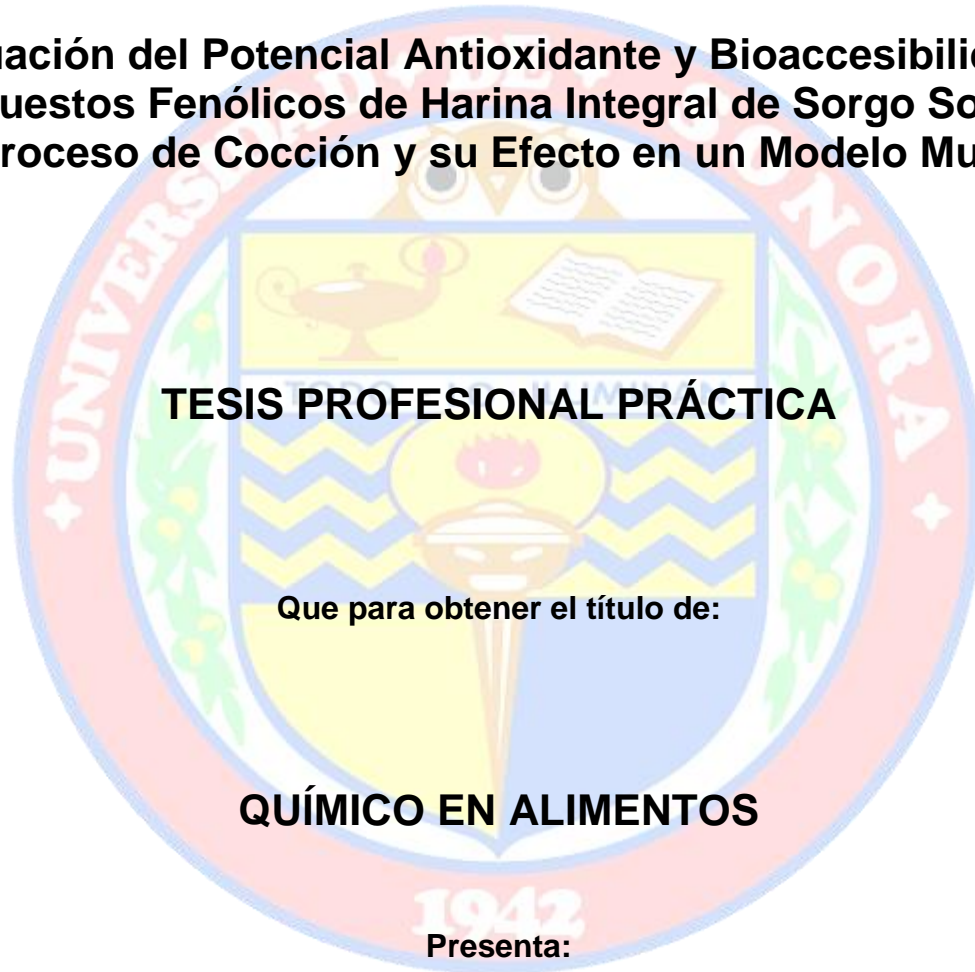


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Evaluación del Potencial Antioxidante y Bioaccesibilidad de
Compuestos Fenólicos de Harina Integral de Sorgo Sometida
a Proceso de Cocción y su Efecto en un Modelo Murino**



TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA

Que para obtener el título de:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

1942
Presenta:

Rafael Ruiz Moreno

Hermosillo, Sonora

Junio 2017

Repositorio Institucional UNISON



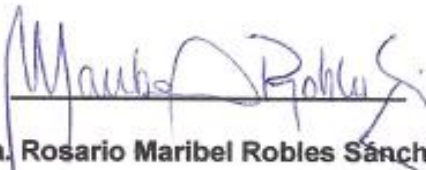
**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado designado para revisar la Tesis Profesional de Rafael Ruiz Moreno, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el Título de Químico en Alimentos.


Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez
Presidente


M.C Rosalina Ramírez Olivas
Secretario


M.C. Rafael Canett Romero
Vocal


Dr. Aldo Alejandro Arvizu Flores

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres Rafael y Rosa por motivarme en todo momento, por los valores morales que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de culminar mis estudios universitarios.

A mis hermanos, en especial a mi hermana Rosa y a mis primos, por ser parte importante de mi vida. A ustedes gracias por su paciencia y apoyo en este largo camino lleno de aprendizajes.

A mi familia en general, por ser un claro ejemplo de unidad y un soporte en mí vida, en especial a mi abuelo Rafael Moreno † por siempre haber creído en mí. A mi madrina Yolanda Ruiz por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida académica.

A la Universidad de Sonora por todo el conocimiento adquirido y las facilidades brindadas.

A mi comité de tesis Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez, M.C. Rosalina Ramírez olivas, M.C. Rafael Cannet Romero y Dr. Aldo Alejandro Arvizu Flores por sus muy buenas observaciones realizadas y sus sugerencias atinadas en este trabajo.

Al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) por su grandioso e invaluable apoyo en el desarrollo de este trabajo. A mis compañeros de laboratorio del equipo sorgo cDra. Norma Julieta Salazar López y pQA. José Luis Valenzuela Gutiérrez por su colaboración técnica.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	3
CONTENIDO.....	4
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMEN	8
OBJETIVOS	9
Objetivo General	9
Objetivos Específicos.....	9
INTRODUCCIÓN	10
REVISIÓN DE LITERATURA	12
Origen del Sorgo.....	12
Taxonomía.....	12
Principales Países Productores de Grano de Sorgo.....	13
Usos del Sorgo.....	13
Composición Química y Estructura Física del Grano de Sorgo	15
Compuestos Bioactivos del Sorgo	16
Compuestos Fenólicos.....	18
Bioaccesibilidad de Ácidos Hidroxicinámicos.....	20
Métodos Tecnológicos Aplicados para la Liberación de Ácidos Hidroxicinámicos	23
Procesos Químicos	23
Procesos Biológicos	24
Procesos Termo mecánicos.....	26
METODOLOGÍA.....	29
Proceso de Cocimiento	29
Obtención de Extractos Metanólicos (EM) y Alcalinos (EA).....	29
Determinación de Fenoles Totales.....	30
Determinación de Flavonoides Totales.....	31
Cuantificación de Ácidos Hidroxicinámicos por UHPLC	31
Evaluación de la Capacidad Antioxidante	31
Simulación de la Digestión Gastrointestinal in vitro	32
Determinación de Bioaccesibilidad de Compuestos Fenólicos.....	33

Estudio in vivo	33
Análisis Estadístico	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
Efecto del Proceso de Cocción sobre el Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales y Actividad Antioxidante.....	37
Ensayo de Simulación de Digestión in vitro	41
Estudio in vivo	46
CONCLUSIONES	52
RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1.	Composición química proximal del grano de sorgo.....	16
2.	Principales fitoquímicos que se encuentran en los cereales de mayor consumo.....	18
3.	Contenido de ácidos hidroxicinámicos en harina integral y salvado de sorgo blanco extraídos en metanol: agua (EM) y por hidrólisis alcalina (EA).....	20
4.	Pérdidas de ácidos hidroxicinámicos bajo condiciones ácidas y alcalinas.....	24
5.	Estudios recientes sobre cocción húmeda de sorgo y su efecto sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.....	27
6.	Composición porcentual de las dietas administradas a ratas.....	34
7.	Contenido de fenoles libres, ligados y fenoles totales (μg EAG/g). Flavonoides totales (μg EQ/g) en harina integral y cocinada de sorgo.....	37
8.	Contenido de ácidos hidroxicinámicos ($\mu\text{g}/\text{g}$) libres y ligados y proporción (%) con relación al contenido total de ácidos fenólicos totales (libres y ligados) en harina integral (HI) y cocinada (HIC) de sorgo.....	41
9.	Contenido bioaccesible de compuestos fenólicos totales (CFT), ácidos hidroxicinámicos (AHC) y ácidos fenólicos individuales presentes en los productos de la digestión intestinal <i>in vitro</i> de la harina integral (HI) y harina integral cocinada (HIC), y su bioaccesibilidad expresada como porcentaje.....	46
10.	Consumo de alimento, consumo de energía, ganancia en peso corporal y peso del tejido adiposo abdominal en grupos de ratas alimentados con dietas experimentales ^{1,2}	47
11.	Efecto del consumo de harina de sorgo (HI y HIC) sobre el perfil de lípidos y glucosa en suero de ratas con obesidad inducida.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Principales países productores de sorgo (2005-2015) (Millones de toneladas métricas)	14
2.	Principales países consumidores de sorgo, 2014/2015 (Miles de toneladas) consumo como forraje y destinado para consumo humano e industrial.....	14
3.	Estructura física del grano de sorgo.....	17
4.	Ruta biosintética de los ácidos hidroxicinámicos.....	21
5.	Disposición estructural del ácido ferúlico en arabinosilanos presentes en pared celular.....	22
6.	Diagrama general del procedimiento experimental.....	36
7.	Efecto del proceso de cocción en harina integral de sorgo sobre la actividad antioxidante: (a) DPPH y (b) TEAC en extractos metanólicos (EM) y alcalinos (EA).....	39
8.	Efectos de la digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> de harina de sorgo integral (HI) y harina integral cocinada (HIC) sobre el contenido de: (a) fenoles totales, (b) actividad antioxidante (DPPH) y (c) actividad antioxidante (TEAC).....	42
9.	Contenido de (a) ácido caféico, (b) ácido p-coumárico y (c) ácido ferúlico presentes en digestos de harina integral y harina integral cocinada obtenidos por digestión <i>in vitro</i>	45
10.	Actividad antioxidante en suero de ratas alimentadas con dieta basal (DB); dieta alta en grasa (DAG); dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral (DAG-HI) y dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral cocinada (DAG-HIC).....	50

RESUMEN

Diversos estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales han demostrado que la presencia de algunos componentes de la dieta como los ácidos fenólicos pueden ejercer un efecto protector en la prevención de enfermedades crónico degenerativas. El sorgo es un cereal prometedor para la producción de alimentos funcionales sin embargo la disposición estructural de los ácidos fenólicos presentes en la pared celular del grano limitan en gran medida su bioaccesibilidad y por tanto su biodisponibilidad. Lo anterior da lugar a la aplicación de tecnologías encaminadas al mejoramiento del potencial biológico de este cereal. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos de harina integral de sorgo sometida a proceso de cocción y su efecto sobre el perfil de lípidos, glucosa y actividad antioxidante en suero de ratas con obesidad inducida. En extractos metanólicos (EA) y alcalinos (EA) de harina integral de sorgo sin cocinar (HI) y cocinada (HIC) se evaluó el contenido de compuestos fenoles totales (CFT), actividad antioxidante y contenido de ácidos fenólicos los cuales se determinaron en un equipo de cromatografía líquida de alta presión (UHPLC-DAD). La bioaccesibilidad se determinó mediante un ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro*. El efecto del consumo de dietas suplementadas con harina integral de sorgo sometida a proceso de cocción se evaluó en un modelo murino. El proceso de cocción en la harina no impactó de manera significativa en el contenido de CFT ni actividad antioxidante, pero si en el contenido de ácido ferúlico en donde los resultados fueron más elevados respecto a la HI. La bioaccesibilidad del ácido ferúlico en la HI fue de 0.54% mientras que la de HIC fue de 0.78% lo que correspondió a un incremento del 31%. El estudio *in vivo* demostró que las dietas suplementadas con HIC tuvieron un efecto hipolipidémico e hipoglucémico en suero de ratas obesogénicas. Además de los parámetros anteriores, se observó una reducción en el índice aterogénico (IA) y un aumento en lipoproteínas de alta densidad (C-HDL). Con estos resultados es posible concluir que el consumo de HIC puede mejorar un status obesogénico en ratas dándose la posibilidad de que pueda ser utilizado como parte de una dieta saludable.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el potencial antioxidante y bioaccesibilidad de compuestos fenólicos de harina integral de sorgo sometida a proceso de cocción y su efecto sobre el perfil de lípidos, glucosa y actividad antioxidante en suero de ratas con obesidad inducida.

Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto del proceso de cocción en harina integral de sorgo sobre el contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante y ácidos hidroxicinámicos.
2. Evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos presentes en harina integral de sorgo cocinado en un sistema de digestión *in vitro*.
3. Evaluar el efecto del consumo de dietas suplementadas con harina integral de sorgo sometida a proceso de cocción, sobre el perfil de lípidos, glucosa y actividad antioxidante en suero de ratas con obesidad inducida.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la OMS anualmente un 63% de la población mundial muere a causa de las enfermedades crónicas tales como enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes entre otras. Dentro de los principales factores de riesgo que predisponen a estas enfermedades se puede mencionar a la hipertensión, la dislipidemia, la resistencia a la insulina, el tabaquismo, el sedentarismo y la obesidad. La prevalencia de la obesidad a avanzado a tal grado que, en 2014, el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso, y el 13% eran obesas (OMS, 2016). En México, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos ha alcanzado cifras hasta del 74% (ENSANUT, 2016).

La etiología de la obesidad es compleja e incluye tanto factores biológicos como ambientales, asociados a dietas altas en calorías y reducida actividad física. Se ha reportado que los consumos de dietas altas en grasa promueven el estrés oxidativo lo que conlleva a la generación de radicales libres quienes a su vez desencadenan reacciones de tipo inflamatorio. Por esta razón se menciona que la obesidad es un proceso de inflamación crónica de bajo grado.

Diversos estudios clínicos, experimentales y epidemiológicos han demostrado que la dieta puede ejercer un efecto benéfico en la reducción de la obesidad. Se ha demostrado que algunos componentes presentes en los alimentos como los compuestos fenólicos pueden ejercer algunas actividades biológicas como antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva entre otras, promoviendo así una reducción en el desarrollo de la obesidad (Larrosa y col., 2010; Vitaglione y col., 2008).

En los últimos años, los cereales han sido promovidos como parte de dietas saludables particularmente por su alto contenido de fibra dietaría (Pérez-Jiménez y col., 2009; Vitaglione y col., 2008). Sin embargo, existen otros componentes presentes en este grupo de alimentos como los ácidos fenólicos, los cuales se encuentran en altas concentraciones en cereales como el maíz, cebada, trigo y sorgo (Dykes y Rooney, 2006).

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) ocupa el quinto lugar en producción de cereales a nivel mundial (FAOSTAT, 2017). En países de bajos recursos económicos (subdesarrollados) el cultivo de este cereal se destina a consumo humano formando parte de la dieta básica de estas poblaciones.

Como todos los cereales el grano de sorgo está constituido por tres partes anatómicas: pericarpio, endospermo y germen. En el pericarpio que es la parte más externa del grano se encuentran en mayor concentración los compuestos fenólicos. Sin embargo, estos componentes se encuentran unidos a otras estructuras llamadas arabinóxilanos formando parte de la pared celular (Huisman y col., 2000). Estas uniones que se dan covalentemente por enlaces tipo éster, no permiten la digestión de los compuestos fenólicos ya que el tracto digestivo humano no posee las esterasas necesarias para liberarlos y consecuentemente ser absorbidos (Morales y col., 2013)

Algunos estudios realizados en trigo, maíz y cebada han demostrado que procedimientos como la reducción en el tamaño de partícula, la extrusión, y el remojo entre otros, han logrado mejorar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos (Acosta-Estrada y col., 2014). En sorgo, los trabajos de investigación en esta área han sido muy limitados, por lo que sería factible aplicar algunos de estos procedimientos, específicamente el proceso de cocción, y que este pudiera presentar resultados favorables en cuanto al incremento en contenido de fenoles en este cereal.

Por lo anteriormente expuesto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del proceso de cocción en harina integral de sorgo sobre el contenido de fenoles totales, la actividad antioxidante y su impacto sobre un modelo murino.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Sorgo

El origen del sorgo data desde tiempos antiguos, los primeros informes muestran que este cereal ya existía de manera silvestre en la India (siglo I d. C). Sin embargo, el sorgo quizás sea originario de África Central (Etiopía o Sudán), pues es allí donde se encuentra la mayor diversidad. El sorgo como cultivo doméstico llegó a Europa aproximadamente hacia el año 60 d. C. pero nunca se extendió mucho en este continente. No se sabe cuándo se introdujo la planta por primera vez en América. Las primeras semillas probablemente se llevaron al hemisferio Occidental en barcos de esclavos procedentes de África (InfoAgro, 2017).

Taxonomía

El sorgo (*sorghum* spp.) pertenece a la familia de la *Poaceae* o gramíneas oriundas de las regiones tropicales y subtropicales de África oriental. Se cultiva en su zona de origen, Europa, América y Asia como cereal para consumo humano y para consumo animal, en la producción de forrajes, así como también para la elaboración de bebidas alcohólicas. Su resistencia a la sequía y al calor permite su crecimiento en regiones áridas, y es uno de los cultivos alimentarios más importantes del mundo. Comprende 366 especies descritas y de estas, solo 31 han sido registradas (GRIN-global, 2015).

Reino	plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Sorghum</i>
Especie	<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench

Las gramíneas son una familia de plantas herbáceas pertenecientes al orden Poales de las monocotiledóneas. Las gramíneas son la cuarta familia con mayor riqueza de especies, pero definitivamente, es la primera en importancia económica mundial. De hecho, la mayor parte de la dieta de los seres humanos proviene de las gramíneas, dentro de esta familia se encuentran los cereales como el trigo, maíz, avena, cebada y el sorgo.

Principales Países Productores de Grano de Sorgo

En los últimos dos años la producción mundial de sorgo ha mostrado una tendencia hacia el aumento, con tasa de crecimiento media anual de 3.3% entre los ciclos 2011/12 y 2013/14. El crecimiento es debido en mayor medida, a incrementos en los rendimientos particularmente en países como los Estados Unidos, donde se aumentó la producción de este cereal de manera significativa (FIRA, 2015).

Entre los principales países productores de grano de sorgo, Estados Unidos se encuentra ocupando el primer lugar con el 19%, Nigeria con el 14 %, India con el 13% y México ocupando el 4° lugar con una producción del 10%. En total son 10 países productores los que conforman el 81% de la oferta mundial de producción del sorgo. Los otros países importantes son Sudán, Argentina, China, Australia, Etiopía y Burkina Faso, que conforman el 18% de la producción, el 1% lo aportan los Países Bajos (Figura 1) (FAOSTAT, 2016).

Usos del Sorgo

La mayor parte de la producción de sorgo es destinada como forraje para alimento balanceado para animales (80%) y para el consumo humano se destina solo el 20% (Figura 2). El sorgo forma parte de la dieta básica para muchas poblaciones africanas, ya que con este cereal se elaboran una gran variedad de productos fermentados (kishra, kefir), cocinados (porridge “atole”), horneados (tortillas, galletas) entre otros (Dlamini y col., 2007).

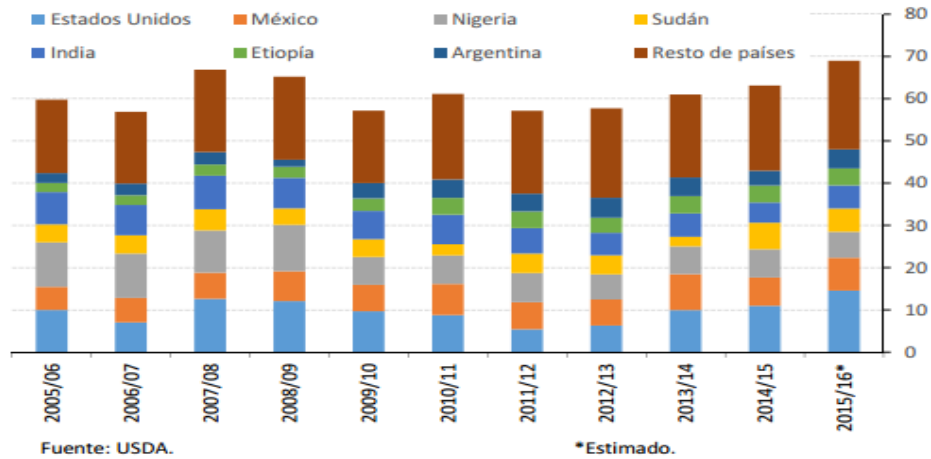


Figura 1. Principales países productores de sorgo (2005-2015) (Millones de toneladas métricas).

Fuente: FIRA, 2015.

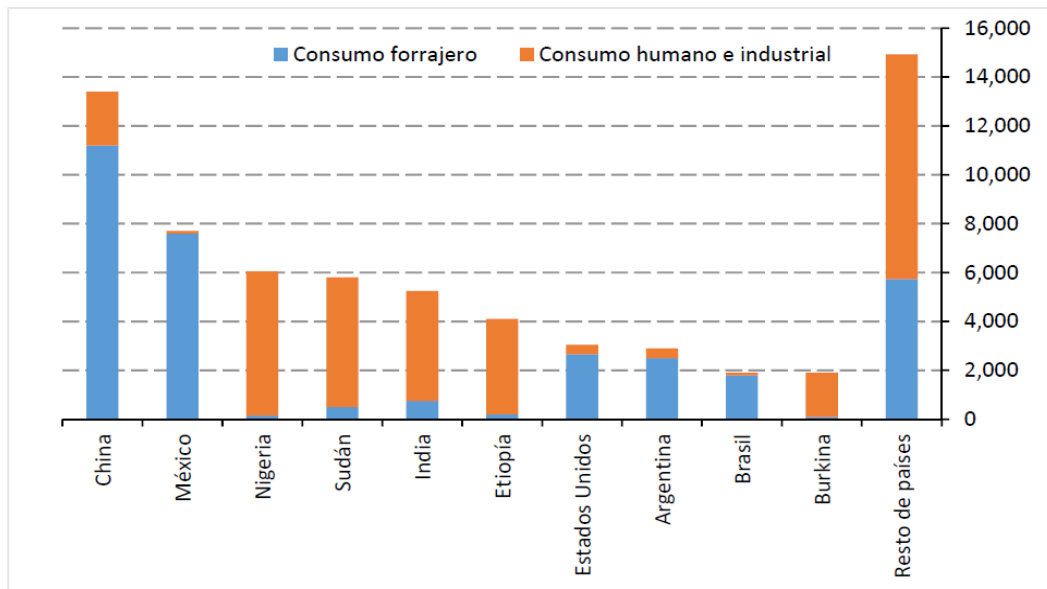


Figura 2. Principales países consumidores de sorgo, 2014/2015 (Miles de toneladas) consumo como forraje y destinado para consumo humano e industrial.

Fuente: FIRA, 2015.

La harina de sorgo es principalmente utilizada para la elaboración de galletas, pasteles, alfajores, waffles, magdalenas, panes dulces y pan de jengibre. Mientras que el aceite de sorgo es muy semejante al del maíz, contiene una mayor proporción de ácidos grasos tales como linoléico 49.0%, oléico 31.0%, palmítico 14.3%, linolénico 2.7% esteárico 2.1%, palmitoléico 1.0% (Awika y Rooney, 2004). El consumo en México es de alta demanda, en algunos lugares del país es usado con fines gastronómicos y medicinales. También el sorgo se ha utilizado para la elaboración de cerveza sin alcohol mediante un proceso de malteado. También se puede llevar a cabo la fermentación del sorgo para obtener alcohol etílico que puede ser empleado en la industria como disolvente, combustible y antiséptico de igual manera desde la antigüedad hasta el día de hoy el sorgo en grano también es parte importante la industria papelera (SAGARPA, 2015).

Composición Química y Estructura Física del Grano de Sorgo

El sorgo pertenece a la familia de las gramíneas, sus características anatómicas y composición química son muy similares a las del trigo, avena, cebada y particularmente el sorgo comparte mayor similitud con el maíz. La Tabla 1 muestra la composición química del sorgo, se puede observar que el componente mayoritario son los carbohidratos representando entre el 73.37 a 71.71% de la composición química proximal. El contenido de proteína en sorgo se encuentra en un rango muy similar al de los otros cereales como el maíz y trigo. Al igual que estos cereales, la proteína de sorgo se considera de baja digestibilidad, atribuida principalmente a su alto contenido del aminoácido prolina. Otra característica importante de destacar en relación a la proteína del sorgo, es que este cereal no tiene la capacidad de formación de gluten, como es el caso del trigo, lo que convierte al sorgo en una opción viable para enfermos celíacos.

El contenido de fibra dietaría, que oscila entre 2.58 -1.39% puede motivar al desarrollo de alimentos basados en sorgo dadas las propiedades hipoglucemiantes e hipocolesterolémicas que se le han atribuido a este componente. La composición química del sorgo puede ser muy variable dependiendo de varios factores como las prácticas agronómicas aplicadas para su cultivo, variedad de sorgo, tipo de testa (pigmentada o sin pigmentar) entre otros (Neucere y Sumrell, 1980). Finalmente, un menor porcentaje de la composición química del sorgo lo constituyen vitaminas, minerales y un grupo de compuestos denominado fitoquímicos los cuales se describirán en un apartado posterior.

Tabla 1. Composición química proximal del grano de sorgo

Composición química	Porcentaje (%)
Carbohidratos	71.71 - 73.37
Proteínas	9.75 - 14.32
Grasa	2.66 - 3.49
Fibra dietaría	2.58 - 1.39
Minerales	1.35 - 1.83

Fuente: Hwang y col., 2002.

En cuanto a la composición anatómica del grano de sorgo (Figura 3), es posible distinguir tres partes distintivas: (a) germen (9%) en el cual se concentran los componentes químicos que darán origen a la nueva planta, (b) endospermo (84%) constituido principalmente por almidón y proteína (c) pericarpio-testa (7%), comúnmente denominado salvado. A su vez, esta última capa se encuentra dividida en tres partes histológicas que son: epicarpio, mesocarpio y endocarpio (Hwang y col., 2002).

De acuerdo a Hwang y col. (2002), se ha establecido que en el pericarpio y la capa aleurona están concentrados la mayor parte de la fibra dietaría y compuestos bioactivos o también llamados fitoquímicos.

Compuestos Bioactivos del Sorgo

Los granos de cereales contienen una gran variedad de compuestos biológicamente activos, dentro de este grupo se pueden mencionar algunas vitaminas, fitoestrógenos, péptidos de bajo peso molecular, lignanos y compuestos fenólicos (Wang y col., 2014). Es conocido que una vez

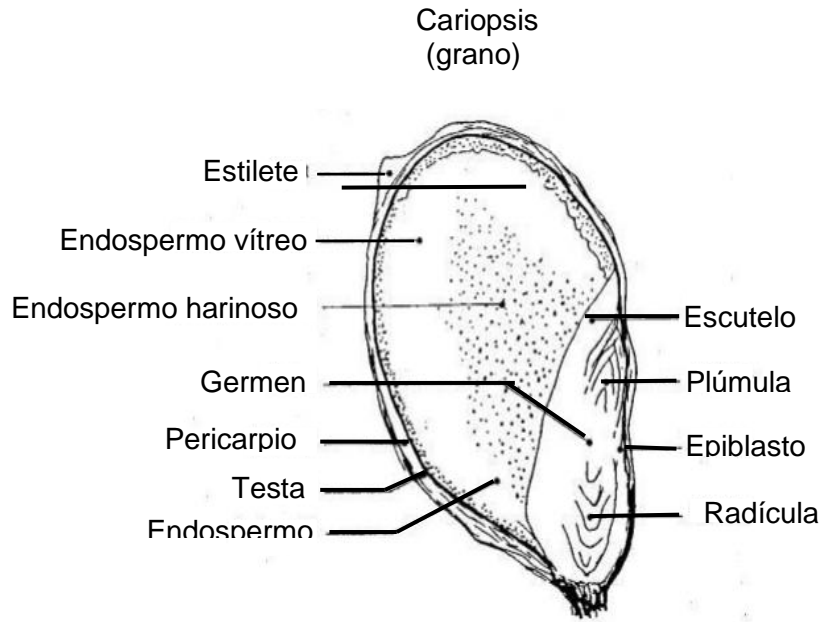


Figura 3. Estructura física del grano de sorgo

Fuente: Sautier y O'Deye, 1989.

que estos compuestos son absorbidos pueden ejercer diferentes efectos fisiológicos como antioxidantes, antihipertensivos, antitrombóticos, anticancerígenos entre otros, promoviendo de esta manera efectos benéficos a la salud (Kern y col., 2003).

Particularmente hablando de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, se sabe que el modo de acción este compuesto es a través de mecanismos de prevención de formación de radicales libres por encima de los valores normales, mecanismos de reparación o eliminación de biomoléculas dañadas por radicales libres o mecanismos secuestrantes mediante la eliminación o estabilización de radicales libres (Balasundram y col., 2006)

Los compuestos antioxidantes en el sorgo están concentrados en las capas más externas del grano (pericarpio-testa) (Awika y Rooney, 2004). Aun cuando la separación del endospermo del salvado asegura una mayor concentración de estos compuestos bioactivos, es deseable mantenerlos en la matriz integra (grano entero) debido a que así es como comúnmente se consume este cereal.

Varios estudios han reportado el potencial antioxidante del sorgo atribuido a los compuestos fenólicos, dentro de los cuales se pueden encontrar antocianidinas, quinonas,

flavonoles, flavonas, flavanonas y ácidos fenólicos. (Awika y Rooney, 2004; Fardet y col., 2008; Rice-Evans y col., 1996). Los ácidos fenólicos predominantes en cereales son ácidos caféico, ácido p-coumárico, ácido ferúlico y ácido sinápico, los cuales pueden encontrarse en concentraciones variables y de forma libre, ligada o conjugada (Tabla 2).

Tabla 2. Principales fitoquímicos que se encuentran en los cereales de mayor consumo

Cereales	Contenido fenólico total	Ácido ferúlico	Ácido p-coumárico	Ácido sinápico	Ácido vanílico
	EAG/kg	(mg/Kg)			
Trigo	350-1505	4.5-1270	0.2-37.2	1.3-63	0.6-35
Centeno	-	6-860	41	2-120	3-22
Avena	1223	359	-	55	17
Cebada	-	168-723	4-374	-	29.2-33.4
Maíz	2194-3010	380-1759	31	57	4.6
Sorgo blanco²	878.48	1400-2170	0-970	50-140	-

Fuente: Chiremba y col., 2012; N'Dri y col., 2013.

Al igual que su composición química, el potencial antioxidante en el sorgo se puede ver afectado por la variedad y condiciones agronómicas, pero además también por el tipo de procesamiento previo a su consumo, posibles interacciones que se puedan presentar entre los compuestos fenólicos, o bien con otros componentes de la matriz alimentaria.

Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias ubicuas en las plantas, su principal función es la de defensa contra factores bióticos y abióticos, se encuentran en variadas proporciones en alimentos como frutas, verduras y cereales, por lo tanto, su consumo diario puede también ser muy variable. Se ha reportado que el consumo de compuestos fenólicos derivados de cereales puede variar en un rango de 1 - 2 g/día Hervert-Hernández y col., (2011) realizaron un estudio en la población rural mexicana en el cual se encontró que en la ingesta diaria de una dieta

balanceada se encuentran alrededor de 800 mg de compuestos fenólicos. Por ese motivo se ha mencionado que estos compuestos son importantes para la prevención de enfermedades y se recomienda el consumo de antioxidantes de origen natural en la dieta humana.

Los compuestos fenólicos no son nutrientes, por lo que no se tiene un requerimiento nutricional diario establecido de tal manera que su ausencia (aunque de antemano no es posible eliminarlo de la dieta) o mínimas cantidades de consumo no provoca alguna enfermedad de tipo nutricional. No obstante, el consumo regular de alimentos conteniendo compuestos fenólicos sí puede jugar un importante papel preventivo en el desarrollo del cáncer y enfermedades del corazón entre otras enfermedades (Kähkönen y col., 1999).

El término compuestos fenólicos o “fenoles” comprende aproximadamente 8000 compuestos que se encuentran de manera natural. Todos poseen en común una característica estructural, un fenol (un anillo aromático teniendo al menos un sustituyente hidroxilo). Los ácidos fenólicos son una subclase de los compuestos fenólicos, que describe de manera general a fenoles que poseen una funcionalidad de ácido carboxílico (Robbins, 2003).

Bioquímicamente, se pueden describir a los ácidos fenólicos como metabolitos secundarios de las plantas derivados de diferentes rutas tales como la ruta de la pentosa-fosfato, ruta del ácido shikímico o la ruta de los fenilpropanoides (Randhir y col., 2004). Los ácidos fenólicos son derivados de los ácidos benzóico y cinámico, y se encuentran presentes en todos los cereales. Existen dos tipos de ácidos fenólicos: (1) hidroxibenzóicos (ácido gálico, *p*-hidroxibenzóico, protocatéico, vanílicico y siríngico; (2) hidroxicinámicos (caféico, *p*-coumárico, sinápico y ferúlico) y pueden encontrarse en forma libre, conjugada o ligada (Dykes y Rooney, 2006). Salazar López y col. (2016) evaluaron el contenido de ácidos fenólicos totales en harina integral y salvado de sorgo encontrando que en esta última fracción se concentraba más del 80% del contenido de fenoles respecto al contenido total, predominando el ácido ferúlico (Tabla 3).

En la Figura 4 se muestra la principal ruta biosintética de los ácidos hidroxicinámicos, así como su estructura. Diversos estudios han reportado que existe una relación entre actividad biológica y estructura, particularmente se menciona que la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos depende del número y posiciones de los grupos hidroxilo en relación al grupo carboxilo. Así pues, la actividad antioxidante de los ácidos fenólicos se incrementa con el aumento de la hidroxilación, como es el caso del ácido gálico que presenta en su estructura tres grupos hidroxilo y ha sido reportado como uno de los ácidos fenólicos con mayor potencial

antioxidante. Sin embargo, sustituciones de los grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 5 con grupos metoxilo, reduce notablemente la actividad antioxidante como es el caso de ácido siríngico.

Tabla 3. Contenido de ácidos hidroxicinámicos en harina integral y salvado de sorgo blanco extraídos en metanol: agua (EM) y por hidrólisis alcalina (EA).

	Ácido Caféico	Ácido p-Coumárico	Ácido Ferúlico	Ácido Sinápico
µg/ g				
EM				
Harina integral	10.2±1.0	18.1±1.8	12.2±0.2	2.1±0.0
Salvado	14.8±0.5	8.6±0.4	19.6±0.4	3.4±0.1
EA				
Harina integral	ND	38.7±0.2	679.6±12.3	ND
Salvado	ND	169.3±3.5	3036.0±87.5	ND

ND: no detectado

Fuente: Salazar López y col., 2016.

Por otra parte, los ácidos hidroxicinámicos exhiben mayor actividad antioxidante respecto a los hidroxibenzóicos y esto pudiera ser debido a la cercanía de la cadena conjugada con el grupo carboxilo (CH=CH-COOH), lo que asegura una mayor capacidad de donación de hidrogeno y estabilización del radical libre mucho mayor que la del grupo carboxilo en los ácidos hidroxibenzóicos (Rice-Evans y col., 1996). Lo anterior posibilita a los ácidos hidroxicinámicos a ejercer un efecto protector en la prevención y desarrollo de enfermedades asociadas a estrés oxidativo.

Bioaccesibilidad de Ácidos Hidroxicinámicos

Se ha reportado que los ácidos fenólicos libres y conjugados pueden ser rápidamente disponibles para absorción en el intestino delgado y grueso (Manach y col., 2004). Sin embargo,

los ácidos fenólicos ligados covalentemente a polisacáridos de la pared celular (arabinoxilanos) solamente pueden ser liberados por esterasas específicas (ferúlico esterasa) sintetizadas por la microbiota del intestino grueso (Chandrasekara y Shahidi, 2012; Mateo y col., 2009).

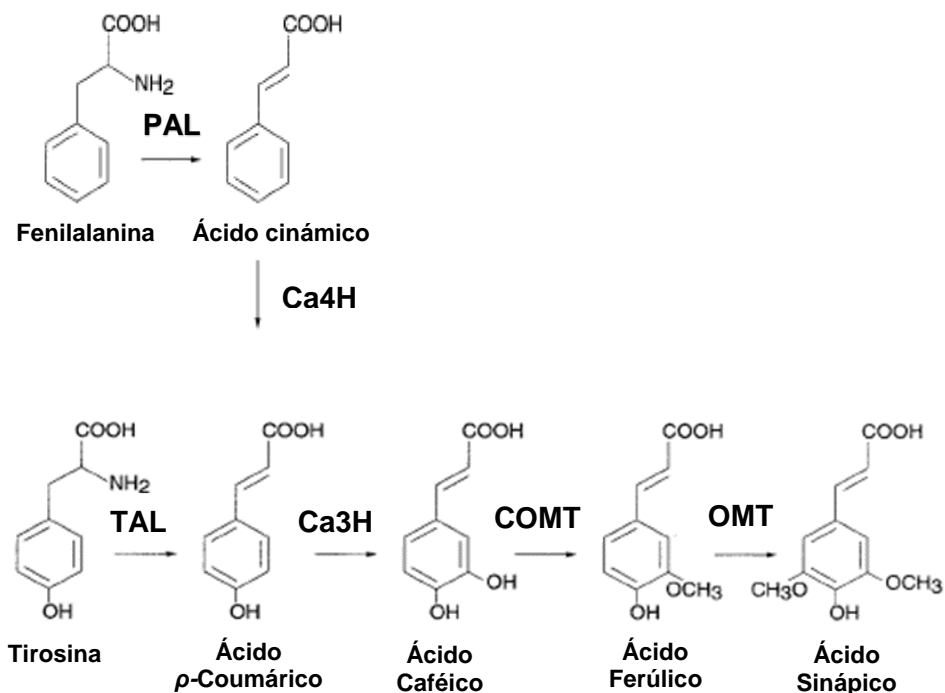


Figura 4. Ruta biosintética de los ácidos hidroxicinámicos. Enzimas indicadas en la ruta son: PAL, fenilalanina amonio liasa; TAL, tirosina amonio liasa, Ca4H, cinamato 4-hidroxilasa; Ca3H, cumarato 3-hidroxilasa; COMT, ácido cafeico O-metiltransferasa, O-metil-trasferasa.

Fuente: Rice Evans y col., 1996.

Los ácidos fenólicos ligados tienen muy baja biodisponibilidad debido a que la constitución de su matriz alimentaria (salvado) retrasa su acceso a las enzimas necesarias para la digestión y que contribuyen a su liberación en el tracto gastrointestinal (Laura y col., 2007; Zhao y col., 2003).

Específicamente se ha reportado que alrededor del 90% de los ácidos fenólicos presentes en salvado de sorgo se encuentran en forma ligada. De este porcentaje, una gran proporción corresponde al ácido ferúlico unido por enlaces éster a los arabinoxilanos, los cuales son polisacáridos no amiláceos constituidos por cadenas de xilosas β (1-4) substituidas por monómeros de arabinosa (α -(1 \rightarrow 3) o α -(1 \rightarrow 2) (Figura 5). Se llaman arabinoxilanos ferulados a los arabinoxilanos que tienen unidas moléculas de ácido ferúlico en posición 0-5 de la arabinosa por medio de un enlace éster (Morales y col., 2013).

Esta disposición estructural del ácido ferúlico limita en gran medida su bioaccesibilidad la cual se define como la cantidad del compuesto bioactivo que se encuentra disponible para ser absorbido.

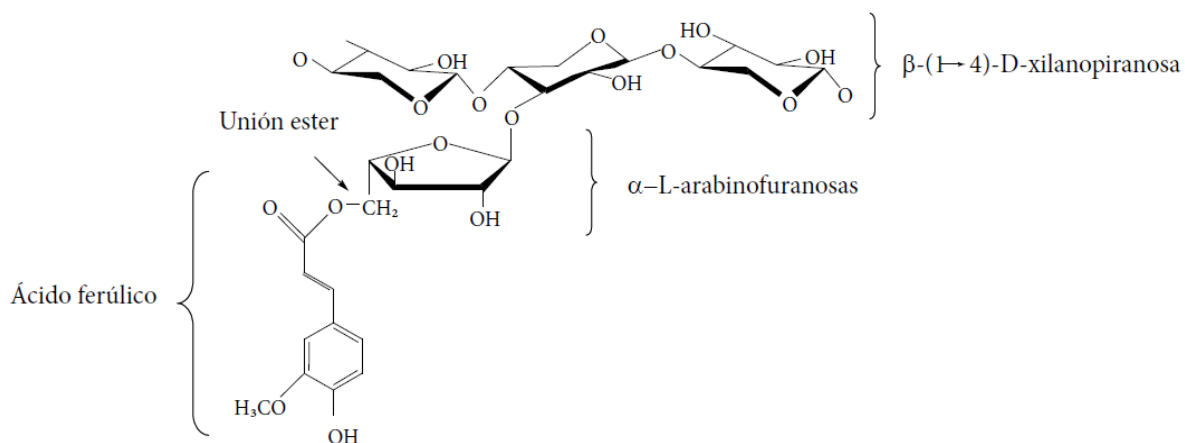


Figura 5. Disposición estructural del ácido ferúlico en arabinoxilano presente en la pared celular.

Fuente: Morales y col., 2013.

En el caso del sorgo el grado de substitución de arabinosas es mucho más elevado comparado con maíz o trigo, lo que hace que la matriz alimentaria se vuelva aún más compleja. Aunado a esta situación también se pueden encontrar sustituciones de ácido glucurónico, haciendo todavía más difícil el acceso a las enzimas digestivas y posterior liberación del ácido ferúlico (Morales y col., 2013). Se ha reconocido el efecto protector que brinda el ácido ferúlico que es liberado en la etapa de fermentación colónica, es decir aquel ácido que no pudo ser

liberado por las enzimas digestivas y es utilizado por la microflora del intestino grueso, no obstante, también ha sido motivo de gran interés el estudio de los efectos del ácido ferúlico posteriores a la absorción, una vez realizada la digestión intestinal.

La mayoría de los estudios de bioaccesibilidad de ácido ferúlico han sido realizados en salvado de trigo mediante ensayos de simulación de la digestión *in vitro*, los resultados han demostrado que con el uso de enzimas y proceso de fermentación de manera combinada se ha logrado incrementar la bioaccesibilidad del ácido ferúlico desde un 1% hasta un 5% (Mateo y col., 2009). Derivado del estudio anterior, se demostró que este incremento en la bioaccesibilidad del ácido ferúlico promovió cambios significativos en biomarcadores de inflamación en humanos (Mateo y col., 2011). De la misma manera Hemery y col., 2010 utilizaron la molienda en seco (dry-fractionation) a diferentes tamaños de partícula en salvado de trigo como una opción para incrementar el contenido de ácidos fenólicos bioaccesibles, reportaron que en los panes elaborados con salvado (molienda ultrafina) y en pan de grano entero el contenido de ácidos fenólicos fue más bioaccesible respecto al pan elaborado con harina blanca (100%).

Métodos Tecnológicos Aplicados para la Liberación de Ácidos Hidroxicinámicos

En la actualidad han sido muchos los estudios realizados sobre la evaluación de la bioaccesibilidad de los ácidos fenólicos y en particular el ácido ferúlico en cereales como el trigo, maíz y cebada, no obstante, en sorgo las investigaciones han sido muy limitadas. Salazar López y col. (2016) hicieron un estudio con salvado de sorgo extrudido y cocinado encontrando que el porcentaje de bioaccesibilidad fue de 0.96 % y 1 % respectivamente, valores más altos obtenidos para el salvado cocinado que para el salvado crudo (0.61 %). No existiendo reportes en la literatura de la bioaccesibilidad para la harina integral de sorgo.

Procesos Químicos

Comúnmente para cuantificar los ácidos fenólicos en el sorgo se llevan a cabo procesos químicos tales como, el método de hidrólisis alcalina y el método de hidrólisis ácida los cuales

pueden liberar a estos compuestos de la matriz alimenticia y posteriormente cuantificarlos (Krygier y Hogge, 1982).

En la Tabla 4 tomada de Krygier y Hogge (1982), se puede observar la pérdida que ocasionan ambos métodos cuando se someten a condiciones ácidas (HCl 1N, ebullición/30 min) y alcalinas (NaOH 2N, temperatura ambiente/4 h/N₂). Sin embargo, además de las pérdidas que se tienen bajo estas condiciones, ya se ha estudiado que los métodos ácido-alcalinos no son muy utilizados en la liberación de ácidos hidroxicinámicos en los alimentos ya que se requiere de reactivos químicos y la posible toxicidad limita su consumo.

Procesos Biológicos

El uso de enzimas para mejorar calidad y mejoramiento de harinas de cereales ha sido ampliamente utilizado en la industria de la panificación. En mejoramiento de contenido de fenoles e incremento de bioaccesibilidad, el uso de la enzima ferúlico esterasa ha sido de interés en diversos estudios.

Tabla 4. Pérdidas de ácidos hidroxicinámicos bajo condiciones ácidas y alcalinas.

Ácidos fenólicos	Pérdida (%)	
	Ácida	Alcalina
<i>o</i> -coumárico	15.1	7.5
<i>p</i> -coumárico	72.9	2.7
<i>Trans</i> -isoferúlico	50.3	2.7
<i>Trans</i> -ferulico	78.0	4.8
Caféico	87.3	66.7
<i>Trans</i> -sinápico	91.7	39.5

Fuente: Krygier y Hogge, 1982.

La enzima ferúlico esterasa es responsable de la liberación de ácidos fenólicos unidos a arabinoxilanos en las paredes celulares, esta enzima cataliza la hidrólisis del enlace éster entre los azúcares (arabinosa) y los ácidos hidroxicinámicos. La enzima ferúlico esterasa desempeña una función similar a la alcalinización en la ruptura del enlace éster y difiere en su especificidad hacia los ésteres metílicos de los ácidos cinámicos y los oligosacáridos ferulados (Mathew y Abraham, 2004; Shin y Chen, 2011). Huang y col., 2013 liberaron ácido ferúlico libre (310 μ M) a partir de lignocelulosa (salvado de trigo) utilizando una esterasa termoestable producida a partir de actinomicetos termofílicos para hidrolizar enlaces éster. Este aumento del ácido ferúlico incrementó la actividad antioxidante según se evaluó mediante los métodos DPPH y ABTS.

Shin y col. (2006) evaluaron la liberación de ácido ferúlico a partir de residuos de maíz por hidrólisis química y el uso de una mezcla de enzimas de *Spinosa neosartorya* NRRL185 (40°C, 24h); Dichos autores no informaron diferencias entre las concentraciones obtenidas por hidrólisis química e hidrólisis enzimática (0.318 y 0.32 mg / 10 mg de salvado, respectivamente). No obstante, el uso de enzimas ha mostrado resultados satisfactorios en relación al mejoramiento de la bioaccesibilidad de ácido ferúlico en cereales, su uso a escala industrial pudiera ser costoso y repercutir en el costo final del producto.

La fermentación es un proceso biológico que regularmente se utiliza para aumentar la digestibilidad de las proteínas del sorgo; Este proceso es ampliamente utilizado por poblaciones africanas para preparar un alimento tradicional comúnmente llamado gachas (Dlamini y col., 2007; Taylor y Taylor, 2002). Zaroug y col. (2014) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos en el sorgo con y sin tanino durante la fermentación (un producto conocido como ajin) y la fermentación en horno (un producto conocido como kiswa). Encontraron que en ambos cultivares y en sus diferentes tratamientos no se presentaba actividad antioxidante por el método de DPPH en el tiempo cero; sin embargo, la mayor actividad antioxidante se presentó en el producto kiswa en el tiempo de 32 h de fermentación.

Dlamini y col. (2007) estudiaron una masa fermentada elaborada a partir de diferentes variedades de sorgo para preparar un alimento tipo atole, y reportaron una disminución en el contenido total de fenoles y la capacidad antioxidante. Aparentemente, la variedad de sorgo, el tiempo de fermentación y posiblemente los inóculos empleados influyeron directamente en el contenido de compuestos fenólicos en los productos fermentados.

Procesos Termo mecánicos

Existen reportes de que el calentamiento por microondas daña a los arabinosilanos que se encuentran en los cereales. En maíz, el calentamiento con microondas (180 °C durante 10 min o 200 °C durante 2 min) puede causar la liberación de aproximadamente 50% del contenido de arabinosilanos como oligosacáridos ferulados con una amplia variedad de pesos moleculares y que contienen hasta 8 g de ferúlico esterificado / 100 g de arabinosilo-oligosacáridos (Rose y col., 2010). En el mismo estudio se observó que el calentamiento en húmedo por microondas (200 y 210 °C) liberó 70% de arabinosilanos insolubles y ferulados esterificados de salvado de trigo (30% del ácido ferúlico inicial).

La extrusión es un proceso termo mecánico relativamente nuevo, la temperatura de cocción, velocidad de tornillo, corte y de humedad son las principales variables que participan durante un proceso de extrusión. Se ha realizado algunos estudios con el fin de mejorar la accesibilidad de compuestos fenólicos en algunos cereales. Ti y col. (2014) reportaron un incremento de 12.6% en el contenido fenólico total de salvado de arroz después de la extrusión. Esto es consistente con los resultados de Zielinski y col. (2001), los cuales obtuvieron en su estudio un aumento del contenido de fenoles totales y ácidos hidroxicinámicos (principalmente ácidos ferúlico y coumárico) en la cebada, el arroz, la avena, el trigo y el sorgo después de la extrusión a temperaturas de 120, 160 y 200 ° C, con un 20% de humedad. Esto sugiere que el tratamiento térmico de los cereales puede causar la liberación de ácidos fenólicos de las paredes celulares, posiblemente atribuido a la modificación de la estructura de los arabinosilanos.

En el caso particular de algunos cereales que tienen una mayor dureza en sus capas exteriores (pericarpio) como lo es el sorgo, se requiere de una preparación previa para sus posteriores tratamientos. Una de estas preparaciones es la reducción del tamaño de partícula, en donde los granos enteros son sometidos a proceso de molienda mediante el cual se produce la harina integral, en la que todos los componentes mantienen sus proporciones originales. Este procedimiento altera la estructura física de los granos, aumentando su área superficial, lo que potencialmente aumenta la accesibilidad de sus constituyentes químicos, como los compuestos fenólicos quedando más disponibles para ser extraídos (Akillioglu y Karakaya, 2010; Jha y col., 2015).

La cocción en húmedo es un método tradicional utilizado en harina de sorgo, este proceso se caracteriza por hervir el cereal en suficiente agua durante períodos de tiempo variables (10-

25 min). N'Dri Denis y col. (2013) reportaron que la cocción de harina de sorgo durante 12 min causó pérdidas promedio de 48% y 44% en compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles, respectivamente. Esto es consistente con el trabajo reportado por Towo y col. (2006), que reportaron una pérdida promedio de 33% en el contenido de fenoles totales de sorgo después de hervirlo durante 10 min, en comparación con el sorgo no procesado. Hithamani y Srinivasan (2014) reportaron una pérdida media del 50% en el contenido total de compuestos fenólicos en sorgo después de someter el cereal a cocción húmeda bajo presión (15 psi, 15 min). La pérdida de compuestos fenólicos causada por la cocción húmeda puede reducirse si se cocina con cantidades mínimas de agua o si el agua se evapora completamente después de cocinar. Esto se observó en un estudio previo, en el que el sorgo se calentó con vapor de agua (200-220 °C) durante 20 min. Bajo estas condiciones, fue posible reducir la pérdida de compuestos fenólicos en comparación con la ebullición tradicional (100 °C) (Wu y col., 2013). Cardoso y col. (2014) se reportaron pérdidas comparables a las obtenidas por cocción al vapor debido a que el sorgo fue sometido a proceso de secado posterior al hervido. Con este método, sólo se perdió alrededor del 8% de su capacidad antioxidante. En la Tabla 5 se muestra un resumen de los principales resultados obtenidos a partir de procesos de cocción en sorgo.

Tabla 5. Estudios recientes sobre cocción húmeda de sorgo y su efecto sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante.

Tipo de sorgo	Proceso	Fenoles totales (%)	Actividad antioxidante (%)
Sorgo testa no pigmentada / grano entero ¹	Cocción a ebullición 100 °C /12 min		
	Fenoles solubles	↓48.6	↓75.9
Sorgo no pigmentada testa / grano entero ¹	Cocción a ebullición 100 °C/ 12 min	↓44.6	↓38.1
	Fenoles ligados		
Sorgo no pigmentada testa / grano entero ¹	Cocinar ebullición 100°C 12 min		
	Fenoles totales (libres + ligados)	↓45.2	↓51.7
Harina de sorgo rojo sin taninos (BRS 310 genotipo) ²	Cocinar en agua a 100 ° C 25 min / secado / molienda	↓27.6	↓10.6

Fuente: ¹N'Dri Denis y col., 2013; ²Cardoso y col., 2014.

Los procesos tecnológicos anteriormente descritos aplicados en sorgo muestran una gran variabilidad en relación a los efectos sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante. Los factores que pudieran contribuir a estos efectos pueden ser desde la variedad de sorgo utilizada, la matriz alimenticia (salvado o grano entero, grano decorticado) que implica un alto nivel de complejidad, los sistemas de extracción de fenoles entre otros factores. No obstante que se han logrado avances importantes en este aspecto, aún quedan muchas interrogantes en relación al comportamiento de los fenoles durante un proceso de digestión el cual puede ser evaluado tanto por procesos *in vitro* como *in vivo*. Este tipo de estudios pudieran marcar la pauta para el desarrollo de alimentos funcionales a base de sorgo.

METODOLOGÍA

Se usaron granos de sorgo bicolor (*Sorghum bicolor* L. Moench) variedad no pigmentada (UDG 110) proporcionado por Fundación Produce, Nayarit, México. La materia prima se trasladó al Laboratorio de Físicoquímica del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora y posteriormente fue almacenada en bolsas de polietileno de 20 kg a una temperatura de 8°C.

Previo al proceso de cocción, el grano de sorgo fue sometido a limpieza manual para eliminación de impurezas u objetos extraños y posteriormente el sorgo se sometió a molienda utilizando un molino Pulvex 200, hasta obtener un tamaño de partícula <0.5 mm. La harina obtenida se denominó harina de sorgo integral (HI) y fue almacenada a -20°C en bolsas de polietileno de 5 kg.

Proceso de Cocimiento

El proceso de cocción en la HI, se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Duodu y col. (2002); N'Dri Denis y col. (2013) con ligeras modificaciones. El proceso de cocción se llevó a cabo por triplicado, tres porciones de 300 g de HI fueron mezcladas con agua hirviendo (100°C) en una proporción 1:6 p/v, durante 30 min a temperatura constante. Posterior a este tiempo la muestra fue retirada y puesta en baño de hielo durante 5 min. Después de este tiempo, las muestras fueron colocada en charolas de aluminio y sometidas a proceso de secado en una estufa de convección forzada de aire a 100°C/24 hrs.

Las muestras secas denominadas HIC fueron homogenizadas y posteriormente se guardaron en bolsas de polietileno y almacenadas a -20°C hasta los análisis correspondientes.

Obtención de Extractos Metanólicos (EM) y Alcalinos (EA)

Para solubilizar los compuestos fenólicos libres presentes en las muestras de harina se procedió a la obtención de extractos metanólicos de acuerdo a lo propuesto por Salazar López y col. (2016). Brevemente, en tubos cónicos de 25 mL se pesaron 1 g de cada una de las

muestras (HI y HIC) a cada tubo le fueron añadidos 15 mL de metanol al 80%, los tubos fueron cerrados y sometidos a sonicación durante 1 h, posteriormente se centrifugó a $1.006 \times g$ durante 15 min. Este procedimiento se repitió dos veces; Los tres sobrenadantes se mezclaron y se filtraron utilizando papel de filtro Whatman No. 1. Los filtrados se evaporaron hasta sequedad a vacío a 35°C y se re suspendieron en 5 mL metanol al 50% para obtener una concentración final de 200 mg / mL.

Para la liberación de compuestos fenólicos ligados a la matriz alimentaria, se procedió a realizar una extracción alcalina. Se partió del residuo obtenido de la extracción metanólica, el cual previamente fue sometido a proceso de secado en estufa a 45°C . Posteriormente se tomaron 100 mg del residuo seco y se mezclaron con 5 mL de NaOH 2 N (desgasificado), se desplazó el aire en los tubos con nitrógeno por 30 s y sonicados por 5 h. Se ajustó el pH a un rango de 1.5-2.0 usando HCl 6 N. Enseguida se añadieron dos volúmenes de etil acetato (aprox 7 mL). Por separación de fases, se obtuvieron los compuestos liberados por la solución alcalina, para lo cual los tubos se agitaron de manera manual y después se centrifugaron a $1.006 \times g/15$ min); este proceso se repitió tres veces. Los sobrenadantes obtenidos fueron mezclados y concentrados hasta la sequedad a 40°C en un rotavapor y resuspendidos en 5 mL de metanol 50% (grado HPLC) (Guo y Beta, 2013). En ambos extractos se determinó contenido de fenoles totales, actividad antioxidante y contenido de ácidos hidroxycinámicos.

Determinación de Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos totales se cuantificaron con el reactivo de Folin-Ciocalteu siguiendo la metodología propuesta por Singleton y Rossi, (1965), con modificaciones para adaptar el ensayo a un lector de microplacas FluoStar Omega, (BMG Labtech Inc., Ortenberg, Alemania). Se mezclaron 30 μL de cada extracto (HI y HIC) con 150 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido previamente 1:10 con agua deionizada) en un pocillo de microplaca, añadiendo 120 μL de una solución de carbonato sódico (0.075 g/mL), la mezcla fue homogenizada y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 30 min. Los cambios en la absorbancia fueron monitoreados a 765 nm contra blanco reactivo. Para calcular la concentración de fenoles totales se elaboró una curva de calibración con ácido gálico como estándar (0.07-1.29 mg/mL). Los resultados se expresaron como μg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de muestra.

Determinación de Flavonoides Totales

Los flavonoides se extrajeron con NaNO_2 5%, AlCl_3 10% y NaOH 1M y estos fueron medidos espectrofotométricamente a 415 nm usando quercetina como estándar. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de quercetina (EQ) por g de muestra (Dae-Ok y col., 2003).

Cuantificación de Ácidos Hidroxicinámicos por UHPLC

Los ácidos hidroxicinámicos se identificaron y cuantificaron usando un sistema UHPLC (Agilent Technologies 1260, USA) con un detector de arreglo de diodos (UHPLC-DAD). La separación se llevó a cabo en una columna de resolución rápida Zorbax Eclipse Plus C18 (50 mm x 2,1 mm i.d.). Se utilizó un sistema disolvente de fase binaria correspondiendo la Fase A: ácido acético al 0.1% disuelto en agua; Fase B: ácido acético al 0.1% disuelto en metanol. El gradiente de separación fue como se indica a continuación: 0-11 min, 9 a 14% B; 11-15 min, 15% de B. El mismo gradiente permaneció por 3 min para equilibrar la columna. La temperatura de la columna se fijó a 30°C, el flujo fue de 0.7 mL/min y el detector se ajustó a 280 nm. Los resultados se expresaron en $\mu\text{g} / \text{g}$, de acuerdo a curvas de calibración de estándares de ácido caféico, ácido p -coumárico y ácido ferúlico a concentraciones de (1.5-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Salazar López y col., 2016).

Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox (TEAC por sus siglas en inglés).

El ensayo se basa en la capacidad de las moléculas antioxidantes para eliminar el radical catiónico $\text{ABTS}^{\bullet+}$, lo que produce un cambio en su coloración que puede cuantificarse espectrofotométricamente (Mercado-Mercado y col., 2015). Se preparó una solución madre estable de ABTS mezclando 5 mL de una solución acuosa de ABTS (7 mM) con 0.088 mL de persulfato sódico (148 mM), y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 - 18 h. La solución de trabajo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se preparó inmediatamente antes de su uso por dilución de la solución madre en etanol (~ 1: 88, v/v), y su absorbancia se ajustó a 0.7 ± 0.02 a 734 nm. En una celda de reacción fueron mezclados 280 μL de la solución de trabajo con 10 μL de cada

uno de los extractos y se dejó reaccionar durante 5 min. Los cambios en la absorbancia fueron monitoreados en un lector microplaca y registrados como actividad secuestrante de radical ABTS. Los resultados se expresaron como μmol equivalentes Trolox (ET) por g de muestra, para lo cual se utilizó una curva de Trolox.

Ensayo DPPH. El ensayo DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidrazil) se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Robles-Sánchez y col. (2009). El ensayo se basa en la capacidad secuestrante del radical DPPH, lo cual se manifiesta en un cambio en la absorbancia a 515 nm. En una celda de reacción fueron mezclados 280 μL de una solución metanólica de DPPH (0.025 mg/mL) con 20 μL de cada uno de los extractos y se dejó reaccionar durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Después del período de incubación, los cambios en la absorbancia fueron monitoreados en un lector microplaca y registrados como actividad secuestrante de radical DPPH. Para expresar los resultados como μmol ET/ g de muestra fue necesario preparar una curva estándar utilizando Trolox como estándar de referencia.

Simulación de la Digestión Gastrointestinal *in vitro*

En este estudio, la simulación de la digestión incluyó tres procesos digestivos (boca, estómago e intestino delgado). Para determinar si los procesos de cocción aplicado en la harina de sorgo mejoran la cantidad de ácidos hidroxicinámicos solubles potencialmente disponibles para una mayor absorción (bioaccesibilidad), se llevaron a cabo experimentos individuales de digestión *in vitro* siguiendo los protocolos empleados por Campos-Vega y col. (2015); Velderrain-Rodríguez y col. (2016), con ligeras modificaciones. El ensayo se realizó de la manera siguiente: para la fase de digestión en boca, tres voluntarios aparentemente saludables y en ayunas masticaron 15 veces durante ~ 15 s por separado 1 g de harina integral y 1 g de harina integral cocinada. Los sujetos expulsaron el sorgo masticado y se lavaron la boca dos veces con 5 ml de agua durante 60 s y expulsaron el líquido. Los dos líquidos y el sorgo masticado se mezclaron y se llevaron a fase de digestión gástrica (estómago) añadiendo buffer HCl-KCl 0.2 M, se ajustó el pH a 1.5 y se añadió pepsina incubándose durante 1 h a 37 °C en un baño de agua con agitación constante. Los productos digeridos de la fase gástrica se mezclaron con buffer de fosfato (0.1 M, pH 7.5) y se ajustó el pH de la suspensión para la simulación intestinal. Se añadieron pancreatina y sales biliares y la mezcla se incubó durante 6 h a 37 °C en un baño de agua con agitación constante. Además, junto con las muestras anteriores se preparó un blanco

reactivo siguiendo las mismas condiciones de la digestión, pero sin muestra. Finalmente, los productos de las tres fases de digestión (boca, estómago e intestino) fueron centrifugados durante 10 min a 700 x g a 4 °C, el sobrenadante fue separado y liofilizado. El liofilizado se disolvió en metanol al 50% y posteriormente la solución fue filtrada (Econofltr NylIn 0.25 mm 0.45 µm) para el posterior análisis de fenoles totales, actividad antioxidante y ácidos hidroxicinámicos mediante las técnicas descritas anteriormente.

Determinación de Bioaccesibilidad de Compuestos Fenólicos

La bioaccesibilidad de compuestos fenólicos totales (CFT), ácidos hidroxicinámicos totales (AHC) y ácido hidroxicinámicos individuales (ácido caféico, ácido, p-coumárico y ácido ferúlico) se calculó como la cantidad total de cada una de estos componentes recuperados en los productos de digestión intestinal en relación con la cantidad total reportada por análisis químico en cada una de las harinas de sorgo estudiadas. La bioaccesibilidad se expresó en porcentaje (% B).

Estudio *in vivo*

Para la realización del bioensayo se siguieron los procedimientos de ética para el manejo de animales de laboratorio. Se utilizaron ratas machos Wistar de 250±5 g de peso. Las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas de acero inoxidable y mantenidas bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad. Previo al inicio del estudio las ratas fueron sometidas a un periodo de adaptación a la dieta y a la jaula. Posteriormente se inició con la administración de las dietas prueba. Se formaron cuatro grupos de cinco ratas cada uno, a los cuales se les administraron las siguientes dietas: (1) dieta basal (DB), (2) DB + dieta alta en grasa para inducción de obesidad (DAG), (3) DB+DAG+ 18% de harina integral (DAG-HI), (4) DB+DAG+ 185 de harina integral cocinada (DAG-HIC). La dieta de inducción de obesidad se formuló de acuerdo a lo propuesto por Terra y col. (2011) con algunas modificaciones.

En la Tabla 6, se muestra la composición porcentual de las dietas. El ensayo tuvo una duración de ocho semanas y durante este tiempo fue monitoreado el peso y consumo de alimento. Al término del experimento las ratas fueron anestesiadas por inhalación con dietil éter, y posteriormente por punción cardiaca se extrajo muestra sanguínea en tubos no heparinizados. Para la obtención del suero, las muestras de sangre fueron centrifugadas (1.006 x g por 15 min) y posteriormente se determinó el perfil de lípidos (CT, TG, C-LDL y C-HDL) y glucosa de acuerdo a los procedimientos descritos por el proveedor (RANDOX Lab). Asimismo, se evaluó la actividad antioxidante (TEAC) de acuerdo a lo propuesto por Robles Sánchez y col., (2009). Además, se registró el peso del tejido graso abdominal (PTA) e índice aterogénico (IA) el cual fue calculado como sigue: $CT - C-HDL / C-HDL$ (Muruganandan y col., 2005).

Tabla 6. Composición porcentual de las dietas administradas a ratas^{1,2}

Ingrediente	DB	DAG	DAG-HI	DAG-HIC
	%			
Caseína	20.0	20.0	20.0	20.0
Manteca de cerdo	1.9	31.6	31.6	31.6
Aceite	2.4	3.2	3.2	3.2
Almidón de maíz	50.1	0.0	0.0	0.0
Maltodextrina	11.9	18.5	1.1	1.1
Azúcar	0.0	12.9	12.9	12.9
Metionina	1.8	1.8	1.8	1.8
Colina	2.5	2.5	2.5	2.5
Celulosa	5.0	5.0	4.4	4.4
Vitaminas	1.0	1.0	1.0	1.0
Minerales	3.5	3.5	3.5	3.5
Sorgo (HI)	0.0	0.0	18.0	0
Sorgo (HIC)	0.0	0.0	0.0	18.0

¹La cantidad añadida de manteca de cerdo, aceite, maltodextrina y azúcar a las DAG fueron sustituidas por el almidón. ² Para el ajuste del 5% de celulosa a las dietas fue necesario la adición de 18% de HI o HIC lo con lo cual se aporta a la dieta un 0.6% de celulosa.

Para una mejor comprensión de la metodología seguida en este estudio, se presenta la Figura 6, en donde se describen los ensayos químicos y biológicos que se aplicaron en las muestras de harina de sorgo.

Análisis Estadístico

Las muestras se realizaron por triplicado y los resultados se analizaron por ANOVA, se obtuvieron las medias \pm desviaciones estándar. Se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey y se establecieron diferencias significativas entre las medias de los tratamientos a un nivel de significancia de $p < 0,05$ usando el software estadístico JMP 5.0.1 (USA, SAS Institute, Inc.)

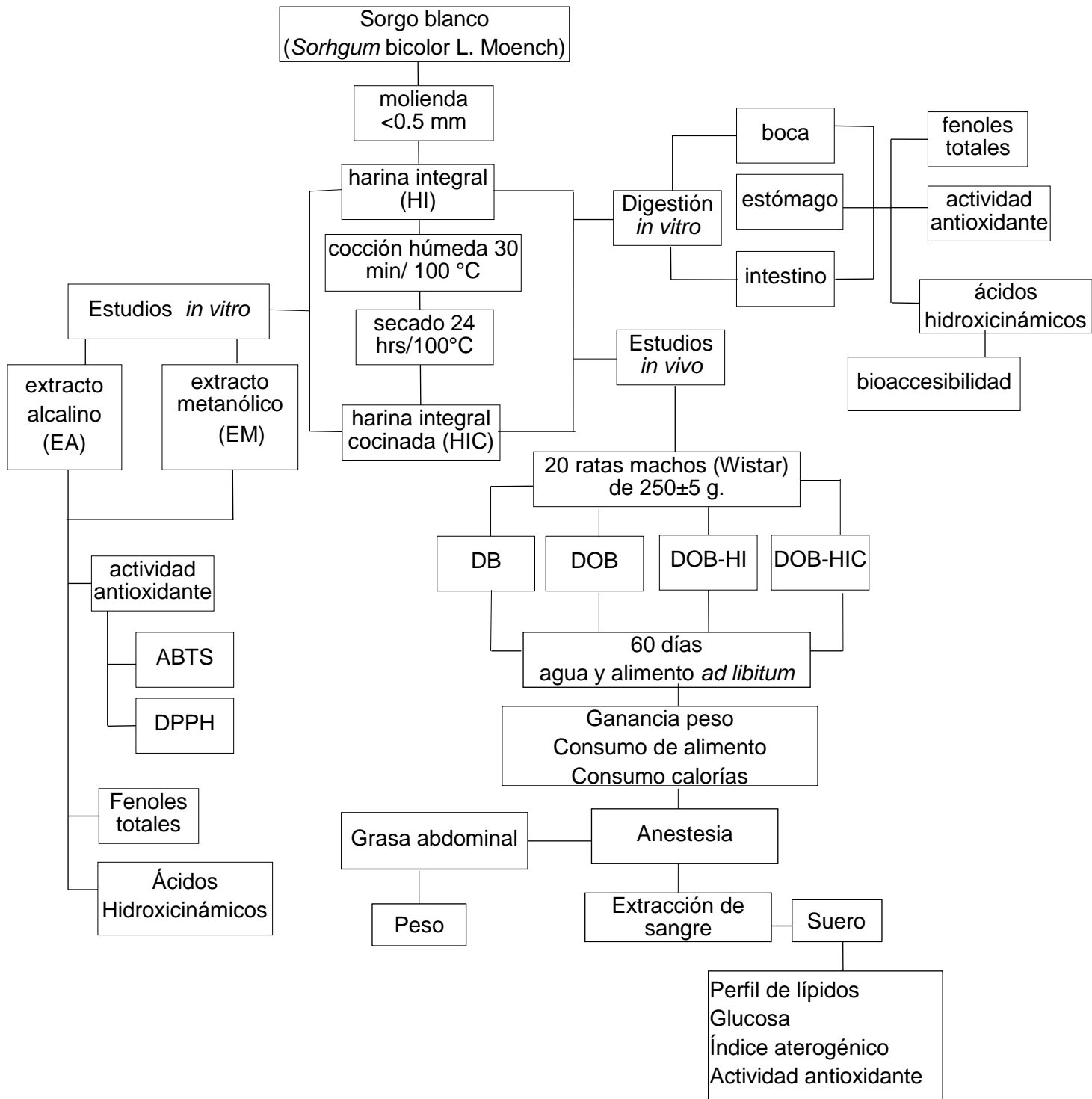


Figura 6. Diagrama general que se siguió para el presente estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del Proceso de Cocción sobre el Contenido de Fenoles y Flavonoides Totales y Actividad Antioxidante

En la Tabla 7 se muestra el contenido de fenoles totales (libres y ligados) de las fracciones metanólicas y alcalinas obtenidas a partir de la HI y HIC. Se encontró que el mayor porcentaje de fenoles totales se encuentra de manera ligada tanto para harina sin procesar como la cocinada correspondiendo el 80% del total de fenoles para esta fracción en ambas muestras. Los presentes resultados vienen a confirmar lo que ha sido reportado en otros estudios (Awika y Rooney, 2004; Cardoso y col., 2014; Chiremba y col., 2012; N'Dri y col., 2013), en donde mencionan que en cereales algunos compuestos fenólicos pueden estar ligados covalentemente a la pared celular del grano (pericarpio).

Tabla 7. Contenido de fenoles libres, ligados, fenoles totales y flavonoides totales en harina integral (HI) y cocinada (HIC) de sorgo^{1,2,3,4}

Harina	Fenoles Libres	Fenoles Ligados	Fenoles Totales	Flavonoides
				µg EQ/g
HI	515.93±36.7 ^a	2187.09±127 ^a	2703.02±163.7 ^a	0.526±0.01 ^b
HIC	491.97±16.1 ^a	2056.16±150.1 ^b	2548.13±166.3 ^a	0.610±0.06 ^a

¹Los compuestos fenólicos fueron expresados como µg equivalentes de ácido gálico (µg EAG/g); Los flavonoides fueron expresados como µg equivalentes de quercetina (µg EQ/g).

²Los valores corresponden al promedio de tres repeticiones (media±desviación estándar).

³Valores con letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencia significativa $p < 0.05$.

⁴Fenoles libres fueron extraídos con metanol 80%; fenoles ligados fueron extraídos mediante una hidrólisis alcalina; fenoles totales (fenoles libres + fenoles ligados).

En la misma tabla, es posible observar que el proceso de cocción en la harina no modificó el contenido de fenoles libres con relación a la harina sin procesar ($p > 0.05$) manteniéndose

valores similares entre ambas muestras. Con relación a los fenoles ligados se observó que estos se disminuyeron significativamente en las muestras de harina cocinada con relación a la muestra sin procesar en términos de porcentaje esta reducción fue de alrededor del 6%. Por otra parte, el contenido de flavonoides se incrementó en las muestras sometidas a proceso de cocción lográndose un incremento de estos compuestos de alrededor del 14% con respecto a la harina integral sin cocinar.

Se han realizado algunos estudios sobre mejoramiento de contenido de fenoles en sorgo por medio de procesos de cocción, sin embargo, los resultados no han sido del todo satisfactorios. N'Dri Denis y col. (2013) obtuvieron una disminución del 48% de los fenoles totales, mientras que Cardoso y col. (2014) reportaron una disminución 27.6%, en ambos estudios la cocción fue en medio húmedo y por un tiempo de 12 min y 25 min respectivamente. Es importante resaltar que para el caso de nuestro estudio el proceso de cocción en las harinas si bien no se mejoró el contenido de fenoles libres tampoco se disminuyeron como lo reportado en otros estudios.

Una reducción en el contenido de fenoles ligados en la harina cocinada respecto a la no cocinada puede significar que el proceso de cocción promovió la liberación y/o degradación de compuestos fenólicos (~130 µg EAG/g), asumiendo que se pudo haber presentado la liberación de fenoles, esta liberación debió de haberse reflejado en un incremento en el contenido de fenoles libres, situación que no se presentó al mantenerse esta fracción sin cambios significativos. Pueden plantearse para este hecho algunas explicaciones: primeramente el proceso de cocción pudo haber liberado fenoles que estaban ligados por diferentes efectos: 1) liberación de fenoles que estaban unidos a la matriz alimentaria por fuerzas electrostáticas, iónicas o puentes de hidrógeno; 2) liberación de fenoles que estaban conjugados (unidos a azúcares) y 3) el proceso de cocción haya modificado la pared celular (arabinoxilanos) de tal manera que se formaron cadenas más cortas de estas estructuras (olímeros ferulados) que dieron lugar a una mayor eficiencia en la extracción de los compuestos fenólicos presentes en la matriz alimentaria.

Una posible explicación de porqué estos fenoles liberados no se cuantificaron en la fracción de fenoles libres en la harina cocinada, pudiera ser que el proceso de cocción haya dado lugar a que se establecieran otras interacciones de los fenoles liberados con otros constituyentes de la matriz alimenticia (almidón, proteínas, lípidos, etc.), esta situación pudo haber disminuido la extractabilidad de los compuestos fenólicos.

Por otro lado, es posible considerar que el proceso de extracción con soluciones alcalinas, pueden promover la pérdida de compuestos fenólicos tal como ha sido estudiado por Krygier y Hogge, (1982), en donde ha reportado pérdidas de ácidos fenólicos de hasta el 66%.

El contenido de fenoles en matrices alimenticias regularmente correlaciona bien con la actividad antioxidante, en nuestro estudio la actividad antioxidante fue evaluada mediante los ensayos de DPPH y TEAC en la harina sin procesar y cocinada (Figura 7).

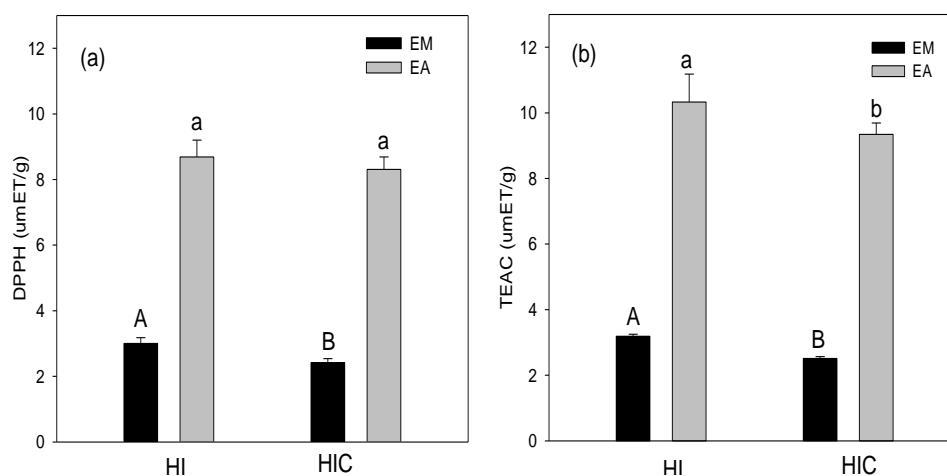


Figura 7. Efecto del proceso de cocción en harina integral de sorgo sobre la actividad antioxidante: (a) DPPH y (b) TEAC en extractos metanólicos (EM) y alcalinos (EA). Los valores corresponden al promedio de tres repeticiones (media±desviación estándar). Letras mayúsculas sobre las barras indican diferencias significativas entre las harinas de EM. Letras minúsculas sobre las barras indican diferencias estadísticas entre las harinas de EA ($p < 0.05$).

Se observó que en la fracción alcalina la actividad antioxidante medida por ambos ensayos fue mayor que la obtenida para la fracción metanólica tanto para la harina integral como para la cocinada. Para el ensayo de DPPH en esta fracción no se observaron diferencias significativas entre las muestras evaluadas, en cambio para el ensayo de TEAC la mayor

actividad antioxidante en la fracción alcalina fue para la HI (+9%) comparada con la HIC. Para la fracción metanólica el comportamiento de la actividad antioxidante medida también por los ensayos de DPPH y TEAC se observó un comportamiento consistente con el contenido de fenoles libres, es decir a menor contenido de fenoles libres menor actividad antioxidante.

El ensayo de TEAC se fundamenta en la capacidad de estabilización del radical ABTS atribuido a los compuestos antioxidantes presentes en una muestra, esta capacidad de estabilización se refleja en una pérdida de la absorbancia la cual se registra a 734 nm, de tal manera que a mayor pérdida de absorbancia mayor actividad antioxidante de la muestra. Cardoso y col. (2014); N'Dri Denis y col. (2013) obtuvieron cambios significativos para esta determinación lo cual puede deberse a que ellos utilizaron métodos diferentes de extracción por ejemplo Cardoso y col. (2014) llevaron a cabo una extracción con solventes de diferentes polaridades y variando el tiempo con respecto al tipo de solvente utilizado (1 a 8 h). N'Dri Denis y col., 2013 llevaron a cabo la extracción con etanol: agua obteniéndose también cambios significativos en la actividad antioxidante. También puede deberse al método utilizado autores en el proceso de cocción en húmedo del sorgo y las variedades utilizadas de este.

En otro estudio, Awika y Rooney (2004) evaluaron actividad antioxidante en sorgo blanco medida como TEAC, en donde obtuvieron valores más altos que los reportados para nuestro estudio. En este caso también se puede explicar que el método de extracción y variedad de sorgo pudieron contribuir a una mayor actividad antioxidante.

En cereales como el sorgo, los ácidos hidroxicinámicos se encuentran en concentraciones importantes (Salazar López y col. 2016). En este cereal, el ácido ferúlico es el ácido predominante en comparación con ácido caféico y ácido *p*-coumárico. No obstante, este compuesto se encuentra ligado en gran porcentaje a la pared celular del grano, limitándose en gran medida su bioaccesibilidad y por tanto su biodisponibilidad. En la Tabla 8, se muestra el contenido de los ácidos hidroxicinámicos para la HI y la HIC, tanto en la fracción metanólica (fenólicos libres) como en la alcalina (fenólicos ligados) cuantificados por UHPLC (Ultra High Pressure Liquid Chromatography). Los resultados muestran que la mayor concentración de ácidos fenólicos a excepción del ácido caféico se encontró en la fracción ligada, siendo el ácido ferúlico el que se encontró en mayor concentración con respecto al ácido *p*-coumárico.

En la misma tabla se puede observar que el ácido ferúlico libre en HIC se encontró en una concentración más alta ($6.51 \pm 0.31 \mu\text{g/g}$) respecto a la HI ($3.90 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$) ($p < 0.05$). Lo que correspondió en términos de porcentaje a un 0.32% y 0.55% del contenido de ácido ferúlico

libre con respecto al total de ácidos fenólicos para HI y HIC respectivamente. Aparentemente el proceso de cocción logró ser efectivo en la liberación del ácido ferúlico, ya que se observó un incremento del 41% de este compuesto con respecto a la harina sin cocinar.

Tabla 8. Contenido de ácidos hidroxicinámicos ($\mu\text{g/g}$) libres y ligados y proporción (%) con relación al contenido total de ácidos fenólicos totales (libres+ligados) en harina integral (HI) y cocinada (HIC) de sorgo¹

	Ácidos Fenólicos		
	Libres	Ligados	Total (Libres + Ligados)
HI			
Ácido Caféico	5.33±0.2(100%)	ND	5.33±0.2
Ácido p-coumárico	1.03±0.03(19.7%)	4.19±0.5 (80.2%)	5.22±0.5
Ácido Ferúlico	3.90±0.1(0.32%)	1199.17±25.6(99.6%)	1203.07±25.8
Suma	10.26±1.23(0.84%)	1203.36±26.1(99.15%)	1213.62±26.5
HIC			
Ácido Caféico	8.45±0.4(100%)	ND	8.45±0.4
Ácido p-coumarico	2.57±0.03(17.8%)	11.57±1.2(82.1%)	14.14±1.2
Ácido Ferúlico	6.51±0.3(0.55%)	1156.37±2.5(99.4%)	1162.88±2.8
Suma	17.53±0.73(1.47%)	1167.94±3.7(98.52%)	1185.73±4.4

¹Los valores corresponden al promedio de tres repeticiones (media±desviación estándar). ND: no detectado.

Ensayo de Simulación de Digestión *in vitro*

En la Figura 8 a se muestra el efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* de harina de sorgo integral (HI) y harina integral cocinada (HIC) sobre el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante medida como DPPH y TEAC. Se pueden observar variaciones significativas ($p < 0.05$) para cada una de las etapas de la digestión *in vitro*. El contenido de fenoles totales se mostró de manera ascendente conforme se avanzó en el proceso de digestión, para ambas muestras de harina. La harina integral (HI) mostró los valores más altos de fenoles totales comparados con la harina cocinada, de tal manera que en la fase de digestión intestinal se

obtuvo un contenido de fenoles totales de 2146.22 ± 98.5 mientras que en los digestos de harina cocinada el valor de fenoles totales fue de 1155.12 ± 67.8 .

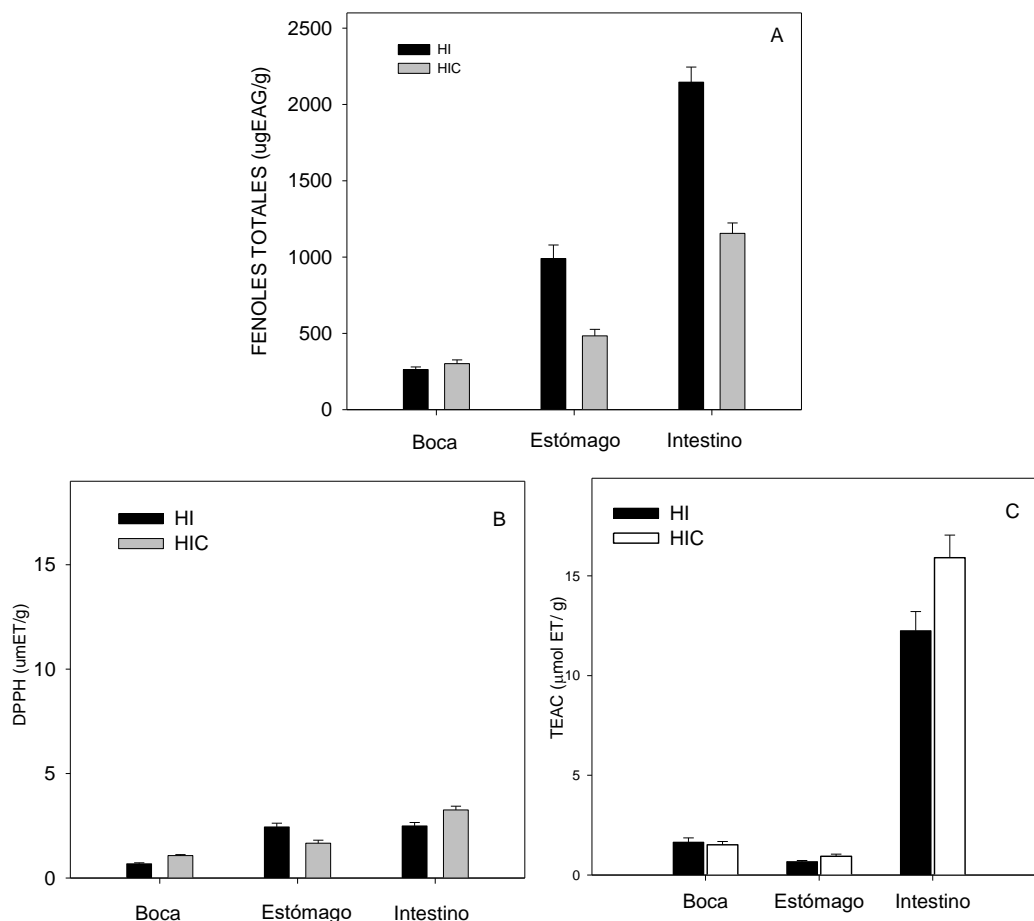


Figura 8. Efecto de la digestión gastrointestinal *in vitro* de harina de sorgo integral (HI) y harina integral cocinada (HIC) sobre el contenido de: (a) fenoles totales, (b) actividad antioxidante (DPPH) y (c) actividad antioxidante (TEAC). El porcentaje de desviación de la media estadística fue <5%.

Es importante considerar que el ensayo de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu considera la cuantificación de una gran diversidad de compuestos (carbohidratos,

aminoácidos, flavonoides etc.), además de los ácidos fenólicos, y es posible asumir que estos valores encontrados en los productos de la digestión sean atribuidos a la presencia de estos compuestos. Los resultados anteriores no son consistentes con los encontrados para actividad antioxidante medida como DPPH y TEAC (Figura 8), en donde los valores más altos en ambos ensayos fueron encontrados en los digestos de harina integral cocinada recuperados del intestino. Lo anterior si pudiera estar relacionado con el contenido de ácidos hidroxicinámicos liberados por el proceso de cocción y los cuales pudieran estar contribuyendo a este incremento en la actividad antioxidante.

Las condiciones de digestión *in vitro* en las cuales se consideran factores como el pH, temperatura, enzimas digestivas y tiempos de cada etapa de digestión, pueden ser determinantes para el incremento de la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos. Lo anterior conduce a que no solo el proceso de cocción en las muestras pudiera promover beneficios en cuanto al incremento de la actividad antioxidante, sino que también los cambios bioquímicos y estructurales que se pueden presentar en la matriz alimenticia durante el proceso de digestión pudieran favorecer esta actividad (Mateo y col., 2009; Hemery y col., 2010).

En la Figura 9 (a, b, c) se muestra el contenido de ácidos hidroxicinámicos (caféico, *p*-coumárico y ferúlico) presentes en cada una de las etapas de la digestión medidos por UHPLC, para harina integral y harina integral cocinada. Se observó que las condiciones de digestión afectaron el contenido de los ácidos hidroxicinámicos para ambas muestras de harina integral, de tal manera que en los digestos de estómago se observaron los valores más altos para los tres ácidos fenólicos con relación a las otras etapas de la digestión, posteriormente se observó una reducción en estos compuestos en la etapa intestinal. De acuerdo a las concentraciones de cada uno de los ácidos fenólicos presentes en la etapa intestinal es posible mencionar que el proceso de cocción logró incrementar el contenido de los tres ácidos estudiados en porcentajes de +18%, +31% y +28% para ácido caféico, *p*-coumárico y ferúlico, respectivamente. Estos resultados pueden considerarse satisfactorios ya que al encontrarse bioaccesibles en el intestino se presenta una mayor posibilidad de que sean absorbidos y por tanto biodisponibles.

El comportamiento de los ácidos hidroxicinámicos puede ser diferente dependiendo de la matriz alimentaria y del proceso tecnológico que se le haya aplicado previo a la digestión *in vitro*, de tal manera que en un estudio realizado por nuestro grupo de investigación en salvado de sorgo extrudido se demostró a diferencia de los resultados de este trabajo, que las mayores pérdidas en estos ácidos se presentaron en la fase de digestión en estómago (datos no publicados). En otro estudio realizado en salvado de trigo sometido a molienda ultrafina se

reportó que el ácido ferúlico se incrementó de manera significativa en la fase de digestión intestinal (Hemery y col., 2010).

La bioaccesibilidad de un compuesto en este caso de los fenólicos se define como la cantidad que se encuentra disponible en el intestino para ser absorbida, de tal manera que la biodisponibilidad va a depender de la bioaccesibilidad de dicho compuesto, sin embargo esta bioaccesibilidad a su vez va a depender de las condiciones en las que se lleve a cabo la digestión, así como también a las características de la matriz alimenticia y al proceso previo a la digestión que esta matriz haya recibido, todos estos factores actúan en conjunto para determinar el contenido final de compuestos fenólicos en el intestino. En la Tabla 9 se muestra la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos totales (CFT), ácidos hidroxicinámicos totales (AHC) e individuales. En harina integral se encontró una mayor cantidad de compuestos fenólicos totales bioaccesibles (2146.22 ± 98.5), comparado con la harina integral cocinada (1155.12 ± 67.8). Un comportamiento diferente se encontró cuando se determinaron los AHC (suma) en donde la mayor concentración se reportó en la harina integral cocinada, mientras que para los ácidos individuales el orden de concentración fue el siguiente: ácido caféico < ácido ferúlico < ácido p-coumárico.

Para el cálculo del porcentaje de bioaccesibilidad (B %) se consideró el contenido de CFT, AHC y ácidos fenólicos individuales encontrados en la fase de digestión intestinal respecto al contenido inicial antes de iniciar el proceso de digestión (ver Tablas 7 y 8).

Los resultados se muestran en la Tabla 9 y es posible observar que la bioaccesibilidad de los CFT se redujo significativamente en la HIC comparada con la HI (45% vs 79%), mientras que la bioaccesibilidad de los AHC se incrementó en la HIC (2.025 vs 1.41%). Respecto a los ácidos hidroxicinámicos individuales (ácido caféico, ácido coumárico y ácido ferúlico) comparando entre los tres compuestos se encontró que la mayor bioaccesibilidad fue para los ácidos caféico y p-coumárico, en ambas harinas, siendo en este último compuesto en donde se presentó la más alta bioaccesibilidad.

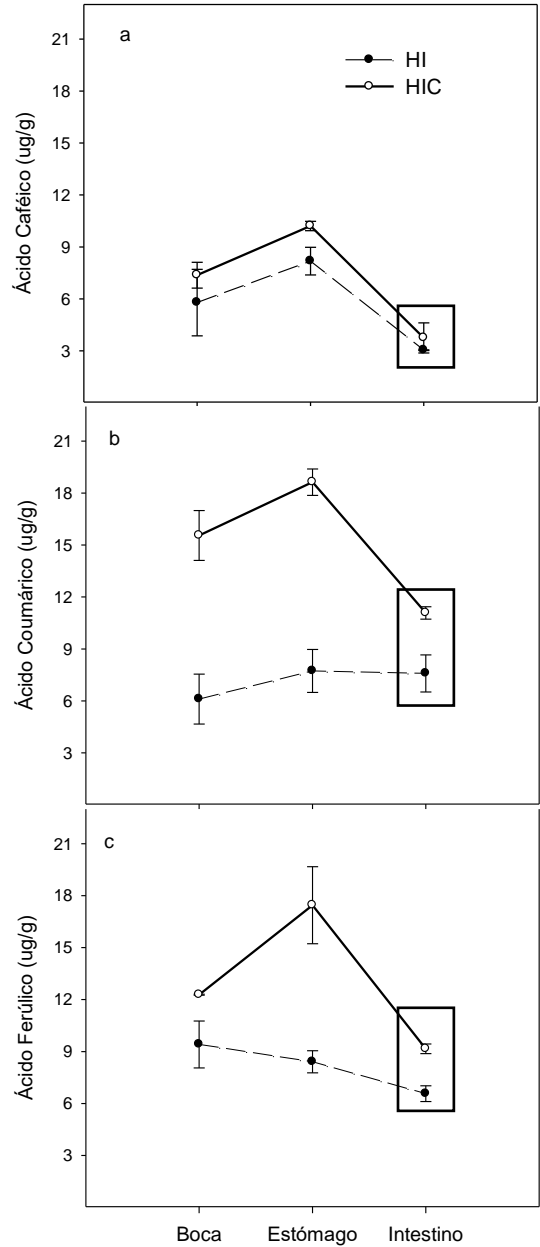


Figura 9. Contenido de: (a) ácido caféico, (b) ácido p -coumárico y (c) ácido ferúlico presentes en digestos de harina integral (HI) y harina integral cocinada (HIC) obtenidos por digestión *in vitro*. Valores en el recuadro indican cantidad bioaccesible en intestino del ácido fenólico correspondiente

Respecto al ácido ferúlico, a pesar de que se obtuvieron contenidos bioaccesibles muy bajos en relación a los otros ácidos estudiados, si se encontró un efecto del proceso de cocción sobre la bioaccesibilidad de este ácido. De tal manera que en harina sin cocinar el porcentaje de bioaccesibilidad fue de 0.54% mientras que en harina cocinada fue de 0.78%. Lo que correspondió a aproximadamente un incremento del 31% de la bioaccesibilidad.

Era de esperarse que los ácidos caféico y p-coumárico presentaran la más alta bioaccesibilidad con relación al ferúlico en las harinas estudiadas, ya que estos ácidos se encuentran en mucha menor concentración en su forma ligada en comparación con el ácido ferúlico (ver Tabla 8), es importante resaltar que el proceso de cocción fue capaz de liberar ácido ferúlico reflejándose en una mayor bioaccesibilidad con respecto a la harina sin cocinar.

Tabla 9. Contenido bioaccesible de compuestos fenólicos totales (CFT), ácidos hidroxicinámicos (AHC) y ácidos fenólicos individuales presentes en los productos de la digestión intestinal *in vitro* de la harina integral (HI) y harina integral cocinada (HIC), y su bioaccesibilidad expresada como porcentaje¹.

Componente	HI		HIC	
	Contenido	B(%)	Contenido	B(%)
CFT (µg EAG/g)	2146.22±98.5	79.35	1155.12±67.8	45
AHC total (µg/g)	17.2±1.54	1.41	23.99±1.51	2.02
Ácido caféico	3.04±0.02	57	3.75±0.87	44
Ácido p-coumárico	7.59±1.07	145	11.08±0.36	127
Ácido ferúlico	6.57±0.45	0.54	9.16±0.28	0.78

¹Los valores corresponden al promedio de tres repeticiones (media±desviación estándar)

Estudio *in vivo*

Se evaluó el efecto del consumo harina integral de sorgo sin cocinar y cocinada sobre el perfil de lípidos, glucosa y actividad antioxidante en suero de ratas con obesidad inducida. De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio *in vivo* (Tabla 10), es posible observar que después de 60 días de administración de las dietas, el grupo de ratas alimentadas con dieta alta en grasa (DAG) mostró un incremento en el peso corporal (GP), consumo de calorías y peso

del tejido adiposo abdominal (PTA) respecto a las ratas alimentadas con la dieta basal (DB) (132±12.5 g vs 96.5±4.5 g; 65.11±3.38 kcal vs 51.07±1.75 kcal; 7.77±0.99 g vs 5.21±0.97 g respectivamente).

Tabla 10. Consumo de alimento, consumo de energía, ganancia en peso corporal y peso del tejido adiposo abdominal en grupos de ratas alimentados con dietas experimentales^{1,2}.

Tratamiento	DB	DAG	DAG-HI	DAG-HIC
Consumo de alimentos (g/día)	12.80±0.44 ^a	10.85±0.56 ^b	10.67±0.96 ^b	10.83±0.87 ^b
Consumo de energía (kcal/día)	51.07±1.75 ^b	65.11±3.38 ^a	69.50±7.04 ^a	65.77±4.15 ^a
GP (g)	96.50±4.57 ^b	132±12.59 ^a	127.52±7.13 ^a	101.08±15.7 ^b
PTA (g)	5.21±0.97 ^b	7.77±0.99 ^a	5.26±0.95 ^b	5.00±1.32 ^b

¹ Los valores corresponden al promedio de cinco repeticiones (medias±desviación estándar). ² Medias en renglones marcadas con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). GP, ganancia de peso corporal; PTA, peso del tejido adiposo abdominal; DB, dieta basal; DAG, dieta alta en grasa; DAG-HI, dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral, DAG-HIC, dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral cocinada.

Los resultados anteriores indican que la inducción de obesidad en las ratas mediante la administración de dietas altas en grasa fue efectiva en cuanto a incremento en peso corporal y tejido adiposo de las ratas. La suplementación de las dietas altas en grasa con harina integral mostró cambios importantes en el status obesogénica de las ratas, de tal manera que tanto las ratas alimentadas con DAG-HI como con DAG-HIC mostraron una menor ganancia en peso y peso de tejido adiposo abdominal con respecto a la dieta DAG. Hasta esta parte del estudio es posible asumir que la sola suplementación de harina integral a las dietas obesogénicas mostraron una respuesta positiva en cuanto a un retraso en el aumento en peso corporal y peso de tejido adiposo, siendo este efecto más significativo en el grupo de ratas alimentadas con dietas suplementadas con harina cocinada.

El perfil de lípidos y niveles de glucosa en el suero de las ratas con obesidad inducida mostraron cambios significativos con respecto a la dieta basal (Tabla 11). Los niveles de CT, TG y C-LDL en suero de ratas alimentadas con DAG mostraron incrementos significativos con

respecto a la dieta basal correspondiendo estos incrementos a CT: 82.01 ± 10.4 mg/dL a 104.96 ± 8.2 mg/dL; TG: 79.61 ± 6.7 mg/dL a 88.85 ± 13.5 mg/dL y C-LDL: 38.14 ± 7.1 mg/dL a 51.12 ± 3.2 mg/dL respectivamente. Por otra parte, el aumento de glucosa fue de 102.44 ± 7.7 mg/dL a 139.17 ± 14.9 mg/dL. C-HDL no mostró cambios significativos en respuesta al consumo de la dieta obesogénica. El índice aterogénico (IA) se incrementó en el grupo de ratas alimentadas con dieta obesogénica 1.39 ± 0.5 respecto a la dieta basal que fue de 1.30 ± 1.0 ($p > 0.05$). Los resultados anteriores muestran que la dieta alta en grasa logró promover un status obesogénico en las ratas, condición necesaria para proceder a la evaluación del efecto del consumo de dietas experimentales sobre los biomarcadores de obesidad anteriormente descritos. Las dietas altas en grasa para inducción de obesidad en ratas han sido utilizadas en varios estudios para evaluar efectos sobre biomarcadores de obesidad (dislipidemia, hiperglicemia, citosinas pro inflamatorias entre otros (Terra y col., 2011; Yang y col., 2006; Young y McEneny, 2001).

En la misma tabla es posible observar el efecto del consumo de dietas obesogénicas suplementadas en un 18% de harina integral o harina integral cocinada.

Tabla 11. Efecto del consumo de harina de sorgo (HI y HIC) sobre el perfil de lípidos y glucosa en suero de ratas con obesidad inducida¹

	Glucosa	CT	TG	C-HDL	C-LDL	IA
DB	102.44 ± 7.7^c	82.01 ± 10.4^c	79.61 ± 6.7^b	38.10 ± 3.5^b	38.14 ± 7.1^b	1.30 ± 0.33^{ab}
DAG	139.17 ± 14.9^a	104.96 ± 8.2^a	88.85 ± 13^a	40.11 ± 3.9^{ab}	51.12 ± 3.2^a	1.39 ± 0.52^a
DAG-HI	113.19 ± 8.0^b	93.50 ± 8.1^b	78.89 ± 6.08^b	33.50 ± 4.1^c	47.72 ± 6.6^a	1.00 ± 0.58^{ab}
DAG-HIC	104.61 ± 7.7^c	79.46 ± 7.5^c	67.85 ± 7.6^c	41.88 ± 4.2^a	24.00 ± 8.5^c	0.91 ± 0.24^b

¹Los valores corresponden a la media desviación estándar de 5 repeticiones. Valores con letras diferentes dentro de una misma columna son diferentes estadísticamente ($p < 0.05$)

La suplementación de las dietas obesogénicas con ambas harinas (DAG-HI y DAG-HIC) mostró cambios positivos en el perfil de lípidos, siendo estos cambios de mayor significancia en las ratas alimentadas con DAG-HIC. El grupo de ratas alimentadas con DAG-HI y DAG-HIC disminuyeron CT un 11% y 24%; TG un 11% y 23%; y C-LDL un 6% y 53% respectivamente.

Respecto a los niveles de glucosa en las ratas, estos también se vieron disminuidos en las ratas alimentadas con ambas dietas, siendo nuevamente la dieta obesogénica suplementada con harina integral cocinada, la que mostro la mayor reducción (24%). Yang y col. (2001) reportaron resultados similares a los encontrados en nuestro estudio, ellos estudiaron el efecto del consumo de antioxidantes como el ácido lipóico sobre el perfil de lípidos en ratas obesogénicas y encontraron una reducción significativa en el perfil de lípidos así como también en el índice aterogénico.

Estos resultados tuvieron un impacto significativo en el valor de índice aterogénico (IA) en donde las ratas alimentadas con DAG-HIC mostraron una reducción del 48% con relación a la DAG, mientras que la DAG-HI también disminuyó un 39% con respecto a la DAG.

Los modelos de inducción de obesidad en ratas han sido muy utilizados para el estudio de efectos del consumo de alimentos con actividad antiobesogénica (Ahn y col., 2017; Kamalakkannan y col., 2010; Zhu y col., 2012). Se ha reportado que las dietas altas en grasa pueden ser más efectivas en la inducción de obesidad comparada con las dietas altas en colesterol. Particularmente porque la grasa que compone a este tipo de dietas ("lard") son ácidos grasos insaturados y poliinsaturados, que equivale a una dieta similar a las dietas humanas.

Es importante mencionar que los efectos mostrados en la reducción del perfil de lípidos y glucosa en el suero de las ratas pudieron ser atribuidos a la presencia de compuestos fenólicos presentes en la harina de sorgo. Investigaciones recientes han demostrado que el ácido ferúlico inhibe la expresión de adipocinas (citocinas del tejido adiposo) tales como TNF- α e IL-1 β en macrófagos activados por LPS (lipopolisacárido) mediante la inhibición de la activación de NF- κ B (Factor de transcripción), el cual pudiera contribuir a la prevención de enfermedades crónicas inflamatorias, como vendría siendo la obesidad. También en otros estudios se ha observado que el ácido ferúlico mejora cambios en síndrome metabólico en ratas alimentadas con dietas altas en grasa y en fructosa (Navarrete y col., 2015; Wang y col., 2015).

Por otra parte, es importante resaltar que existen otros componentes además de los fenólicos que también pueden estar ejerciendo una función sobre la reducción de lípidos como sería el caso de la fibra dietaria la cual ya ha sido reconocida su acción hipolipidémica e hipoglicémica (Lecumberri y col., 2007; Woo y col., 2008).

La actividad antioxidante en suero de ratas medida como TEAC, se presenta en la Figura 10. Se observó que en el grupo alimentado con dieta alta en grasa la actividad antioxidante disminuyó ($p>0.05$) comparada con el grupo alimentado con dieta basal. Estos hallazgos pueden coincidir con lo reportado por otros autores en donde se ha encontrado que existe una correlación inversa entre actividad antioxidante e índice aterogénico (AI) en ratas alimentadas con dietas altas en grasa (Yang y col., 2006). El alto IA puede significar un imbalance entre la producción de radicales libres y la capacidad de defensa antioxidante, siendo el estrés oxidativo es uno de los factores causales que unen la hiperlipidemia con la patogénesis de aterosclerosis (Young y McEneny, 2001).

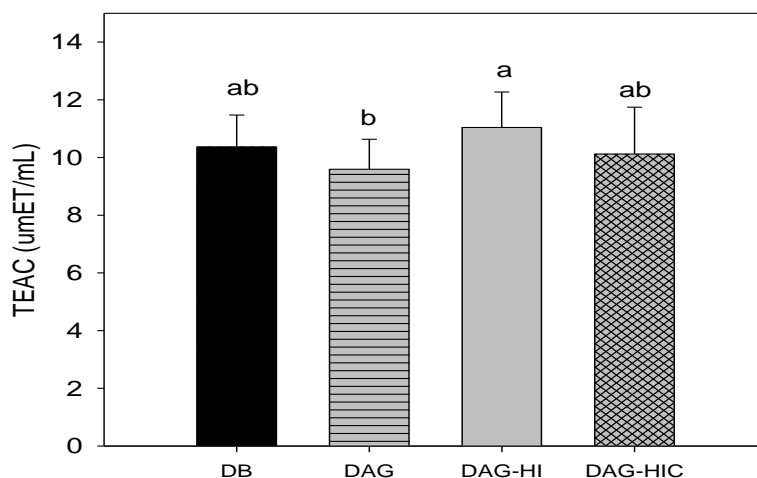


Figura 10. Actividad antioxidante en suero de ratas alimentadas con dieta basal (DB); dieta alta en grasa (DAG); dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral (DAG-HI) y dieta alta en grasa suplementada con 18% de harina integral cocinada (DAG-HIC)

Con relación a los grupos alimentados con DAG y harina integral de sorgo se observó que la actividad antioxidante se incrementó, aunque nuevamente este incremento no fue significativo ($p>0.05$). Diversos estudios han demostrado que bajo condiciones de alimentación alta en grasa

la actividad antioxidante en suero de ratas tiende a disminuir, atribuido particularmente a que se genera una demanda de antioxidantes en respuesta al estrés metabólico al cual es sometido el organismo (Sreekumar y col., 2002; Yang y col., 2006; Roberts y col., 2005). La administración de harina integral de sorgo a las ratas alimentadas con dieta alta en grasa previno la construcción de estrés oxidativo restaurando las actividades normales del sistema antioxidante enzimático y no enzimático.

CONCLUSIONES

1. El proceso de cocción aplicado a la harina integral de sorgo no mostró un efecto significativo en el contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos totales y potencial antioxidante. Sin embargo, el proceso de cocción en la harina integral de sorgo promovió la liberación de ácido ferúlico.
2. En productos de la digestión gastrointestinal *in vitro* de harina cocinada se promueve la liberación de ácido ferúlico incrementándose su bioaccesibilidad.
3. El consumo de dietas suplementadas con 18% de harina de sorgo cocinada promueve cambios positivos en el perfil de lípidos y glucosa en suero de ratas obesogénicas.
4. Finalmente cabe destacar que con este tipo de estudios se pretende sentar las bases para el desarrollo de alimentos funcionales basados en sorgo, destinados a poblaciones en situación de riesgo de enfermedad crónico degenerativa (diabetes, obesidad, enfermedad cardiovascular entre otras) y enfermedad celiaca.
5. Es por ello que este estudio se realizó con un cereal poco utilizado mundialmente el cual puede ser prometedor para ser incluido como parte de una dieta saludable no solo por su contenido de nutrientes y fibra dietaría sino también por su contenido de compuestos bioactivos que tienen un impacto positivo en la salud humana.

RECOMENDACIONES

En base a los resultados del presente estudio se recomienda para futuros trabajo relacionados con el diseño de alimentos funcionales a base de sorgo lo siguiente:

1. Llevar a cabo estudios de absorción *in vitro* con el fin de estimar el potencial de compuestos fenólicos biodisponibles.
2. Formular, diseñar y evaluar el potencial biológico y calidad sensorial de un alimentos funcional a base de harina integral de sorgo sometida a proceso de cocción.
3. Explorar el uso potencial de alimentos a base de sorgo como alternativa al consumo de alimentos basados en trigo para el tratamiento de enfermedad sistémica inmunomediada provocada por el gluten.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Estrada BA, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldívar SO. 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem* 152: 46–55.
- Ahn MY, Kim BJ, Kim HJ, Yoon HJ, Jee SD, Hwang JS, Park KK. 2017. Anti-obesity effect of *Bombus ignitus* queen glycosaminoglycans in rats on a high-fat diet. *Int. J. Mol. Sci* 18: 1-19.
- Akillioglu HG, Karakaya S. 2010. Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. *Food Sci. Biotechnol* 19: 633–639.
- Awika JM, Rooney LW. 2004. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry* 65: 1199–1221.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 99: 191-203.
- Campos-Vega R, Vázquez-Sánchez K, López-Barrera D, Loarca-Piña G, Mendoza-Díaz S, Oomah BD. 2015. Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Res. Int* 77: 156–161.
- Cardoso L, Aguilar T, Silva S, Maria H, Ana P, Stampini H, Moreira B. 2014. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chem* 152: 210–217.
- Chandrasekara A, & Shahidi F. 2012. Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated in vitro digestion and microbial fermentation. *J. Funct. Foods* 4(1): 226–237.
- Chiremba C, Taylor JRN, Rooney LW, Beta T. 2012. Phenolic acid content of sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Food Chem* 134(1): 81–88.
- Dae-Ok, K, Seung, W.J, Y Chang, Y.L. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem*, 81, 321e326.

- Dlamini NR, Taylor JRN, Rooney LW. 2007. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. *Food Chem* 105: 1412–1419.
- Duodu KG, Nunes A, Delgadillo I, Parker ML, Mills ENC, Belton PS, Taylor JRN. 2002. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize in vitro protein digestibility. *J. Cereal Sci* 35: 161–174.
- Dykes L, Rooney LW. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *J. Cereal Sci* 44: 236–251.
- ENSANUT, Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2016). Cifras de Sobrepeso y Obesidad en México. Disponible en: <http://www.oment.uanl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/>. (Fecha de acceso: 20 de Enero de 2017).
- FAOSTAT, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017). Datos de cultivos a nivel mundial. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>. (Fecha de acceso: 19 de Mayo de 2017).
- Fardet A, Rock E, Rémésy C. 2008. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *J. Cereal Sci* 48(2): 258–276.
- FIRA, Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (2017). Panorama Agroalimentario sorgo 2017. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200640/Panorama_Agroalimentario_Sorgo_2017.pdf. (Fecha de acceso: 19 de Mayo de 2017).
- Guo W, Beta T. 2013. Phenolic acid composition and antioxidant potential of insoluble and soluble dietary fibre extracts derived from select whole-grain cereals. *Food Res. Int* 51: 518–525.
- GRIN-global, U.S. National Plant Germplasm System (2015). Genus: *Sorghum* Moench. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomygenus.aspx?id=11304>. (Fecha de acceso: 05 de Junio de 2017).
- Hemery Y, Mateo N, Havenaar R, Haenen G, Noort M, Rouau X. 2010. Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Research International* 43: 1429-1438.

- Hervert-Hernández D, García OP, Rosado JL, Goñi I. 2011. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. *Food Res. Int* 44(5): 1182–1189.
- Hithamani G, Srinivasan K. 2014. Bioaccessibility of polyphenols from wheat (*Triticum aestivum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), green Gram (*Vigna radiata*), and chickpea (*Cicer arietinum*) as influenced by domestic food processing. *J. Agric. Food Chem* 62: 11170–11179.
- Huang YC, Chen CY, Chen WL, Ciou YP, Yang TY, Yang CH. 2013. Production and antioxidant properties of the ferulic acid-rich destarched wheat bran hydrolysate by feruloyl esterases from thermophilic actinomycetes. *BioResources* 8(4): 4981–4991.
- Huisman MMH, Schols HA, Voragen AGJ. 2000. Glucuronoarabinoxylans from maize kernel cell walls are more complex than those from sorghum kernel cell walls. *Carbohydr. Polym* 43: 269–279.
- Hwang KT, Cuppett SL, Weller CL, Hanna MA. 2002. Properties, composition, and analysis of grain sorghum wax. *J. Am. Oil Chem. Soc* 79: 521–527.
- InfoAgro, Información Agrícola (2017). El cultivo del sorgo. Disponible en: <http://www.infoagro.com/herbaceos/forrajes/sorgo.htm>. (Fecha de acceso: 05 de Junio de 2017).
- Jha N, Krishnan R, Meera MS. 2015. Effect of different soaking conditions on inhibitory factors and bioaccessibility of iron and zinc in pearl millet. *J. Cereal Sci* 66: 46–52.
- Kähkönen MP, Anu I, Hopia HJV, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS, Heinonen M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds *J. Agric. Food Chem* 47: 3954–3962.
- Kamalakkannan S, Rajendran R, Venkatesh RV, Clayton P, Akbarsha MA. 2010. Antiobesogenic and antiatherosclerotic properties of *Caralluma fimbriata* extract. *J. Nutr. Metab* 2010: 1-7.
- Kern SM, Bennett RN, Mellon FA, Kroon PA, Garcia-Conesa MT. 2003. Absorption of hydroxycinnamates in humans after high-bran cereal consumption. *J. Agric. Food Chem* 51: 6050–6055.

- Krygier K, Hogge L. 1982. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure. *J. Agric. Food Chem* (30): 330–334.
- Larrosa M, González-Sarrías A, Yáñez-Gascón MJ, Selma MV, Azorín-Ortuño M, Toti S, Carlos J. 2010. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *J. Nutr. Biochem* 21(8): 717–725.
- Laura N, Aki P, Anna-Maija L, Vieno P. 2007. Total plant sterols, steryl ferulates and steryl glycosides in milling fractions of wheat and rye. *J. Cereal Sci* 45: 106–115.
- Lecumberri E, Goya L., Mateos R, Alía M, Ramos S, Izquierdo-Pulido M Y Bravo L. (2007). A diet rich in dietary fiber from cocoa improves lipid profile and reduces malondialdehyde in hypercholesterolemic rats. *Nutr* 23(4), 332-341.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr* 79: 724–47.
- Mateo N, Aura A, Selinheimo A, Mattila I, Poutanen K, Havenaar R, Bast A, Haenen G. 2011. Bioprocessing of Wheat Bran in Whole Wheat Bread Increases the Bioavailability of Phenolic Acids in Men and Exerts Antiinflammatory Effects ex Vivo^{1–3}. *J. Nutr.* 141: 137–143.
- Mateo N, Berg R. Van Den, Havenaar R, Bast A, Haenen GRMM. 2009. Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *J. Cereal Sci* 49(2): 296–300.
- Mathew S, Abraham TE. 2004. Ferulic acid: an antioxidant found naturally in plant cell walls and feruloyl esterases involved in its release and their applications. *Crit. Rev. Biotechnol* 24: 59–83.
- McClendon SD, Shin HD, Chen RR. 2011. Novel bacterial ferulic acid esterase from *Cellvibrio japonicus* and its application in ferulic acid release and xylan hydrolysis. *Biotechnol Lett* 33: 47–54.
- Mercado-Mercado G, Blancas-Benitez FJ, Velderrain-Rodríguez GR, Montalvo-González E, González-Aguilar GA, Alvarez-Parrilla E, Sáyago-Ayerdi SG. 2015. Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fibre in calyces and decoction residues of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *J. Funct. Foods* 18: 171–181.

- Morales-Ortega A, Niño-Medina G, Carvajal-Millán E, Gardea-Béjar A, Torres-Chávez P, López-Franco Y, Lizardi-Mendoza J. 2013. Ferulated arabinoxylans from cereals. A review of their physico-chemical characteristics and gelling capability. *Rev. Fitotec Mex* 36(4): 439–446.
- Muruganandan S, Srinivasan K, Gupta S, Gupta P.K, Lal J. 2005. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *J. of Ethnopharmacology* 97: 497–501.
- Navarrete, S, Alarcón, M y Palomo, I. 2015. Aqueous extract of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and ferulic acid reduce the expression of TNF- α and IL-1 β in LPS-Activated macrophages. *Molecules* 20: 15319–15329.
- N'Dri D, Mazzeo T, Zaupa M, Ferracane R, Fogliano V, Pellegrini N. 2013. Effect of cooking on the total antioxidant capacity and phenolic profile of some whole-meal African cereals. *J. Agric. Food Chem* 93: 29–36.
- Neucere NJ, Sumrell G. 1980. Chemical composition of different varieties of grain sorghum. *J. Agric. Food Chem* 28: 19–21.
- OMS, Organización Mundial de la Salud (2016). *Obesidad y Sobrepeso*. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>. (Fecha de acceso: 19 de Mayo de 2017)
- Pérez-Jiménez J, Serrano J, Taberner M, Arranz S, Díaz-Rubio ME, García-Diz L, Sauracalixto F. 2009. Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in humans. *Plant Foods Hum Nutr.* 64: 102–107.
- Randhir R, Lin YT, Shetty K. 2004. Stimulation of phenolics, antioxidant and antimicrobial activities in dark germinated mung bean sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *Process Biochem* 39: 637–646.
- Rice Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med* 20(7): 933–956.
- Robbins RJ. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology phenolic acids in foods : an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem* 51(10): 2866–2887.

- Robles-Sánchez RM, Islas-Osuna MA, Astiazarán-García H, Vázquez-Ortiz FA, Martín-Belloso O, Gorinstein S, González-Aguilar GA. 2009. Quality index, consumer acceptability, bioactive compounds, and antioxidant activity of fresh-cut “ataulfo” mangoes (*Mangifera Indica* L.) as affected by low-temperature storage. *J. Food Sci* 74: 126–134.
- Roberts C, Barnard J, Sindhu Ram, Jurczak M, Ehdaie A, Y Vaziri N. D. 2005. A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. *J Appl Physiol* 98: 203–210.
- Rose DJ, Inglett GE, Liu SX. 2010. Utilisation of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. *J. Sci. Food Agric* 90: 915–924.
- Salazar López NJ, Loarca-Piña G, Campos-Vega R, Gaytán-Martínez M, Morales- Sánchez E, Esquerria-Brauer JM, Robles-Sánchez M. 2016. The extrusion process as an alternative for improving the biological potential of sorghum bran: phenolic compounds and antiradical and anti-inflammatory capacity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1–8.
- Sautier D, O'Deye, M. (1989). *Mil, Mais, Sorgho - Techniques et alimentation au Sahel*. Paris, FRA: Harmattan. press. 171.
- Sreekumar R, Unnikrishnan J, Nygren A. J, Short K. R, Schimke J, Barazzoni R, Y Sreekumaran K. 2002. Impact of high-fat diet and antioxidant supplement on mitochondrial functions and gene transcripts in rat muscle. *Am J. Physiol Endocrinol Metab* 282: 1055-1061.
- Shin HD, McClendon SLe T, Taylor F, Ruizhen Chen R. 2006. A complete enzymatic recovery of ferulic acid from corn residues with extracellular enzymes from *Neosartorya spinosa* NRRL185. *Biotechnol. Bioeng* 95: 1109–1115.
- Singleton VL, Rossi JAJ. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic* 16: 5234.
- Taylor J, Taylor JRN. 2002. Alleviation of the adverse effect of cooking on sorghum protein digestibility through fermentation in traditional African porridges. *Int. J. Food Sci. Technol* 37: 129–137.

- Ti H, Zhang R, Zhang M, Li Q, Wei Z, Zhang Y, Ma Y. 2014. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. *Food Chem* 161: 337–344.
- Towo E, Matuschek E, Svanberg U. 2006. Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. *Food Chem* 94: 369–376.
- Velderrain-Rodríguez G, Quirós-Sauceda A, Mercado-Mercado G, Ayala-Zavala JF, Astiazarán-García H, Robles-Sánchez RM, González-Aguilar GA. 2016. Effect of dietary fiber on the bioaccessibility of phenolic compounds of mango, papaya and pineapple fruits by an in vitro digestion model. *Food Sci. Technol* 36: 188–194.
- Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V. 2008. Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Food Sci. Technol* 19: 451–463.
- Wang O, Liu J, Cheng Q, Guo X, Wang Y, Zhao, L, Zhou, F y Ji, B. 2015. Effects of Ferulic Acid and γ -Oryzanol on High-Fat and High-Fructose Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *PLoS ONE* 10: 1–14.
- Wang T, He F, Chen G. 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *J. Funct. Foods* 7: 101–111.
- Woo M. N, Bok S. H, Lee M. K, Kim H. J, Jeon S. M, Do G. M Y Choi M. S. (2008). Anti-obesity and hypolipidemic effects of a proprietary herb and fiber combination (S&S PWH) in rats fed high-fat diets. *J. Med. Food* 11(1): 169-178.
- Wu L, Huang Z, Qin P, Ren G. 2013. Effects of processing on phytochemical profiles and biological activities for production of sorghum tea. *Food Res. Int* 53: 678–685.
- Yang R, Le G, Li A, Zheng J y Shi Y. 2006. Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. *J. Nutr* 22: 1185–1191
- Young I.S, McEneny J. 2001. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem. Soc. Trans* 29:358–62
- Zaroug M, Orhan IE, Senol FS, Yagi S. 2014. Comparative antioxidant activity appraisal of traditional Sudanese kisra prepared from two sorghum cultivars. *Food Chem* 156: 110–116.

- Zhao Z, Egashira Y, Sanada H. 2003. Digestion and absorption of ferulic acid sugar esters in rat gastrointestinal tract. *J. Agric. Food Chem* 51: 5534–5539.
- Zhu Z, Jiang W, Thompson HJ. 2012. Edible dry bean consumption (*Phaseolus vulgaris* L.) modulates cardiovascular risk factors and diet-induced obesity in rats and mice. *Br. J. Nutr* 108: 66–73.
- Zielinski H, Kozłowska H, Lewczuk B. 2001. Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol* 2:159–169.
- Balasundram N, Sundram K, Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem* 99: 191-203.