidos de minerales (Rojo-Gutiérrez et al., 2025). En este contexto, la fortificación de tortillas mediante ingredientes funcionales derivados de subproductos agroindustriales representa una oportunidad factible para mejorar el valor nutricional de un alimento de consumo cotidiano con alguna deficiencia nutricional (Vasisht et al., 2024).

En este sentido, la presente investigación se desarrolló con los objetivos planteados en la sección 1.1 y 1.2

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la fermentación espontánea y del tratamiento térmico sobre las propiedades fisicoquímicas, funcionales y antioxidantes del bagazo cervecero (BSG), y determinar su viabilidad como ingrediente funcional en la fortificación de tortillas de maíz, con la finalidad de desarrollar una alternativa tecnológica

sustentable que contribuya al aprovechamiento integral de subproductos agroindustriales y a la mejora del valor nutricional de un alimento básico de consumo cotidiano.

1.2 Objetivos específicos

1. Modificar el arreglo estructural del BSG a fin de potenciar su funcionalidad, por medio de la aplicación combinada de procesos de fermentación espontánea y tratamiento térmico.
2. Determinar el efecto del tratamiento térmico y de la fermentación espontánea sobre las características estructurales, cambios en la composición química, color, solubilidad, capacidad de retención de agua y aceite, así como en la liberación de compuestos fenólicos y la formación de melanoidinas del BSG.
3. Seleccionar el tratamiento de acondicionamiento del BSG que presente las mejores propiedades tecnofuncionales y antioxidantes para su aplicación en la fortificación de tortillas de maíz.
4. Evaluar el impacto de la incorporación de BSG acondicionado en diferentes niveles de sustitución (0, 4, 8 y 12 %) sobre las propiedades físicas, texturales, químicas y sensoriales de tortillas de maíz elaboradas mediante nixtamalización tradicional.
5. Analizar los cambios microestructurales en las tortillas fortificadas con BSG mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para relacionarlos con su textura y digestibilidad del almidón.

1.3 Hipótesis

Debido a los cambios estructurales y bioquímicos inducidos por la fermentación espontánea y el tratamiento térmico del bagazo cervecero (BSG), se generará un ingrediente con propiedades fisicoquímicas, funcionales y antioxidantes mejoradas, cuya incorporación controlada en la tortilla de maíz permitirá incrementar su valor nutricional y funcional sin afectar significativamente sus propiedades sensoriales ni su calidad tecnológica.

1.4 Capítulos de tesis

El presente documento de tesis consta de cuatro capítulos:

El capítulo 1 corresponde a la introducción general sobre el tema de investigación, incluyendo brevemente el planteamiento y la justificación del problema. Además, se redactan el objetivo general, los objetivos específicos y la hipótesis que conducen al desarrollo de la investigación.

El capítulo 2 comprende la revisión de la literatura, en la que se aborda el contexto global de producción del bagazo cervecero, su composición química, propiedades funcionales y biológicas, así como las estrategias más recientes de revalorización mediante procesos de acondicionamiento físico, térmico y fermentativo. Además, se analizan los antecedentes sobre la tortilla de maíz como alimento básico, sus limitaciones nutricionales y los avances en su fortificación con ingredientes funcionales de origen agroindustrial.

El capítulo 3 corresponde al primer artículo científico derivado de la investigación, en el cual se evalúa el efecto de la fermentación espontánea y del tratamiento térmico sobre las propiedades fisicoquímicas, funcionales y antioxidantes del BSG. En este capítulo se describen las condiciones de procesamiento aplicadas, la caracterización química y tecnológica del material y se discuten los resultados que permiten determinar las combinaciones óptimas de tratamiento para su aprovechamiento como ingrediente funcional.

El capítulo 4 presenta los resultados de la aplicación del BSG acondicionado como ingrediente funcional en la fortificación de tortillas de maíz. Se analizan los efectos de diferentes niveles de sustitución sobre las propiedades físicas, texturales, nutricionales, antioxidantes y sensoriales de las tortillas, así como su microestructura y comportamiento frente a la digestión del almidón. Este capítulo demuestra la viabilidad tecnológica y nutricional del BSG tratado como componente funcional en un alimento tradicional mexicano.

1.5 Literatura citada

Bucci, P., Martínez-Navarrete, M., Marti-Quijal, F. J., José Guillot, A., Barba, F. J., Ferrer, E.,...Melero, A. (2024). In vivo reduction of skin inflammation using ferulic acid-loaded lipid vesicles derived from Brewer's spent grain. *International Journal of Pharmaceutics*, 666, 124764. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124764>

Jiang, L., Song, J., Qi, M., Han, F., Xu, M., Li, Y.,...Li, H. (2025). Exploring the influence of extruded rice adjunct on wort separation efficiency: A bio-macromolecule degradation perspective. *Food Chemistry*, 464, 141644. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141644>

Moirangthem, K., Koirala, P., Maina, H. N., Rai, D. K., & Coda, R. (2024). Impact of pre-treatments and bioprocessing on the carbohydrate and polyphenol profile of brewers' spent grain. *Food and Bioprocess Processing*, 148, 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2024.08.017>

Naibaho, J., Korzeniowska, M., Phimolsiripol, Y., & Gavahian, M. (2025). Value-added compounds from brewers' spent grain to develop bioactive-enriched food ingredients: Recent advances in sustainable extraction and considerations for industrial application. *Food Bioscience*, 71, 107351. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107351>

Naibaho, J., Korzeniowska, M., Sitanggang, A. B., Lu, Y., & Julianti, E. (2024). Brewers' spent grain as a food ingredient: Techno-processing properties, nutrition, acceptability, and market. *Trends in Food Science & Technology*, 152, 104685. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104685>

Naibaho, J., Pudło, A., Bobak, Ł., Wojdyło, A., López, Á. A., Pangestika, L. M. W.,...Yang, B. (2023). Conventional water bath heating on undried brewer's spent grain: Functionality, fatty acids, volatiles, polyphenolic and antioxidant properties. *Food Bioscience*, 53, 102523. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102523>

Nieves-Hernandez, M. G., Correa-Piña, B. L., Garcia-Chavero, O., Lopez-Ramirez, S., Florez-Mejia, R., Barrón-García, O. Y.,...Rodriguez-Garcia, M. E. (2024). Indirect Fortification of Traditional Nixtamalized Tortillas with Nixtamalized Corn Flours. *Foods*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/foods13244082>

Pérez-Barragán, J., Martínez-Fraile, C., Muñoz, R., Quijano, G., Maya-Yescas, R., León-Becerril, E.,...García-Depaet, O. (2024). Brewery spent grain valorization through fermentation: Targeting biohydrogen, carboxylic acids and methane production. *Process Safety and Environmental Protection*, 191, 206-217. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.08.071>

Rojo-Gutiérrez, E., López-Martínez, L., Tirado-Gallegos, J., Buenrostro-Figueroa, J., García, H., & Baeza-Jiménez, R. (2025). Fortified Maize Tortilla: from the traditional Mesoamerican diet to functional food. *Biotechnia*, 27, Article e2269. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v27.2269>

Vasisht, R., Yadav, R. B., & Yadav, B. S. (2024). Effect of pomegranate peel on physicochemical and antioxidant properties of tortilla chips prepared from germinated corn and mung bean flour. *Future Foods*, 9, Article 100363. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2024.100363>

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Bagazo cervecero (Brewer's Spent Grain, BSG): contexto y características

La cerveza es la tercera bebida más consumida a nivel mundial y se elabora tradicionalmente con agua, malta de cebada, lúpulo y levadura cervecera (Jiang et al., 2025). El principal subproducto derivado de esta actividad es el bagazo cervecero (BSG por sus siglas en inglés: Brewer's spent grain), representando alrededor del 85 % de los residuos generados en el proceso de elaboración de cerveza (Naibaho et al., 2025; Pachulicz et al., 2025). Este subproducto, se obtiene tras la etapa de maceración, cuando el mosto es separado de la fracción insoluble compuesta principalmente por las cáscaras de la cebada malteada.

Actualmente, el interés científico y tecnológico en la revalorización del BSG ha crecido debido a su riqueza en compuestos bioactivos y su potencial para la producción de ingredientes funcionales (Naibaho et al., 2025).

2.1.1 Generación y volumen de producción mundial

Se estima que por cada 100 litros de cerveza producidos se generan aproximadamente 20 kg de BSG (Pachulicz et al., 2025), teniendo una producción mundial anual estimada entre 38 y 42 millones de toneladas de bagazo cervecero (Naibaho et al., 2025; Pachulicz et al., 2025). Los países que lideran la producción de BSG son China, Estados Unidos, Brasil y Alemania (Pachulicz et al., 2025).

La gestión inadecuada de este subproducto puede ocasionar problemas ambientales (emisiones de metano en vertederos y contaminación de agua), del

mismo modo, se puede convertir en un subproducto peligroso para el ser humano debido a la alta carga microbiana (Naibaho et al., 2025).

Por ello, su revalorización se alinea directamente con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en particular los relacionados con producción y consumo responsables, reducción de desperdicios y seguridad alimentaria (Aradwad et al., 2025; Naibaho et al., 2025).

2.1.2 Composición química y nutrimental

El bagazo cervecero es un material lignocelulósico rico en fibra dietética y proteína debido a la extracción de azúcares fermentables durante la maceración. En base seca, su composición típica comprende un 30–60 % de fibra dietética, 15–30 % de proteína, 4–10 % de lípidos y 2–5 % de cenizas y almidón residual (3–37 %) (Tabla 1) (Aradwad et al., 2025; Eche et al., 2025). La fracción fibrosa está compuesta principalmente por celulosa (15–33 %), hemicelulosa (15–45 %), hemicelulosa con arabinosilanos (20–40 % del total) y lignina (11–28 %); los β -glucanos suelen encontrarse alrededor del 1 % (Tabla 1) (Aradwad et al., 2025; Viridi et al., 2025).

Se ha reportado que en la fracción proteica predominan las prolaminas de cebada (hordeínas) y glutelinas parcialmente desnaturalizadas por el proceso cervecero. Los aminoácidos que se han reportado en mayor proporción han sido el ácido glutámico, leucina, valina y lisina. Sin embargo, el perfil de aminoácidos puede variar por materia prima y proceso (Aradwad et al., 2025; Eche et al., 2025).

El BSG suele superar a cereales no procesados en proteína y fibra, manteniendo además ácidos grasos (triglicéridos mayoritarios; linoleico, oleico, palmítico) y fitosteroles con interés nutracéutico (Aradwad et al., 2025; Eche et al., 2025).

Cuadro 1. Composición química del BSG

Componentes Principales	g•kg⁻¹ en base seca
Celulosa (glucanos)	3-330
Hemicelulosa	192-419
Xilanos	136-206
Arabinosa	56-419
Almidón	10-120
Lignina	115-278
Lípidos	30-106
Grupos acetilo	11-14
Proteínas	142-310
Cenizas	11-46
Extractos fenólicos	7-20
Minerales	mg kg⁻¹ en base seca
Silicio	1400-10 740
Fósforo	4660-6000
Calcio	2200-3515
Magnesio	1900-2400

Cuadro 2. Composición química del BSG (continuación)

Componentes Principales	g•kg⁻¹ en base seca
Potasio	258.1-700
Sodio	100-309.3
Hierro	100-193.4
Zinc	82.1-178
Aluminio	36-81.2
Manganeso	40.9-51.4
Cobalto	17.8
Cobre	11.4-18
Estroncio	10.4-12.7
Yodo	11
Bario	8.6-13.6
Cromo	<0.5-5.9
Molibdeno	1.4
Boro	3.2
Aminoácidos No esenciales	% de proteína total
Histidina	26.27
Ácido glutámico	16.59

Cuadro 3. Composición química del BSG (continuación)

Componentes Principales	g•kg⁻¹ en base seca
Ácido aspártico	4.81
Valina	4.61
Arginina	4.51
Alanina	4.12
Serina	3.77
Tirosina	2.57
Glicina	1.74
Asparagina	1.47
Glutamina	0.07
Aminoácidos esenciales	% de proteína total
Lisina	6.12
Leucina	4.64
Fenilalanina	3.31
Isoleucina	0.71
Treonina	0.14

Fuente: Elaboración propia con datos de Bonifácio-Lópes et al. (2019)

En cuanto a micronutrientes, se han reportado minerales como Ca, Mg, P, K, Fe, Zn y vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina); la concentración de estos micronutrientes depende del origen del grano, proceso de malteo, así como del tipo de proceso de elaboración de cerveza (industrial o artesanal). El BSG también es rico en compuestos fenólicos como: ácido ferúlico, *p*-cumárico, vainillina/c. vainílico, catequina y fenilamidas (p. ej., hordatinas) que se retienen en la matriz de cáscara, pericarpio y testa (Eche et al., 2025; Viridi et al., 2025).

Como se ha mencionado, la composición química y nutricional del BSG se ve afectada por factores como: variedad de cebada, tiempo de cosecha, condiciones de malteo/maceración y uso de adjuntos, lo que debe considerarse al formular ingredientes estandarizados para uso alimentario (Naibaho & Korzeniowska, 2021; Viridi et al., 2025).

2.1.3 Propiedades biológicas y funcionales

Además de la valiosa composición nutricional del BSG, el interés científico en el aprovechamiento de este subproducto ha aumentado debido a las propiedades biológicas que se han documentado en diversos estudios:

- **Actividad antioxidante:** La actividad antioxidante del BSG se atribuye a los polifenoles presentes (ferúlico, *p*-cumárico, catequina, sinápico, siríngico), melanoidinas y péptidos liberados/derivados durante el proceso cervecero. Se han documentado efectos antiinflamatorios, antiaterogénicos y anticarcinogénicos asociados a estos compuestos, así como actividad inhibidora de enzimas vinculadas al metabolismo de la glucosa (α -glucosidasa, DPP-IV, glucógeno fosforilasa α), que respaldan un potencial de modulación glucémica (Aradwad et al., 2025; Eche et al., 2025).
- **Actividad antimicrobiana, antifúngica y efecto prebiótico:** El efecto prebiótico se ha atribuido a los arabinoxilanos presentes, los cuales se ha documentado que contribuyen a regular la glucemia y a modular el

microbioma intestinal; en paralelo, β -glucanos y compuestos fenólicos participan en la disminución del estrés oxidativo y mejora de marcadores metabólicos. Por otro lado, se ha descrito que las hordatinas (fenilamidas específicas de cebada) expresan actividad antifúngica y capacidad de interferir con la formación de fibrillas amiloides, ampliando el interés bioactivo del BSG más allá del eje antioxidante-metabólico (Eche et al., 2025; Naibaho et al., 2025; Pachulicz et al., 2025).

- **Propiedades funcionales:** En matrices alimentarias, el BSG actúa como ingrediente funcional por su capacidad de retención de agua, apoyo estructural y modulación de textura. La fibra insoluble (celulosa/arabinoxilanos/lignina) mejora la textura y masticabilidad, mientras que fracciones proteicas aportan propiedades de emulsificación y/o gelificación en determinadas condiciones de pH y temperatura. Estas características han permitido su uso en panificación, galletería, pasta y análogos cárnicos, donde el BSG contribuye a formación de estructuras fibrosas, incremento de capacidad de retención de agua y perfiles texturales más definidos (Aradwad et al., 2025; Eche et al., 2025). Por otro lado, procesos como molienda fina, fermentación, tratamientos enzimáticos y extrusión se emplean para mejorar solubilidad de los arabinoxilanos, reducir notas amargas, homogeneizar color y optimizar textura en productos fortificados, habilitando formulaciones con mejor desempeño sensorial y mayor biodisponibilidad de fracciones bioactivas (Aradwad et al., 2025; Viridi et al., 2025).

2.2 Estrategias de revalorización del BSG

Se ha reportado que un manejo inadecuado del BSG en vertederos ha generado un impacto ambiental de aproximadamente 513 kg de CO₂ por tonelada de residuo eliminado, lo que se traduce en emisión de gases de efecto invernadero (Belardi et al., 2025). Debido al alto volumen de producción anual de BSG y su impacto negativo en el medio ambiente, se está impulsando la investigación para encontrar soluciones innovadoras para su revalorización y posibles aplicaciones

en diferentes campos industriales (Chu et al., 2025). Las posibles vías para la revalorización del BSG se resumen gráficamente en la Figura 1, la cual incluye tanto procesos convencionales como innovadores.

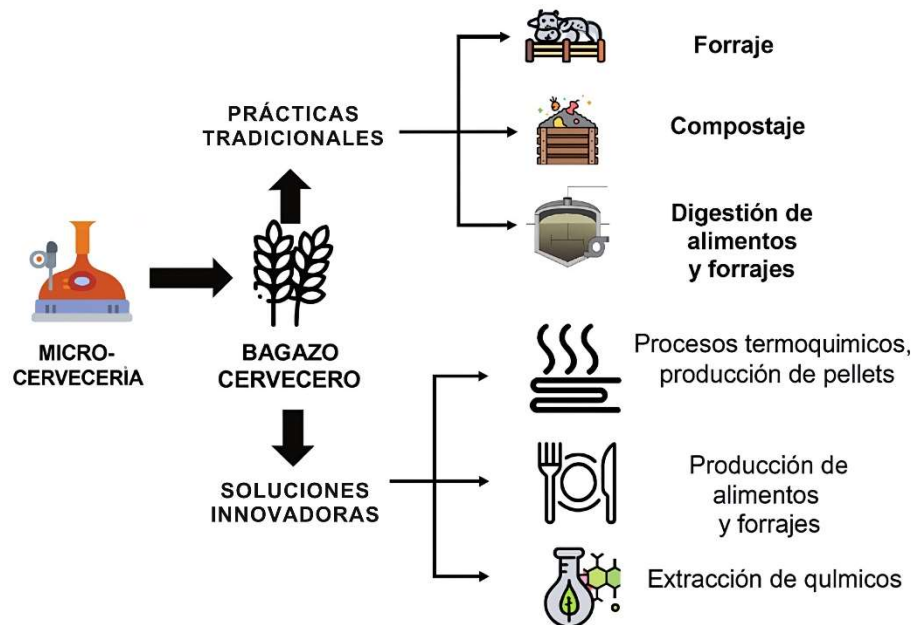


Figura 1. Vías de valorización tradicionales e innovadoras para BSG
Fuente: Mainardis et al. (2025)

2.2.1 Uso tradicional

Estudios recientes han reportado que aproximadamente el 70 % del BSG producido, se utiliza como alimento para animales a un precio de venta bajo (\$767 / tonelada); solo el 10 % se utiliza para producir biogás y el 20 % se elimina en vertederos (Belardi et al., 2025). Se reporta que factores como el costo del transporte (especialmente del BSG en forma húmeda), el costo del secado y la necesidad de un proceso de pretratamiento para reducir su recalcitrancia son algunos de los obstáculos para una aplicación más amplia (Zeko-Pivac et al., 2022).

Mainardis et al. (2024) han indicado que el uso del BSG en la alimentación animal se relaciona con su alto contenido en fibra y proteína. Sin embargo, el alto

contenido de fibra tiene efectos positivos en las vacas y negativos en las aves de corral. Por otro lado, el BSG seco contiene los nutrientes necesarios en la formulación de alimentos para aves de corral, pero su uso ha llegado a ser limitado debido al alto contenido de fibra, lo que resulta en una digestibilidad reducida. Del mismo modo, el BSG también se ha utilizado en la alimentación de cerdos y corderos, contribuyendo al aumento de peso y calidad de la carne (Zeko-Pivac et al., 2022).

Estudios recientes indicaron que el BSG es una fuente potencial de prebióticos que optimizan el equilibrio y la actividad microbiana intestinal. Cuando los animales domésticos ingieren arabinoxilanos y β -glucanos del BSG, se ha logrado estimular la actividad de bacterias beneficiosas, especialmente *Bifidobacterium*, *Enterococcus* y *Lactobacillus*. Además, una mayor degradación de la fibra dietética ha acelerado la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales constituyen la principal fuente de energía para los microbios anaeróbicos.

Por otro lado, el BSG se tiene reportado la aplicación del BSG directamente en el suelo para aumentar la cantidad de materia orgánica (Figura 1), estabilizar los agregados, estimular la mineralización de nutrientes y favorecer la retención de agua; sin embargo, considerando que el BSG crudo es microbiológicamente inestable, se sugiere fuertemente un proceso de estabilización, como el compostaje o el vermicompostaje (Mainardis et al., 2024).

Del mismo modo, el uso de BSG en la digestión anaeróbica ha sido una de las prácticas tradicionales (Figura 1) para su aprovechamiento. Similar a lo observado previamente para el compostaje, la monodigestión de BSG es técnicamente factible, pero a menudo conduce a la inhibición del proceso debido al desequilibrio en la concentración de nutrientes (relación C/N) y la generación de subproductos tóxicos, como el *p*-cresol (Mainardis et al., 2024).

2.2.2 Limitaciones en su aprovechamiento

El desafío más significativo para implementar cualquier ruta de revalorización del BSG está dado por el alto contenido de humedad y materia orgánica del material (70–80 % p/p), que requiere una rápida utilización (transporte a granjas locales y utilización como alimento para animales) o un secado intensivo para estabilizarlo y evitar pérdidas de masa durante el almacenamiento. En este sentido, el almacenamiento es fundamental considerando el alto contenido de humedad y las significativas concentraciones de polisacáridos y proteínas del BSG, que conducen a un rápido deterioro y descomposición, con posibles riesgos para la salud y problemas de olor (Mainardis et al., 2024).

Actualmente, la mayoría de las cervecerías artesanales carecen de tecnologías (por ejemplo, equipos de prensado/secado, almacenamiento en frío) para la conservación de BSG a largo plazo, por lo que su utilización como alimento para animales sigue apareciendo como la ruta preferida (Mainardis et al., 2024).

Otra limitante es la variabilidad composicional del BSG (fibras, lignina, hemicelulosa, proteína), influida por la variedad de cebada, malteo y maceración, lo que afecta su procesabilidad biológica y la necesidad de pretratamientos cuando se destinan a usos avanzados (p. ej., extracción de compuestos bioactivos o inmovilización de enzimas) (Mainardis et al., 2024; Naibaho & Korzeniowska, 2021).

2.2.3 Métodos de acondicionamiento para mejorar su funcionalidad

Debido a la celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en la pared celular del BSG se tiene una estructura recalcitrante, por lo cual es necesario aplicar algún método de acondicionamiento que altere su estructura cristalina y que permita su fraccionamiento para mejorar su funcionalidad (Zeko-Pivac et al., 2022).

Los métodos de acondicionamiento reportados pueden clasificarse en químicos (alcalinos, ácidos y líquidos iónicos), físicos (mecánicos, hidrotérmicos,

ultrasónicos y por radiación en microondas) (Alonso-Riaño et al., 2021; Patrignani et al., 2021) y métodos biológicos (Zeko-Pivac et al., 2022).

- **Acondicionamiento químico:**

La eficacia del acondicionamiento químico y su modo de acción varían en función del pH. Uno de los más utilizados es el uso de soluciones ácidas, como el ácido sulfúrico con una concentración de ácido inferior al 5 % y una temperatura alta entre 120 y 210 °C y una presión inferior a 10 atm; o bien, un ácido concentrado inferior al 30 %, una temperatura inferior a 100 °C y a presión atmosférica. El acondicionamiento ácido se basa en la sensibilidad de los enlaces glicosídicos entre la hemicelulosa y la celulosa al ácido, por ello pretende mejorar la eficiencia de la recuperación de la celulosa y la xilosa. Una desventaja importante corresponde a la formación de subproductos tóxicos como hidroximetilfurfural, el furfural y el ácido acético (Lech & Labus, 2022).

Otro tipo de acondicionamiento químico es el que utiliza reactivos alcalinos como el hidróxido de sodio, calcio y potasio. Estas soluciones actúan eliminando la lignina y, en menor medida la hemicelulosa del BSG. Durante este tipo de pretratamiento se produce una reacción de saponificación que conduce a la ruptura de los enlaces éster intermoleculares entre las hemicelulosas y la lignina; los reactivos alcalinos también actúan a través de un mecanismo de hinchamiento que aumenta la porosidad y la superficie interna de la biomasa (Lech & Labus, 2022).

Las condiciones del acondicionamiento alcalino suelen ser menos severas en comparación con otros tipos, ya que pueden realizarse a temperatura ambiente, pero con un tiempo más largo (Lech & Labus, 2022).

El acondicionamiento con peróxido de hidrógeno alcalino es también utilizado, en el cual se utiliza una combinación de soluciones de peróxidos de hidrógeno e hidróxido de sodio a un pH de 11.5. Es eficaz para la deslignificación y

solubilización de la hemicelulosa. Estos pretratamientos se caracterizan por condiciones de reacción modestas y un bajo uso de álcali (Lech & Labus, 2022).

Por último, hay un interés creciente en el uso de líquidos iónicos, donde los cationes y aniones juegan un papel importante en la solubilización de la celulosa y la lignina. En este acondicionamiento, las condiciones se caracterizan por baja presión de vapor, ausencia de toxicidad, nula volatilidad, gran estabilidad térmica y química y, lo más importante, su reutilización (Lech & Labus, 2022).

- **Acondicionamiento físico:**

Los métodos físicos consisten en técnicas mecánicas y de irradiación para cambiar las características de la biomasa (tamaño de partícula y grado de polimerización). Los métodos físicos incluyen acondicionamientos ultrasónicos, mecánicos y térmicos.

El método de acondicionamiento asistida por ultrasonido ha permitido aumentar el rendimiento y la calidad de los compuestos extraídos sin afectar la estructura de compuestos valiosos como proteínas, arabinoxilanos y compuestos fenólicos (Belardi et al., 2025). Esta técnica consiste en utilizar vibraciones mecánicas causadas por ondas sonoras con frecuencias superiores a 20 KHz; las vibraciones generan puntos calientes locales a escala macroscópica con una elevada tensión de cizallamiento y temperatura produciendo burbujas de cavitación en todo el disolvente (en contacto con una muestra) que colapsan, provocando cambios de presión y temperatura y por tanto aumentando la tasa de transferencia de masa de los compuestos de interés a través de las membranas celulares. Esta técnica se ha usado para la extracción de compuestos fenólicos de los subproductos del proceso de cervecería (Iadecola et al., 2022).

Los métodos mecánicos pueden reducir la recalcitrancia de los materiales lignocelulósicos al reducir el tamaño de partícula y maximizar la extracción de compuestos de interés. Existen varios procedimientos reportados para reducir el tamaño de partícula (vibración, molienda de rodillos y de discos). En los últimos

años, se ha propuesto el acondicionamiento de molienda húmeda como una alternativa para reducir los costos de secado (Belardi et al., 2025).

Los métodos físicos y mecánicos son respetuosos con el medio ambiente y fáciles de usar, con tiempos cortos y bajas temperaturas. Sin embargo, son desfavorables debido a los altos costos energéticos y económicos (Belardi et al., 2025).

El método térmico, también conocido como acondicionamiento hidrotérmico, se realiza a alta presión y temperatura en fase acuosa o de vapor, lo que garantiza una alta solubilidad de las proteínas y los polisacáridos (xilooligosacáridos) en la fase líquida. Además, el acondicionamiento hidrotérmico se ha realizado en diferentes sistemas de reactores, como microondas y explosiones de vapor, con o sin catalizadores (Belardi et al., 2025). Dentro del acondicionamiento térmico destaca el tratamiento en autoclave (AT), Naibaho et al. (2021) reportaron que el tratamiento en AT modificó la composición de la fibra dietética degradando primero la hemicelulosa y después la celulosa, generando aumentos en la cantidad de fibra dietética soluble (SDF), conduciendo a cambios en la composición proximal, así como las propiedades físicas incluyendo las propiedades de hidratación, la capacidad de retención de aceite y color. Además, la AT aumentó el contenido de humedad; también redujo la A_w , lo que amplía la seguridad del BSG durante el almacenamiento debido a la inhibición del crecimiento bacteriano.

Alonso-Riaño et al. (2021) reportaron el uso de agua subcrítica para fraccionar y posteriormente separar distintos compuestos de interés del BSG. En este proceso se utiliza agua presurizada en el rango de temperatura de 100 a 374 °C; en estas condiciones, el agua presenta propiedades únicas como un producto iónico y una menor constante dieléctrica que en condiciones ambientales. Debido a las propiedades sintonizables con la temperatura, se puede conseguir una selectividad diferente en la liberación de los compuestos bioactivos.

El acondicionamiento térmico es ecológico, con alta eficiencia energética, corto tiempo, bajos efectos corrosivos y sin costos de reciclaje. Sin embargo, durante este pretratamiento puede ocurrir la degradación de biopolímeros como la hemicelulosa, generando inhibidores no deseados de la fermentación microbiana, como el hidroximetilfurfurano y el furfural (Belardi et al., 2025).

- **Acondicionamiento biológico:**

Los métodos biológicos se dividen en dos tipos: uno basado en enzimas y otro en microorganismos. El acondicionamiento enzimático se ha utilizado para recuperar biomateriales de alto valor como hidrolizados de proteínas, péptidos bioactivos, arabinoxilanos solubles en agua, ácidos grasos y azúcares. La hidrólisis enzimática se considera un acondicionamiento eficaz y fácil para el fraccionamiento de BSG, que evita la coextracción de compuestos indeseables y reduce el consumo de productos químicos. Sin embargo, el uso de enzimas para recuperar proteínas o arabinoxilanos solubles en agua conlleva un aumento en el costo del proceso con algunas dificultades en su aplicación a escala industrial (Belardi et al., 2025).

Los métodos microbianos se han llevado a cabo utilizando microorganismos como bacterias, levaduras y hongos. Los microorganismos permiten la despolimerización de la lignocelulosa secretando enzimas ligninolíticas (despolimerización de la lignina) e hidrolíticas (despolimerización de la celulosa y la hemicelulosa). Simultáneamente con la hidrólisis de los biomateriales lignocelulósicos para la extracción de proteínas, azúcares y compuestos fenólicos se ha reportado la producción de biocombustibles (etanol y metanol) y bioproductos como enzimas y ácidos orgánicos. La fermentación es un proceso ecológico para la revalorización de BSG, el cual requiere bajo consumo de energía, corto tiempo de fabricación y especificidad (Belardi et al., 2025).

Si bien se han empleado métodos de extracción tanto químicos como enzimáticos, el uso de estos últimos permite un control más preciso del proceso y la naturaleza de los componentes producidos (Lock et al., 2024). Además, es

probable que dichas fracciones producidas enzimáticamente retengan la bioactividad, y su aplicación en productos alimenticios se consideraría más favorable en comparación con los compuestos extraídos por medios químicos. Una ventaja adicional es que no generan corrientes secundarias potencialmente tóxicas, por lo que se consideran más respetuosas con el medio ambiente (Lock et al., 2024). Debido a la complejidad de los polímeros constituyentes del BSG (fracción de hemicelulosa), se requiere una amplia gama de actividades enzimáticas para una hidrólisis completa, debido a la presencia de grupos sustituidos diferentes y tipos de enlaces en el polímero. Por ejemplo, las xilanasas, β -xilosidasas, feruloil esterasas, acetil esterasas, glucuronidasas, glucuronoil esterasas y α -L-arabinofuranosidasas son las principales enzimas necesarias para la degradación completa de la hemicelulosa (Lock et al., 2024).

Por otro lado, se ha demostrado que las mezclas de hidrolasas de polisacáridos presentes en extractos crudos de especies fúngicas de los géneros *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Neospora* pueden degradar el BSG, lo que resulta en altos rendimientos de monosacáridos. La sacarificación por enzimas de *F. oxysporum* alcanzó el 47 % (40 % del contenido total de pentosas y 70% del contenido total de glucosa) con base en el contenido total de azúcares del material inicial, mientras que los azúcares liberados (glucosa, xilosa, arabinosa) del BSG pretratado utilizando un extracto enzimático de *N. crassa* produjeron aproximadamente el 50 % del contenido total de pentosas y el 60 % de la glucosa total en el material (Lock et al., 2024).

También se ha sugerido que las enzimas proteasas son importantes para la deconstrucción completa de BSG, porque las proteínas insolubles presentes en BSG pueden atrapar componentes de carbohidratos que de otro modo serían solubles. Se ha tratado BSG con diversas proteasas, demostrando que estas enzimas lograron solubilizar los componentes de carbohidratos de BSG además de las proteínas (Lock et al., 2024).

Como se mencionó anteriormente, los acondicionamientos que implican el uso de productos químicos pueden no ser adecuados para productos que podrían

estar destinados a ser utilizados en alimentos. Por lo tanto, el acondicionamiento físico junto con la hidrólisis enzimática serían los más apropiados para aplicaciones alimentarias. Además, el procesamiento enzimático de los polisacáridos BSG puede orientarse hacia productos específicos (oligosacáridos, monosacáridos) a través de la consideración de las mezclas de enzimas utilizadas (Lock et al., 2024).

2.3 Impacto de la fermentación y el tratamiento térmico en el BSG

La fermentación láctica y/o simbiótica, así como los tratamientos térmicos controlados (baño de agua convencional, autoclave) son acondicionamientos efectivos para mejorar la calidad tecnológica y el valor funcional del BSG. A nivel global, se ha reportado que estos procesos: acidificaron y estabilizaron la matriz, modificaron la relación de fibra insoluble/soluble y la accesibilidad de carbohidratos/proteínas, incrementaron compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, además que optimizaron propiedades funcionales de hidratación y retención de aceite con potencial directo en panificación y otros alimentos procesados (Koirala et al., 2022; Moirangthem et al., 2024; Naibaho et al., 2023; Shetty et al., 2023; Zeng et al., 2022).

2.3.1 Cambios fisicoquímicos (pH, acidez, solubilidad de proteínas y carbohidratos)

Estudios han reportado que la fermentación del bagazo cervecero con bacterias lácticas ha conducido, de manera consistente, a una acidificación del medio, reflejada en la disminución del pH y el incremento de la acidez titulable (TTA). Al emplear *Weissella confusa* A16, Koirala et al. (2022) observaron que, tras 24 h, el pH descendió de 5.9 a 4.3 y la TTA se duplicó; en paralelo, se cuantificaron 246–399 mg/100 g de ácido láctico y 106 mg/100 g de ácido acético (Koirala et al., 2022). Cuando el acondicionamiento combinó tratamiento enzimático a 50 °C con fermentación por *Lactobacillus plantarum*, la acidificación se intensificó generando un pH de 4.3 y una TTA de 8.0 mL, con predominio de ácido láctico (10 mg/g b.s.) sobre acético (0.5 mg/g b.s.) (Moirangthem et al., 2024). En este

estudio se evidenció la sinergia entre ambos procesos para promover la acidificación.

En ausencia de microorganismos, el tratamiento térmico-enzimático por sí solo no genera ácidos orgánicos detectables; si bien, se ha reportado la producción de ligeros aumentos de TTA y pequeñas caídas de pH, atribuibles a la liberación de ácidos débiles (ácidos grasos, aminoácidos o fenólicos) desde la matriz del BSG durante la acción de enzimas como endo/xilanasas o proteasas (Moirangthem et al., 2024).

Respecto a la solubilidad de macronutrientes, la fermentación ha modulado de forma marcada la fracción proteica y de carbohidratos. En fermentación en estado sólido con *Bacillus velezensis* K8, Zeng et al. (2021) demostraron incrementos sustantivos de azúcares reductores (227 % en BSG y 198 % en BSG pretratado por ultrasonido) y un aumento de proteína soluble de 261 % en BSG (y 258 % en BSG ultrasonificado), junto con mayor presencia de arabinosa, xilosa, glucosa, fructosa y xilooligosacáridos, lo que ha evidenciado la conversión enzimática de celulosa y hemicelulosa hacia fracciones solubles (Zeng et al., 2021).

En fermentación simbiótica con *B. velezensis* y *Levilactobacillus brevis*, estos mismos autores reportaron un incremento de azúcares solubles y de la actividad hidrolítica; sin embargo, la proteína soluble disminuyó ligeramente por consumo microbiano (particularmente de LAB) que compensa la liberación proteica inducida por *Bacillus* (Zeng et al., 2022).

Por último, en esquemas secuenciales donde un fermentado láctico de BSG alimenta una segunda etapa con *Propionibacteriaceae*, se obtuvieron altas concentraciones de ácidos orgánicos alcanzándose hasta 9.5 g/L de ácido propiónico y 5.4 g/L de ácido acético en 10 días bajo control de pH, lo que indicó la acidez final de estos sistemas y su potencial en matrices alimentarias (Shetty et al., 2023).

En síntesis, la evidencia converge en que la fermentación láctica del BSG reduce el pH y eleva la TTA por formación de ácido láctico (y, en menor medida, acético); el tratamiento térmico-enzimático facilita la liberación de compuestos acidificantes y, cuando se combina con fermentación, maximiza la acidificación; y los procesos fermentativos mejoran la solubilidad de proteínas y carbohidratos al liberar fracciones solubles, con matices según el consorcio microbiano utilizado y el balance entre liberación y consumo de sustratos (Koirala et al., 2022; Moirangthem et al., 2024; Zeng et al., 2021; Zeng et al., 2022; Shetty et al., 2023).

2.3.2 Cambios estructurales (modificación de fibra insoluble a fibra soluble, análisis FTIR)

Los tratamientos térmicos y los procesos fermentativos reconfiguran la pared celular del bagazo cervecero mediante fenómenos de despolimerización, desramificación y desesterificación de polisacáridos, con la consecuente conversión de fibra dietética insoluble (IDF por sus siglas en inglés) a soluble (SDF por sus siglas en inglés) y una mayor accesibilidad de la matriz.

En BSG tratado en autoclave, se ha reportado un incremento de SDF (5.97–10.8%) y una disminución de IDF (37.65–47.5 %), con la mayor degradación de fibra a 100 °C sin presión; los autores atribuyeron estos cambios a la ruptura térmica de las macromoléculas que redujo el peso molecular y elevó la solubilidad aparente y la viscosidad del sistema (Naibaho et al., 2021).

Los espectros FTIR del BSG tratado en autoclave evidenciaron variaciones de intensidad en bandas diagnósticas de la pared vegetal: región 3600–3200 cm⁻¹ (grupos hidroxilo de la fibra) y 1100–1000 cm⁻¹ (estiramiento C–O/C–O–C de grupos ácidos/alifáticos asociados a polisacáridos), con intensidades mayores en BSG tratado respecto al control. Este patrón confirmó que la temperatura y presión alteraron la microestructura, particularmente en los grupos funcionales de la fibra dietética, lo cual, es consistente con el aumento de SDF y de la fracción lipídica extraíble tras el tratamiento (Naibaho et al., 2021).

Por otro lado, el calentamiento en baño de agua convencional del BSG fresco (80–100 °C; 15–60 min) es propuesto como una alternativa de bajo costo que mejora propiedades funcionales (WHC y OHC por sus siglas en inglés) y modifica el perfil químico. Naibaho et al. (2023) señalaron que diversos tratamientos físicos (explosión de vapor, autoclave, reducción de tamaño) generaron incrementos en la SDF y modificaron la estructura de los arabinoxilanos, lo que explicó en parte los cambios de comportamiento reológico observados tras la exposición térmica (Naibaho et al., 2023).

En paralelo, el acondicionamiento con fermentación también puede inducir cambios estructurales medibles en los carbohidratos de la pared del BSG. Se ha reportado que, la hidrólisis enzimática (xilanasa/celulasa) acoplada a la fermentación con *Lactobacillus plantarum* modificó el patrón de oligosacáridos: aumentando la liberación de glucosa, fructosa y xilosa, y genera xilo-oligosacáridos; cuando el cultivo arranca tras la etapa enzimática, el microorganismo consume los monosacáridos y persisten fracciones de xilo-oligosacáridos, indicando una solubilización/fragmentación de arabinoxilanos seguida de consumo selectivo por la microbiota (Moirangthem et al., 2024).

Finalmente, la síntesis in situ de exopolisacáridos durante la fermentación con *Weissella confusa* A16 representa otra vía de “ingeniería” estructural: la formación de dextrano (7.2% b.s. en 24 h, con sacarosa añadida) incrementó la viscosidad del sistema y generó un comportamiento hidrocoloide que modificó la red matriz-agua, con implicaciones directas sobre la funcionalidad del BSG como ingrediente (Koirala et al., 2022).

En conjunto, los resultados muestran que los tratamientos térmicos reordenan grupos funcionales de la pared (evidenciados por FTIR) y promueven el paso de fibra insoluble a fibra soluble. Por otro lado, la fermentación (con o sin etapa enzimática) reconfiguró las hemicelulosas hacia fracciones solubles, además de que pudo generar exopolisacáridos que modificaron la microestructura de la matriz. Estos mecanismos generan una matriz más accesible y funcional, clave

para su revalorización en alimentos. (Naibaho et al., 2021; Naibaho et al., 2023; Moirangthem et al., 2024; Koirala et al., 2022).

2.3.3 Contenido fenólico y actividad antioxidante (polifenoles, melanoidinas)

Diversas caracterizaciones del BSG han indicado una fracción relevante de polifenoles mayoritariamente en forma ligada a la pared celular; por lo tanto, la tasa de extracción y su actividad antioxidante pueden modificarse mediante tratamientos térmicos y procesos fermentativos. En este sentido, Rahman et al. (2021) demostraron que el calentamiento en horno a 160 °C (30 min) duplicó el contenido fenólico total y el de flavonoides del BSG, con incrementos importantes en la actividad antioxidante evaluada por ensayos DPPH y FRAP; además, el tratamiento elevó de manera significativa diversos ácidos fenólicos libres (protocatecuico, siríngico, ferúlico y *p*-cumárico), lo que sustenta la liberación de compuestos previamente ligados a la matriz (mecanismo de liberación por ruptura de enlaces éster/éter) (Rahman et al., 2021).

Junto con la liberación de polifenoles, el tratamiento térmico puede promover reacciones de Maillard y la formación de melanoidinas, macromoléculas con reconocida contribución a la capacidad reductora del sistema. Patrignani & González-Forte (2021) caracterizaron melanoidinas derivadas de BSG y documentaron su estructura y actividad antioxidante, aportando evidencia de que estos polímeros también participan en la respuesta antioxidante global del ingrediente tras el calentamiento (Patrignani & González-Forte, 2021).

La fermentación del BSG modula el perfil fenólico por acción enzimática microbiana y por acidificación del medio. Verni et al. (2020) mostraron un incremento en su actividad antioxidante y describieron la generación de péptidos bioactivos y la caracterización de compuestos fenólicos asociados al proceso, apoyando el uso de fermentaciones dirigidas como vía para maximizar el aprovechamiento de los antioxidantes intrínsecos del BSG (Verni et al., 2020). No obstante, el efecto de la fermentación depende de las condiciones y, en

ocasiones, requiere estrategias asistidas para liberar fracciones fenólicas clave. En este sentido, Moirangthem et al. (2024) observaron que la combinación de enzimas con fermentación aumentó de forma significativa el contenido fenólico total y favoreció la liberación de ácido ferúlico libre frente a la fermentación no asistida, resaltando la importancia del diseño de proceso para optimizar la bioaccesibilidad de los polifenoles del BSG (Moirangthem et al., 2024).

En conjunto, la evidencia indica que el calentamiento controlado del BSG aumenta la fracción fenólica libre, y en consecuencia incrementa la actividad antioxidante. Cuando la fermentación se apoya en tratamientos enzimáticos, constituye una vía eficaz para potenciar la actividad antioxidante mediante la generación/liberación de compuestos fenólicos y, adicionalmente, de melanoidinas con función reductora. Estos hallazgos respaldan la consideración del BSG como ingrediente funcional con valor añadido debido a su aporte de polifenoles y melanoidinas bioactivas (Rahman et al., 2021; Patrignani et al., 2021; Verni et al., 2020; Moirangthem et al., 2024).

2.3.4 Propiedades funcionales (WHC, OHC)

Las propiedades funcionales de hidratación y retención lipídica del BSG se ven afectadas por el acondicionamiento térmico y, en menor medida, a la fermentación. Se ha reportado que en sistemas térmicos suaves sobre BSG húmedo, el baño de agua convencional elevó de forma significativa la WHC de 2.9 g/g hasta 3.8 g/g y produjo incrementos leves en OHC de 2.05 g/g a 2.16 g/g, efecto atribuible a la liberación de compuestos de la matriz (fenoles, ácidos grasos y proteínas) y a los cambios en los grupos hidroxilos expuestos, así como a zonas hidrófobas (Naibaho et al., 2023).

Del mismo modo, cuando el acondicionamiento se realizó por autoclave en BSG húmedo, el aumento de temperatura se relacionó con una mejora de WHC, independientemente de la relación agua: BSG empleada, lo que refuerza la utilidad tecnológica de este tratamiento en matrices con alta humedad (Naibaho et al., 2023).

En contraste, el autoclave aplicado a BSG previamente secado/rehidratado mostró un descenso de las capacidades de retención: OHC se redujo desde 2.0 g/g en los controles hasta 0.93 g/g tras el tratamiento, y WHC disminuyó respecto al control (3.71 g/g) situándose alrededor de 3.12–3.14 g/g en condiciones de 90–100 °C; los autores atribuyeron estos resultados a la degradación/redistribución de la fibra y al mayor contenido de humedad residual que compromete la hidratación efectiva (Naibaho et al., 2021).

Los resultados indican que: el acondicionamiento térmico con baño de agua convencional (CWH) y autoclave sobre BSG húmedo tienden a mejorar WHC (y, en el caso de CWH, a incrementar levemente OHC), mientras que el tratamiento en autoclave sobre BSG seco/rehidratado puede reducir WHC y OHC por cambios microestructurales y de humedad (Naibaho et al., 2023; Naibaho et al., 2021; Koirala et al., 2022).

2.3.5 Potencial como ingrediente funcional en alimentos procesados.

Una de las aplicaciones más interesantes del BSG es su reutilización en la producción de ingredientes funcionales dentro de la industria alimentaria (Figura 2). La valiosa composición (es decir, fibra y proteína) del BSG es atractiva para producir alimentos básicos innovadores para la salud y el bienestar humano.

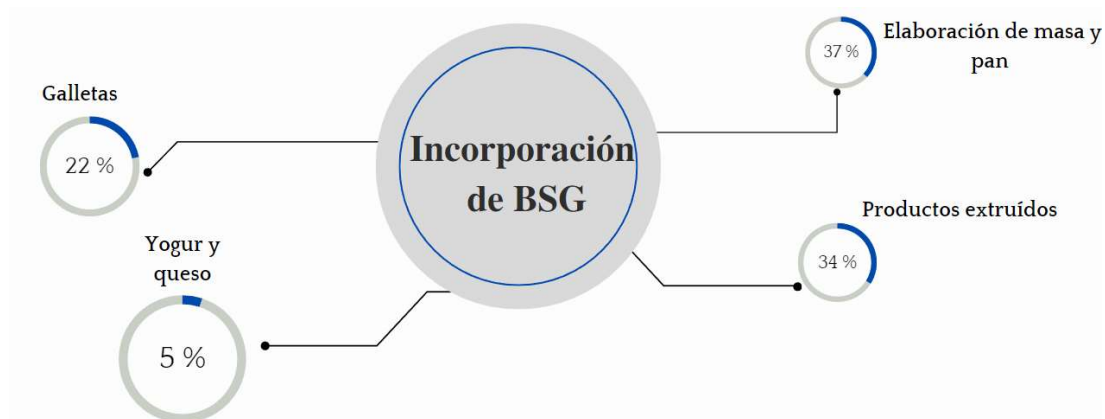


Figura 2. Principales alimentos en los cuales se ha incorporado el BSG
Fuente: Elaboración propia con datos de Naibaho et al. (2023)

En la última década, algunos estudios se han centrado en la posible aplicación del BSG como sustituto saludable en productos cárnicos, dada la tendencia hacia dietas cada vez más vegetarianas . La incorporación de BSG en alimentos de origen vegetal ha sido investigada por da Silva et al. (2024) para mejorar las propiedades físicas y nutricionales. Por otro lado, se ha explorado el uso de BSG y champiñones en salchichas de cerdo ahumadas para aumentar su valor nutricional. La combinación de estos ingredientes condujo a una mejora de las cualidades sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas en las salchichas. El uso de acondicionamientos combinados como el secado y la hidrólisis enzimática de BSG en la producción de alimentos saludables puede ser insostenible en términos de costos de producción de energía y enzimas. Por esta razón, es aconsejable encontrar tecnologías de tratamiento con bajo impacto en la economía y el medio ambiente. Actualmente, los productos cárnicos basados en BSG no están disponibles en el mercado, por lo que es recomendable buscar tecnologías de procesamiento con bajo impacto en la economía y el medio ambiente, además de ser potencialmente rentables (Belardi et al., 2025).

Otros estudios abordaron el uso de BSG en la industria de la panadería. Se ha utilizado el BSG seco y molido para mejorar la fibra y la proteína en galletas de mantequilla, cumpliendo con la afirmación de "alto en fibra" (Sileoni et al., 2022). Del mismo modo, se ha investigado el uso de BSG para producir una harina como reemplazo de la harina de trigo en la producción de galletas. Sus resultados mostraron una reducción de la respuesta glucémica posprandial en personas con síndrome metabólico (Xu et al., 2024). Finalmente, se ha explorado el uso del hidrolizado de proteína de BSG para fortificar la producción de muffins. Se ha evidenciado que el uso de hidrolizado de proteína BSG aumentó la actividad antioxidante e inhibió la α -amilasa y la α -glucosidasa mejorando las propiedades antidiabéticas (Bazsefidpar et al., 2024).

Jozinović et al. (2021) exploraron el uso de BSG en snacks de maíz . Se reportó que el BSG incrementó los niveles de proteínas, polifenoles y antioxidantes, cumpliendo con las afirmaciones nutricionales relacionadas con la fibra. La

extrusión afectó el daño al almidón, la actividad antioxidante y el contenido de fibra (Jozinović et al., 2021). Del mismo modo, se ha estudiado la incorporación de BSG molido en seco en la producción de barras de cereales. Los resultados obtenidos mostraron un mayor contenido de fibra, proteínas y minerales (Paciulli et al., 2024).

Con respecto a la pasta, estudios han demostrado que la incorporación de BSG afectó la red de gluten y la gelatinización del almidón durante la cocción con un impacto en las propiedades tecnofuncionales y el valor nutricional. La adición de BSG resultó en una mejor calidad de la pasta debido a la red de proteínas más fuerte y el mayor valor nutricional (Marzocchi et al., 2025).

Del mismo modo, el uso de BSG fermentado con bacterias de ácido láctico para la producción de pasta también fue estudiado. Los resultados indicaron mayor fibra y menor índice glucémico. La pasta con BSG exhibió gluten modificado estructuralmente, siendo más débil que la sémola, pero más fuerte que la pasta integral, junto con una mayor resistencia a la tracción y firmeza (Neylon et al., 2021).

Naibaho et al. (2022) evaluaron el impacto de la adición de BSG en la fermentación del yogur, estos autores, demostraron una disminución más rápida del pH, un menor tiempo de fermentación y un mayor contenido de proteínas y grasas. Los resultados indicaron que, si bien la inclusión de un 10 % de BSG es eficaz para la producción de yogur, la escasez de datos sensoriales y las posibles dificultades para su aceptación por parte del consumidor es una limitante para la formulación de yogur a escala comercial (Naibaho et al., 2022).

Finalmente, se debe considerar que, varios compuestos extraídos de BSG (por ejemplo, polifenoles, nanocelulosa, arabinosilano y oligosacáridos) se pueden utilizar en la industria alimentaria para producir diversos productos para la conservación de alimentos o productos alimenticios que promueven la salud (Belardi et al., 2025)

2.4 La tortilla de maíz como alimento base

2.4.1 Importancia cultural y nutricional en México y Latinoamérica

La tortilla de maíz constituye un pilar de la alimentación cotidiana en México y buena parte de Latinoamérica por su amplia disponibilidad, costo accesible y versatilidad culinaria. En México, su consumo anual en población urbana oscila entre 85 kg por persona, con una producción nacional cercana a 11.6 millones de toneladas en 2020, cifras que reflejan su papel en la seguridad alimentaria del país (Nieves-Hernandez et al., 2024). Además de su consumo extendido, la tortilla ha sido reconocida por la UNESCO dentro del patrimonio cultural inmaterial y es consumida por más del 90% de la población mexicana, lo que subraya su relevancia sociocultural y su potencial como vehículo de salud pública (García-Lorca et al., 2025).

2.4.2 Procesos de nixtamalización y producción de tortilla

La nixtamalización consta de etapas de cocción y remojo de granos de maíz en solución alcalina de hidróxido de calcio, seguido de enjuague y molienda, tecnología mesoamericana que mejora la biodisponibilidad de niacina, eleva la calidad proteica y reduce micotoxinas; el resultado es la masa nixtamalizada (masa) que sirve de base a tortillas, tamales y otros productos (Nieves-Hernandez et al., 2024). En México, la producción se realiza tanto con masa fresca como con harina de maíz nixtamalizado, insumos que coexisten a escala artesanal e industrial, y cuya formulación y aditivos están regulados por normativa sanitaria nacional (Nieves-Hernandez et al., 2024).

2.4.3 Limitaciones nutricionales (proteína incompleta, baja fibra, minerales limitados)

Pese a su aporte energético y de carbohidratos complejos, la tortilla presenta limitaciones como su calidad proteica, que es el principal desafío nutricional señalado en la literatura, por lo cual, se han implementado estrategias de fortificación con ingredientes ricos en proteína y micronutrientes (Rojo-Gutiérrez

et al., 2025). La composición de la tortilla convencional exhibe proteína moderada (5–12%) y fibra total variable, además de cenizas bajas, lo que respalda el interés en complementar aminoácidos limitantes además de minerales (Rojo-Gutiérrez et al., 2025).

2.5 Fortificación de tortilla con ingredientes funcionales

El consumo extendido y el bajo costo de la tortilla la convierten en vehículo idóneo para mejorar la calidad de la dieta mediante la incorporación de micronutrientes, proteínas y compuestos bioactivos (Rojo-Gutiérrez et al., 2025).

Existen diversos estudios reportados donde se han usado desde leguminosas hasta matrices vegetales no convencionales en los procesos de fortificación de tortilla. La adición de hidrolizados de garbanzo (5–15%) aumentó la proteína soluble y mejoró bioactividades relacionadas con el metabolismo de glucosa (Rojo-Gutiérrez et al., 2025).

Por otro lado, se ha reportado la incorporación de algas pardas (10–30%); los resultados indicaron un incremento en la concentración de proteína, fibra, cenizas y polifenoles, lo que condujo a una mayor actividad antioxidante. Del mismo modo, se reportó un incremento en los minerales como Na, K, Mg y P (Rojo-Gutiérrez et al., 2025).

Del mismo modo, se ha utilizado harina de *Moringa oleifera* (1–5 %) en el proceso de fortificación de tortilla. Los resultados registraron aumentos del 25 % de proteína y 5.7 veces mayor concentración de polifenoles, lo cual generó un incremento significativo en la capacidad antioxidante de 60.07 a 111.99 mg ET/100 g bs y cambios controlables en color y textura (Páramo-Calderón et al., 2019).

En conjunto, estos trabajos muestran la viabilidad tecnológica de enriquecer tortillas con fuentes vegetales para mejorar la densidad nutricional y las propiedades funcionales.

2.5.1 Estado actual de investigación en fortificación con subproductos agroindustriales

La bibliografía resalta dos tendencias en los procesos de fortificación de tortilla de maíz: preservar y promover especies subutilizadas y aprovechar residuos agroindustriales como fuentes de compuestos bioactivos para desarrollar tortillas con mejor perfil nutricional y con mejoras en los beneficios a la salud de los consumidores (Rojo-Gutiérrez et al., 2025). En este sentido, la fortificación con subproductos de brócoli (2.5–10%) mejoró el perfil mineral (6 veces más calcio; 3 veces más potasio y hierro), incrementó un 23% el contenido de fibra dietética y la capacidad antioxidante, con aceptabilidad sensorial óptima entre 2.5% y 7.5% (García-Lorca et al., 2025).

Estas evidencias consolidan el aprovechamiento circular de subproductos hortícolas como estrategia de fortificación sustentable (García-Lorca et al., 2025).

2.5.2 Posibilidades del BSG como ingrediente funcional

El BSG es un subproducto rico en fibra dietética y proteína, el cual ha mostrado mejoras tecnofuncionales tras modificación por autoclave, con ajustes en fibra soluble/insoluble, propiedades de hidratación y capacidad de retención de aceite, además de cambios microestructurales corroborados por FTIR; estos efectos pueden favorecer el desempeño del BSG en matrices de masa como la tortilla, donde la WHC y la retención de gas/agua son determinantes (Naibaho et al., 2021).

En síntesis, la evidencia apoya que el BSG, correctamente acondicionado (mediante acondicionamiento térmico, enzimático o fermentativo), posee propiedades tecnológicas y bioactivas que lo hacen apto como ingrediente funcional en la tortilla: puede mejorar la hidratación y manejo de la masa, aportar fibra prebiótica y potenciar la fracción antioxidante, manteniendo la viabilidad sensorial mediante niveles de sustitución moderados y la optimización del proceso (Naibaho et al., 2021; Koirala et al., 2022; Moirangthem et al., 2024).

2.6 Literatura citada

- Alonso-Riaño, P., Sanz, M. T., Benito-Román, O., Beltrán, S., & Trigueros, E. (2021). Subcritical water as hydrolytic medium to recover and fractionate the protein fraction and phenolic compounds from craft brewer's spent grain. *Food Chemistry*, 351, 129264. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129264>
- Aradwad, P., Raut, S., Abdelfattah, A., Rauh, C., & Sturm, B. (2025). Brewer's spent grain: Unveiling innovative applications in the food and packaging industry. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 24(3), e70150. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70150>
- Bazsefidpar, N., Ghandehari Yazdi, A. P., Karimi, A., Yahyavi, M., Amini, M., Ahmadi Gavlighi, H., & Simal-Gandara, J. (2024). Brewers spent grain protein hydrolysate as a functional ingredient for muffins: Antioxidant, antidiabetic, and sensory evaluation [Article]. *Food Chemistry*, 435, Article 137565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137565>
- Belardi, I., De Francesco, G., Alfeo, V., Bravi, E., Sileoni, V., Marconi, O., & Marrocchi, A. (2025). Advances in the valorization of brewing by-products. *Food Chemistry*, 465, 141882. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141882>
- Chu, H.-Y. I., Miri, T., & Onyeaka, H. (2025). Valorization of Bioactive Compounds Extracted from Brewer's Spent Grain (BSG) for Sustainable Food Waste Recycling. *Sustainability*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/su17062477>
- Eche, V., Emenike, C. U., & Rupasinghe, H. P. V. (2025). Nutritional Value of Brewer's Spent Grain and Consumer Acceptance of Its Value-Added Food Products. *Foods*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/foods14162900>
- García-Lorca, N., Libero, C., Livigni, C., Frouzaki, N. E., & Aguayo, E. (2025). Sustainable Fortification of Corn Tortillas with Broccoli By-Products. *Foods*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/foods14050799>
- Iadecola, R., Ciccoritti, R., Ceccantoni, B., Bellincontro, A., & Amoriello, T. (2022). Optimization of Phenolic Compound Extraction from Brewers' Spent Grain Using Ultrasound Technologies Coupled with Response Surface Methodology. *Sustainability*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/su14063309>
- Jiang, L., Song, J., Qi, M., Han, F., Xu, M., Li, Y.,...Li, H. (2025). Exploring the influence of extruded rice adjunct on wort separation efficiency: A bio-macromolecule degradation perspective. *Food Chemistry*, 464, 141644. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141644>
- Jozinović, A., Šubarić, D., Ačkar, Đ., Babić, J., Orkić, V., Guberac, S., & Miličević, B. (2021). Food industry by-products as raw materials in the production of value-added corn snack products. *Foods*, 10(5), Article 946. <https://doi.org/10.3390/foods10050946>

- Koirala, P., Costantini, A., Maina, H. N., Rizzello, C. G., Verni, M., Beni, V. D.,...Coda, R. (2022). Fermented Brewers' Spent Grain Containing Dextran and Oligosaccharides as Ingredient for Composite Wheat Bread and Its Impact on Gut Metabolome In Vitro. *Fermentation*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/fermentation8100487>
- Lech, M., & Labus, K. (2022). The methods of brewers' spent grain treatment towards the recovery of valuable ingredients contained therein and comprehensive management of its residues. *Chemical Engineering Research and Design*, 183, 494-511. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2022.05.032>
- Lock, T. J., Mah, S. H., & Lai, Z. W. (2024). Versatile Applications of Brewer's Spent Grain: Solid-State Fermentation and Nutritional Added Value. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(8), 5508-5532. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04769-3>
- Mainardis, M., Hickey, M., & Dereli, R. K. (2024). Lifting craft breweries sustainability through spent grain valorisation and renewable energy integration: A critical review in the circular economy framework. *Journal of Cleaner Production*, 447, 141527. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.141527>
- Marzocchi, S., Pasini, F., Santi, R., & Caboni, M. F. (2025). The Addition of Tomato and Spinach Powder to Semolina Pasta: A Study of the Impact of the Production Process and Cooking on Phenolic Compounds. *Applied Sciences*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/app15020634>
- Moirangthem, K., Koirala, P., Maina, H. N., Rai, D. K., & Coda, R. (2024). Impact of pre-treatments and bioprocessing on the carbohydrate and polyphenol profile of brewers' spent grain. *Food and Bioprocess Processing*, 148, 62-71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2024.08.017>
- Naibaho, J., Butula, N., Jonuzi, E., Korzeniowska, M., Laaksonen, O., Föste, M.,...Yang, B. (2022). Potential of brewers' spent grain in yogurt fermentation and evaluation of its impact in rheological behaviour, consistency, microstructural properties and acidity profile during the refrigerated storage. *Food Hydrocolloids*, 125, Article 107412. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107412>
- Naibaho, J., & Korzeniowska, M. (2021). The variability of physico-chemical properties of brewery spent grain from 8 different breweries. *Heliyon*, 7(3), e06583. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06583>
- Naibaho, J., Korzeniowska, M., Phimolsiripol, Y., & Gavahian, M. (2025). Value-added compounds from brewers' spent grain to develop bioactive-enriched food ingredients: Recent advances in sustainable extraction and considerations for industrial application. *Food Bioscience*, 71, 107351. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107351>
- Naibaho, J., Pudło, A., Bobak, Ł., Wojdyło, A., López, Á. A., Pangestika, L. M. W.,...Yang, B. (2023). Conventional water bath heating on undried brewer's spent

grain: Functionality, fatty acids, volatiles, polyphenolic and antioxidant properties. *Food Bioscience*, 53, 102523. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102523>

Neylon, E., Arendt, E. K., Zannini, E., & Sahin, A. W. (2021). Fermentation as a Tool to Revitalise Brewers' Spent Grain and Elevate Techno-Functional Properties and Nutritional Value in High Fibre Bread. *Foods*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/foods10071639>

Nieves-Hernandez, M. G., Correa-Piña, B. L., Garcia-Chavero, O., Lopez-Ramirez, S., Florez-Mejia, R., Barrón-García, O. Y.,...Rodriguez-Garcia, M. E. (2024). Indirect Fortification of Traditional Nixtamalized Tortillas with Nixtamalized Corn Flours. *Foods*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/foods13244082>

Pachulicz, R. J., Nkurunziza, D., Rusli, O., Coad, B. R., Collins, H., & Jovcevski, B. (2025). Brewer's waste isn't spent: Capturing the structural complexity and bioactive properties of hordatines in brewery waste products. *Food Chemistry*, 493, 145959. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.145959>

Paciulli, M., Sogari, G., Rodolfi, M., Parenti, O., Andreani, G., & Chiavaro, E. (2024). Fostering Circular Economy: Brewing By-Products as Innovative Ingredients for Cereal Bar Formulation. *Foods*, 13(15), Article 2355. <https://doi.org/10.3390/foods13152355>

Patrignani, M., Brantsen, J. F., Awika, J. M., & Conforti, P. A. (2021). Application of a novel microwave energy treatment on brewers' spent grain (BSG): Effect on its functionality and chemical characteristics. *Food Chemistry*, 346, 128935. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128935>

Patrignani, M., & González-Forte, L. D. S. (2021). Characterisation of melanoidins derived from Brewers' spent grain: new insights into their structure and antioxidant activity [Article]. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 384-391. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14653>

Páramo-Calderón, D. E., Aparicio-Saguilán, A., Aguirre-Cruz, A., Carrillo-Ahumada, J., Hernández-Urbe, J. P., Acevedo-Tello, S., & Torruco-Uco, J. G. (2019). Tortilla added with Moringa oleífera flour: Physicochemical, texture properties and antioxidant capacity. *LWT*, 100, 409-415. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.078>

Rojo-Gutiérrez, E., López-Martínez, L., Tirado-Gallegos, J., Buenrostro-Figueroa, J., García, H., & Baeza-Jiménez, R. (2025). Fortified Maize Tortilla: from the traditional Mesoamerican diet to functional food. *Biotechnia*, 27, Article e2269. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v27.2269>

Shetty, R., Petersen, F. R., Podduturi, R., Molina, G. E. S., Wätjen, A. P., Madsen, S. K.,...Heiner Bang-Berthelsen, C. (2023). Fermentation of brewer's spent grain liquids to increase shelf life and give an organic acid enhanced ingredient. *LWT*, 182, 114911. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114911>

Sileoni, V., Alfeo, V., Bravi, E., Belardi, I., & Marconi, O. (2022). Upcycling of a by-product of the brewing production chain as an ingredient in the formulation of functional shortbreads. *Journal of Functional Foods*, 98, Article 105292. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105292>

Verni, M., Pontonio, E., Krona, A., Jacob, S., Pinto, D., Rinaldi, F.,...Rizzello, C. G. (2020). Bioprocessing of Brewers' Spent Grain Enhances Its Antioxidant Activity: Characterization of Phenolic Compounds and Bioactive Peptides. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01831>

Virdi, A. S., Mahajan, A., Devraj, M., & Sanghi, R. (2025). Brewers' spent grains: Techno-functional challenges and opportunity in the valorization for food products. *LWT*, 227, 117785. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117785>

Xu, Y., Leong, Z. N., Zhang, W., Jin, X., Kong, J. W., Chan, G. C., & Kim, J. E. (2024). Impact of Brewers' Spent Grain-Containing Biscuit on Postprandial Glycaemic Response in Individuals with Metabolic Syndrome: A Crossover Randomised Controlled Trial. *Nutrients*, 16(6). <https://doi.org/10.3390/nu16060909>

Zeko-Pivac, A., Tisma, M., Znidarsic-Plazl, P., Kulisic, B., Sakellaris, G., Hao, J., & Planinic, M. (2022). The Potential of Brewer's Spent Grain in the Circular Bioeconomy: State of the Art and Future Perspectives [Review]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 15, Article 870744. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.870744>

Zeng, J., Sheng, F., Hu, X., Huang, Z., Tian, X., & Wu, Z. (2022). Nutrition promotion of brewer's spent grain by symbiotic fermentation adding *Bacillus velezensis* and *Levilactobacillus brevis*. *Food Bioscience*, 49, 101941. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101941>

3. IMPACT OF SPONTANEOUS FERMENTATION AND HEAT TREATMENT ON THE PHYSICOCHEMICAL, FUNCTIONAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BSG

3.1 Abstract

Brewers spent grain (BSG) is the main by-product in brewing, but due to its rapid decomposition it can become hazardous to the environment. It is a lignocellulosic by-product with a recalcitrant structure which must be modified to enhance its functionality; therefore, the objective of this study was to evaluate the impact of spontaneous fermentation and heat treatment on the physicochemical, functional, and antioxidant properties of BSG. Four treatments were evaluated: BSG without spontaneous fermentation and drying at 40 °C (BSG_{WEF40}), BSG with spontaneous fermentation and drying at 40 °C (BSG_{EF40}), BSG without spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C (BSG_{WEF95}) and BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C (BSG_{EF95}). The results demonstrated that spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C had a significant impact ($p \leq 0.05$) on the proximal chemical composition of the samples, with an increase in ethereal extract and a decrease in total carbohydrate content, as well as an improvement in water holding capacity, oil, and water solubility index. BSG_{WEF95} and BSG_{EF95} had the highest proportion of soluble to insoluble fiber, as well as the highest concentration of melanoidins and total polyphenols, which resulted in higher antioxidant activity against DPPH• and ABTS•⁺ radicals ($p \leq 0.05$). The browning index decreased, while the lightness increased, thereby improving the color of the BSG variants. Therefore, this combination of applied treatments improves the techno-functional properties of BSG and broadens the diversity of food products in which it can be incorporated.

Key words: Brewers'spent grain; Spontaneous fermentation; Thermal exposures; Functional properties; Agro-industrial byproduct

Doctoral tesis in Doctorado en Ciencias Agroalimentarias, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Author: M.C Azucena Olvera Ortiz; Advisor: Dra. Landy Hernández Rodríguez

Article published in: Journal of Food Measurement and Characterization. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-024-03029-0>. Authors: Azucena Olvera-Ortiz, Landy Hernández-Rodríguez, Ofelia Sandoval-Castilla, Consuelo Lobato-Calleros, Juan Carlos Cuevas-Bernardino.

3.2 Introduction

Beer is a widely consumed beverage globally, and it's the main by-product derived from this activity is brewers' spent grain (BSG), which is generated during the malt mashing process in brewing [1]. For every 100 liters of beer produced, 20 kg of BSG is generated, causing a production volume of 39 million tons per year worldwide [2]. BSG is a by-product that rapidly decomposes and should be used within 15 days of production to avoid potential hazards to health and the environment [3, 4].

Although BSG has great potential as a nutraceutical ingredient due to its content of dietary fiber, protein, fatty acids and phenolic acids, it exhibits potential benefits for human health, exhibiting biological properties such as antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, immunomodulatory and angiotensin-converting enzyme inhibition effects [5]. Although BSG has high potential as a feed ingredient and nutraceutical, it is mostly is used as an organic fertilizer, ruminant feed, and fish feed [5, 6].

The cellulose, hemicellulose, and lignin in the cell wall of BSG intertwine to form a recalcitrant structure, which must be modified to allow its fractionation and enhance its properties [4, 6]. Various conditioning methods have been performed in BSG, including solid-state fermentation, pulsed electric field, pH elevation, enzymatic treatment, chemical treatments, and a combination of heat and enzymatic treatments [7], but their importance is lost due to the high costs of processing, specialized equipment and methods, and these processes require large amounts of thermal energy, long durations, leading to substantial energy consumption and, in addition, contribute to hazardous chemical effluents [8].

Thermal exposure is a frequently used physical treatment for BSG. Heat treatment can degrade insoluble dietary fiber and convert it into soluble dietary fiber, which improves biological properties, polyphenolic composition, chemical composition, and properties related to the solubility of water and oil retention[7]. Among the heat treatments applied in BSG, autoclave treatment is reported [7],

ohmic heating techniques [5], hydrothermal treatment [9], conventional water bath [5] and heat treatments between 100 to 150 ° C [10] are reported.

Heat treatment with a water bath is a cost-effective method for enhancing the properties of BSG. This technique employs simple equipment and is relatively easy to operate. The results of modifying the properties of BSG using this method have been compared to those obtained using advanced heat treatment techniques, such as microwave and ohmic heating [5]. On the other hand, spontaneous fermentation is a type of conditioning applied to cereals and agro-industrial by-products that has attracted attention due to its low cost and beneficial modifications in cereals, since it reduces the concentration of anti-nutrients such as phytic and tannic acid, while enhancing properties related to hydration and textural properties [11].

Most of the aforementioned studies used few or limited combinations of treatment or processing. However, we know little about the combined effect of heat treatment with spontaneous fermentation. Furthermore, there is a strong demand for the use of clean and environmentally friendly processing methods that conserve water, energy and reduce pollutants. Therefore, the study aimed to evaluate the physicochemical, functional, and antioxidant properties of BSG when subjected to a combined application of spontaneous fermentation and heat treatment. It is hoped that by doing so, we can contribute to the generation of a combination of low-cost, easily accessible and eco-friendly conditioning methods to improve the properties of BSG and thus broaden its potential applications in the food industry.

3.3 Materials and methods

3.3.1 Materials

20 kg of BSG were purchased from a craft brewery located in Texcoco, State of Mexico (GPS coordinates 19°28'49" N and 98°52'3" W, elevation above sea level of 2260 m). The BSG was collected manually using sterile gloves immediately after the mashing of a Pale Ale brewing process. The BSG was transported to the

Food Technology Laboratory of the Universidad Autonoma Chapingo in hermetically sealed bags at room temperature. MRS agar (Becton Dickinson de Mexico, S.A de C.V, Mexico City, Mexico), peptone agar medium (PDA) (Sigma-Merck, Mexico City, Mexico) and MacConkey Agar (Sigma-Merck, Mexico City, Mexico) were used for microbiological counts. Gallic acid (G7384), diammonium salt of 2,2-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, A1888), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchrome-2-carboxylic acid (Trolox, 238813), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, D9132) were acquired from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) for antioxidant activity analysis. All other reagents were of analytical grade, and distilled water was used in all determinations.

3.3.2 Spontaneous fermentation and heat treatment of BSG

The BSG was processed as shown in Fig. 3. In this process, BSG which had a moisture content of $85.0 \pm 1.1\%$ was divided into two subsamples: one underwent spontaneous fermentation (BSG_{EF}), while the other subsample (BSG_{WEF}) was directly subjected to the heat treatment detailed below.

Spontaneous fermentation (BSG_{EF}) was chosen as the first step in order to take advantage of the moisture content and the typical microbiota of the BSG to carry out the fermentation process at room temperature ($23 \pm 2^\circ \text{C}$) for 72 h. The spontaneous fermentation process was controlled by measuring pH and total titratable acidity [12], sugars, soluble protein [3]. Presumptive lactic acid bacteria were enumerated by plate count using MRS agar medium (Becton Dickinson de Mexico, S.A de C.V, Mexico City, Mexico); yeasts and molds on dextrose and yeast peptone agar medium (Sigma-Merck, Mexico City, Mexico) [12] and gram-negative bacteria on MacConkey Agar (Sigma-Merck, Mexico City, Mexico).

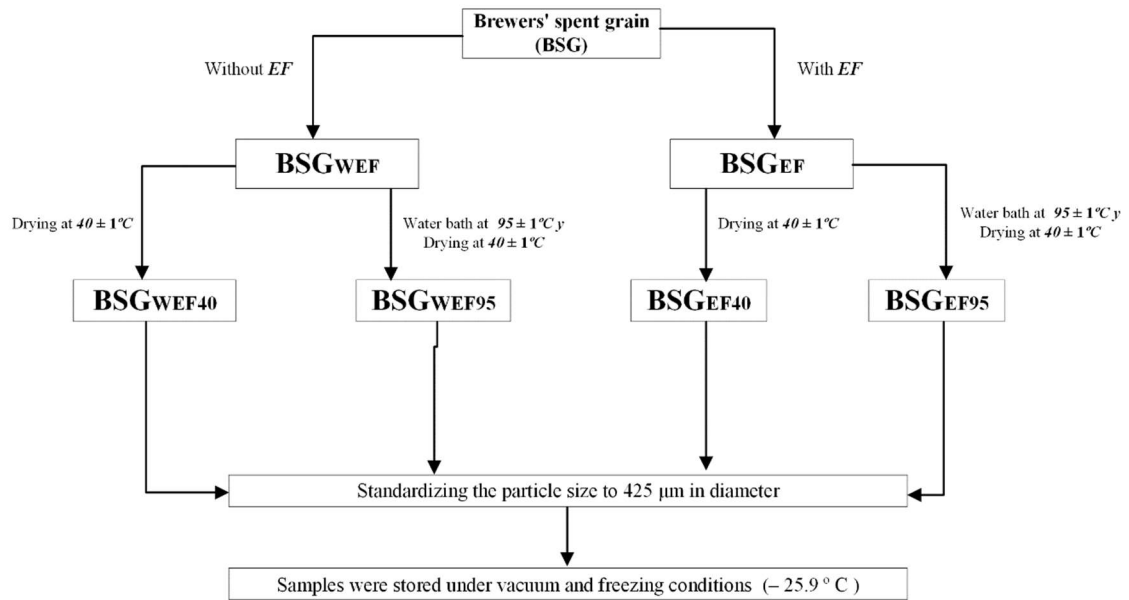


Fig. 3 Flowchart of treated BSG variants

BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneous fermentation and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °

The next stage considered the application of different heat treatments as detailed below. Performing the heat treatment after spontaneous fermentation was carried out to ensure the microbiological safety of the BSG variants; the choice of temperature was based on a previous study reported by Naibaho et al. (2021) where temperatures between 80-100 °C demonstrated improvements in BSG functionality.

Each BSG_{WEF} and BSG_{EF} subsample was divided into two batches and subjected to different heat treatments: BSG_{WEF} and BSG_{EF} were dried at 40°C in a forced convection oven (HCF-62, Rirossa Digital, Mexico City, Mexico) until a moisture content of $8 \pm 1\%$ was reached (BSG_{EF40} and BSG_{WEF40}). BSG_{WEF40} was considered the control sample for this study.

For the subsequent heat treatment, BSG_{EF} and BSG_{WEF} variants were mixed with distilled water in a 1:1 ratio (BSG: distilled water w/v) in a beaker that was closed with aluminum foil, and the mixtures were heated in a water bath at $95 \pm 1^\circ \text{C}$ for

60 min [5]. Afterward, these variants were dried at 40 ± 1 °C using a forced convection oven (HCF-62, Riossa Digital, Mexico City, Mexico) until the moisture content reached $8.0 \pm 1.0\%$ (BSG_{FE95} and BSG_{SFE95}).

The treated BSG variants were ground using a food grinder for 3 min and the particle size was normalized with a 425 µm diameter sieve. The samples were stored under vacuum and freezing conditions (-25.9 °C) in a freezer (LABH-17-FM, LabRepco, Pennsylvania, USA) for further analysis.

3.3.3 Physicochemical characterization of treated BSG variants

pH values were determined by a potentiometer (pH 120, Conductronic, Puebla, Mexico) [12].

Acidity was quantified by titration with 0.1 M NaOH until pH 8.4 was reached; the results were expressed as a percentage of lactic acid [12].

Total soluble sugars were quantified using the phenol/sulfuric method using glucose (Sigma-Aldrich Mexico, Toluca, State of Mexico, Mexico) for the calibration curve ($0.1\text{-}0.9\text{ mg mL}^{-1}$).

The soluble protein content was estimated by Lowry's method with serum bovine albumin as the standard ($0.02\text{-}1.0\text{ mg mL}^{-1}$) (Sigma-Aldrich, Toluca, State of Mexico, Mexico); absorbance was measured at 680 nm using a UV/VIS spectrophotometer (HP 8453; Hewlett Packard, NY, USA).

3.3.4 Color

Color properties were evaluated using the parameters L^* , a^* , and b^* using a colorimeter (CR 400, Konica Minolta, Sensing, Japan), then the browning index (BI) was calculated [13]. The colorimeter was calibrated with a white plate supplied by the manufacturer. The samples were placed on a transparent glass plate and measured in triplicate.

3.3.5 Proximal chemical composition and dietary fiber

The BSG variants' moisture, ash, crude protein, and fat contents were determined using AACC methods [14].

Briefly, moisture content was measured by the kiln drying method, while ash was calculated after muffle incineration. Protein content was estimated using the Kjeldahl method with a conversion factor 6.25. Crude fat was determined using the Soxhlet method. Total carbohydrates were calculated by difference. The chemical composition results were expressed on a dry basis (db).

Insoluble fiber and soluble fiber contents were quantified following the methodology described by Peña-Valdivia and Ortega-Delgado (1986) through a combination of sequential extraction and dialysis purification methods [15]. The proportion of total dietary fiber was calculated by adding the soluble and insoluble fractions. To evaluate the degree of degradation in the composition of the fiber generated by each treatment, the ratio of the soluble fraction to the insoluble fraction (SDF:IDF) [7] was calculated and compared with the ratio (SDF:IDF) of BSG_{WEF40}.

3.3.6 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

An infrared spectrometer (Cary 630, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with an attenuated total reflectance fixture was used. The treated BSG sample (0.01 g) was contacted with the diamond crystal universal sampling fixture. Measurements were recorded in the 400 to 4000 cm^{-1} range using a resolution of 2 cm^{-1} [7].

3.3.7 Ethanol extraction

Ethanol in an 80:20 concentration (v/v-ethanol/distilled water) was used to obtain the ethanolic extracts. Briefly, extractions were performed in a 1:20 ratio (w/v-solute/solvent), mixtures were stirred for 24 h at 100 rpm and kept at room temperature (25 ± 1 °C) under dark conditions. The solutions were centrifuged at 3400 x g for 25 min, and the supernatant was separated and stored in amber vials under refrigerated conditions [16].

3.3.8 Determination of total phenolic content (TPC)

The TPC was calculated using the Folin-Ciocalteu colorimetric method. Briefly, 100 μL of treated or white BSG ethanolic extract was mixed with 400 μL of distilled water; then 250 μL of Folin-Ciocalteu reagent was added, the mixture was stirred, and after 5 min 1250 μL of 20% sodium carbonate was added. The mixture was incubated in dark conditions and at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) for 2 h. Absorbance was then measured at 765 nm using a UV-Vis spectrophotometer (HP 8453; Hewlett Packard, NY, USA) [16]. The measurement was compared with a gallic acid (GA) standard curve ($R^2 = 0.99$), and the results were expressed in mg of gallic acid equivalents per kg of BSG (mg GAE/ kg BSG).

3.3.9 Antioxidant activity using the DPPH• assay

The effect of antioxidant activity of DPPH radicals was determined using a UV-Vis spectrophotometer (HP 8453; Hewlett Packard, NY, USA) [17]. A volume of 500 μL of each ethanolic extract was mixed with 2 mL of a methanolic solution of DPPH (0.06 mmol L^{-1}). It was then swirled in the vortex for 30 s and kept in the dark for 30 min. Absorbance was measured at 517 nm [17]. Antioxidant activity was expressed as mM Trolox equivalents (mM TE)/ 100 g BSG using a Trolox standard curve ($R^2 = 0.99$) at different concentrations (0.1-0.9 mM Trolox).

3.3.10 Antioxidant activity using the ABTS^{•+} assay

Previously, the ABTS^{•+} radical was prepared from the reaction of 5 mL of ABTS^{•+} (7mM) with 88 μL of potassium persulfate solution (140 mM). The solution was stored for 16 hours at room temperature ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) without light. Subsequently, ethyl alcohol was added to 1 mL of solution until the absorbance was adjusted to 0.70 ± 0.05 at 734 nm [17].

30 μL of BSG extract was mixed with 3 mL of ABTS^{•+} solution. After 6 min, absorbance was measured at a wavelength of 734 nm using a UV-Vis spectrophotometer (HP 8453; Hewlett Packard, NY, USA) The blank consisted of 30 μL of distilled water. Antioxidant activity was expressed as mM Trolox equivalents (mM TE)/100 g BSG using a Trolox standard curve ($R^2 = 0.99$) [18].

3.3.11 Quantification of melanoidins

The treated BSG was subjected to an aqueous extraction (1:15 w/v) at 70 °C for 60 min. The mixture was then centrifuged at 4200 x *g* for 20 min with subsequent dialysis (12kDa) with distilled water at 60 °C with constant stirring (four water changes) for 4 h [19].

For the quantification of melanoidins, a sweep was performed to determine the wavelength of maximum absorption, which was 420 nm; subsequently, the melanoidin concentration was calculated using Equation 1, and the content was expressed as g melanoidin/100 g BSG [20].

$$C = \frac{A}{ab} \quad (1)$$

Where

C= Melanoidin concentration

A= Absorbance

b= Spectrophotometer cell length (1.25 cm)

a= Melanoidin-specific extinction coefficient expressed in L/g.cm (1.1289 L g.cm⁻¹)

3.3.12 Functional properties

3.3.12.1 Oil holding capacity (OHC)

2.5 g of dried and ground BSG was mixed with 6 mL of canola oil. The mixture was left at room temperature (25 ± 1 °C) for 30 min and then centrifuged at 3000 x *g* for 15 min. The residual oil was measured after removing the supernatant, and OHC was expressed as the amount in g of oil retained per g of treated BSG [21].

3.3.12.2 Water solubility index (WSI)

At room temperature, 2.5 g of sample was suspended in 25 mL of distilled water. The mixture was stirred in the vortex for 1 min and left to rest for 30 min at room temperature (25 ± 1 °C). It was then centrifuged at 4100 x *g* for 15 min at 4 °C.

The powder dissolved in the liquid fraction was dried at 105 °C until it reached constant weight. The dry supernatant was expressed as the WSI value [21].

3.3.12.3 Water holding capacity (WHC)

Sample (5.0 g) was mixed with 50 mL of distilled water and left to hydrate for 12 h. The next day, any excess water was removed, and the WHC was calculated as the weight of water retained by the treated BSG sample [5].

3.3.13 Statistical analysis

To evaluate the effect of spontaneous fermentation and different levels of heat treatment, a 2² factorial design was used. Measurements were performed in triplicate, and results were presented as mean ± standard deviation. A two-way interaction analysis of variance was performed to determine the impact of spontaneous fermentation and heat treatment on the properties. A comparison analysis of Tukey's means was carried out with a significance level set at $p \leq 0.05$. R software version 4.2.2 (R, USA) performed all statistical analyses.

3.4 Results and discussion

3.4.1 Fermentation process parameters

The pH of BSG at the end of spontaneous fermentation decreased significantly ($p \leq 0.05$) from 5.54 to 4.53, while total titratable acidity increased four times the initial value (1.03 g lactic acid / 100 g BSG) (Fig. 4). This behavior has been reported in spontaneous fermentation of cereals; where, these changes are related to the activity of lactic acid bacteria and the production of organic acids, such as lactic acid, acetic acid, phosphoric acid, among others [11]. The acidification observed in the present study is comparable to the values reported in the Koirala et al. (2022) in BSG fermented with *Weisella confusa* A16, where the percentage of lactic acid increased approximately 3.8 times and the pH decreased to 4.3 [22].

The results of the microbiological analysis (Table 2) indicate that the microorganisms present in BSG_{WEF} included gram-positive, gram-negative, fungi and yeasts. The microorganisms present in the BSG may be directly related to the microbiological profile of the beer, in which the presence of lactic acid bacteria, mainly of the *Lactobacillus* genus has been reported, as well as microorganisms responsible for the deterioration of the gram-negative type of beer, some wild yeasts and mold characteristic of cereals [23]. However, this microbiological profile may be subject to variability due to the environment and sanitary quality of the brewing process.

After the spontaneous fermentation process, there was an increase of at least two logarithmic cycles in lactic acid bacteria and a decrease of one logarithmic cycle for gram-negative bacteria, yeasts, and molds (Table 2). In this study, the increase in the cell density of lactic acid bacteria was less than that reported in BSG fermented with *Weisella confusa* A16, where a rise of three logarithmic cycles was reported [22], possibly explained by the activation and inoculation process carried out in controlled fermentation with *Weisella confusa* A16. Decreases in the number of molds, yeasts, and gram-negative bacteria were comparable to those reported in spontaneous fermentation of cereals and controlled fermentation of BSG [22, 24]. These decreases can be attributed to the higher lactic acid content that prevented the proliferation of gram-negative bacteria, molds, and yeasts [12].

Table 2. Microbiological counts of BSG_{WEF} and BSG_{EF}

Treatment	MRS (log UFC g ⁻¹)	TSA (log UFC g ⁻¹)	PDA (log UFC g ⁻¹)
BSG _{WEF}	3.18 ± 0.1 ^b	3.31 ± 0.1 ^a	4.79 ± 0.12 ^a
BSG _{EF}	5.87 ± 0.1 ^a	2.04 ± 0.1 ^b	3.83 ± 0.1 ^b

Means followed by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean $\pm$ SD (n=3). BSG_{WEF}: BSG without fermentation; BSG_{EF}: BSG with 72-hour spontaneous fermentation

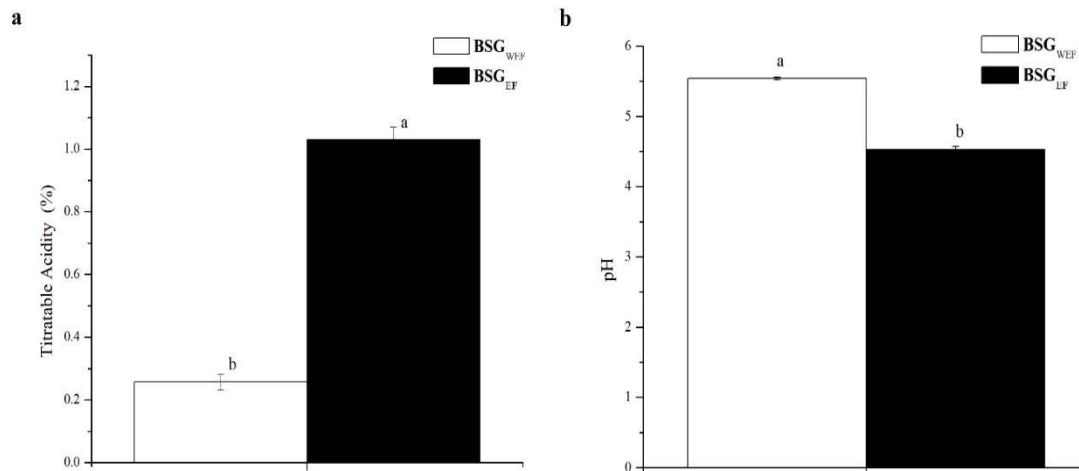


Fig. 4 AT(a) and pH(b) before and after the spontaneous fermentation process. BSG_{WEF}: BSG without fermentation; BSG_{EF}: BSG with spontaneous fermentation

3.4.2 Physicochemical characterization of BSG variants

The pH and total titratable acidity were significantly affected by spontaneous fermentation ($p \leq 0.05$) (Table 3). The titratable acidity (TA) increased significantly by 2.5 times its initial value, consequently; pH decreased from 5.81 ± 0.1 to 4.180 ± 0.03 . The decrease in pH and increase in TA values indicated effective spontaneous fermentation [25], where the bacteria present can convert the free sugars during their energetic metabolism into organic acids such as lactic acid, acetic acid, phosphoric acid and carboxyl groups of protein amino acids [11].

One of the important sources of variation in the characterization of BSG is the technological process, as, for example, differences in the content of total soluble sugars can be explained by the maceration stage, where limited bubbling affects the concentration of the soluble sugars released into the medium [26]. Maltose is the predominant sugar produced during maceration, followed by glucose, maltotriose, and fructose [26].

Spontaneous fermentation significantly affected ($p \leq 0.05$) the concentration of total soluble sugars, generating an increase of 21%. Increases in the concentration of total soluble sugars can be attributed to endogenous hydrolytic

activity generating higher amounts of soluble carbohydrates. This phenomenon has been reported in BSG fermented with *Bacillus velezensis* and *Lactobacillus brevis*, where an increase of up to 69% in total soluble sugar content was reported after the controlled fermentation process [3].

During spontaneous fermentation, the soluble protein content was reduced by 32% ($p \leq 0.05$) (Table 3). This decrease can be explained by the presence of bacteria in the BSG, which in order to obtain amino acids that they cannot synthesize, must actively digest proteins from the immediate environment generating a higher rate of soluble protein consumption [25] and therefore a lower soluble protein content [27]. This behavior has also been reported in symbiotically fermented BSG [3, 12]. The change in the type of soluble sugars and proteins results from the denaturation and structural change of proteins and starches for microbial growth during spontaneous fermentation [11].

Table 3. Variation in pH, titratable acidity, soluble protein, and total soluble sugars of treated BSG

Treatment		BSG _{WEF40}		BSG _{WEF95}		BSG _{EF40}		BSG _{EF95}	
Total	soluble	184.38	±	183.86	±	223.44	±	223.09	±
sugar (mg/mL)		0.51 ^b		0.06 ^b		0.17 ^a		0.23 ^a	
Soluble protein		0.55 ± 0.01 ^a		0.54 ± 0.00 ^a		0.37 ± 0.01 ^b		0.35 ± 0.01 ^b	
(mg/mL)									
pH		5.81 ± 0.10 ^a		5.66 ± 0.04 ^a		4.18 ± 0.03 ^b		4.33 ± 0.01 ^b	
AT		0.6 ± 0.05 ^b		0.65 ± 0.02 ^b		1.5 ± 0.22 ^a		1.43 ± 0.13 ^a	

Means followed by different letters in the same row are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean ± SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C.

3.4.3 Impact on the color of BSG variants

Changes in the color of treated BSG variants are described by L, a*, b*, and the browning index (BI) (Table 4). L* represents luminosity (0-100), a* from highest to lowest value describes redness to green, b* from highest to lowest value

describes the trend from yellow to blue, and BI represents the purity of brown color [7, 28].

Statistical analysis showed that spontaneous fermentation and heat treatment had a significant effect ($p \leq 0.05$) on L^* , a^* , and BI^* . In this way, BSG_{WEF40} exhibited a color profile typical of BSG [28], while BSG_{EF40} exhibited the highest luminosity and the lowest browning index, producing a less dark brown color. These color changes suggest that spontaneous fermentation increased lightness; improvement in lightness due to fermentation has been attributed to the possible degradation of tannins and the effect of microbial activity that reduces the concentration of soluble protein and metabolizes sugars resulting in an increase in lightness as it minimizes the browning process [29, 30].

Increases in redness and darkening from heat treatment are comparable to those reported in autoclaved BSG [7], and these changes are associated with higher lignin content in the samples. Lignin possesses specific functional groups that contribute to darker brown colors [31], as well as Maillard reactions (reactions between amines and sugars) that form brown/red compounds [28].

Color changes can be beneficial, as increased luminosity levels allow BSG to be incorporated into a greater diversity of food such as biscuits, processed cheese and bread without reducing sensory acceptability by darkening [7].

Table 4. Color parameters in BSG

Treatment	L^*	a^*	b^*	BI
BSG_{WEF40}	36.89 ± 1.33^b	5.68 ± 0.03^a	18.92 ± 0.48^a	81.16 ± 5.81^a
BSG_{WEF95}	44.05 ± 0.73^b	5.61 ± 0.22^a	18.96 ± 0.97^a	64.38 ± 2.05^{ab}
BSG_{EF40}	50.58 ± 0.15^a	4.25 ± 0.28^b	18.23 ± 0.43^a	50.13 ± 1.52^b
BSG_{EF95}	42.81 ± 0.46^b	4.76 ± 0.08^b	18.00 ± 0.22^a	61.51 ± 0.66^{ab}

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean $\pm$ SD (n=3). BSG_{WEF40} : BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95} : BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40} : BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95} : BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.4.4 Proximal chemical composition of treated BSG variants

Table 5 presents the results of the proximal chemical composition of the treated BSG variants. The composition of BSG is affected by the barley variety, the harvest time, hop characteristics and other add-ons added during the brewing process, and the pre-treatment strategies given to the BSG, leading to potential variability when characterizing the BSG [7, 32].

The protein content of all treated BSG variants was comparable to the range reported by Naibaho et al. (2021) (14.5 to 30%), where hordein, glutelin, globulin, and albumin are the main proteins in BSG. Spontaneous fermentation and heat treatment significantly reduced ($p \leq 0.05$) the protein content. During spontaneous fermentation, *Lactobacillus* spp. produces extracellular enzymes (saccharolytic, proteolytic, and lipolytic) that play an essential role in some bioavailability modifications [32, 33]. Naibaho et al. (2021) have reported that heat treatment generates a decrease in protein content. However, improvements in bioactivity (immunomodulatory, anti-inflammatory, antithrombotic activity, etc.) have been reported due to the effect of the pretreatment. Agume et al. (2017) reported that the decrease in protein content in heat-treated fermented grains can be attributed to protein degradation through Maillard reactions and the formation of intermolecular complexes.

On the other hand, BSG_{WEF40} exhibited the lowest percentage of ethereal extract (Table 5), which is lower than that reported by Naibaho et al. (2021) in eight types of BSG. In this regard, it has been reported that the pretreatment applied in cereals influences the extraction yield because the solvent has a greater chance of penetrating the grain structures, increasing the yield. Moisture content, solvent used, and extraction conditions (pressure, temperature) are also significant factors that can affect the yield of the ethereal extract [34].

Ethereal extract was significantly increased from 1.4 to 2.4 times ($p \leq 0.05$) (Table 4) by spontaneous fermentation and heat treatment. Naibaho et al. (2021) reported that heat treatments and application of high pressures to BSG increase the ethereal extract by up to 80% because thermal exposure causes the

degradation of the cell wall in the BSG matrix, generating depolymerization and reduction of molecular weight; producing the release of fats, minerals and specific compounds such as polyphenols. Thermal exposure, in addition to increasing the concentration of the ethereal extract, also reduces the amount of saturated fatty acids and increases the level of polyunsaturated fatty acids [5]. Ethereal extract in BSG stands out due to its potential source of antioxidants, fatty acids, and volatile tocotrienol compounds [28, 35].

Other studies of heat-treated fermented grains have reported decreased ethereal extract due to fermentation. However, the variability in results could be attributed to different preparation methods, fermentation times, temperatures, starter cultures, and the initial state of the samples [34, 36].

Ash concentrations for all treatments were comparable to those reported by Naibaho et al. (2021) (2.7 to 5%), and BSG_{EF95} exhibited the highest ash content (Table 5). Heat treatment has been reported to increase the ash content slightly. The main minerals in BSG are phosphorus, calcium, sulfur, magnesium, and potassium [7].

Due to cell wall modifications, these increases are comparable to those reported in heat-treated fermented grains [34].

The present study showed significant modification ($p \leq 0.05$) in the carbohydrates of BSG; BSG_{WEF95} exhibited the highest concentration of carbohydrates (Table 4), which could be attributed to the reduction in the concentration of proteins and lipids. In contrast, BSG_{EF95} exhibited the lowest carbohydrate concentration (Table 5). The decrease in carbohydrate content due to spontaneous fermentation can be attributed to using carbohydrates in bacterial growth [3, 25]. At the onset of fermentation, available fermentable sugars are converted to organic acids and energy, and sugars released during endogenous and microbial enzymatic activities are consumed in the post-fermentation stages [22]. Some studies on fermentation and heat treatment in grains have shown carbohydrate degradation, while others report increased concentration after both treatments [34]. Differences

in carbohydrate content in BSG may be related to differences in the concentrations of cellulose and hemicellulose contained in BSG [31].

Table 5. Proximal chemical composition of BSG variants

Treatment	Crude Protein (%)	Ethereal extract (%)	Ash (%)	Total carbohydrates (%)
BSG _{WEF40}	20.0 ± 0.25 ^a	3.0 ± 0.05 ^d	2.1 ± 0.03 ^b	66.9 ± 0.25 ^b
BSG _{WEF95}	15.6 ± 0.05 ^b	5.1 ± 0.03 ^b	2.2 ± 0.05 ^b	69.1 ± 0.06 ^a
BSG _{EF40}	16.5 ± 0.06 ^b	4.2 ± 0.12 ^c	2.4 ± 0.02 ^b	68.9 ± 0.15 ^{ab}
BSG _{EF95}	16.4 ± 0.1 ^b	7.3 ± 0.41 ^a	2.9 ± 0.10 ^a	65.4 ± 0.81 ^c

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean ± SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.4.5 Modification in the composition of dietary fiber

The composition of dietary fiber was significantly affected ($p \leq 0.05$) by the application of heat treatment, generating an increase in the percentage of soluble dietary fiber (SDF) and a decrease in the percentage of insoluble dietary fiber (IDF). Naibaho et al. (2021) reported ranges of 5.97-10.86 % SDF and 37.65-47.52% FDI in autoclave treated BSG.

The conversion of IDF to SDF is associated with the ability of thermal exposure from 80°C to alter cell vacuoles and/or cleave covalent bonds, which may lead to modification of lignin solubility. Conventional water bath heat treatments applied to BSG indicated that temperatures between 90 and 100 °C facilitated depolymerization and conversion of certain elemental compounds by increasing apparent solubility and viscosity [7]. The lower % IDF in BSG_{WEF95} and BSG_{EF95} (Table 5) can be attributed to the weakening of the bond between lignin and phenolic groups, affecting the physical properties of dietary fiber and increasing the solubility of lignin [7].

The main components of IDF are cellulose, hemicellulose, and lignin, whereas arabinoxylans (AX) are the main compound of SDF. The solubility of dietary fiber is influenced by the properties of arabinoxylans, where most AX are dominated by their non-polar component. Applying heat treatment could change the binding structure of AX and arabinoxylan-oligosaccharide (AXOS) and promote its solubility in water, increasing SDF and reducing IDF [7].

The increase in SDF and the decrease in IDF increased the SDF:IDF ratio from 0.091 to 0.19 in BSG_{WEF95} and BSG_{EF95}. The difference between SDF: BSG_{WEF40} IDF taken as a control and the other treatments indicates the level of dietary fiber modification (Table 6), where BSG_{WEF95} and BSG_{EF95} showed the highest levels. Modifying the properties and increasing dietary fiber solubility improves food products' acceptability [37]. SDF regulates softer textures, gelling, and foaming properties, while IDF controls the stiffness and, thus, hardness of a feed mixture [7]. The changes obtained by increasing SDF can be exploited in food formulation to modulate postprandial glucose response [38].

Table 6. Dietary fiber modification of treated BSG variants

Treatment	SDF (%)	IDF (%)	TDF (%)	SDF:IDF (%)	Modification (%)
BSG _{WEF40}	3.8 ± 0.4 ^b	41.9 ± 0.4 ^a	45.7 ± 0.7 ^b	0.091	-
BSG _{WEF95}	8.0 ± 0.3 ^a	38.9 ± 0.7 ^b	46.9 ± 0.6 ^a	0.19	108.8
BSG _{EF40}	5.5 ± 0.4 ^b	40.5 ± 0.5 ^a	46.0 ± 0.6 ^b	0.13	48.3
BSG _{EF95}	7.6 ± 0.2 ^a	39.4 ± 0.9 ^b	47.0 ± 0.9 ^a	0.19	109.8

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$). Values correspond to mean ± SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.4.6 FTIR spectroscopy

The FTIR spectra of the treated BSG variants are shown in Fig. 5. The bands found coincide with those reported by Naibaho et al. (2021) in BSG treated in an autoclave. The signal of a band stretching at 3281 cm^{-1} is associated with the existence of hydroxyl and amine groups, which may indicate the presence of cellulose and hemicellulose at 2929 cm^{-1} , related to the asymmetric stretching of CH_2 functional groups, a typical structure of polysaccharides presents in BSG [7, 19]. The region between 1700 and 1600 cm^{-1} is due to amide I and II, including C=O and C-N stretching and N-H deformation [19]. Meanwhile, the absorption band around 1218 cm^{-1} is mainly due to the presence of amide III in the BSG functional group or cleavage of acetyl groups.

The region of the band between 1100 and 1000 cm^{-1} indicates the functional groups of aliphatic ethers due to the stretching of C-O-C [7]. Absorption at 1148 cm^{-1} showed a predominance of the α -glycosidic bond. The increase in the intensity of this band in $\text{BSG}_{\text{WEF95}}$ and BSG_{EF95} may be associated with the formation of a melanoidin backbone with carbohydrate side chains [19]. On the other hand, the number of the compounds related to non-enzymatic browning, such as Amadori compounds (C=O), Schiff base (C=N), and pyrazines (C-N) may increase due to the effect of the heat treatment applied; the peak at 1077 cm^{-1} showed an increase in intensity in $\text{BSG}_{\text{WEF95}}$ and BSG_{EF95} , suggesting the presence of furanose rings in melanoidin structures [19].

Differences in absorption intensity show that heat treatment and spontaneous fermentation in BSG modified its structure. Considering the absorption intensity (Fig. 5), two regions of differentiated bands can be observed: a hydroxyl group corresponding to dietary fiber at 3281 cm^{-1} where $\text{BSG}_{\text{WEF95}}$ and BSG_{EF95} exhibited higher intensities and may be related to increases in % SDF (Table 5).

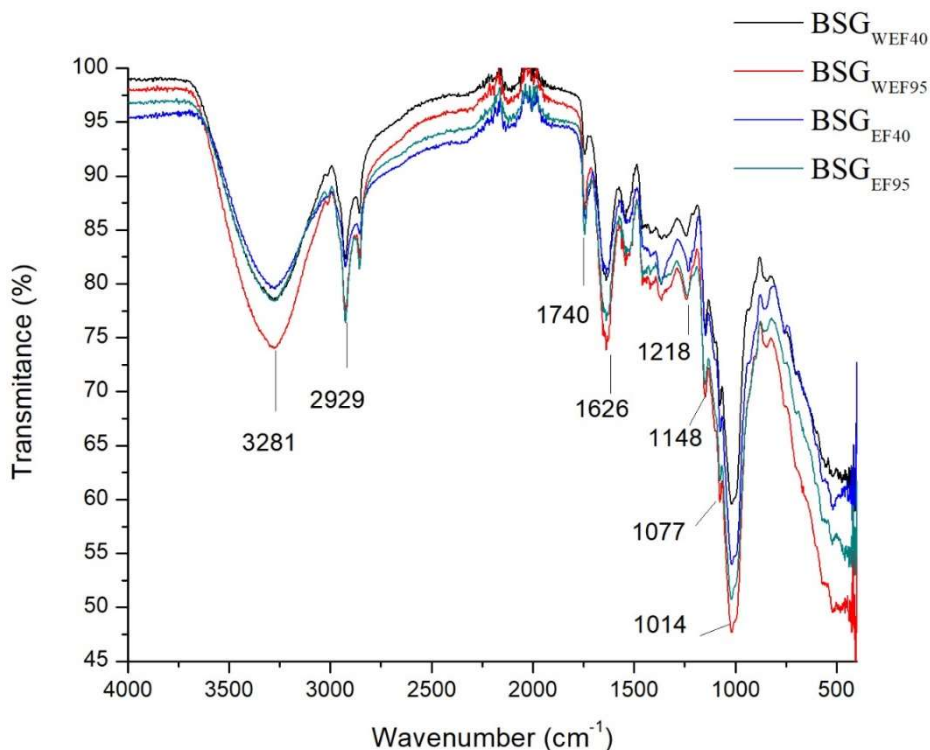


Fig. 5 FTIR spectra of treated BSG variants. BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG spontaneously fermented and dried at 95 °C

3.4.7 Total polyphenol content

The total phenolic content (TPC) of the treated BSG variants is shown in Fig. 6. Spontaneous fermentation and heat treatment significantly affected TPC. BSG_{WEF40} and BSG_{WEF95} exhibited total polyphenol contents (14.94 ± 0.20 and 16.26 ± 1.71 , respectively) comparable results have been reported (8 to 12 mg GAE/g BSG) [35].

Other studies on BSG have reported lower TPC contents (6.54 mg GAE/g BSG). These differences can be attributed to the different conditions of the brewing process (malting and mashing efficiency), the variety of cereal used, growing conditions, and harvest time of the cereals. In addition, BSGs from light malts, such as the one used in this study, exhibit higher concentrations of total and individual phenolic compounds, particularly ferulic acid and p-coumaric acid, than dark malts produced at high baking temperatures [26].

TPC content was significantly increased from 3.15 to 2.67 times ($p \leq 0.05$) in BSG_{EF40} and BSG_{EF95}, respectively (Fig. 6). These results indicated that spontaneous fermentation had a significant effect on increasing the concentration of polyphenols. It has been reported that the degree of fermentation in BSG is proportional to TPC [3]. Comparable increases in the TPC content of BSG fermented with *Aspergillus oryzae* and *Bacillus subtilis* have been reported [39]. Spontaneous fermentation can lead to the release of polyphenols bound to cell walls, increasing TPC concentration. Enzymes such as amylases and proteases produced by microorganisms could hydrolyze phenolic conjugates with one or more sugars bound into free polyphenols [39, 40].

TPC content in BSG_{EF95} was significantly lower ($p \leq 0.05$) than BSG_{EF40}. Reduction in TPC content due to the effect of heat treatment between 90 and 100 °C facilitates the depolymerization and conversion of compounds into elemental units, decreasing the content of flavan-3-ols and thermolabile total phenolic acids [5].

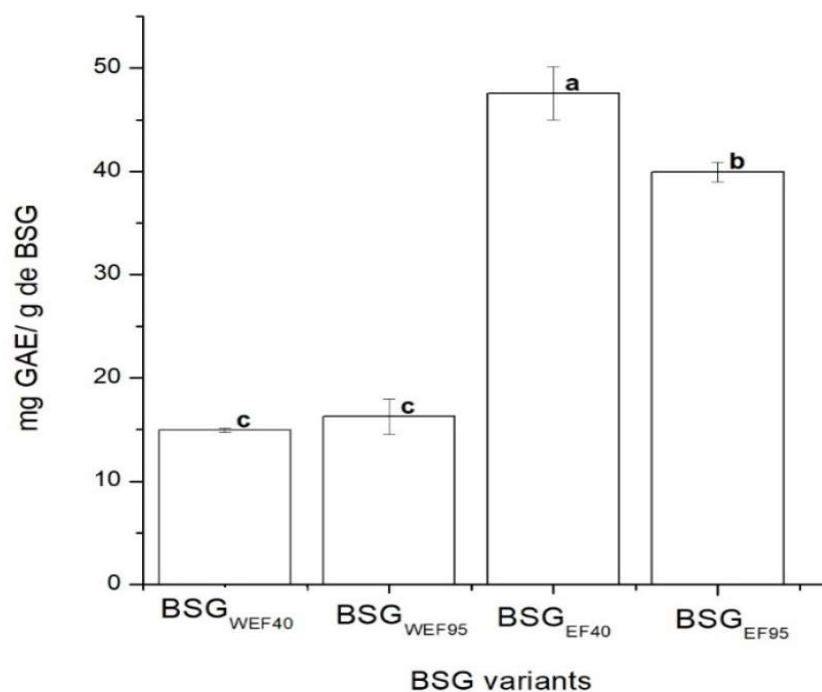


Fig. 6 Total polyphenol content of treated BSG variants. BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneously fermented and dried at 95 °C

3.4.8 Quantification of melanoidins

The concentration of melanoidins in the treated variants was significantly affected ($p \leq 0.05$) by the heat treatment applied. BSG_{WEF40} and BSG_{EF40} exhibited the lowest concentrations of melanoidins (Table 7), comparable to those reported in BSG Pilsen, Caramel 60, Caramel 120, and Chocolate [19]. Melanoidins in these variants can be attributed to melanoidins generated during the maceration process in brewing, which migrate due to the wort boiling process [41]. Patrignani et al. (2021) reported that during the Maillard reaction in the mashing process, the concentration of melanoidins increases, in addition to phenolic compounds that bind to the melanoidin structure. Therefore, BSG could be considered an essential source of bioavailable antioxidants compared to what has been reported in previous studies [16, 31].

The heat treatment could favor the reaction between reducing sugars and proteins present, forming Maillard reaction products and increasing the concentration of melanoidins in BSG_{WEF95} and BSG_{EF95} (Table 7).

For all treated variants, absorption spectra exhibited the highest absorbance at 420 nm, indicating the presence of high molecular weight melanoidins [19]. Melanoidins are end products of the Maillard reaction that show different biological effects, such as antioxidant activity, antimicrobial activity, inhibitory activity against angiotensin-converting enzyme, and prebiotic potential [41].

Table 7 Melanoidin concentration in variants

Treatment	Melanoidin concentration (g of melanoidins/100 g of BSG)
BSG _{WEF40}	0.69 ± 0.01 ^b
BSG _{WEF95}	1.50 ± 0.05 ^a
BSG _{EF40}	0.85 ± 0.02 ^b
BSG _{EF95}	1.40 ± 0.02 ^a

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$). Values correspond to mean ± SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.4.9 Antioxidant activity

Table 8 shows the antioxidant activity of the variants using the DPPH• and ABTS^{•+} assays. In general, both spontaneous fermentation and heat treatment significantly increased ($p \leq 0.05$) the antioxidant activity against both radicals (Table 8).

In the DPPH• radical antioxidant activity assay, BSG_{WEF40} showed typical antioxidant activity values for untreated BSG [42]. In contrast, BSG_{EF40} exhibited the highest antioxidant activity (Table 8). The results demonstrated a positive correlation ($r = 0.946$, $p \leq 0.05$) between antioxidant activity against the DPPH radical and TPC, suggesting that the content of total phenolic compounds influenced the antioxidant activity of the variants [17].

The antioxidant capacity for the ABTS^{•+} assay exhibited by all variants (Table 8) is comparable to the results reported by Naibaho et al. (2022) in autoclaved BSG (0.278-0.796 mM TE/100 g). BSG_{WEF95} and BSG_{EF95} exhibited higher values of antioxidant activity for this trial (Table 8). The thermal influence to generate greater capacity for oxygen radical scavenging and hydrogen peroxide neutralization (ABTS^{•+}) has been previously reported [18, 19, 42]. It has been linked to the formation of melanoidins and water-soluble phenolic compounds. This study found a positive correlation ($r = 0.833$ $p \leq 0.005$) between antioxidant activity against the ABTS^{•+} radical and melanoidin concentration. In addition, it has been reported that applying heat treatments on BSG generates greater bioavailability of lipids such as palmitic, linoleic, oleic, and stearic acids that contribute to antioxidant properties [18].

Iadecola et al. (2022) reported differences in antioxidant potentials exhibited in the DPPH• and ABTS^{•+} assays in BSG. These differences were attributed to the different affinity of the molecules concerning hydrophilic and lipophilic compounds. ABTS^{•+} can be solubilized in aqueous and organic solvents, in which antioxidant activity can be determined due to the hydrophilic and lipophilic nature of the compounds. In contrast, DPPH• can only be dissolved in organic solvents, which may represent a limitation for hydrophilic antioxidants [43].

Table 8 Antioxidant activity of treated BSG variants

Treatment	DPPH• mM TE/100 g of BSG	ABTS^{•+} mM TE/100 g of BSG
BSG _{WEF40}	0.68 ± 0.01 ^c	0.60 ± 0.04 ^c
BSG _{WEF95}	0.72 ± 0.06 ^b	0.95 ± 0.07 ^a
BSG _{EF40}	0.79 ± 0.01 ^a	0.61 ± 0.07 ^c
BSG _{EF95}	0.76 ± 0.06 ^{ab}	0.70 ± 0.09 ^b

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean $\pm$ SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.4.10 Functional properties

Both spontaneous fermentation and heat treatment significantly affected ($p \leq 0.05$) the water holding capacity (WHC), oil holding capacity (OHC), and water solubility index (WSI) (Table 9).

The results showed that WHC and OHC increased significantly between 58 and 17.68% in the BSG_{EF95} variant (Table 8). Changes in WHC and OHC levels found in this study were comparable to previous reports of BSG treated in a water bath and autoclave [5, 7].

The concentration of arabinoxylans influences the ability of BSG to retain water [5]. WHC improvements in BSG_{EF95} are congruent with the % degradation and SDF:IDF obtained for this variant (Table 6). It can be associated with the modification in the composition of the polysaccharides of the BSG and inducing the exposure of hydrophilic groups as an effect on the loss of the dietary fiber structure [35]. The improvement in WHC benefits the texture and viscosity of the food products into which they are incorporated [35].

On the other hand, increases in OHC in the BSG_{EF95} variant would be related to a higher concentration of lipid compounds (Table 5), improving oil holding capacity [5].

WSI is an essential indicator of the product's behavior in an aqueous medium that provides information about the quality of the reconstitution of the product in water [44]. Variants with spontaneous fermentation (BSG_{EF40} and BSG_{EF95}) exhibited a WSI 2.54 higher ($p < 0.05$) (Table 9), indicating better solubility in water [44]; the degradation of dietary fiber is related to increases in WSI due to the increase in the solubility of the polysaccharides that compose it, as well as being a helpful indicator of molecular degradation [45].

Changes in WHC, OHC, and WSI result from modification of the structural components of BSG. Spontaneous fermentation and heat treatment modified the composition of the dietary fiber (SDF:IDF), causing depolymerization, molecular weight reduction, and weakening of the bonds of the main structure of the dietary fiber. Since BSG is a cross-linked material, the amount of hydroxyl groups, amino acids, and lipids significantly affects its functional properties [5].

Table 9 WHC, OHC, and WSI of treated BSG variants

Treatment	WHC (g/g)	OHC (g/g)	WSI (%)
BSG _{WEF40}	4.02 ± 0.07 ^b	1.30 ± 0.06 ^d	14.66 ± 4.61 ^b
BSG _{WEF95}	5.86 ± 0.53 ^{ab}	1.88 ± 0.01 ^b	20.00 ± 0.10 ^b
BSG _{EF40}	6.00 ± 0.27 ^{ab}	1.60 ± 0.04 ^c	32.00 ± 0.10 ^a
BSG _{EF95}	6.38 ± 0.10 ^a	1.93 ± 0.02 ^a	37.33 ± 2.30 ^a

Means followed by different letters in the same column are significantly different ($p \leq 0.05$). Values correspond to mean ± SD (n=3). BSG_{WEF40}: BSG without fermentation and dried at 40 °C; BSG_{WEF95}: BSG without fermentation and heat treatment at 95 °C; BSG_{EF40}: BSG spontaneously fermented and dried at 40 °C; BSG_{EF95}: BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C

3.5 Conclusions

This study showed that heat treatment and spontaneous fermentation influenced BSG's physicochemical, antioxidant, and functional properties. Variants with 95 °C heat treatment and spontaneous fermentation exhibited the highest content of ethereal extract and soluble dietary fiber, which improved the water solubility index, oil holding capacity, and water holding capacity. Color changes indicated

an improvement, increased luminosity, and decreased browning index. Antioxidant activity against DPPH• and ABTS•+ radicals was favored by spontaneous fermentation due to the release of phenolic compounds and heat treatment by the formation of melanoidins.

These results indicate that combining heat treatment with spontaneous fermentation improves the properties of BSG and expands the diversity of food products in which they can be incorporated.

3.6 Acknowledgments

The authors thank the National Council for Humanities, Sciences and Technologies (CONAHCYT) (PhD Scholarship No 1001766)

3.7 Declarations Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

3.8 References

1. Guo, M., et al., Optimization of Brewer's spent grain-enriched biscuits processing formula. *Journal of Food Process Engineering*, 2014. 37(2): p. 122-130.
2. Lisci, S., et al., Valorizing brewer's spent grain: A sequential pathway of supercritical extraction, hydrolysis, and fermentation. *Chemical Engineering Science*, 2024. 285: p. 119620.
3. Zeng, J., et al., Nutrition promotion of brewer's spent grain by symbiotic fermentation adding *Bacillus velezensis* and *Levilactobacillus brevis*. *Food Bioscience*, 2022. 49: p. 101941.
4. Pejin, J., et al., Possibility of L-(+)-lactic acid fermentation using malting, brewing, and oil production by-products. *Waste Management*, 2018. 79: p. 153-163.
5. Naibaho, J., et al., Conventional water bath heating on undried brewer's spent grain: Functionality, fatty acids, volatiles, polyphenolic and antioxidant properties. *Food Bioscience*, 2023. 53: p. 102523.
6. Naibaho, J. and M. Korzeniowska, Brewers' spent grain in food systems: Processing and final products quality as a function of fiber modification treatment. *Journal of Food Science*, 2021. 86(5): p. 1532-1551.

7. Naibaho, J., et al., Fiber modification of brewers' spent grain by autoclave treatment to improve its properties as a functional food ingredient. *LWT*, 2021. 149: p. 111877.
8. Lech, M. and K. Labus, The methods of brewers' spent grain treatment towards the recovery of valuable ingredients contained therein and comprehensive management of its residues. *Chemical Engineering Research and Design*, 2022. 183: p. 494-511.
9. Steiner, J., M. Kupetz, and T. Becker, Influence of Hydrothermal Treatment of Brewer's Spent Grain on the Concentration and Molecular Weight Distribution of 1,3-1,4- β -D-Glucan and Arabinoxylan. *Foods*, 2023. 12(20).
10. Rahman, M.J., et al., Valorization of Heat-Treated Brewers' Spent Grain Through the Identification of Bioactive Phenolics by UPLC-PDA and Evaluation of Their Antioxidant Activities. *Frontiers in Nutrition*, 2021. 8: p. 8.
11. Agume Ntso, A.S., Y.N. Njintang, and C.M.F. Mbofung, Physicochemical and pasting properties of maize flour as a function of the interactive effect of natural-fermentation and roasting. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2016. 11(2): p. 451-459.
12. Cacace, C., et al., Potential of native and bioprocessed brewers' spent grains as organic soil amendments. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2022. 6.
13. Durmus, Y., M. Anil, and S. Simsek, Innovative use of hazelnut skin and starch modifications in sourdough bread formulation. *Journal of Food Process Engineering*, 2024. 47(1): p. e14517.
14. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods, C., Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 2000: AACC.
15. Ramirez-Santiago, C., et al., Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L. Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 2010. 101(3): p. 229-235.
16. Almeida, A., et al., Bioactive compounds from brewer's spent grain: Phenolic compounds, fatty acids and in vitro antioxidant capacity. *Acta Scientiarum - Technology*, 2017. 39: p. 269-277.
17. Cortes-Viguri, V., et al., Annatto (*Bixa orellana* L.), a potential novel starch source: antioxidant, microstructural, functional, and digestibility properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2022. 16(1): p. 637-651.
18. Naibaho, J., et al., Antioxidant activities and polyphenolic identification by UPLC-MS/MS of autoclaved brewers' spent grain. *LWT*, 2022. 163: p. 113612.
19. Patrignani, M. and L.D.S. González-Forte, Characterisation of melanoidins derived from Brewers' spent grain: new insights into their structure and antioxidant

activity. International Journal of Food Science and Technology, 2021. 56(1): p. 384-391.

20. Pérez-Hernández, L.M., et al., Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* Y *Coffea canephora*. Biotecnia, 2013. 15(1): p. 51-56.

21. Naibaho, J., et al., Techno-functional properties of protein from protease-treated brewers' spent grain (BSG) and investigation of antioxidant activity of extracted proteins and BSG residues. Journal of Cereal Science, 2022. 107: p. 103524.

22. Koirala, P., et al. Fermented Brewers' Spent Grain Containing Dextran and Oligosaccharides as Ingredient for Composite Wheat Bread and Its Impact on Gut Metabolome In Vitro. Fermentation, 2022. 8, DOI: 10.3390/fermentation8100487.

23. Rodríguez-Saavedra, M., D. González de Llano, and M.V. Moreno-Arribas, Beer spoilage lactic acid bacteria from craft brewery microbiota: Microbiological quality and food safety. Food Research International, 2020. 138: p. 109762.

24. Teniola, O.D., W.H. Holzapfel, and S.A. Odunfa, Comparative assessment of fermentation techniques useful in the processing of ogi. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2005. 21(1): p. 39-43.

25. Moiseenko, K.V., O.A. Glazunova, and T.V. Fedorova Fermentation of Rice, Oat, and Wheat Flour by Pure Cultures of Common Starter Lactic Acid Bacteria: Growth Dynamics, Sensory Evaluation, and Functional Properties. Foods, 2024. 13, DOI: 10.3390/foods13152414.

26. Jin, Z., et al., Physicochemical composition, fermentable sugars, free amino acids, phenolics, and minerals in brewers' spent grains obtained from craft brewing operations. Journal of Cereal Science, 2022. 104: p. 103413.

27. Zeng, J., et al., Brewer's spent grain fermentation improves its soluble sugar and protein as well as enzymatic activities using *Bacillus velezensis*. Process Biochemistry, 2021. 111: p. 12-20.

28. Su, X., et al., Subcritical water treatment to modify insoluble dietary fibers from brewer's spent grain for improved functionality and gut fermentability. Food Chemistry, 2024. 435.

29. Bezerril, F.F., et al., Wheat craft beer made from AFB1-contaminated wheat malt contains detectable mycotoxins, retains quality attributes, but differs in some fermentation metabolites. Food Research International, 2023. 172: p. 112774.

30. Yuliana, N., et al., The benefits of fermentation in improving the pasting properties of composite sweet potato flour and its application in composite white salted noodles. Food Research, 2023. 7(1): p. 120-127.

31. Naibaho, J. and M. Korzeniowska, The variability of physico-chemical properties of brewery spent grain from 8 different breweries. *Heliyon*, 2021. 7(3): p. e06583.
32. Pires, E.J., et al., A New Approach on Brewer's Spent Grains Treatment and Potential Use as Lignocellulosic Yeast Cells Carriers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012. 60(23): p. 5994-5999.
33. Granito, M., Y. Valero, and S. Pérez, Vida útil de granos *Phaseolus vulgaris* L. fermentados y listos para el consumo. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 2009. 26: p. 88-106.
34. Ambarsari, I., et al., Comparison of spontaneous and ragi fermentations on the physicochemical and functional properties of cereal flours. *International Food Research Journal*, 2022. 29(4): p. 909-917.
35. Naibaho, J., et al., Chemical compositions, antioxidant activities and techno-functionality of spent grain treated by autoclave treatment: evaluation of water and temperature levels. *International Journal of Food Science & Technology*, 2023. 58(4): p. 2130-2140.
36. Liu, J., et al., Effect of extrusion pretreatment on extraction, quality and antioxidant capacity of oat (*Avena Sativa* L.) bran oil. *Journal of Cereal Science*, 2020. 95: p. 102972.
37. Gil-López, D.I.L., et al., Production of dietary fibers from sugarcane bagasse and sugarcane tops using microwave-assisted alkaline treatments. *Industrial Crops and Products*, 2019. 135: p. 159-169.
38. Xu, Y., et al. Impact of Brewers' Spent Grain-Containing Biscuit on Postprandial Glycaemic Response in Individuals with Metabolic Syndrome: A Crossover Randomised Controlled Trial. *Nutrients*, 2024. 16, DOI: 10.3390/nu16060909.
39. Ong, A. and C.-L.K. Lee, Cooperative metabolism in mixed culture solid-state fermentation. *LWT*, 2021. 152: p. 112300.
40. Sun, H., et al., Changes in phenolic content, antioxidant activity, and volatile compounds during processing of fermented sorghum grain tea. *Cereal Chemistry*, 2020. 97(3): p. 612-625.
41. Pérez-Burillo, S., et al., Bioactivity of food melanoidins is mediated by gut microbiota. *Food Chemistry*, 2020. 316: p. 126309.
42. Alonso-Riaño, P., et al., Valorization of brewer's spent grain by consecutive supercritical carbon dioxide extraction and enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 2022. 396: p. 133493.
43. Iadecola, R., et al. Optimization of Phenolic Compound Extraction from Brewers' Spent Grain Using Ultrasound Technologies Coupled with Response Surface Methodology. *Sustainability*, 2022. 14, DOI: 10.3390/su14063309.

44. Jafari, S.M., M. Ghalegi Ghalenoei, and D. Dehnad, Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technology*, 2017. 311: p. 59-65.
45. Rashid, S., et al., Effects of extrusion cooking on the dietary fibre content and Water Solubility Index of wheat bran extrudates. *International Journal of Food Science & Technology*, 2015. 50(7): p. 1533-1537.

4. FORTIFICACIÓN DE TORTILLA DE MAÍZ UTILIZANDO BAGAZO CERVECERO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL

4.1 Resumen

Una gran parte de la población mundial necesita alimentos enriquecidos con ingredientes funcionales para mejorar su calidad nutricional. Las tortillas de maíz, alimento básico en México, pueden ser enriquecidas con bagazo cervecero (BSG), un subproducto de la industria cervecera rico en proteínas, fibra, minerales y compuestos fenólicos. En este estudio se prepararon y evaluaron una tortilla de maíz control sin BSG y tres tortillas de maíz fortificadas con 4, 8 y 12 % de BSG, analizando sus propiedades físicas, nutricionales, texturales, microestructurales, funcionales, antioxidantes y sensoriales. La inclusión de BSG aumentó el contenido de proteína, fibra dietética, calcio, almidón resistente y compuestos fenólicos totales, lo que resultó en una mayor actividad antioxidante. Sin embargo, el tratamiento con 12 % de BSG afectó negativamente el grado de inflado, la rolabilidad, el brillo, la textura y la aceptabilidad por parte de los consumidores. En contraste, las tortillas con 4 % de BSG mostraron una aceptación sensorial óptima, al mismo tiempo que mantuvieron mejoras en la resistencia a la tensión y en el valor nutricional. El análisis microestructural confirmó que el BSG modificó el tamaño y la disposición de los gránulos de almidón, lo que influyó en su digestibilidad. Finalmente, la revalorización sostenible del BSG podría constituir una alternativa interesante como ingrediente nutricional y funcional en la industria alimentaria.

Palabras clave: Harina de maíz, ingredientes funcionales, digestibilidad *in vitro*, valor nutricional, fortificación sostenible, maíz nixtamalizado.

FORTIFICATION OF CORN TORTILLA USING A BREWERS' SPENT GRAIN-BASED FUNCTIONAL INGREDIENT

Abstract

A large part of the world's population needs foods enriched with functional ingredients to improve nutritional quality. Corn tortillas, a staple food in Mexico, can be enriched with brewers' grains (BSG), a by-product of the brewing industry rich in protein, fiber, minerals, and phenolic compounds. In this study, a control corn tortilla without BSG and three corn tortillas fortified with 4, 8 and 12 % BSG were prepared and evaluated for their physical, nutritional, textural, microstructural, functional, antioxidant and sensory properties. The inclusion of BSG increased the protein, dietary fiber, calcium, resistant starch, and total phenol content, resulting in higher antioxidant activity. However, treatment with 12 % BSG negatively affected the degree of inflation, rollability, brightness, texture, and consumer acceptability were negatively affected. In contrast, tortillas with 4 % BSG showed optimal sensory acceptance while maintaining improvements in tensile strength and nutritional value. Microstructural analysis confirmed that BSG modified the size and arrangement of starch granules, which influenced starch digestibility. Finally, the sustainable revaluation of BSG could constitute interesting alternatives as nutritional and functional ingredients in the food industry.

Keywords

Corn flour, functional ingredients, *in vitro* digestibility, nutritional value, sustainable fortification, nixtamalized corn

4.2 Introducción

El desarrollo de alimentos fortificados ha ganado creciente atención debido a su potencial para mejorar la salud pública al abordar deficiencias nutricionales en productos de consumo básico. Las tortillas de maíz son un componente fundamental de la dieta mexicana, con un consumo per cápita cercano a los 85 kg por año (Rojo-Gutiérrez et al., 2025). Aportan calorías, carbohidratos, proteínas y vitaminas, pero su perfil nutricional se ve limitado por la baja calidad proteica y las reducidas concentraciones de lisina y triptófano (Rojo-Gutiérrez et al., 2025). Por ello, las estrategias para enriquecer las tortillas se han convertido en una prioridad con el fin de incrementar su valor nutricional y funcional.

Diversos estudios han explorado la fortificación de tortillas con ingredientes alternativos. Por ejemplo, la incorporación de harina de nopal (*Opuntia ficus indica*) incrementó el contenido de calcio y fibra (Cornejo-Villegas et al., 2010), mientras que, la harina de chapulín mejoró los niveles de proteína, minerales y quitina (Contreras-Jiménez et al., 2020). La fortificación con hidrolizados de garbanzo ha mostrado efectos benéficos en la actividad de la dipeptidil peptidasa, relevante en el manejo de la diabetes tipo 2 (Acevedo-Martínez & González de Mejía, 2021). Sin embargo, niveles elevados de sustitución pueden comprometer atributos sensoriales, físicos y texturales, lo que limita la aceptación del consumidor.

Más allá de los ingredientes convencionales, el uso de subproductos de la industria alimentaria ha surgido como una alternativa sostenible. Por ejemplo, la fortificación con residuos de brócoli mejoró el contenido mineral y de fibra (García-Lorca et al., 2025), mientras que el polvo de cálices de jamaica incrementó los polifenoles y la actividad antioxidante en tortillas (Mercado-Mercado & Núñez-Gastélum, 2024). Estos enfoques no solo mejoran la calidad nutricional, sino que también contribuyen a la reducción de desperdicios y fomentan modelos de economía circular.

El bagazo cervecero (BSG) es el principal subproducto de la industria cervecera, con una producción anual estimada de ~39 millones de toneladas (Naibaho et al., 2023). Si no se maneja adecuadamente, representa un riesgo ambiental; sin embargo, contiene altos niveles de fibra dietética, proteínas, minerales y compuestos fenólicos como ácidos ferúlico y *p*-cumárico (García et al., 2025). El BSG exhibe propiedades biológicas como efectos antioxidantes, antimicrobianos e inmunomoduladores (Naibaho et al., 2023), lo que lo convierte en un ingrediente funcional prometedor. Aunque su aplicación ha sido estudiada en productos horneados y extruidos, la incorporación de BSG en tortillas de maíz tradicionales mexicanas no ha sido explorada de manera sistemática. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los parámetros físicos, de calidad, texturales, microestructurales, funcionales, de actividad antioxidante y de aceptabilidad sensorial de tortillas de maíz fortificadas con diversas concentraciones de harina funcional a base de bagazo cervecero. Esta información puede resultar útil para el desarrollo de alimentos más saludables y sostenibles, contribuyendo además a reducir el impacto ambiental negativo de los subproductos de la industria cervecera.

4.3 Materiales y métodos

4.3.1 Materiales

Se adquirieron 3.0 kg de granos de maíz provenientes de Francisco Villa, Tlaxcala (coordenadas GPS 19°35'5" N y 98°27'44" O, altitud 2546 m s. n. m.). Se utilizó bagazo cervecero tratado en estudios previos (Olvera-Ortiz et al., 2024) mediante fermentación espontánea y tratamiento térmico (BSG_{EF95}). El ácido gálico (G7384, pureza 97.5 %), la sal de diamonio de 2,2-azinobis-(3-etil-benzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS, A1888), HCl (J.T Baker, ACS, Estado de México, México), el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (Trolox, 238813), y el 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH, D9132) fueron adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico y se utilizó agua destilada para todas las determinaciones.

4.3.2 Preparación de las tortillas de maíz

La nixtamalización del maíz se llevó a cabo de acuerdo con Rojas-Molina et al. (2020). En resumen, 3.0 kg de maíz se cocinaron en una solución de 6 L de agua purificada y 30 g de hidróxido de calcio (Fermont, Monterrey, NL, México) a 92 °C durante 25 min. Posteriormente, los granos cocidos (nixtamal) se dejaron reposar en el líquido de cocción (nejayote) durante 9 h. El nejayote se drenó y la muestra de nixtamal se lavó dos veces con agua purificada en una proporción 2:1 (p/v), agitando los granos durante 1 min. Después del lavado, el nixtamal se molió en un molino de piedra (FUMASA, M100, Qro, México) hasta obtener una masa uniforme. La harina de BSG tratada térmicamente con baño de agua convencional a 95 °C y fermentación espontánea, obtenida en estudios previos, se incorporó a la masa en proporciones de 4, 8 y 12 % (p/p), mientras que las tortillas control no contenían BSG. Se prensaron porciones de 20 g (20 cm de diámetro) y se hornearon a 250 °C durante 1 min por cada lado (Pérez-Alva et al., 2022). Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas herméticas bajo refrigeración.

4.3.3 Propiedades físicas y de calidad

El diámetro, grosor, pérdida de peso, grado de inflado y la rolabilidad de las tortillas se determinaron siguiendo a Mercado-Mercado & Núñez-Gastélum (2024).

4.3.4 Color de las tortillas

El color de las tortillas (L^* , a^* , b^*) se midió con un colorímetro (CR 400, Konica Minolta, Sensing, Japón), y los valores de ΔE se calcularon en relación con las tortillas control (Kulbat-Warycha et al., 2024).

4.3.5 Propiedades texturales de las tortillas

4.3.5.1 Perfil de textura de la masa

El análisis del perfil de textura (TPA) de las masas de maíz resultantes de las formulaciones se midió con un Analizador de Textura TA-XT2i (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, Reino Unido). Muestras de masa (50 g) se moldearon en forma esférica y se sometieron a dos ciclos de compresión con una sonda acrílica de 3.5 cm de diámetro a una velocidad de 2 mm/s hasta una profundidad de 10 mm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los parámetros de TPA se calcularon a partir de los perfiles fuerza-tiempo, incluyendo dureza, cohesividad, adhesividad y elasticidad (Domínguez Zárate et al., 2019).

4.3.5.2 Análisis de textura de las tortillas

La textura de las tortillas de maíz se evaluó mediante el método de resistencia a la tensión propuesto por Calderón-Peralta et al. (2017). Se cortó un trozo de tortilla en forma de tira rectangular con dimensiones: 8.7 cm de largo, 3.7 cm de ancho en cada extremo y 1.5 cm en la parte más angosta. A 2 cm de cada extremo se colocaron sujetadores TA-96, fijando la tira de tortilla. La prueba se realizó a 2 mm/s y los sujetadores se separaron 15 mm hasta que la muestra se rompió. A partir de las curvas obtenidas, se midieron la fuerza máxima de ruptura, el área bajo la curva hasta el punto de ruptura y el área total bajo la curva (Calderón-Peralta et al., 2017).

4.3.6 Composición proximal

La humedad, cenizas, proteína, fibra cruda y contenido de grasa se analizaron siguiendo los métodos de la AOAC (AACC, 2000).

4.3.7 Contenido de calcio

El calcio se cuantificó mediante espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES, ThermoFisher, Boston, MA, EUA) siguiendo a Rojas-Molina et al. (2020).

4.3.8 Contenido total de polifenoles y actividad antioxidante

4.3.8.1 Extracción en etanol

Las tortillas se pulverizaron utilizando un Nutribullet (NBR-0601, California, EUA). Posteriormente, 1.0 g del polvo de muestra se mezcló con 9 mL de etanol al 80 % (p/v) y se agitó en vórtex durante 30 min, dejándose reposar en condiciones oscuras durante 12 h. Después de este tiempo, los extractos se filtraron con papel Whatman No. 1 en oscuridad. El volumen final se ajustó a 10 mL con etanol al 80 % (p/v). Los extractos se almacenaron en frascos ámbar a 4 °C (Cortes-Viguri et al., 2022).

4.3.8.2 Contenido total de polifenoles (TPC) y actividad antioxidante

El TPC se determinó mediante el método de Folin–Ciocalteu (Pérez-Alva et al., 2022). La capacidad antioxidante se evaluó con los ensayos DPPH• y ABTS•+, expresando los resultados como equivalentes de Trolox (Cortes-Viguri et al., 2022).

4.3.9 Fracciones de digestión del almidón

Las fracciones de almidón se clasificaron como de digestión rápida (RDS), digestión lenta (SDS) o almidón resistente (RS), siguiendo el protocolo enzimático de hidrólisis de Buitimea-Cantúa & de la Rosa-Millán (2018).

4.3.10 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Las muestras se secaron en horno a 35 °C durante toda la noche (Calderón-Peralta et al., 2017). Posteriormente, se obtuvo una sección de 1 cm² de la parte

central, que se montó en soportes de aluminio con cinta adhesiva de carbón y se recubrió con oro durante 5 min a 1.5 kV, 5-6 mA en un recubridor al vacío JFC 1100 (JEOL, Tokio, Japón). Las micrografías se obtuvieron en un microscopio electrónico de barrido (JSM-6360, JEOL, Tokio, Japón) con un voltaje de aceleración de 15 kV y aumento de 1000×.

4.3.11 Evaluación sensorial

Ochenta panelistas no entrenados (20–60 años; 40 mujeres y 40 hombres) (Mercado-Mercado & Núñez-Gastélum, 2024) participaron en la evaluación. A cada muestra se le asignó un número de tres dígitos y los panelistas recibieron las muestras codificadas, indicando su preferencia en cuanto a apariencia, aroma, sabor, gusto, rolabilidad, textura y aceptabilidad general mediante una escala hedónica de cinco puntos: 1 = Me disgusta mucho, 2 = Me disgusta moderadamente, 3 = Ni me gusta ni me disgusta, 4 = Me gusta moderadamente y 5 = Me gusta mucho (Hassan et al., 2024).

4.3.12 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado con muestras independientes, utilizando un diseño experimental aleatorizado. Los datos se analizaron mediante un ANOVA y la prueba de Tukey se utilizó para comparar medias con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$, empleando el paquete estadístico R, versión 4.2.2 (R, EUA).

4.4 Resultados y discusión

4.4.1 Calidad de las tortillas

La incorporación de BSG afectó significativamente el grado de inflado y la rolabilidad ($p \leq 0.05$) (Cuadro 2). Niveles elevados de BSG redujeron ambos parámetros, probablemente porque los compuestos fenólicos (14.94 ± 0.20 mg GAE/g BSG) y la fibra dietética (47.0 ± 0.90 %) promueven la retrogradación del almidón y limitan la expansión de la red proteica (Mercado-Mercado & Núñez-

Gastélum, 2024). Además, se ha documentado que la unión de compuestos fenólicos a polímeros de almidón, como la amilosa y la amilopectina, reduce la capacidad de retención de agua y provoca encogimiento parcial del almidón; el contenido de proteína y fenoles también puede afectar la hinchazón del gluten, disminuyendo la laminación (Mercado & Núñez-Gastélum, 2024).

Las variaciones en el grado de inflado pueden atribuirse a que este ocurre durante el horneado de la tortilla debido a la formación y acumulación de vapor entre las dos capas. Cuando el inflado se inicia, la coalescencia de estas capas genera una burbuja grande; sin embargo, dicha burbuja solo se mantiene si no se forman grietas en la corteza de la tortilla que permitan escapar el vapor (Mashau et al., 2020). En este sentido, se ha reportado que las interacciones entre proteínas, fibra dietética y compuestos fenólicos promueven el endurecimiento y la formación de grietas (Mercado-Mercado & Núñez-Gastélum, 2024). Las tortillas con 4 % de BSG (T_{M4}) mantuvieron niveles aceptables de inflado y rolabilidad, mientras que las de 12 % (T_{M12}) mostraron disminuciones marcadas. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos de fortificación con cálices de jamaica (Mercado-Mercado & Núñez-Gastélum, 2024) y harina de frijol donde altos niveles de sustitución redujeron la flexibilidad estructural (Mashau et al., 2020).

El diámetro y el grosor no mostraron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 2), lo cual coincide con valores reportados por Pérez-Alva et al. (2022). No obstante, las tortillas con BSG presentaron aproximadamente 23 % menos pérdida de peso durante el enfriamiento (Cuadro 10), lo que podría mejorar el rendimiento comercial al disminuir la evaporación de agua. Esto se explica porque el agua en las variantes con BSG pudo haber tenido un mayor grado de unión con los componentes del bagazo tratado, reduciendo su eliminación durante el calentamiento.

4.4.2 Color de las tortillas

El color es un factor visual determinante en los alimentos, ya que influye en las preferencias y decisiones de compra de los consumidores (Messina et al., 2024). Los resultados indicaron que la concentración de BSG añadido impactó significativamente ($p \leq 0.05$) las propiedades de color (Cuadro 10). La luminosidad (L^*) disminuyó conforme aumentó el BSG, mientras que a^* y b^* permanecieron similares. T_{M12} fue notablemente más oscura, atribuible a los taninos y polifenoles presentes en el BSG, que tienden a oscurecer los alimentos (Naibaho & Korzeniowska, 2021).

El tratamiento T_{M8} mostró un $\Delta E > 1$, lo cual significa que el ojo humano percibe diferencias sutiles de color (Kulbat-Warycha et al., 2024). En cambio, T_{M12} presentó un $\Delta E > 3$, indicando diferencias evidentes (Figura 7). T_{M4} exhibió diferencias mínimas ($\Delta E < 1$), sin cambios perceptibles respecto al control (T_{M0}).



Figura 7. Color de las variantes de tortillas elaboradas

Cuadro 10. Propiedades físicas y de color de las tortillas fortificadas con diferentes concentraciones de BSG

	T _{M0}	T _{M4}	T _{M8}	T _{M12}
Diámetro (cm)	11.23 ± 0.15 ^a	10.56 ± 0.11 ^a	10.63 ± 0.11 ^a	11.03 ± 0.05 ^a
Espesor (mm)	2.20 ± 0.28 ^a	2.36 ± 0.10 ^a	2.26 ± 0.05 ^a	2.23 ± 0.05 ^a
Rolabilidad	5.0 ± 0.00 ^a	5.0 ± 0.00 ^a	4.0 ± 0.00 ^b	2.0 ± 0.0 ^b
Grado de inflado	3.0 ± 0.0 ^a	3.0 ± 0.0 ^a	3.0 ± 0.0 ^a	2.0 ± 0.0 ^b
Pérdida de peso de tortilla caliente a fría (%)	2.54 ± 0.05 ^a	2.09 ± 1.00 ^b	1.78 ± 0.28 ^b	1.95 ± 1.00 ^b
L*	44.19 ± 1.15 ^a	43.41 ± 1.01 ^{ab}	41.82 ± 0.48 ^{bc}	40.51 ± 0.37 ^c
a*	0.35 ± 0.00 ^a	0.35 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.01 ^a
b*	0.36 ± 0.00 ^a	0.36 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.00 ^a
ΔE	---	0.78 ± 0.15 ^b	2.36 ± 0.73 ^{ab}	3.67 ± 1.31 ^a

Los superíndices distintos (a-d) dentro de la misma fila indican diferencias significativas entre los parámetros ($p \leq 0,05$). La tortilla de control sin grano usado de cervecería (BSG) se denomina T_{M0} y las tortillas enriquecidas con un 4, 8 y 12 % de BSG se denominan T_{M4}, T_{M8} y T_{M12}, respectivamente.

4.4.3 Composición químico proximal de las tortillas

El Cuadro 11 presenta los resultados de la composición química proximal de las variantes de tortilla. La incorporación de BSG tuvo un impacto significativo en dicha composición. El contenido de proteína aumentó significativamente, alcanzando su valor más alto en T_{M12}, lo cual se atribuye al contenido proteico aproximado del 16 % presente en la harina de BSG (Olvera-Ortiz et al., 2024). Este enriquecimiento resulta relevante en regiones donde la tortilla de maíz constituye un alimento básico, pero la calidad proteica es limitada (Hassan et al., 2024). En contraste, T_{M0} mostró el contenido proteico más bajo (8.51 ± 0.02 %). Se ha documentado que la calidad del maíz utilizado, particularmente su estado de nixtamalización y el grado de refinamiento posterior para la elaboración de tortillas, influye de manera significativa en la composición química proximal del producto final (Hassan et al., 2024; Pérez-Alva et al., 2022).

En cuanto al contenido de grasa, T_{M12} presentó un incremento significativo ($p \leq 0.05$) del 20.4 % en la concentración de lípidos (Cuadro 3) en comparación con T_{M0}, atribuible a la incorporación del BSG tratado. El extracto etéreo del BSG ha sido documentado como una fuente importante de antioxidantes, ácidos grasos y tocoferoles volátiles (Su et al., 2024).

El contenido de fibra aumentó hasta en 2.7 % en T_{M12}, en concordancia con los resultados obtenidos en tortillas enriquecidas con soya y algas marinas (Pérez-Alva et al., 2022; Hassan et al., 2024). Los principales componentes de la fibra aportada por el BSG son celulosa, hemicelulosa, arabinoxilanos y lignina, los cuales se han relacionado con beneficios potenciales como el efecto prebiótico y la mejora del control glucémico (Naibaho et al., 2023). Sin embargo, concentraciones elevadas de fibra pueden provocar una disminución del brillo y un incremento en el diferencial de color (Cuadro 10). De manera similar, pueden alterar la matriz de almidón y proteína, afectando la capacidad de retención de humedad y la formación de redes cohesivas (Cuadro 12), además de incrementar

la absorción de agua, lo que genera un cambio en la masa que impacta los parámetros físicos y de calidad (Cuadro 10).

El contenido total de carbohidratos en las formulaciones de tortilla varió de 84.16 % a 79.87 % (Cuadro 11). A medida que aumentó la cantidad de BSG incorporado, el contenido total de carbohidratos disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$). Esto puede deberse a que el BSG aporta 65.4 ± 0.81 % de carbohidratos (Olvera-Ortiz et al., 2024), mientras que el maíz nixtamalizado contiene 83.94 % (Inyang et al., 2019).

El contenido de cenizas también aumentó, indicando una mayor concentración de minerales. La concentración de calcio se incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) conforme aumentó la proporción de BSG incorporado. T_{M0} presentó el contenido más bajo de calcio (Cuadro 11), comparable con los valores reportados previamente para tortillas de maíz (1001.4 ± 0.78 mg/kg) (Pérez-Alva et al., 2022). La incorporación de 4, 8 y 12 % de BSG generó un aumento en la concentración de calcio de 1.89, 2.94 y 4.20 %, respectivamente. Este incremento puede atribuirse al calcio aportado por el BSG, uno de los minerales reportados en mayores concentraciones (2080–2834 mg/kg) (García et al., 2025). Por lo tanto, la fortificación de tortillas con BSG representa una alternativa potencial para mejorar la ingesta de calcio.

Cuadro 11. Composición química proximal, contenido de calcio y digestibilidad in vitro del almidón de las tortillas con diferente concentración de BSG

	T _{M0}	T _{M4}	T _{M8}	T _{M12}
Proteína cruda (%)	8.51 ± 0.02 ^c	9.16 ± 0.01 ^c	9.82 ± 0.1 ^b	10.47 ± 0.02 ^a
Lípidos (%)	4.31 ± 0.01 ^b	4.60 ± 0.01 ^b	4.89 ± 0.03 ^b	5.19 ± 0.02 ^a
Fibra (%)	1.60 ± 0.01 ^d	1.97 ± 0.01 ^c	2.33 ± 0.03 ^b	2.70 ± 0.01 ^a
Cenizas (%)	1.42 ± 0.03 ^c	1.54 ± 0.01 ^b	1.65 ± 0.01 ^{ab}	1.77 ± 0.01 ^a
Carbohidratos totales (%)	84.16 ± 0.02 ^a	82.73 ± 0.01 ^b	81.31 ± 0.03 ^b	79.87 ± 0.02 ^c
Contenido de calcio (mg/kg)	952 ± 10.03 ^d	970 ± 9.10 ^c	980 ± 6.20 ^b	992 ± 10.1 ^a
RDS (%)	69.83 ± 0.85 ^a	55.74 ± 0.09 ^b	67.57 ± 0.65 ^b	51.75 ± 0.70 ^c
SDS (%)	19.95 ± 0.01 ^c	23.82 ± 0.80 ^b	27.93 ± 0.75 ^a	22.70 ± 0.50 ^b
RS (%)	10.22 ± 0.97 ^d	20.44 ± 0.70 ^b	4.5 ± 0.01 ^d	25.55 ± 0.12 ^a

Los superíndices distintos (a-d) dentro de la misma fila indican diferencias significativas entre los parámetros ($p \leq 0,05$). La tortilla de control sin grano usado de cervecería (BSG) se denomina T_{M0} y las tortillas enriquecidas con un 4, 8 y 12 % de BSG se denominan T_{M4}, T_{M8} y T_{M12}, respectivamente.

4.4.4 Tasa de digestión in vitro del almidón en tortillas

El almidón de digestión rápida (RDS) se define como el tipo de almidón que se convierte rápidamente (en un lapso de 20 minutos) en moléculas de glucosa mediante digestión enzimática. El almidón de digestión lenta (SDS) se define como aquel que se convierte en glucosa después de 120 minutos de digestión enzimática, mientras que el almidón resistente (RS) no se digiere ni se absorbe en el intestino delgado; en su lugar, se fermenta en el colon (Raigond et al., 2019).

Los perfiles de digestibilidad del almidón en las tortillas se muestran en el Cuadro 3. La incorporación de BSG afectó significativamente las propiedades de digestibilidad del almidón de las tortillas ($p \leq 0.05$). A medida que aumentó la concentración de BSG, el RDS disminuyó, mientras que el SDS y la presencia de RS se incrementaron. T_{M0} presentó el contenido más alto de RDS, mientras que T_{M12} mostró un 25.9 % menos de RDS. Este fenómeno ha sido documentado en tortillas fortificadas con 10 % de sorgo, donde el RDS disminuyó en 24.23 % en comparación con la tortilla control (Buitimea-Cantúa & de la Rosa-Millán, 2018).

En el caso del SDS, T_{M8} presentó los niveles más altos, un 40 % superiores a los de la tortilla control (Cuadro 11), lo que sugiere la presencia de una amplia región amorfa semicristalina (Oh et al., 2025). Esta propiedad permite que las tortillas fortificadas con 8 % de BSG liberen energía de manera gradual, evitando incrementos súbitos en los niveles de glucosa en sangre.

T_{M12} presentó el contenido más alto de RS, 2.5 veces mayor que T_{M0} , lo que indica una proporción considerable de almidón no digerible. El alto contenido de RS probablemente se deba al elevado grado relativo de cristalinidad, en el cual las cadenas de doble hélice densamente empaquetadas impiden la penetración enzimática y reducen la digestibilidad (Oh et al., 2025). Por el contrario, T_{M8} mostró el contenido más bajo de RS (Cuadro 3). En este sentido, se ha documentado que el contenido de almidón resistente tiene una correlación negativa con la dureza (Rojas-Molina et al., 2020), lo cual concuerda con los datos observados en este estudio (ver Cuadro 12), donde las tortillas con mayor

dureza (T_{M8}) presentaron el menor contenido de almidón resistente (Cuadro 11). La digestibilidad de la tortilla se ve afectada por múltiples factores, incluyendo la textura del alimento (Li et al., 2023), la interacción proteína-almidón (Figura 5C), los compuestos fenólicos (Vernon-Carter et al., 2020), la capacidad de hinchamiento y la microestructura (Figura 5C), los cuales determinan la digestibilidad del almidón (Li et al., 2023).

En conjunto, los resultados destacan el potencial del BSG como ingrediente funcional en formulaciones alimentarias de alto y bajo índice glucémico (Oh et al., 2025).

4.4.5 Propiedades texturales de la masa de maíz y de las tortillas

El efecto de diferentes concentraciones de BSG en las masas y tortillas de maíz se caracterizó mediante la medición de los cambios en las propiedades texturales utilizando pruebas de perfil de textura (TPA) y pruebas de tensión, respectivamente. Los parámetros TPA, como dureza, adhesión, cohesividad y elasticidad de las masas, así como los valores de resistencia a la tensión de las tortillas, se presentan en el Cuadro 12. La dureza, definida como la fuerza requerida para deformar la masa bajo condiciones óptimas de humedad sin causar su desintegración (Calderón-Peralta et al., 2017), es un parámetro crucial para evaluar la calidad de la masa. La dureza de las masas varió entre 1.17 y 2.49 N (Cuadro 3), lo cual es comparable con los resultados reportados por Calderón-Peralta et al. (2017) (0.71–1.87 N) en tortillas enriquecidas con gomas de *Hymenaea courbaril*. En este estudio, T_{M8} presentó la mayor dureza, mientras que T_{M12} mostró la menor (Cuadro 12). Estos resultados sugieren que con la incorporación del 12 % de BSG se ejerce un efecto debilitante sobre la estructura de la masa, resultando en una disminución de su resistencia. En este sentido, estudios previos de fortificación de tortillas han reportado que un aumento en el contenido de proteína puede conducir a una reducción en la firmeza de la masa, ya que puede influir en la capacidad de retención de agua y en las interacciones proteína-proteína, afectando así la dureza (Pérez-Alva et al., 2022). Este hallazgo

coincide con los resultados obtenidos, ya que T_{M12} presentó el mayor contenido de proteína (Cuadro 11).

La adhesividad es la propiedad más importante de la masa en la producción de tortillas; se requiere una masa con adhesividad adecuada para que se adhiera y se desprenda apropiadamente de la máquina de hacer tortillas (Topete-Betancourt et al., 2020). Los resultados del estudio demostraron que, a medida que aumentó la concentración de BSG, la adhesividad mostró un incremento significativo ($p \leq 0.05$) (Cuadro 12). Este fenómeno es consistente con las observaciones reportadas en tortillas enriquecidas con harina de chapulín (Contreras Jiménez et al., 2020). De manera similar, Calderón-Peralta et al. (2017) reportaron que la incorporación de una mayor concentración de gomas de *Hymenaea courbaril* incrementó significativamente la adhesividad. Una mayor adhesividad se atribuye a la destrucción de las zonas rígidas del almidón, lo que promueve la absorción de agua (Dongmo et al., 2024). Topete-Betancourt et al. (2020) indicaron que, a mayor dureza y adhesividad, mayor es el grado de gelatinización. T_{M12} presentó la mayor adhesividad (-0.44 ± 0.01 N); valores más altos de adhesividad son indicativos de una masa con mayor pegajosidad y menor trabajabilidad (Calderón-Peralta et al., 2017); en este sentido, estos resultados pueden estar relacionados con la disminución de los parámetros de calidad de las tortillas con 12 % de BSG (Cuadro 10).

Dado que la masa está sujeta a diferentes tipos de fuerzas durante su manipulación en la producción de tortillas, debe ser capaz de soportar mayores esfuerzos antes de deformarse o volverse quebradiza. La masa debe ser altamente cohesiva, tolerante a la mezcla y menos propensa a la fragilidad (Topete-Betancourt et al., 2020). La cohesión está relacionada con la retrogradación del almidón; una masa con un mayor contenido de gránulos de almidón parcialmente gelatinizados es menos cohesiva, ya que estos gránulos funcionan como núcleos de recristalización durante la rehidratación de la harina (Topete-Betancourt et al., 2020). Esta podría ser una de las razones por las

cuales T_{M8} y T_{M12} mostraron mayor dureza y pegajosidad (Cuadro 4) y menor cohesión.

La elasticidad es una propiedad relacionada con la capacidad de un material para almacenar energía, permitiéndole recuperar su forma o posición original. Valores altos de elasticidad son indeseables, ya que el grosor de las láminas aplanadas aumentaría después del moldeado, lo cual no es deseable (Topete-Betancourt et al., 2020). T_{M12} fue el único tratamiento que mostró una elasticidad significativamente menor (Cuadro 12). Es importante destacar que esta variante presentó el mayor contenido de fibra (ver Cuadro 10); se ha documentado que el contenido de fibra puede disminuir la resiliencia de la masa cuando se somete a fuerzas externas (Topete-Betancourt et al., 2020).

T_{M4} presentó una resistencia a la tensión 55.74 % mayor que T_{M0} (Cuadro 10). Calderón-Peralta et al. (2017) reportaron valores comparables en tortillas suplementadas con gomas de *Hymenaea courbaril* (1.64 - 2.40 N), al igual que Contreras Jiménez et al. (2020) en tortillas suplementadas con harina de chapulín (1.34 - 1.98 N). La resistencia a la tensión está relacionada con los atributos de elasticidad y dureza de la tortilla, evaluados de manera subjetiva por el consumidor, quien representa la fuerza necesaria para desgarrar y estirar una tortilla, simulando la acción de romperla con las manos (Calderón-Peralta et al., 2017). En general, los resultados obtenidos indicaron que las tortillas enriquecidas con 4 % de BSG presentaron una estructura reforzada, probablemente debido a la unión de compuestos fenólicos y proteicos con los polímeros de almidón (Figura 5B) (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024), lo que incrementó la fuerza requerida para desgarrar la tortilla. Considerando las propiedades texturales evaluadas, la incorporación de 4 % de BSG mejoró significativamente la resistencia a la tensión, un atributo clave para la calidad percibida por el consumidor, sin afectar negativamente la dureza, pegajosidad, cohesividad y elasticidad de la masa.

Cuadro 12. Análisis del perfil de textura, resistencia a la tracción de la masa y las tortillas, y evaluación sensorial de tortillas con diferentes concentraciones de BSG.

	T _{M0}	T _{M4}	T _{M8}	T _{M12}
Dureza(N)	1.32 ± 0.01 ^c	1.41± 0.05 ^b	2.49 ± 0.02 ^a	1.17 ± 0.01 ^d
Adhesividad	-0.26 ± 0.01 ^d	-0.31± 0.05 ^c	-0.39 ± 0.01 ^b	-0.44 ± 0.01 ^a
(N.s)				
Cohesividad	0.32 ± 0.01 ^{ab}	0.35 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.05 ^b	0.28 ± 0.01 ^b
(Adim)				
Elasticidad	0.50 ± 0.03 ^a	0.50 ± 0.02 ^a	0.46 ± 0.01 ^{ab}	0.41 ± 0.01 ^b
(Adim)				
Resistencia a la tracción (N)	1.32 ± 0.13 ^c	2.98 ± 0.09 ^a	1.92 ± 0.03 ^b	1.76 ± 0.10 ^b
Apariencia	4.2 ± 1.3 ^a	4.0 ± 1.0 ^a	3.1 ± 1.1 ^b	2.4 ± 0.7 ^c
Aroma	3.5 ± 1.2 ^a	3.3 ± 0.9 ^a	3.1 ± 1.0 ^a	2.9 ± 1.0 ^b
Sabor	4.4 ± 1.1 ^a	4.3 ± 1.1 ^a	4.2 ± 0.8 ^a	3.2 ± 1.1 ^b
Rolabilidad	4.3 ± 1.3 ^a	4.5 ± 1.0 ^a	2.9 ± 1.1 ^b	2.3 ± 1.2 ^c
Textura	3.8 ± 1.2 ^a	4.0 ± 1.3 ^a	2.7 ± 1.2 ^b	2.2 ± 0.8 ^c
Aceptabilidad global	4.1 ± 1.1 ^a	4.0 ± 0.8 ^a	3.2 ± 0.9 ^b	2.5 ± 1.4 ^c

Los superíndices distintos (a-d) dentro de la misma fila indican diferencias significativas entre los parámetros ($p \leq 0,05$). La tortilla de control sin grano usado de cervecería (BSG) se denomina T_{M0} y las tortillas enriquecidas con un 4, 8 y 12 % de BSG se denominan T_{M4}, T_{M8} y T_{M12}, respectivamente.

4.4.6 Propiedades sensoriales de las tortillas

La evaluación sensorial desempeña un papel fundamental en el desarrollo de nuevos productos alimenticios, ya que proporciona información directa sobre la aceptación del consumidor, sus preferencias y el potencial de mercado (Hassan et al., 2024).

Como se muestra en el Cuadro 12, T_{M12} presentó la menor aceptabilidad en cuanto a apariencia y aroma. Este resultado probablemente se deba a que un aumento en la concentración de BSG incrementa directamente la concentración de polifenoles, los cuales se asocian con una disminución en el brillo, un incremento en la diferencia de color, una reducción en el aroma típico del maíz y la aparición de sabores astringentes.

La evaluación de la textura y la rolabilidad reveló que T_{M0} y T_{M4} mostraron una aceptabilidad óptima para estos parámetros, mientras que T_{M12} presentó la menor aceptación. Los resultados de este estudio indicaron que, a un nivel de fortificación del 12 % con BSG, se produjo un efecto negativo sobre los parámetros de textura y rolabilidad. Este hallazgo se sustenta en los resultados obtenidos en la caracterización de los parámetros físicos y de calidad de las tortillas (Cuadro 10) y en los parámetros texturales (Cuadro 12).

En relación con los parámetros sensoriales evaluados, la fortificación al 4 % de las tortillas resultó óptima para la aceptabilidad general, mientras que la fortificación al 12 % fue la menos aceptada por los consumidores (Cuadro 12). Estudios previos sobre la evaluación sensorial de tortillas fortificadas con polvo de brócoli (García-Lorca et al., 2025), soya (Hassan et al., 2024) y cálices de jamaica en decocción (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024) han reportado una tendencia similar, donde el aumento en las concentraciones se correlaciona con una menor aceptabilidad por parte del consumidor. Considerando la evaluación de cada parámetro sensorial y la aceptabilidad general, la fortificación de tortillas con 4 % de BSG es el tratamiento

recomendado, dado que esta concentración obtuvo la mayor aceptación por parte de los panelistas.

4.4.7 Contenido fenólico total y capacidad antioxidante de las tortillas

La cuantificación de los polifenoles totales y la actividad antioxidante son fundamentales para evaluar el potencial funcional en el desarrollo de nuevos alimentos. Los polifenoles son compuestos bioactivos con beneficios para la salud ampliamente documentados, que incluyen efectos antiinflamatorios y antioxidantes. Su presencia contribuye a la estabilidad oxidativa de los alimentos y puede desempeñar un papel importante en la reducción del riesgo de enfermedades crónicas (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024).

El contenido fenólico total (TPC) de las tortillas varió de 0.24 a 0.45 mg GAE/g y se vio significativamente afectado ($p \leq 0.05$) por la concentración de BSG añadida. Así, la incorporación de 4, 8 y 12 % resultó en incrementos del TPC de las tortillas de 50, 59 y 87 %, respectivamente (Figura 8A).

T_{M0} presentó el TPC más bajo (Figura 8A), comparable con los valores reportados para tortillas elaboradas a partir de harina de maíz (0.30 mg GAE/g) y tortillas comerciales de maíz (0.38 mg GAE/g) (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024). Las variaciones observadas en el TPC de las tortillas de maíz pueden atribuirse a los distintos procesos de nixtamalización que implican el uso de sales de calcio, al tratamiento térmico durante la preparación de las tortillas y al grosor de estas, factores que modifican la proporción de compuestos fenólicos ligados y libres. Alternativamente, la relación entre el pericarpio y el endospermo, estructuras con el mayor contenido de compuestos fenólicos en las diferentes variedades de maíz utilizadas, podría explicar dichas variaciones (Méndez Lagunas et al., 2022).

El contenido fenólico total mostró un aumento proporcional a la concentración de BSG añadido (Figura 8A), indicando que T_{M12} presentó un 87.5 % más de compuestos fenólicos totales que T_{M0}. Este incremento puede atribuirse a los

compuestos fenólicos presentes en el BSG incorporado, el cual contiene 16 mg GAE/g de BSG (Olvera-Ortiz et al., 2024). Entre los compuestos fenólicos del BSG, los más abundantes son el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico (Naibaho & Korzeniowska, 2021). Los incrementos de TPC obtenidos en esta investigación son comparables con los reportados para tortillas fortificadas con polvo de cálices de jamaica (0.30 - 1.85 mg GAE/g) (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024). El mayor contenido de TPC en T_{M12} es consistente con la disminución en el grado de esponjado (Cuadro 10), ya que los polifenoles pueden afectar la capacidad de absorción de agua y modificar el esponjado del almidón al alterar el grado de expansión de la tortilla (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024); concentraciones más altas de polifenoles explican la mayor diferencia de color observada en este tratamiento (Cuadro 2), debido al incremento en la intensidad del color marrón (Kulbat-Warycha et al., 2024). De igual forma, el mayor contenido de TPC puede afectar la formación de la red de almidón gelatinizado, influyendo negativamente en algunas propiedades texturales (Cuadro 12).

El incremento en el TPC de las tortillas fortificadas con BSG es relevante, dado el interés creciente en los posibles beneficios para la salud y en la actividad antioxidante asociada con los diferentes ácidos fenólicos individuales.

La actividad antioxidante de las tortillas enriquecidas con diferentes concentraciones de BSG se determinó mediante los métodos DPPH• y ABTS•. Los resultados se muestran en la Figura 8B; la tortilla con 12 % de BSG (T_{M12}) presentó una actividad antioxidante 1.9 veces mayor frente al radical DPPH• y 6.4 veces mayor frente al radical ABTS•₊ (Figura 8B). Este incremento en la actividad antioxidante se asocia con el aumento en el contenido fenólico total (TPC) (Figura 4A) derivado de la incorporación del BSG. Sin embargo, el BSG es un subproducto que, además de polifenoles, contiene otros compuestos con actividad antioxidante, como las melanoidinas (1.40 ± 0.02 g melanoidinas/100 g BSG) (Olvera-Ortiz et al., 2024), las cuales pueden contribuir al aumento observado en la actividad antioxidante.

Numerosas investigaciones han documentado un aumento en la actividad antioxidante de las tortillas fortificadas, atribuible a la incorporación de ingredientes funcionales como el alga parda (*Macrocystis pyrifera*) (Pérez-Alva et al., 2022) y el polvo de cálices de jamaica (Mercado Mercado & Núñez-Gastélum, 2024).

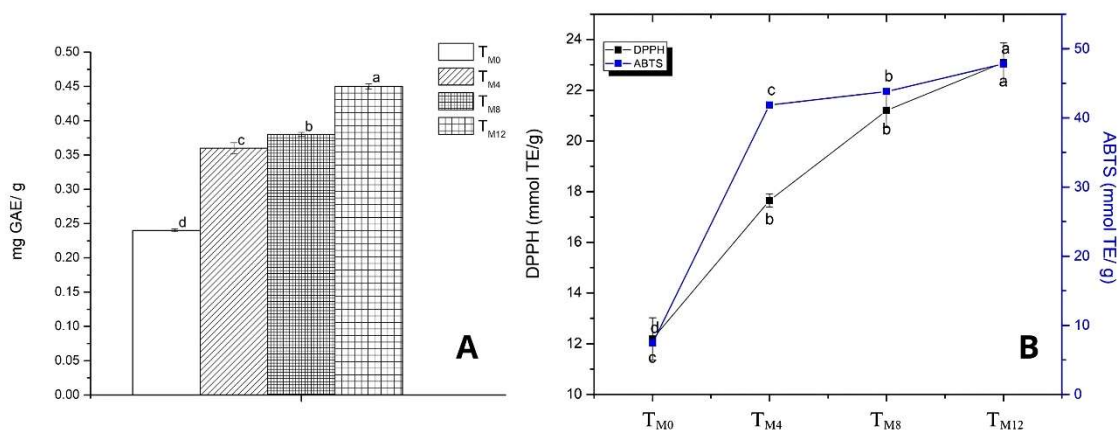


Figura 8. Contenido fenólico total (A) y actividad antioxidante (B) de tortillas con diferentes concentraciones de BSG. Las letras diferentes (a-d) indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

4.5 Microestructura de las tortillas

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido obtenidas a partir de las muestras de tortilla se muestran en la Figura 9. La tortilla control (A) presentó una destrucción de los gránulos de almidón, lo que provocó su fusión y la formación de una matriz de gránulos aglomerados en estructuras en forma de láminas y material agregado sin áreas definidas; este tipo de microestructura ha sido reportado previamente en tortillas comerciales (Calderón-Peralta et al., 2017). Debido a que existe menor cristalinidad de los gránulos de almidón presentes en esta microestructura, la tasa de hidrólisis del almidón aumenta (Cuadro 11), como consecuencia de la gelatinización parcial o total de los gránulos (Calderón-Peralta et al., 2017).

Las Figuras 9B y 9D muestran las micrográficas de tortillas fortificadas con 4 y 12 % de BSG, respectivamente. En ambas variantes de tortilla se observó una

gelatinización del almidón menos severa que en la tortilla control (Figura 9A). Este efecto podría atribuirse a la capacidad del BSG para retardar la retrogradación de la tortilla y disminuir la gelatinización del almidón. Sin embargo, en la Figura 9D, el tamaño de los gránulos de almidón y el espacio entre ellos fueron mayores que los observados en la Figura 9B. Esto podría explicar el contenido de almidón resistente presente en esta variante (Cuadro 11).

Por el contrario, en la variante T_{M8} (Figura 9C), la microestructura también reveló una gelatinización severa de los gránulos de almidón. No obstante, se detectaron numerosas partículas de superficie plana, posiblemente relacionadas con proteínas, fragmentos de testa, paredes celulares del endospermo y capa de aleurona (Prasopsunwattana et al., 2009). La microestructura diferenciada de T_{M8} con respecto a T_{M4} y T_{M12} podría estar asociada con las diferencias en la digestibilidad del almidón obtenidas en estas variantes y con la mayor dureza observada en las propiedades texturales.

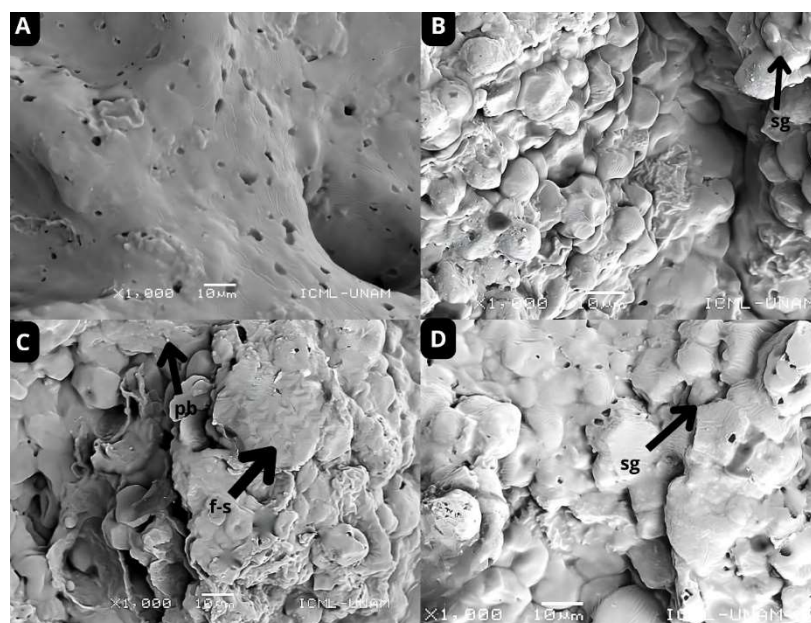


Figura 9. Microscopía electrónica de barrido (SEM) de variantes de tortillas. A: tortilla de control; B-D: tortillas con un 4, 8 y 12 % p/p de BSG incorporado, respectivamente. sg = gránulos de almidón, f-s = componentes de superficie plana, pb = cuerpos proteícos. Contenido fenólico total (A) y actividad antioxidante (B) de tortillas con diferentes concentraciones de BSG. Las letras diferentes (a-d) indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

4.6 Conclusiones

El propósito de este estudio fue determinar si la harina de BSG puede utilizarse como ingrediente funcional para fortificar tortillas de maíz. Se demostró que la fortificación con diferentes concentraciones de BSG durante el proceso de elaboración de las tortillas de maíz influyó en los parámetros físicos y de calidad de estas. Asimismo, la fortificación de las tortillas de maíz con harina de BSG modificó la composición química proximal, las propiedades texturales, antioxidantes, microestructurales y la percepción del consumidor. Las tortillas de maíz fortificadas con 12 % de BSG presentaron el mayor contenido total de polifenoles, lo que sustentó una actividad antioxidante frente a los radicales ABTS y DPPH. Estas tortillas mostraron los valores más altos de proteína, calcio, fibra cruda y almidón resistente. No obstante, las tortillas de maíz fortificadas con 4 % de BSG presentaron el mayor grado de esponjado, rolabilidad, resistencia a la tensión y el nivel más alto de aceptación por parte del panel sensorial.

Estos resultados subrayan el potencial del BSG tratado como ingrediente funcional en el proceso de elaboración de tortillas de maíz, dada su capacidad para mejorar la composición, las propiedades estructurales y funcionales de las tortillas, ampliando así su aplicación como un producto orientado a la salud del consumidor.

4.7 Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) (Beca de Doctorado N.º 1001766).

4.8 Referencias

Acevedo-Martinez KA, & Gonzalez de Mejia E (2021) Fortification of Maize Tortilla with an Optimized Chickpea Hydrolysate and Its Effect on DPPIV Inhibition Capacity and Physicochemical Characteristics. *Foods*. 10, 1835. <https://doi.org/10.3390/foods10081835>

American Association of Cereal Chemists. Approved Methods C (2000) *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*. AACC.

Buitimea-Cantúa, G V, & de la Rosa-Millán J (2018) Effect of sorghum bran incorporation on nutritional and functional properties of corn tortillas. *Journal of Cereal Science*, 82, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.06.010>

Calderón-Peralta C, Jiménez-Hernández J, Maldonado-Astudillo Y, Flores-Casamayor V, Arámbula-Villa G, & Salazar R (2017) Influence of Hymenaea courbaril gum as a new additive on nixtamalized flour properties and quality of tortilla. *Journal of food process engineering*, 40, 12525. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12525>

Contreras Jiménez B, Sánchez A. & Vélez C (2020). Nutritional, functional, and sensory properties of maize tortillas enriched with grasshopper flour. *Journal of Food Science and Technology*, 57(9), 3310–3319. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04134-4>

Cornejo-Villegas MA, Acosta-Osorio AA, Rojas-Molina I, Gutiérrez-Cortéz E, Quiroga MA, Gaytán M...Rodríguez-García ME (2010) Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. *Journal of Food Engineering*, 96, 401-409. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.08.014>

Cortes-Viguri V, Hernandez-Rodriguez L, Lobato-Calleros C, Cuevas-Bernardino JC, Hernandez-Rodriguez BE, Alvarez-Ramirez J, & Vernon-Carter EJ (2022) Annatto (Bixa orellana L.), a potential novel starch source: antioxidant, microstructural, functional, and digestibility properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 637-651. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01228-7>

Domínguez Zárate PA, García Martínez I, Güemes-Vera N, Totosa A, & Pássaro Carvalho CP (2019) Textura, color y aceptación sensorial de tortillas y pan producidos con harina de ramón (Brosimum alicastrum) para incrementar la fibra dietética total. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 20, 699-719. https://doi.org/10.21930/rcta.vol20_num3_art:1590

Dongmo H, Boungo G, Foffe H, Ndjang M, Saah B, Naim S,...Julie K (2024) Effect of Varietal Differences and Nixtamalization Conditions on the Textural, Rheological, and Nutritional Properties of Corn (Zea mays)-Based Masa Flour: Kassai and Atp-Y Corn Varieties. *Journal of food quality*, 1, 8858762. <https://doi.org/10.1155/2024/8858762>

García J, López R, & Rojas E (2025) Mineral bioavailability in maize tortillas fortified with agro-industrial by-products. *Food Chemistry*, 435, 137656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.137656>

García-Lorca J, Pineda R, & Vargas C (2025). Fortification of corn-based foods using broccoli by-products: Nutritional and sensory implications. *LWT - Food Science and Technology*, 194, 116676. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.116676>

Hassan A, Ibrahim S, & Omar H (2024) Quality characteristics of tortillas enriched with soybean flour. *Journal of Food Processing and Preservation*, 48(2), e16925. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16925>

Inyang U E, Oboh V, & Odu N (2019) Nutritional composition and functional properties of brewers' spent grain-enriched foods. *Food Science and Nutrition*, 7(1), 257–264. <https://doi.org/10.1002/fsn3.882>

Kulbat-Warycha K, Nawrocka A, & Miś A (2024) Consumer perception of color changes in fiber-enriched tortillas. *Journal of Texture Studies*, 55(2), 145–155. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12687>

Li C, Dhital S, & Gidley M J (2023) High-amylose wheat tortillas with reduced in vitro digestion and enhanced resistant starch content. *Food Hydrocolloids*, 137, 108321. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108321>

Mashau, M. E., Oguntuyinbo, F. A., & Babalola, O. O. (2020). Functional and sensory evaluation of Bambara groundnut-fortified maize tortillas. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2020/9835610>

Mercado Mercado G, & Núñez-Gastélum J (2024) Effect of roselle calyx powder on physical and functional properties of tortillas. *LWT - Food Science and Technology*, 189, 116340. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116340>

Messina V, Xu B, Khoddami A, & Roberts T (2024) Baked sorghum tortilla chips: effects of baking conditions on physicochemical properties. *International journal of food science and technology*, 59, 1605-1614. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16909>

Naibaho J, & Korzeniowska M (2021) The variability of physico-chemical properties of brewery spent grain from 8 different breweries. *Heliyon*, 7, 6583. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06583>

Naibaho J, Bobak Ł, Pudło A, Wojdyło A, Andayani S N, Pangestika L M W,...Yang B (2023) Chemical compositions, antioxidant activities and techno-functionality of spent grain treated by autoclave treatment: evaluation of water and temperature levels. *International Journal of Food Science & Technology*, 58, 2130-2140. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.16042>

Oh J, Lee Y, & Kim H (2025) Starch digestibility and glycemic response in fiber-fortified cereal foods. *Carbohydrate Polymers*, 325, 121314. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.121314>

Olvera-Ortiz A, Rojas E, & Pérez-Alva R (2024) Brewers' spent grain as a functional ingredient in bakery and tortilla products: Nutritional and antioxidant implications. *Food Research International*, 180, 113269. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113269>

Pérez-Alva R, Rojas E, & Olvera-Ortiz A (2022) Impact of seaweed and soybean flour incorporation on tortilla quality. *Journal of Cereal Science*, 104, 103419. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103419>

Prasopsunwattana N, Omary M, Arndt E, Cooke P, Flores R, Yokoyama W,...Lee S (2009) Particle Size Effects on the Quality of Flour Tortillas Enriched with Whole Grain Waxy Barley. *Cereal Chemistry*, 86, 439-451. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-4-0439>

Raigond P, Dutt S, & Singh B (2019) Resistant Starch in Food. In: Mérillon, JM., Ramawat, K.G. (eds) *Bioactive Molecules in Food*, Reference Series in Phytochemistry. Springer

Rojas-Molina R, Aguilar-Palazuelos E, & Gutiérrez-Dorado R (2020) Structural and nutritional properties of maize tortillas fortified with amaranth. *Food Hydrocolloids*, 104, 105731. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105731>

Rojo-Gutiérrez E, López-Martínez L, Tirado-Gallegos J, Buenrostro-Figueroa J, García H, & Baeza-Jiménez R (2025) Fortified Maize Tortilla: from the traditional Mesoamerican diet to functional food. *Biotechnia*, 27, e2269. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v27.2269>

Su X, Jin Q, Xu Y, Wang H, & Huang H (2024) Subcritical water treatment to modify insoluble dietary fibers from brewer's spent grain for improved functionality and gut fermentability. *Food Chem*, 435, e137654. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137654>

Topete-Betancourt A, Santiago-Ramos D, & Figueroa-Cárdenas J D (2020) Relaxation tests and textural properties of nixtamalized corn masa and their relationships with tortilla texture. *Food Bioscience*, 33, e100500. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100500>

Vernon-Carter E J, Alvarez-Ramirez J, Bello-Perez L A, Gonzalez M, Reyes I, & Alvarez-Poblano L (2020) Supplementing white maize masa with anthocyanins: Effects on masa rheology and on the in vitro digestibility and hardness of tortillas. *Journal of Cereal Science*, 91, e102883. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102883>

5. CONCLUSIONES GENERALES

El bagazo cervecero (BSG) constituye un subproducto agroindustrial de alta disponibilidad y contenido nutricional valioso, cuya revalorización puede contribuir significativamente a la sustentabilidad de este sector. En esta investigación, se demostró que la combinación de fermentación espontánea y tratamiento térmico representa una alternativa eficiente y de bajo costo para modificar la composición, funcionalidad y capacidad antioxidante del BSG, ampliando su uso como ingrediente funcional en la industria alimentaria.

El acondicionamiento del BSG mediante fermentación espontánea y tratamiento térmico a 95 °C promovió una mayor fracción de fibra soluble, generó un incremento en la capacidad de retención de agua y aceite, así como una mejora en la actividad antioxidante asociada tanto a la liberación de polifenoles como a la formación de melanoidinas. Estas transformaciones se reflejaron en propiedades tecnológicas mejoradas que ampliaron las posibilidades de incorporación del BSG en matrices alimentarias.

La fortificación de tortillas de maíz con BSG tratado evidenció un aumento significativo en proteína, calcio, fibra dietética, almidón resistente y polifenoles totales, lo que se tradujo en una mayor capacidad antioxidante. Sin embargo, niveles altos de incorporación (12 %) afectaron negativamente características físicas y sensoriales, mientras que la adición de 4 % mostró el mejor equilibrio entre calidad nutricional, textura y aceptación del consumidor. El análisis microestructural confirmó cambios en la red de almidón que influyeron en la digestibilidad y propiedades texturales del producto final.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran la viabilidad tecnológica y funcional del BSG tratado como ingrediente para la fortificación de tortilla de maíz, sin alterar su proceso tradicional de elaboración. Esta propuesta representa una estrategia sustentable y escalable que promueve la economía circular, reduce la generación de residuos cerveceros y ofrece una opción viable para enriquecer la dieta de la población mediante un alimento de consumo cotidiano.

Finalmente, la investigación consolida una base científica que respalda la incorporación controlada del BSG (4 %) en productos a base de maíz, contribuyendo a la innovación en alimentos funcionales, al aprovechamiento integral de subproductos agroindustriales y al fortalecimiento de prácticas productivas orientadas a la sostenibilidad y salud pública.

6. APÉNDICE

6.1 Artículo publicado

Journal of Food Measurement and Characterization
<https://doi.org/10.1007/s11694-024-03029-0>

ORIGINAL PAPER



Impact of spontaneous fermentation and heat treatment on the physicochemical, functional and antioxidant properties of BSG

Azucena Olvera-Ortiz¹ · Landy Hernández-Rodríguez² · Ofelia Sandoval-Castilla³ · Consuelo Lobato-Calleros² · Juan Carlos Cuevas-Bernardino⁴

Received: 2 May 2024 / Accepted: 25 November 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2024

Abstract

Brewers spent grain (BSG) is the main by-product in brewing, but due to its rapid decomposition it can become hazardous to the environment. It is a lignocellulosic by-product with a recalcitrant structure which must be modified to enhance its functionality; therefore, the objective of this study was to evaluate the impact of spontaneous fermentation and heat treatment on the physicochemical, functional, and antioxidant properties of BSG. Four treatments were evaluated: BSG without spontaneous fermentation and drying at 40 °C (BSG_{WEP40}), BSG with spontaneous fermentation and drying at 40 °C (BSG_{EP40}), BSG without spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C (BSG_{WEP95}) and BSG with spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C (BSG_{EP95}). The results demonstrated that spontaneous fermentation and heat treatment at 95 °C had a significant impact ($p \leq 0.05$) on the proximal chemical composition of the samples, with an increase in ethereal extract and a decrease in total carbohydrate content, as well as an improvement in water holding capacity, oil, and water solubility index. BSG_{WEP95} and BSG_{EP95} had the highest proportion of soluble to insoluble fiber, as well as the highest concentration of melanoidins and total polyphenols, which resulted in higher antioxidant activity against DPPH• and ABTS• radicals ($p \leq 0.05$). The browning index decreased, while the lightness increased, thereby improving the color of the BSG variants. Therefore, this combination of applied treatments improves the techno-functional properties of BSG and broadens the diversity of food products in which it can be incorporated.

Keywords Brewers' spent grain · Spontaneous fermentation · Thermal exposures · Functional properties · Agro-industrial byproduct