

# UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

**Evaluación de la Calidad Sensorial y Actividad Biológica de Galletas Formuladas a partir de Harina Integral de Sorgo (*Sorghum bicolor*. L. Moench) Sometida a Proceso de Fermentación**

**TESIS PROFESIONAL PRÁCTICA**

Que para obtener el título de:

**QUÍMICO EN ALIMENTOS**

Presenta:

**José Luis Valenzuela Gutiérrez**

# Repositorio Institucional UNISON



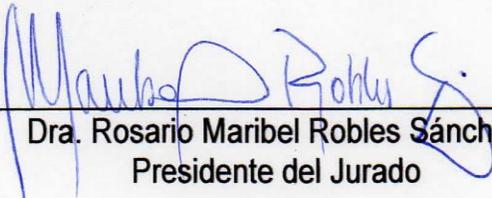
**"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"**



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 José Luis Valenzuela Gutiérrez la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito para obtener el Título de Químico en Alimentos.



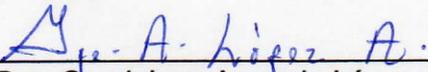
---

Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez  
Presidente del Jurado



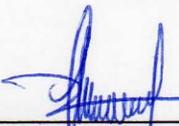
---

M.C. Rosalina Ramírez Olivas  
Secretario



---

Dra. Guadalupe Amanda López Ahumada  
Vocal



---

Dra. Abril Zoraida Graciano Verdugo

## AGRADECIMIENTOS

A Él, por ponerme en este camino y permitirme cumplir mi sueño. Por darme la fuerza en los momentos de debilidad y ser mi guía en este sendero. Por nunca dejarme sola y bendecirme siempre.

A mi asesora de tesis, el Doctora Maribel Robles Sánchez, con gratitud y estima porque me ha orientado, apoyado y perfeccionado mi labor, con una gran disposición y entrega admirable en todo momento.

A mi madre por ser la principal promotora de mis sueños, gracias a usted por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, gracias por estar dispuesta a acompañarme cada larga y agotadora noche de estudio, por siempre desear y anhelar siempre lo mejor para mi vida, gracias por cada consejo y por cada una de sus palabras que me han guiado durante mi vida y sin duda, no estaría aquí de no ser por usted.

A María José, que es mi es mi piedra angular en la construcción de esta victoria en la vida, el poder haber culminado este trabajo con éxito, y poder disfrutar del privilegio con esa persona que se preocupó por mí en cada momento. Te agradezco por tantas ayudas y tantos aportes, no solo para el desarrollo de mi tesis, sino también para mi vida; eres mi inspiración y motivación.

A mis hermanos que de una u otra forma son la razón por la cual me vi en este punto de mi vida.

Sobre todo, a mi familia, sabiendo que no existirá forma alguna de agradecer una vida de sacrificios, esfuerzos y amor, porque sin su apoyo y aliento hoy no cumpliría esta meta.

## CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMEN.....	8
OBJETIVOS.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivos Específicos.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
Prevalencia de Enfermedades Crónicas no Transmisibles.....	12
Aspectos Bioquímicos de la Obesidad.....	13
Cereales como Alimentos Funcionales.....	14
Compuestos Bioactivos en Cereales.....	15
Actividad Biológica de los Compuestos Fenólicos en Sorgo.....	18
Bioaccesibilidad de Ácidos Hidroxicinámicos.....	21
Métodos Tecnológicos Aplicados en Sorgo para la Liberación de Ácidos Hidroxicinámicos.....	22
Fermentación en Cereales.....	25
METODOLOGIA.....	29
Proceso de Fermentación Natural.....	29
Fermentación con Levadura.....	29
Obtención de Extractos Metanólicos.....	30
Cuantificación de Fenoles Totales.....	30
Determinación de Ácidos Hidroxicinámicos.....	31
Evaluación de la Capacidad Antioxidante.....	31
Preparación de Galletas de Sorgo.....	32
Mediciones físicas de las galletas.....	33

Evaluación del Potencial Biológico de las Galletas.....	34
Evaluación Sensorial.....	34
Análisis Estadístico.....	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
Efecto de la Fermentación Sobre el Potencial Biológico de la Harina de Sorgo .....	37
Fenoles Totales (FT).....	37
Actividad Antioxidante.....	38
Ácidos Hidroxicinámicos .....	39
Potencial Biológico y Calidad Sensorial de las Galletas Experimentales .....	44
Características Físicas de las Galletas.....	44
Evaluación Sensorial de las Galletas Experimentales .....	47
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES .....	53
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	54

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición química de cereales de mayor producción.....	15
2	Principales compuestos bioactivos en cereales de mayor consumo...	16
3	Contenido de ácidos hidroxicinámicos (libres y ligados) en diferentes variedades de sorgo.....	19
4	Escala hedónica de atributos sensoriales evaluados en las galletas experimentales.....	31
5	Contenido de fenoles totales (FT) y ácidos hidroxicinámicos de harinas de sorgo utilizadas para la elaboración de galletas experimentales.....	39
6	Características físicas de las galletas de sorgo y galletas control.....	41
7	Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en galletas experimentales.....	42
8	Calificación promedio de aceptación relacionada con atributos sensoriales en galletas formuladas con diferentes harinas.....	44

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura química de los principales ácidos fenólicos.....	17
2	Esquema representativo de una fracción de arabinoxilano con sustituciones de ácido ferúlico.....	20
3	Efecto del tiempo de fermentación de harina integral de sorgo (fermentada natural y levadura) sobre el contenido de fenoles totales.....	35
4	Actividad antioxidante de harina integral de sorgo fermentada natural y levadura por los ensayos , DPPH y TEAC.....	36
5	Efecto del tiempo de fermentación de harina integral de sorgo (fermentada natural y levadura) sobre el contenido de ácidos Hidroxicinámicos.....	37
6	Actividad antioxidante de las harinas utilizadas para la elaboración de las galletas.....	40
7	Contenido de ácidos hidroxycinámicos en galletas formuladas con harina de sorgo fermentado y harina de trigo.....	44
8	Porcentaje de panelistas que respondieron con valores <4.....	46
9	Porcentaje de panelistas que respondieron con valores >4.....	47
10	Galletas elaboradas con harinas de sorgo y trigo.....	47

## RESUMEN

La causa fundamental de la obesidad y el sobrepeso es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las calorías gastadas. La obesidad se considera como un predisponente para la aparición de enfermedades crónico-degenerativas tales como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, algunos tipos de cáncer, entre otras. Diversos estudios, tanto experimentales como epidemiológicos, han demostrado que algunos componentes presentes en los alimentos pueden brindar un efecto protector contra dichas enfermedades. El sorgo es un cereal con potencial para producir alimentos funcionales ya que contienen un elevado contenido de ácido ferúlico; sin embargo, alrededor del 99% de este compuesto se encuentra ligado a estructuras de la pared celular del grano limitando su bioaccesibilidad, y por lo tanto, su biodisponibilidad. La fermentación ha sido estudiada como un proceso tecnológico para el mejoramiento del potencial biológico del sorgo y otros cereales, y ha venido siendo utilizada como una alternativa para la producción de alimentos funcionales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del proceso de fermentación de harina integral de sorgo sobre el potencial biológico y sensorial de galletas. La fermentación con levadura por cuatro horas demostró resultados de fenoles totales, actividad antioxidante y ácido ferúlico significativamente altos con respecto a la harina sin fermentar y fermentada de manera natural. Las galletas obtenidas a partir de la harina fermentada con levadura mostraron el mayor contenido de ácido ferúlico comparados con las galletas formuladas con harina sin fermentar y fermentada de manera natural. Las galletas de sorgo sin fermentar fueron sensorialmente aceptadas mostrando niveles de aceptación similares a las galletas formuladas con harina integral de trigo. Sin embargo, las galletas fermentadas (natural y levadura) solamente fueron aceptadas por su color y apariencia afectando de manera significativa la aceptabilidad general del producto. Se requiere para futuros estudios diseñar procesos de fermentación en harina integral de sorgo que promuevan el incremento de compuestos fenólicos sin comprometer la calidad sensorial del producto.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la calidad sensorial de galletas formuladas a partir de harina integral de sorgo sometida a proceso de fermentación y su efecto sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

### **Objetivos Específicos**

1. Evaluar el efecto del tiempo de fermentación de harina integral de sorgo sobre el contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos y actividad antioxidante.
2. Evaluar el potencial biológico (contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos y actividad antioxidante) de galletas formuladas partir de harina integral de sorgo fermentada.
3. Evaluar la calidad sensorial de las galletas elaboradas a partir de harina integral de sorgo sometida a proceso de fermentación.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles ocupan los primeros lugares de defunción a nivel mundial, dentro de este grupo, las de mayor prevalencia en la población se encuentran las enfermedades cardiovasculares, diabetes y algunos tipos de cáncer entre otras (Córdova y col., 2008; Ramos y col., 2014). Los factores de riesgo que predisponen el desarrollo de estas enfermedades van desde la edad, género, aspectos hereditarios sedentarismo, tabaquismo y alcoholismo hasta malas conductas alimentarias que conducen a sobrepeso u obesidad.

De acuerdo a la OMS en 2016, alrededor de 1900 millones de personas adultas mayores de 18 años padecen sobrepeso y obesidad. La población mexicana no es ajena a este problema, los resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición 2016, mostraron que el 33.2% y 72.5% de la población infantil y adulta respectivamente padece sobrepeso y obesidad (ENSANUT 2016).

Gran parte de este problema se deriva de las malas prácticas alimentarias de la población, particularmente debidas a un consumo excesivo de grasas y harinas refinadas y asociado a una significativa reducción de la actividad física.

Diversos estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales han demostrado que algunos componentes presentes en la dieta pueden tener un impacto en la prevención o reducción de estas enfermedades. La fibra dietaria y algunos fitoquímicos han sido estudiados por su efecto antiobesogénico y los mecanismos por los cuales pueden ejercer este efecto saludable pueden ser antioxidantes, antiinflamatorios, hipolipidémicos entre otros (Hsu y col., 2008; Vitaglione y col., 2008).

Los cereales son un grupo de alimentos que han sido ampliamente estudiados por su potencial biológico en la inhibición de enfermedades crónicas (Awika y col., 2017; Gonzales, 2015; Nelina y Ruíz F, 2005.; Cortes y col., 2005), particularmente en cereales de mayor consumo como el trigo, maíz, avena entre otros se ha observado efectos positivos en cuanto a la reducción de biomarcadores de obesidad como el perfil de lípidos y glucosa entre otros. En cereales como el sorgo también se han estudiado algunos

componentes bioactivos con actividad antiviral, anticancerígena y antioxidante (Dykes y Rooney, 2005).

Parte de la actividad biológica del sorgo ha sido atribuida a la presencia de ácidos hidroxicinámicos, los cuales se encuentran en concentraciones importantes en este cereal. Dentro del grupo de los ácidos hidroxicinámicos predomina el ácido ferúlico, no obstante, su disposición estructural en la pared celular limita en gran medida su bioaccesibilidad y por tanto su biodisponibilidad (Nelina y Ruíz, 2005; Salazar y col., 2016).

Se han evaluado algunos procedimientos tecnológicos para incrementar la bioaccesibilidad del ácido ferúlico en harinas de sorgo entre los cuales se pueden mencionar procesos termomecánicos, físicos, biológicos entre otros. Los resultados en cuanto a incremento del contenido de fenoles y actividad antioxidante han sido variables dependiendo del tipo de sorgo y las condiciones de proceso (N'Dri y col., 2012; Cardoso y col., 2014; Dlamini y col., 2007; Zaroug y col., 2014). Por otra parte, el contenido de ácidos hidroxicinámicos particularmente el ácido ferúlico ha sido poco estudiado como respuesta a la aplicación de estos procedimientos.

La fermentación es un proceso biológico que ha sido utilizado en sorgo generalmente para la producción de bebidas; sin embargo, en productos horneados, este proceso ha sido poco explorado. Algunos estudios han demostrado que la fermentación con bacterias acidolácticas promueven el incremento en fenoles y actividad antioxidante (Svensson 2010; Katina y col., 2009). Asimismo, el uso de levaduras también ha sido estudiado en productos de sorgo como galletas, panes, entre otros productos (Dordevic y col., 2010). No obstante, se requiere de estudios más integrados que evalúen no solo las condiciones fermentación sino además su impacto en un producto terminado y cómo es que se afectan sus características sensoriales.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial biológico de galletas obtenidas a partir de harina integral de sorgo sometida a un proceso de fermentación, así como también el impacto del procesamiento sobre algunos atributos sensoriales.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Prevalencia de Enfermedades Crónicas no Transmisibles**

Dentro de las llamadas Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) de mayor prevalencia se incluyen a las enfermedades cardiovasculares (infartos al miocardio, accidentes cerebrovasculares entre otros), algunos tipos de cáncer, enfermedades respiratorias crónicas (enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el asma) y la diabetes.

De acuerdo con la OMS (2016), las ECNT son la causa de muerte de alrededor de 40 millones de personas cada año, lo que equivale al 70% de las muertes que se producen en el mundo. Las enfermedades cardiovasculares constituyen la mayoría de las muertes por ECNT (17,7 millones cada año), seguidas del cáncer (8,8 millones), las enfermedades respiratorias (3,9 millones) y la diabetes (1,6 millones). Estos cuatro grupos de enfermedades son responsables de más del 80% de todas las muertes prematuras por ECNT. Según las previsiones de la OMS, si todo sigue igual, la cifra anual de muertes por enfermedades no transmisibles aumentará a 55 millones en 2030.

Estas enfermedades se ven favorecidas por factores tales como la edad, género, carga genética, estilos de vida poco saludables (alcoholismo, tabaquismo, poca actividad física y hábitos alimentarios inadecuados) entre otros factores. Esos comportamientos propician cuatro cambios metabólicos/fisiológicos, clave que aumentan el riesgo de ECNT: hipertensión arterial, sobrepeso/obesidad, hiperglucemia (niveles elevados de glucosa en sangre) e hiperlipidemia (niveles altos de lípidos en la sangre). En términos de muertes atribuibles, los factores de riesgo metabólico más determinantes de ECNT a nivel mundial son el aumento de la presión arterial, seguido por el sobrepeso y la obesidad y el aumento de la glucosa sanguínea (Lozano y col, 2013).

## **Aspectos Bioquímicos de la Obesidad**

La causa fundamental de la obesidad y el sobrepeso es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las calorías gastadas. Desde el punto de vista bioquímico, la excesiva carga energética que llega a los adipocitos desencadena un crecimiento desmedido del tejido adiposo, lo que conduce a la activación de mecanismos de defensa endógenos tales como la activación de macrófagos proinflamatorios (M1), la expresión y síntesis de moléculas proinflamatorias tales como la IL-6 asociada a la resistencia de insulina (García y Pons., 2014).

Algunas interleucinas como la IL-1 $\beta$  se ha visto que participan en la lipogénesis y esteatosis hepática. Por otro lado la IL-12 ha sido recientemente usada como marcador de obesidad en la población mexicana, esta citosina muestra tendencia a incrementarse como producto del estado de inflamación crónico de bajo grado generado durante la obesidad (Blancas y col., 2010; Martínez y col., 2013; Marcos., 2014). Bajo estas condiciones se modifica la arquitectura normal del adipocito (hipertrofia/hiperplasia), en donde la presencia de macrófagos con la consecuente producción de óxido nítrico y otros radicales libres es clave para que se presente un desbalance entre radicales libres y antioxidantes conduciendo a la célula a estrés oxidativo que puede afectar la integridad de biomoléculas importantes como proteínas, carbohidratos, lípidos y DNA entre otras (Constanza y Muñoz., 2012).

Los cambios bioquímicos y moleculares que se presentan a nivel celular durante un proceso de obesidad son muy diversos y complejos y muchos de los mecanismos por los cuales se desencadenan son aún desconocidos. Lo que sí es consistente en la literatura científica es que algunos componentes de la dieta pueden modificar biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo asociados a obesidad promoviendo cambios positivos en los llamados factores de riesgo intermedios de obesidad como son la hiperglicemia e hiperlipidemia.

## **Cereales como Alimentos Funcionales**

Se ha visto que algunos componentes presentes en los alimentos pueden ejercer efectos positivos en la reducción de algunas enfermedades crónicas degenerativas. Una gran variedad de macro y micromoléculas, además de tener la función de nutriente, pueden desempeñar un papel importante en la inhibición, prevención o corrección de procesos inflamatorios, oxidativos y cancerígenos. Lo anterior conduce a la definición de alimento funcional, el cual se define como aquel alimento cuya función va más allá de lo nutricional al promover un efecto positivo en la salud (Matos y Chambilla., 2010; Freidin., 2016).

Los alimentos funcionales pueden incluir alimentos del grupo de frutas y verduras, granos y semillas, lácteos y origen vegetal o animal. El grupo de frutas y verduras ha sido el más estudiado en los últimos años, dadas su gran diversidad y propiedades biológicas atribuidas en beneficio de la salud. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el consumo de al menos 400 g/día de frutas y verduras con esto se asegura un status saludable en la población. Sin embargo, han sido poco estudiados los beneficios a la salud que pueden proporcionar el consumo de granos y semillas particularmente de cereales.

Los cereales, a pesar de estar en la base de la pirámide nutricional no han tenido el impacto que han mostrado las frutas a pesar de que algunos cereales y sus productos poseen actividad biológica igual o incluso superior al presentado por las frutas (Malaguti., 2014; Tayyem, 2015). Una explicación que se plantea para este hecho es que en la mayoría de los casos los cereales a diferencia de las frutas requieren ser procesados antes de su consumo, lo que conlleva a que se tenga en el mercado una gran variedad de productos a base de cereales que dificulta en gran medida su estudio como alimentos funcionales. Sin embargo, esto no ha sido limitante para que actualmente exista un gran interés en diseñar y formular alimentos basados en cereales con características funcionales científicamente comprobadas.

## Compuestos Bioactivos en Cereales

Los cereales pertenecen al grupo de las gramíneas, son la principal fuente de energía dietaria y constituyen la base de la dieta de muchas poblaciones. Según la FAO (2014), alrededor del 73% del área cultivable en el mundo es ocupada por los cereales y contribuyen con el 60% de producción de alimentos a nivel mundial. Los cereales proporcionan fibra dietaria, proteína, energía, minerales y vitaminas requeridas para la salud humana. A partir de los cereales se obtienen una gran variedad de productos que van desde horneados, cocinados, extrudidos, fermentados, germinados entre muchos otros. El trigo, maíz, arroz, cebada y sorgo son los cereales de mayor producción a nivel mundial y el consumo de estos depende en gran parte de factores socioculturales, económicos y geográficos.

Los cereales comparten muchas de sus características anatómicas todos poseen germen, endospermo y pericarpio, la composición química de estas partes anatómicas es lo que puede diferenciar a un cereal de otro. En la Tabla 1, se muestra la composición química de estos cereales, aun cuando la diferencia en contenido de proteína pudiera no ser tan significativa, el tipo de proteína es característico de cada cereal. Por ejemplo, en el trigo se encuentran proteínas del tipo gliadinas y gluteninas, mientras que en el maíz y el sorgo predominan las prolaminas. Estas diferencias, y otras relacionadas con su composición química, es lo que permite que el cereal pueda ser destinado a determinados procesos.

En años recientes los cereales han sido investigados en relación a su potencial uso en el desarrollo de alimentos funcionales, y los componentes a los cuales se les puede atribuir actividad biológica pueden ser de diferente naturaleza química, pero además el potencial biológico también lo puede definir su ubicación en el grano, las interacciones posibles que puedan existir con otros componentes del grano, así como también la farmacocinética que siguen una vez consumidos.

Tabla 1. Composición química de cereales de mayor producción (g/100 porción comestible)

Componente	Arroz	Maiz	Trigo	Sorgo	Mijo
Agua (%)	12	13.8	12	11	11.8
Proteína (g)	7.5	8.9	13.3	11	9.9
Grasa (g)	1.9	3.9	2.0	3.3	2.9
Carbohidratos(g)	77.4	72.2	71.0	73.0	72.9
Fibra(g)	0.9	2.0	2.3	1.7	3.2
Ceniza (g)	1.2	1.2	1.7	1.7	2.5
Ca(mg)	32	22	41	28	20
P(mg)	221	268	372	287	311
Fe(mg)	1.6	2.1	3.3	4.4	68
K(mg)	214	284	370	350	430
Tiamina(mg)	0.34	0.37	0.55	0.38	0.73
Rivoflavina(mg)	0.05	0.12	0.12	0.15	0.38
Niacina(mg)	1.7	2.2	4.3	3.9	2.3
Mg(mg)	88	147	113	n.d.	162

Fuente: Serverson, 1998.

Es conocido que una vez 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 (Gonzales, 2015). En la Tabla 2 se muestra el contenido de algunos de los compuestos bioactivos presentes en cereales de mayor consumo. Los compuestos fenólicos son predominantes en cereales, de acuerdo a la tabla se muestra en orden descendente sorgo>trigo>maíz>arroz>centeno>cebada>mijo>avena.

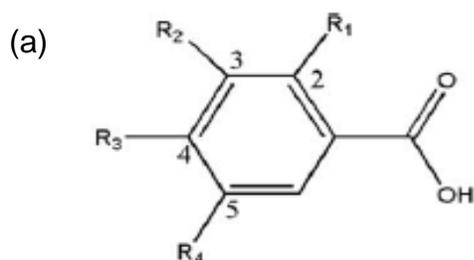
Tabla 2. Principales compuestos bioactivos en cereales de mayor consumo

Cereal	Tocoferol y tocotrienol	Zinc	Selenio	Manganeso	Acido Ferulico	Carotenoides	Polifenoles
	mg/100 g grano						mgEAG/g grano
Trigo	1.4	2.6	0.5-74.6	3.1	10-198	20-265	70-1459
Maiz (amarillo, blanco y azul)	6.6	1.7	12.0	0.4	177	969-1300	39-711
Arroz (café y negro)	1.9	1.6	10.0	2.1	30	14-77	54-313
Avena	1.8	3.2	7.1	3.1	7-30	31	9-34
Cebada	2.2	2.8-7.4	7.0	1.5	36-62	15-105	50-196
Centeno	4.1	2.9-3.1	1.4	2.9	79-102	--	125-255
Sorgo	1.1	0.3-1.8	13.0	4.3	9	20-22	100-2300
Mijo (grano pelado)	4.0	2.9-6.6	2.0	1.1	29	74-80	29-47

Fuente: Fardet y col., 2008

## Actividad Biológica de los Compuestos Fenólicos en Sorgo

Los compuestos fenólicos forman un grupo muy amplio de sustancias de diversa estructura química. Dentro de este grupo pueden encontrarse flavonoides, flavonas, flavanoles, flavanonas, antocianinas, antocianidinas, ácidos fenólicos entre otros (Zheng y Wang., 2001). Esto últimos compuestos se derivan en dos grupos: ácidos hidroxibenzoicos, derivados del ácido benzoico y ácidos hidroxicinámicos derivados del ácido cinámico. En la Figura 1 se muestran las estructuras de los ácidos fenólicos, cuya diferencia estructural va a depender básicamente de los grupos hidroxilos y metoxi sustituyentes en el anillo.



Ácido Gálico: R1=H, R2=R3=R4=OH

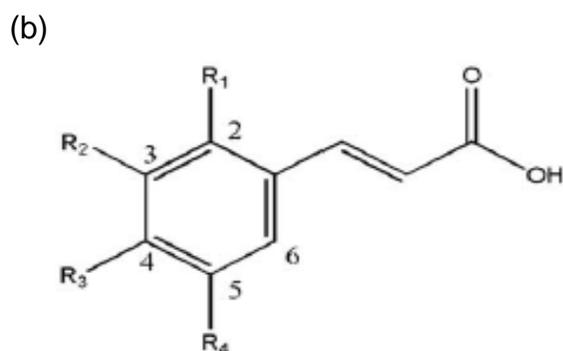
Ácido Gentístico: R1=R4=OH, R2=R3=H

Ácido Salicílico: R1=OH, R2=R3=R4=H

Ácido p-Hidroxibenzoico: R1=R2=R4=H, R3=OH

Ácido Siringico: R1=H, R2=R4=OCH3, R3=OH

Ácido Protocateico: R1=R4=H, R2=R3=OH



Ácido Caféico: R1= R4=H, R2= R3=OH

Ácido Ferúlico: R1= R4=H, R2=OCH3, R3=OH

Ácido o- coumárico : R1=OH, R2=R3=R4=H

Ácido p- coumárico: R1=R2=R4=H, R3=OH

Ácido Sinápico: R1=H, R2=R4=OCH3, R3=OH

Figura 1. Estructura química de los principales ácidos fenólicos: (a) Derivados del ácido hidroxibenzoico; (b) Derivados del ácido cinámico.

La actividad biológica de los ácidos fenólicos ha sido atribuida principalmente a su capacidad para secuestrar radicales libres, mediante la donación de un hidrógeno de su

grupo hidroxilo; de tal manera que, entre mayor número de grupos –OH tenga el ácido en su estructura mayor será su potencial antioxidante (Sroka y Cisowski., 2003). No obstante, se ha documentado que los ácidos hidroxicinámicos tienen mayor potencial biológico que los ácidos hidroxibenzóicos, particularmente por la doble ligadura conjugada que presentan cercana al grupo carboxilo, lo que conduce a una mayor estabilización del radical libre en comparación con los ácidos hidroxibenzoicos (Rice,1996; Häkkinen, 1999).

Los radicales libres tienen alta reactividad y tendencia a donar oxígeno a otras sustancias blanco, por lo que son considerados oxidantes. Si los radicales libres no son inactivados pueden dañar macromoléculas celulares como el ADN, proteínas y ácidos grasos poliinsaturados encontrados en las membranas plasmáticas u organelos (Abdollahi y Col., 2004). El balance que debe existir en el organismo entre los prooxidantes y los antioxidantes tiene importantes implicaciones para la salud, ya que el estrés oxidativo o la pérdida de este balance ha sido implicado en la fisiopatología de muchas enfermedades como la aterosclerosis, neoplasias, diabetes, Parkinson, enfermedad de Alzheimer, cataratas, enfermedades inflamatorias crónicas del tracto gastrointestinal, asma, entre otras (Groff y Gorpper., 2000).

En sorgo predominan los ácidos hidroxicinámicos, los cuales se encuentran localizados en mayor proporción en las capas más externas del grano (pericarpio). En la Tabla 3, se muestra el contenido de ácidos hidroxicinámicos para diferentes variedades de sorgo, las cantidades pueden variar dependiendo del tipo de sorgo: si es pigmentado o no (blanco, rojo), y si contiene taninos o es libre de taninos. El ácido ferúlico se reporta en la mayoría de las veces como ácido ferúlico libre; sin embargo, está ampliamente documentado que este representa alrededor del 1% del contenido total de este ácido correspondiendo la mayor proporción al ácido ferúlico ligado (97%) y solo aproximadamente un 3% pudiera corresponder al ácido ferúlico conjugado (Faulds y col., 1997.; Anson., y col., 2009).

Tabla 3. Contenido de ácidos hidroxicinámicos (libres y ligados) en diferentes variedades de sorgo

Ácido	Blanco (CS3541)		Amarillo (SC0748)		Rojo (SC0630)		Café (SC0719)	
	Libre	Ligado	Libre	Ligado	Libre	Ligado	Libre	Ligado
Caféico	3.4	22.2	6	44.6	4.1	48	8.7	26.8
p-coumárico	45.7	138.5	109.1	123	13.5	72.5	6.4	79.9
Ferúlico	45.4	297.2	74	213	8.9	95.7	26	91.9

Fuente: Hahn., 1983

Esta situación estructural del ácido ferúlico la presenta, además del sorgo, otros cereales como el trigo o el maíz. Principalmente en lo que se refiere al ácido ferúlico ligado, se sabe que este se encuentra unido a polisacáridos no almidonados (arabinoxilanos) presentes en las capas más externas del grano. Los arabinoxilanos son cadenas de xilosas unidas por enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) a las cuales se les substituyen unidades de arabinosa en enlaces 1 $\alpha$  $\rightarrow$ 2 y 1 $\alpha$  $\rightarrow$ 3 a lo largo de la cadena. Cada determinado número de arabinosas se unen moléculas de ácido ferúlico mediante enlace éster O-5.

Esta disposición estructural del ácido ferúlico pudiera ser menos compleja en cereales como el trigo, donde el número de substituciones de arabinosas es menor comparada con sorgo y maíz que, además de ser más sustituida la cadena de arabinoxilano, presenta también otras sustituciones con otros componentes químicos, tales como la galactosa, por mencionar un ejemplo. Es por ello, que a los arabinoxilanos del sorgo ha dado en llamárseles galactoarabinoxilanos (Figura 2).

## 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; Adom y Liu., 2002). Sin embargo, los ácidos fenólicos ligados covalentemente a polisacáridos de la pared celular (arabinoxilanos) solamente pueden ser absorbidos después de haber sido liberados de las estructuras celulares por enzimas digestivas o por microorganismos en el lumen intestinal (Chandrasekara y Shahidi., 2012; Anson y col., 2009).

La bioaccesibilidad se define como la cantidad del compuesto bioactivo disponible para ser absorbido, por tanto, para que un componente sea biodisponible primero tendría que estar bioaccesible.

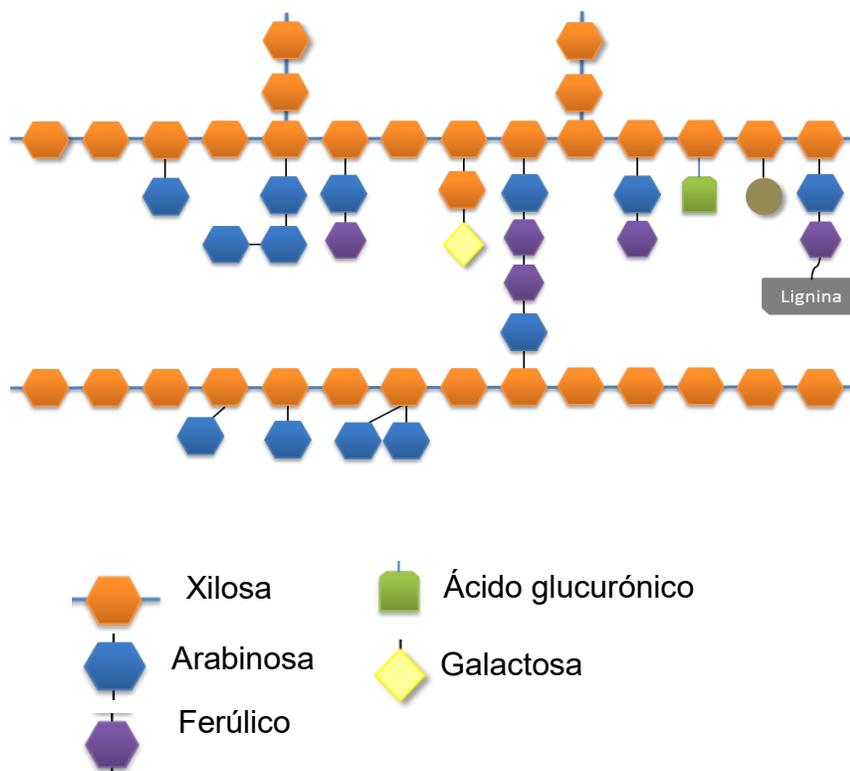


Figura 2. Esquema representativo de una fracción de arabinoxilano con sustituciones de ácido ferúlico. (Salazar., 2016)

En sorgo, la bioaccesibilidad del ácido ferúlico se ve limitada por su disposición estructural en la pared celular del grano. En salvado de trigo la bioaccesibilidad del ácido ferúlico es de alrededor del 1%, mientras que en salvado de sorgo es de 0.50% (Anson y col., 2009), en otros alimentos como las frutas la bioaccesibilidad de los ácidos fenólicos es mucho más alta (90%) pero esto es atribuible a que los compuestos fenólicos en este grupo de alimentos se encuentran mayoritariamente libres.

La complejidad de la matriz alimentaria del grano de sorgo limita en gran medida que su potencial biológico atribuido a ácidos fenólicos no sea aprovechado por las células blanco del organismo. Es posible que durante el proceso de digestión gastrointestinal se presente una mínima liberación de ácidos fenólicos, atribuido a la degradación de la matriz alimenticia por acción de las enzimas digestivas y a las condiciones ácido-alcalinas. No obstante, esta liberación es mínima comparada a la gran proporción que permanecerá ligada como residuo indigestible.

Es relevante tomar en cuenta que el sorgo es un cereal con amplias posibilidades de ser utilizado como alimento funcional dado su alto contenido de nutrientes y de compuestos fenólicos. Sin embargo, previo a su consumo, se requiere de mayor investigación en relación con el establecimiento de condiciones de proceso tanto en harina integral de sorgo como en sus productos y que permitan una mayor liberación de sus componentes bioactivos y que puedan ejercer un efecto benéfico a la salud

### **Métodos Tecnológicos Aplicados en Sorgo para la Liberación de Ácidos Hidroxicinámicos**

Como todos los cereales el sorgo debe de ser procesado antes de su consumo. No existe una limitante que impida que el sorgo pueda ser sometido desde procesos elementales como la molienda del grano para reducción del tamaño de partícula y decorticación para separación del pericarpio del endospermo, hasta procesos tradicionales como remojo, cocción y nixtamalización entre otros.

En los últimos años, las tecnologías emergentes, tales como campos eléctricos pulsados, altas presiones hidrostáticas, radiación, calentamiento óhmico, extrusión, bioprocésamiento (germinación, fermentación y enzimáticos), entre otras; están siendo prometedoras para ser utilizadas en cereales para la obtención de productos con alta calidad nutricional y sensorial. De igual forma, se han venido estudiando estos procesos para el mejoramiento de la bioaccesibilidad y biodisponibilidad en granos enteros de cereales. Las tecnologías aplicadas en sorgo pueden catalogarse dentro del grupo de tecnologías tradicionales, particularmente porque son de bajo costo y requieren de poco tiempo para llevarlas a cabo. La mayoría de los estudios sobre procesamiento del sorgo, han sido con la finalidad de mejorar la digestibilidad de su proteína; además, diversas investigaciones se han enfocado hacia la obtención de productos de consumo tradicional como galletas, tortillas, porridges, bebidas fermentadas entre otros (Zaroug y col., 2014; Dlamini y col., 2007).

Los estudios sobre mejoramiento del potencial biológico en sorgo han sido muy limitados y enfocados en su gran mayoría a evaluar el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante. Se ha observado que la reducción en el tamaño de la partícula (molienda) altera la estructura física de los granos, aumentando su área superficial, lo que potencialmente aumenta la accesibilidad de sus constituyentes químicos (Akillioglu y Karakaya., 2010; Jha y col., 2015).

Los procesos de remojo y cocción del grano de sorgo han mostrado ser efectivos con relación al aumento de compuestos fenólicos, siempre y cuando el agua de remojo no se haya descartado (Wu y col., 2013). El uso de microondas se ha venido estudiando como una manera de mejorar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante; aunque en sorgo no se han reportado estudios utilizando este proceso, se tiene conocimiento de que la utilización de este equipo puede modificar las estructuras de los arabinoxilanos causando la liberación de aproximadamente el 50% del contenido de arabinoxilanos como oligómeros ferulados (Rose y col., 2010).

La extrusión es un proceso termo-mecánico ha sido muy estudiado por su efecto sobre algunos componentes de la matriz alimenticia. Durante la cocción por extrusión, las materias primas se someten a muchas transformaciones químicas y estructurales,

tales como la gelatinización del almidón, la desnaturalización de proteínas, formación de complejos entre la amilosa y los lípidos, y las reacciones de degradación de las vitaminas, pigmentos, etc. (Ilo y col., 1999). Un estudio reciente realizado por Salazar y col., (2017), demostró que el proceso de extrusión en salvado de sorgo puede mejorar el porcentaje de bioaccesibilidad del ácido ferúlico desde un 0.61% para salvado sin procesar hasta un 0.96% para salvado extrudido.

En otro estudio realizado por Ti y col., (2015), 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 Zielinskiy col., (2001), los cuales obtuvieron en su estudio un aumento del contenido de fenoles totales y ácidos hidroxicinámicos (principalmente ácidos ferúlico y *p*-coumárico) en cebada, arroz, avena, trigo y sorgo después de la extrusión a temperaturas de 120, 160 y 200 ° C, con un 20% de humedad; Lo anterior sugiere que el tratamiento térmico de los cereales puede causar la liberación de ácidos fenólicos de las paredes celulares potenciado por las otras condiciones de proceso de extrusión (velocidad de tornillo, temperatura y humedad).

Los tratamientos biológicos (bioprocesamiento) han sido ampliamente estudiados en cereales, especialmente los tratamientos con enzimas, germinación y fermentación; de igual forma, el uso de la enzima ferúlico esterasa en cereales como el trigo (Wang y col., 2014; Coghe y col., 2004; Mathew y col., 2009), esta enzima es específica para romper el enlace éster entre arabinosa ácido ferúlico. El uso de enzimas podría ser un tratamiento muy efectivo en la liberación de ácido ferúlico y por tanto un aumento en la bioaccesibilidad; no obstante, este procedimiento resulta bastante costoso cuando es sugerido a escala industrial.

La germinación ha sido usualmente utilizada para la producción de bebidas a partir de cereales. Varios estudios han mostrado que el proceso de germinación puede incrementar el contenido de compuestos fenólicos extraíbles en granos de cereales (Bondia y col., 2009; Kaukovirta y col., 2004; Liukkonen y col. 2003). Por ejemplo, en granos de centeno germinado a 5, 10 y 25 °C por 6 días mostraron un incremento en el contenido de compuestos fenólicos extraíbles en metanol (Liukkonen y col., 2003), siendo la germinación a 25°C la que resultó con el más alto incremento.

Se ha sugerido que la germinación induce la síntesis/activación de un rango de enzimas hidrolíticas en el grano germinado, resultando en la modificación estructural o síntesis de nuevos compuestos con alta actividad biológica o nutricional. No obstante, aún se requiere de mayores estudios relacionados con las condiciones de proceso de germinación con el fin de obtener el máximo valor biológico y nutricional de los granos germinados.

Existen muy pocos estudios sobre aplicación de germinación en sorgo para fines de mejorar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos. Hithamani y Srinivasan, (2014) evaluaron el contenido de fenoles totales y ácidos fenólicos en sorgo remojado y con la subsecuente germinación, observaron que el contenido de fenoles totales se mantuvo; sin embargo, cuando se analizaron los ácidos fenólicos de manera individual, se presentó un incremento en el contenido de los ácidos protocatéico, salicílico y ferúlico después del germinado, mientras que los ácidos gálico, caféico, siríngico y *p*-coumárico se redujeron de manera significativa.

### **Fermentación en Cereales**

La fermentación de cereales es uno de los procesos biotecnológicos más antiguos. Las primeras civilizaciones usaban la fermentación espontánea, la cual podía ser realizada solo mediante la activación de microorganismos que naturalmente se encuentran en los granos molidos. Recientemente la fermentación de masas de granos enteros de cereales se ha sistematizado mediante el uso de cultivos microbianos.

Los fines principales de la fermentación son el mejoramiento del sabor y la estabilidad de las masas. No obstante, con el desarrollo de la industria de la panificación, se ha venido perfeccionando más el proceso de fermentación con el desarrollo de cultivos microbianos específicos y el control en las variables del proceso de la fermentación, lo que ha impactado en la textura de los productos y al mismo tiempo en lo relacionado con efectos nutricionales (Katina y col., 2005).

Durante la fermentación de los cereales, típicamente hasta 24 horas a temperaturas moderadas, la actividad metabólica de los microorganismos presentes está en interacción con los constituyentes del grano, las bacterias ácido-lácticas (BAL) producen ácido láctico y acético, reduciendo el pH regularmente por debajo de 5 y cuando se hace uso de levaduras, estas producen dióxido de carbono y etanol. Las variaciones en las condiciones de la fermentación contribuyen a la activación de las enzimas presentes y los ajustes de pH selectivamente favorecen el desempeño de ciertas enzimas, tales como amilasas, proteasas, hemicelulasas y fitasas (Katina y col., 2007)

Las enzimas inducen cambios junto con los metabolitos microbianos, llevando a efectos tecnológicos y nutricionales de los cereales fermentados. Así pues, la fermentación de las masas puede influenciar la calidad nutricional, ya sea reduciendo o incrementando los niveles de los componentes y favoreciendo o retardando la biodisponibilidad de nutrientes.

Muchos de los cambios observados en la degradación y solubilización de la fibra dietaria, pueden ser explicados por la contribución de enzimas endógenas, especialmente xilanasas provenientes del mismo grano de cereal o de microorganismos añadidos (Boskov y col., 2002; Katina y col., 2007). Las capas externas de los granos contienen altas concentraciones de arabinoxilanos que pueden ser metabolizados por estas enzimas junto con estos compuestos se encuentran interaccionando fitoquímicos como ácidos fenólicos, alquilresorcinoles, lignanos, fitoesteroles, tocoferoles y folatos (Liukkonen y col., 2003).

La fermentación tiene una influencia sobre la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos en granos de cereales. Se han investigado los cambios de diferentes fitoquímicos, tales como folatos, compuestos fenólicos y alquilresorcinoles en masas fermentadas de granos enteros de centeno usando levadura (Liukkonen y col., 2003). Estos estudios mostraron que la fermentación incrementó dos veces el contenido de fenoles extraíbles. Cantidades más altas de ácidos fenólicos ligados fueron detectados después de la fermentación en grano entero de cebada. Dicho fenómeno ha sido mostrado en otros estudios sobre trigo y centeno fermentado (Anson y col., 2009; Liukkonen y col., 2003).

Un presumible mecanismo para el incremento inducido por fermentación en bioaccesibilidad y biodisponibilidad de compuestos fenólicos en granos de cereales fue que las enzimas degradantes presentes en ambos granos y microorganismos resultó en rompimiento estructural de la matriz de la pared celular lo cual incrementó la accesibilidad de compuestos fenólicos ligados y conjugados al ataque de las enzimas (Dordevic y Dimitrijevic, 2010). Además, la síntesis o transformación de varios compuestos bioactivos pueden ocurrir durante el proceso de fermentación (Katina y col., 2007; Priefert y col., 2001).

El efecto de la fermentación sobre compuestos fenólicos depende principalmente del tipo de grano y especie de microorganismo (Dordevic y col., 2010; Katina y col., 2007) y condiciones de fermentación particularmente tiempo temperatura y pH (Hansen y col., 2002; Katina y col., 2007).

Zaroug y col., (2014) evaluó el efecto de la fermentación y de calentamiento sobre la actividad antioxidante de la masa fermentada y fermentada al horno (masa de *kisra*) preparada a partir de dos tipos de *sorgo*. *Kisra* preparado a partir de sorgo cultivar *Tabat* mostró mayor actividad antioxidante medida como DPPH y FRAP comparada con el cultivar *taco de Ahmed*. El horneado de la masa fermentada causó un efecto variable sobre el contenido de fenoles totales, taninos y flavonoides a través de diferentes períodos de fermentación donde se observó un aumento principalmente para muestras sometidas a periodos de fermentación más largos.

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

Los diferentes tipos de fermentación de la masa de sorgo pueden conducir a efectos diferentes en cuanto al contenido de fenoles y actividad antioxidante en los productos finales, pero además pueden tener un impacto en las características sensoriales de los mismos lo que pudiera repercutir en la aceptación del consumidor.

Diversos estudios han evaluado el potencial antioxidante en masas fermentadas de sorgo (Zaroug y col., 2014), también ha sido evaluado el potencial antioxidante en galletas de harina integral de sorgo (Chiremba y col., 2009) lográndose resultados prometedores en cuanto a mejoramiento de la actividad antioxidante. Se requieren de estudios adicionales que puedan combinar métodos de fermentación y horneados, con el fin de mejorar tanto el potencial antioxidante como las características sensoriales de un producto final como sería la galleta.

Por otra parte, en los últimos años, se ha incrementado la demanda del consumidor por alimentos saludables, lo que ha traído como consecuencia el desarrollo de alimentos a base de cereales altos en fibra y granos enteros. El procesamiento de estos materiales crudos responde al reto con respecto a la calidad sensorial de los alimentos resultantes. Por ejemplo, se ha estudiado que la pre-fermentación de salvado con levadura y bacterias ácido-lácticas mejoran el volumen de la masa y ablandamiento de la corteza durante el almacenamiento (Salmenkallio y col., 2001; Katina y col., 2006).

## METODOLOGÍA

Se utilizó sorgo blanco de la variedad UDG-110 adquirido a través de la Fundación Produce Nayarit A.C. Nayarit, México. El grano de sorgo fue sometido a molienda en un molino de discos pulvex 200 hasta obtener un tamaño de partícula  $<0.5$  mm. La harina integral (HI) fue sometida a dos procesos de fermentación, los cuales se describen a continuación:

### Proceso de Fermentación Natural

Se preparó una masa homogénea con 300 gr de harina integral de sorgo y 300 mL de agua la cual fue colocada en una charola de 20 X 30 cm y puesta en una cabina fermentadora (National Meg.CO. Mod. 505-SS 2/3) a  $36^{\circ}\text{C}$  y 90% de humedad relativa. Se tomaron muestras por triplicado cada 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 y 32 horas y posteriormente congeladas a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Las muestras sometidas a fermentación natural fueron etiquetadas como HFN.

### Fermentación con Levadura

Para la fermentación con levadura de manera similar se utilizó un lote de 300 g de harina integral al cual se le añadieron 300 mL de agua, en la cual previamente fueron disueltos 3 g de levadura panaria *Sacharomices cerevisae* (Marca comercial). La masa obtenida fue colocada en una charola de 20 X 30 cm y puesta en una cabina fermentadora (National Meg.CO. Mod. 505-SS 2/3) a  $36^{\circ}\text{C}$  y 90% de humedad relativa. Se tomaron muestras por triplicado cada 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 y 32 horas y llevadas a congelación a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Las muestras sometidas a fermentación natural fueron etiquetadas como HFL.

Previo al análisis químico de las muestras HFN y HFL las muestras fueron descongeladas y sometidas a un proceso de secado en una estufa de convección (Blue

M, Modelo OV-490A-2) por 24 h a 45°C. Las muestras secas, fueron homogenizadas para tamaño de partícula a <0.5 mm en un molino (Hamilton Beach 80355, USA).

Para fines de comparación fueron consideradas como harinas control sin fermentar las siguientes muestras: harina de trigo integral (marca “Los Gallos”) obtenida del comercio local etiquetada como HC; harina integral de trigo suave proporcionada por el Laboratorio de Reología y Panificación del Departamento de Investigación y Posgrado de la Universidad de Sonora y etiquetada como HTS y harina integral de sorgo etiquetada como HI.

### **Obtención de Extractos Metanólicos**

Para la obtención de extractos metanólicos en las muestras control y harinas fermentadas se siguió la metodología propuesta por Chiremba y col., (2009). En tubos cónicos fueron mezclados 1 gr de muestra y 15 ml de metanol al 80%. Esta mezcla fue sometida a proceso de sonicación a temperatura ambiente por 60 min. Posteriormente las muestras fueron centrifugadas y separado el sobrenadante del residuo por filtración con papel Whatman num. 1. Este procedimiento se repitió dos veces más con volúmenes de 15 ml de metanol y por tiempos de 30 min de sonicación.

Los sobrenadantes obtenidos fueron evaporados en un rotavapor BÜCHI R-100 hasta sequedad y resuspendidos en 5 ml de metanol 50%. Las concentraciones finales de los extractos fueron de 0.2 g/ml. Estos extractos se almacenaron en tubos color ámbar a -15°C. Hasta los análisis que a continuación se describen.

### **Cuantificación de Fenoles Totales**

El contenido de fenoles totales (FT) se determinó siguiendo la técnica propuesta por Singleton y Rosi., (1965), con modificaciones para adaptar el ensayo a un lector de microplaca (FluoStar Omega, BMG Labtech Inc., Ortenberg, Alemania). Se mezclaron 30 µL de cada uno de los extractos metanólicos con 150 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido previamente 1:10 con agua desionizada) en un pocillo de microplaca, añadiendo

120  $\mu$ L de una solución de carbonato sódico (0,075 g / ml), la mezcla fue homogenizada y se dejó reaccionar en la oscuridad durante 30 minutos. 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  $\mu$ g de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra ( $\mu$ gEAG/g).

### **Determinación de Ácidos Hidroxicinámicos**

Los ácidos hidroxicinámicos se identificaron y cuantificaron usando un sistema UHPLC (Agilent Technologies 1260, USA) con un detector de arreglo de diodos (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 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  $\mu$ g / g, de acuerdo a curvas de calibración de estándares de ácido caféico, ácido p-cumárico y ácido ferúlico a concentraciones de (1,5 - 50  $\mu$ g / mL) (Salazar, y col., 2016).

### **Evaluación de la Capacidad Antioxidante**

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

Este ensayo se basa en la capacidad de las moléculas antioxidantes para estabilizar el radical catiónico ABTS, lo que produce un cambio en su coloración que puede cuantificarse espectrofotométricamente (Blancas, y col., 2015). Para la activación del radical, se preparó una solución madre 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 ABTS 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  $0,7 \pm 0,02$  a 734 nm. En microplaca se mezclaron 280  $\mu$ L de la solución de trabajo con 10  $\mu$ L de cada uno de los extractos y se dejó reaccionar durante 5 minutos. Los cambios en la absorbancia se registraron como actividad secuestrante del radical ABTS. Los resultados se expresaron como  $\mu$ mol equivalentes Trolox por gramo de muestra ( $\mu$ mET/g), para lo cual se utilizó una curva de calibración de Trolox.

**Ensayo DPPH.** El ensayo DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidrazil) se realizó de acuerdo con la técnica propuesta por Robles y col., (2009) y modificada para su adaptación a lector microplaca. El ensayo se basa en la capacidad secuestrante del radical DPPH, lo cual se manifiesta en un cambio en la absorbancia a 515 nm. Para este ensayo, se colocaron 20  $\mu$ L de las muestras en un pocillo de microplaca y se añadieron 280  $\mu$ L de una solución metanólica de DPPH (0,025 mg / ml). Las mezclas se incubaron con agitación constante durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, y los cambios en la absorbancia se registraron a 515 nm después de incubación. Para expresar los resultados como  $\mu$ mol equivalentes Trolox por gramo de muestra fue necesario preparar una curva estándar utilizando Trolox como estándar de referencia.

### **Preparación de Galletas de Sorgo**

Para la formulación y elaboración de las galletas de sorgo, fueron consideradas las harinas de sorgo fermentadas, tanto por el proceso natural (HFN) como la inducida por levadura (HFL), tomando en cuenta el tiempo en el cual se obtuvieron los mejores resultados en cuanto al contenido de fenoles totales, ácido ferúlico y capacidad antioxidante.

Para la formulación de las galletas se siguieron las indicaciones propuestas por Chiremba C., y col., (2009) con ligeras modificaciones. En un tazón se mezclaron 150 g de miel natural, 180 g de margarina blanca, 16 g de bicarbonato de sodio, 450 g de harina de sorgo (HFN y HFL) y harinas control (HC, HTS y HI). La margarina, miel y bicarbonato de sodio fueron cremados a velocidad baja por 3 min usando una batidora eléctrica. Los

ingredientes cremados fueron mezclados con la harina hasta obtener una masa homogénea. Sobre una charola de aluminio ligeramente engrasada, la masa fue extendida con un rodillo hasta un espesor de 6 mm y cortada con un molde de galleta de 50 mm de diámetro.

Las galletas fueron etiquetadas de la manera siguiente: GC (galleta formulada con harina comercial), GTS (galleta formulada con harina integral de trigo suave), GHI (galleta formulada con harina integral de sorgo), GFL (galleta formulada con harina integral de sorgo fermentada con levadura) y GFN (galleta formulada con harina integral de sorgo fermentada natural).

Las galletas se prepararon en un horno pre calentado a 180°C por 10 min. Posteriormente, las galletas fueron enfriadas a temperatura ambiente. Par las mediciones físicas de las galletas se separaron lotes de seis galletas, tanto experimentales como controles y el resto fueron almacenadas a -20°C para los análisis posteriores. Para la evaluación sensorial se elaboraron galletas bajo las condiciones descritas anteriormente.

### **Mediciones físicas de las galletas**

Las características físicas de las galletas fueron determinadas por los parámetros siguientes: diámetro de la galleta (D); grosor (G) y la proporción de extensibilidad (D/G), según lo descrito por el método 10-50 D (AACC, 2000). Para la medición del diámetro la galleta se dividió en cuadrantes, tomando las medidas con una regla, el diámetro de esta correspondió al promedio obtenido de cada una de las mediciones. Para la medición de su grosor, fue necesario apilar seis galletas de manera vertical, se tomó la medida de la altura y posteriormente el resultado fue dividido entre seis para obtener el grosor promedio de cada una.

## **Evaluación del Potencial Biológico de las Galletas**

Para la evaluación del potencial biológico de las galletas experimentales y controles se siguió la misma metodología de extracción metanólica y ensayos de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos y capacidad antioxidante descritos anteriormente.

### **Evaluación Sensorial**

Se reclutaron al azar 60 panelistas no entrenados (estudiantes y maestros de la Universidad de Sonora). Las edades de los panelistas estuvieron entre los 23-55 años. El estudio de evaluación sensorial de las galletas se realizó en el laboratorio de análisis sensorial del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la Universidad de Sonora, equipado con una estación computarizada para la evaluación de los atributos sensoriales del alimento (Fizz Sensorial Software). Cinco galletas fueron presentadas a los panelistas en charolas de 16x21 cm etiquetadas de manera aleatoria con los siguientes códigos: 404 (galleta comercial: GC); 330 (galletas trigo suave: GTS); 046 (galleta de harina integral de sorgo sin fermentar: GHI); 867 galleta fermentada natural: GFN) y 583 (galleta fermentada con levadura: GFL).

Se solicitó a los panelistas que calificaran a las galletas por su color, textura, sabor y aceptabilidad general asignando una puntuación basada en una escala hedónica de siete puntos (1: disgusta mucho; 2: disgusta poco; 3: disgusta; 4: indiferente; 5: gusta; 6: gusta poco y 7: gusta mucho). La evaluación se realizó en una sola sesión y cada panelista probó la muestra una sola vez. Se utilizó agua para enjuague de boca entre cada una de las muestras. En la Tabla 4 se muestra la hoja de respuesta de la evaluación sensorial.

Tabla 4. Escala hedónica de atributos sensoriales evaluados en las galletas experimentales (GFN, GFL) y controles (GC, GTS y GHI).

Atributos	disgus- -ta mucho 1	disgus- -ta poco 2	disgus- -ta 3	es indife- -rente 4	gusta 5	gusta poco 6	gusta mu- -cho 7
Atributo	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Color	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Sabor	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Olor	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Apariencia	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Aceptabilidad General	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

## **Análisis Estadístico**

Para establecer el efecto de la aplicación de la fermentación natural y con levadura sobre los parámetros de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos y capacidad antioxidante en harinas experimentales y sus correspondientes galletas, los resultados fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA. Las diferencias entre medias estadísticas fueron determinadas mediante la prueba de Tukey a una  $p < 0.05$ , usando el software estadístico JMP 5.0.1 (USA, SAS Institute, Inc.).

Los resultados de las calificaciones de los atributos sensoriales de las galletas fueron analizados mediante ANOVA y las diferencias entre las medias estadísticas fueron determinadas por la prueba de Tukey a una  $p < 0.05$ . Para este análisis se utilizó el programa FizzSoftware integrado en el equipo de cómputo del Laboratorio de Evaluación de la Calidad Sensorial del DIPA.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de la Fermentación Sobre el Potencial Biológico de la Harina de Sorgo

#### Fenoles Totales (FT)

El objetivo inicial de este estudio fue evaluar el efecto del tiempo de fermentación natural y con levadura de las harinas de sorgo sobre el contenido de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos y capacidad antioxidante. En la Figura 3 se puede observar que la harina fermentada con levadura mostró los valores más altos en contenido de fenoles totales con relación a la harina fermentada natural para cualquier tiempo de fermentación ( $p < 0.05$ ). Se observó que durante los tiempos de fermentación estudiados se presentaron fluctuaciones significativas con respecto al contenido de FT en ambas harinas. La harina fermentada con levadura mostró un incremento significativo en el contenido de FT durante las primeras cuatro horas de fermentación (+22%) posterior a este tiempo se presentaron incrementos graduales hasta alcanzar el máximo contenido de fenoles totales a las 24 horas de fermentación (365.27  $\mu\text{gEAG/g}$ ). En la HFN los valores en el contenido de FT disminuyeron significativamente una vez iniciada la fermentación, no mostrándose incrementos por arriba de los valores iniciales durante todo el tiempo que duró la fermentación.

Los resultados de contenido de FT encontrados en este estudio son menores a los reportados por Zaroug y col., (2014) quienes reportan valores iniciales de contenido de FT en sorgo de 7,230  $\mu\text{gEAG/g}$  y de 11330  $\mu\text{gEAG/g}$  para dos cultivares diferentes de sorgo, y posterior a un periodo de 32 horas de fermentación los valores se incrementaron a 8 440  $\mu\text{gEAG/g}$  (+14%) y 13 760  $\mu\text{gEAG/g}$  (+17%). Dykes y col., 2005 realizaron un estudio con 13 variedades de sorgo, en las variedades sin pericarpio pigmentado se encontraron valores más cercanos a los obtenidos en nuestra investigación (~1000  $\mu\text{gEAG/g}$ ). Los estudios demuestran que el cultivar de sorgo y métodos de extracción pueden influir de manera significativa en la cuantificación de fenoles totales.

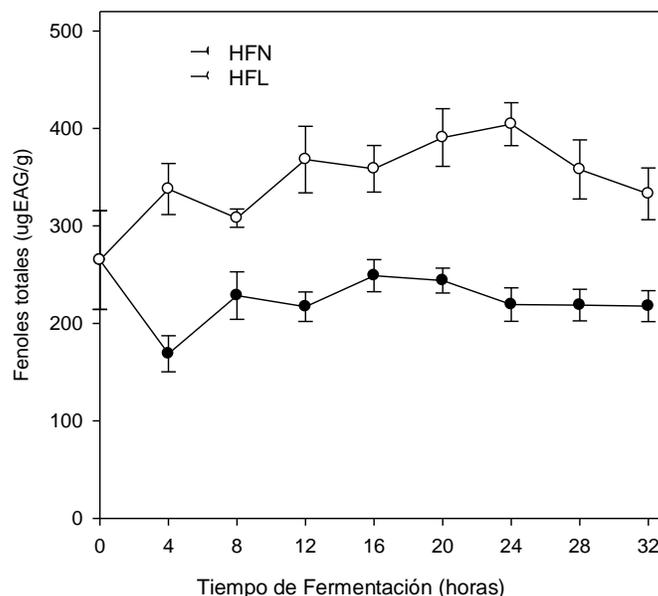


Figura 3. Efecto del tiempo de fermentación de harina integral de sorgo fermentada natural (HFN) y levadura (HFL) sobre el contenido de fenoles totales ( $\mu\text{gEAG/g}$ ).

### Actividad Antioxidante

En la Figura 4, se muestra la capacidad antioxidante de las harinas fermentadas determinada por los ensayos de TEAC y DPPH. En ambos ensayos se presentaron comportamientos similares a los mostrados para contenido de fenoles totales, de tal forma que se presentaron cambios significativos las primeras cuatro horas de fermentación con levadura mostrándose incrementos de la capacidad antioxidante del 28% y 37% para DPPH y TEAC respectivamente. Posterior a este tiempo no se presentaron cambios importantes en la capacidad antioxidante presentándose fluctuaciones no significativas. La harina de sorgo fermentada natural mostró una ligera reducción en la capacidad antioxidante las primeras cuatro horas para posteriormente mantenerse sin cambios importante a lo largo del proceso de fermentación.

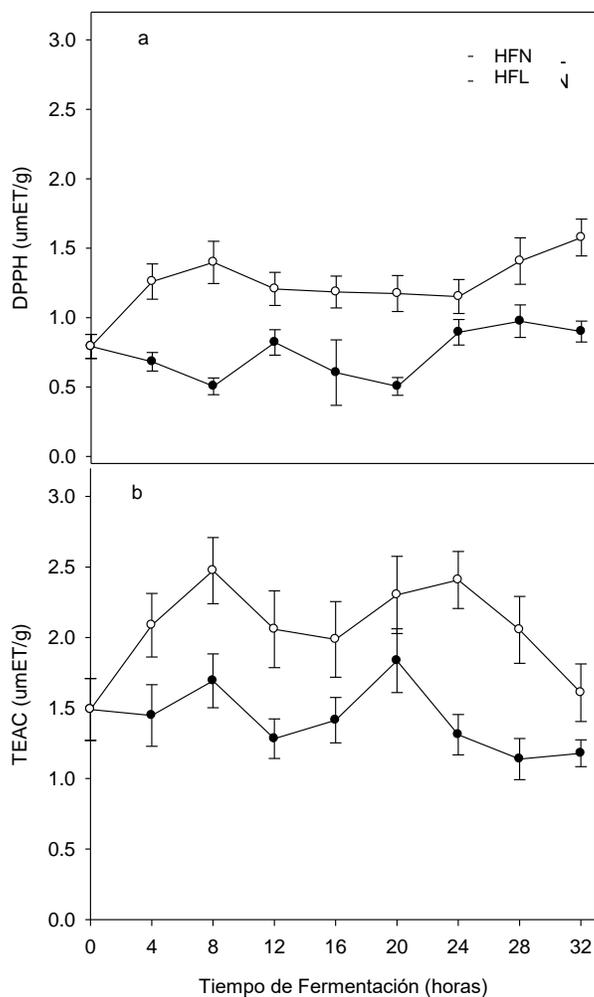


Figura 4. Actividad antioxidante de harina integral de sorgo fermentado natural (HFN) y levadura (HFL) por los ensayos (a) DPPH y (b) TEAC.

### Ácidos Hidroxicinámicos

En la Figura 5 se muestra el efecto del tiempo de fermentación (0-32 horas) de harina integral de sorgo (natural y con levadura) sobre el contenido de ácidos hidroxicinámicos (caféico, *p*-coumárico y ferúlico). En relación a los tiempos de fermentación evaluados,

se observó que en ambas harinas fermentadas, natural y con levadura el ácido caféico no mostró cambios significativos en su contenido para ninguno de los tiempos de fermentación fermentación manteniéndose con valores similares.

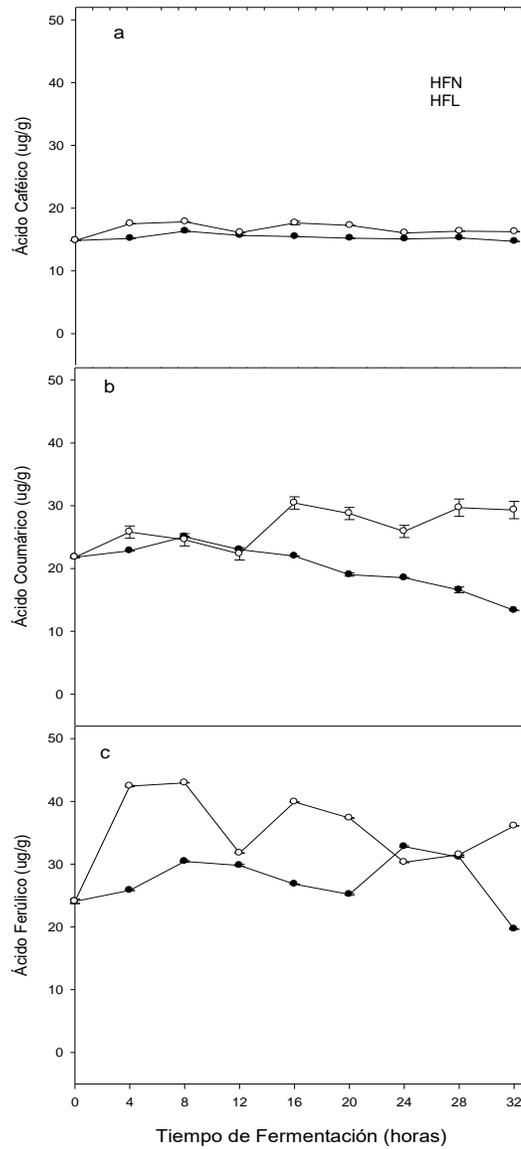


Figura 5. Efecto del tiempo de fermentación de harina integral de sorgo (fermentada natural y levadura) sobre el contenido de ácidos hidroxicinámicos (µg/g). (a) caféico, (b) p-coumárico, (c) ferúlico.

Para el ácido p-coumárico se observó un cambio importante en su contenido después de 16 horas de fermentación (+28%), mientras que para ácido ferúlico a las cuatro y ocho horas de fermentación se observó un incremento de aproximadamente el 43%, posterior a este tiempo el contenido de este ácido mostró fluctuaciones sin alcanzar valores similares a las primeras horas de fermentación.

Estos resultados demuestran que la fermentación de harina integral de sorgo utilizando levadura mejoró el contenido de fenoles totales, actividad antioxidante y ácidos p-coumárico y ferúlico comparada con harina integral de sorgo fermentada de manera natural. En un estudio en granos de teff se investigó el contenido de compuestos fenólicos durante el proceso de fermentación tradicional de un tipo de panque fermentado (injera), se observó que el ácido ferúlico y p-coumarico fueron predominantes en los extractos fenólicos en sus fases libres y ligadas (Shumoy., 2017). En otro estudio en cebada malteada se encontró que el ácido ferúlico fue el componente fenólico predominante en extractos de fenoles ligados (Shumoy y Raes., 2016; Dvorakova y col, 2008). Resultados similares se encontraron en harinas de sorgo blanco y rojo fermentadas con bacterias acidolácticas (Svensson., 2010).

De acuerdo a los resultados anteriores es posible asumir que el tiempo de cuatro horas de fermentación con levadura resultó ser el mínimo tiempo requerido para promover el mayor incremento de compuestos fenólicos, ácido ferúlico y capacidad antioxidante comparado con la harina de sorgo, fermentada natural. De tal manera que este tiempo de fermentación en las harinas integrales de sorgo tanto para la fermentación natural como la llevada a cabo con levadura, se consideró para la elaboración de las galletas experimentales.

Para fines de comparación de las harinas fermentadas con otras harinas que comúnmente se utilizan para la elaboración de galletas, se llevaron a cabo análisis de compuestos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos y capacidad antioxidante. Los resultados se muestran en la Tabla 5 en la que se observa que la harina comercial (HC) y fermentada con levadura (HFL) presentaron los contenidos más altos de fenoles totales, seguido por harina de trigo suave (HTS), harina de sorgo sin fermentar (HI) y finalmente la harina

integral fermentada natural (HFN) la cual mostró el más bajo contenido de FT (147.61±16.00).

Tabla 5. Contenido de fenoles totales (FT) y ácidos hidroxicinámicos de harinas de sorgo y harinas control utilizadas para la elaboración de galletas experimentales <sup>2</sup>

Harina	FT <sup>1</sup>	Ácido Caféico <sup>1</sup>	Ácido Coumárico <sup>1</sup>	Ácido Ferúlico <sup>1</sup>
	µgEAG/g		µg/g	
HC	299.37±12.65 <sup>a</sup>	16.90±0.43 <sup>a</sup>	13.89±0.30 <sup>c</sup>	40.15±0.60 <sup>b</sup>
HTS	261.25±10.32 <sup>b</sup>	14.72±0.20 <sup>b</sup>	15.18±1.20 <sup>c</sup>	18.54±0.39 <sup>c</sup>
HI	276.18±23.67 <sup>b</sup>	14.83±0.02 <sup>b</sup>	21.80±0.70 <sup>b</sup>	24.07±0.33 <sup>d</sup>
HFL <sup>2</sup>	294.50±28.79 <sup>a</sup>	17.51±0.10 <sup>a</sup>	25.79±0.06 <sup>a</sup>	42.44±0.14 <sup>a</sup>
HFN <sup>2</sup>	147.60±16.00 <sup>c</sup>	15.17±0.008 <sup>b</sup>	22.83±0.004 <sup>b</sup>	25.83±0.07 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Valores corresponden a la media±desviación estándar. Valores con letras diferentes en cada columna son diferentes estadísticamente (p<0.05). Harinas de sorgo fermentadas cuatro horas.

Respecto a la actividad antioxidante determinada en las harinas por los ensayos de DPPH y TEAC, se observó que la harina fermentada con levadura mostró la mayor actividad antioxidante similar a la mostrada para harina comercial, tanto la harina de sorgo sin fermentar como la fermentada natural y la harina de trigo suave mostraron los valores más bajos de actividad antioxidante sin mostrar cambios significativos entre ellas (Figura 6).

Es importante resaltar que la medición de actividad antioxidante en alimentos es un indicador de los compuestos químicos que presentan capacidad de secuestrar un radical libre, en este caso el radical ABTS y DPPH. Estos compuestos pueden ser de distinta naturaleza química como fenoles, aminoácidos, algunas proteínas, carotenos, vitaminas, entre otros; de aquí la importancia de cuantificar de manera específica

compuestos químicos de interés con actividad antioxidante y que estén reportados para harina.

Siguiendo el procedimiento de formulación de las galletas propuesto por Chiremba y col., (2012), se obtuvieron cinco galletas experimentales: dos elaboradas a partir de harina integral de sorgo (GFN: fermentada natural y GFL: fermentada con levadura) y tres consideradas como control (GC: harina integral comercial; GTS: harina integral de trigo suave y GHI: galleta de harina integral de sorgo sin fermentar).

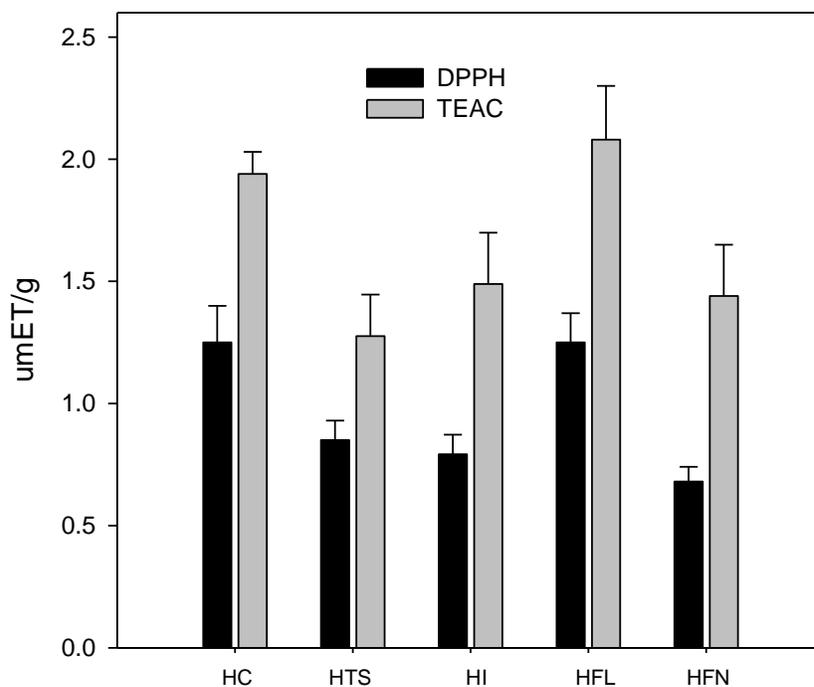


Figura 6. Actividad antioxidante de las harinas utilizadas para la elaboración de las galletas. HC: Harina integral de trigo comercial; HTS: Harina integral de trigo suave; HI: Harina integral de sorgo sin fermentar; HFL: Harina integral de sorgo fermentada con levadura/4 hrs; HFN: Harina integral de sorgo fermentada natural/4 hrs.

## Potencial Biológico y Calidad Sensorial de las Galletas Experimentales

### Características Físicas de las Galletas

En la Tabla 6 se muestran algunas de las características físicas evaluadas en las galletas, se puede observar que el diámetro de las galletas de las diferentes harinas no mostró cambios importantes a excepción de la galleta GTS la cual mostró el diámetro más alto ( $52.5 \pm 0.98$  mm); además, se observó que el diámetro no mostró una asociación con el grosor o altura de las galletas.

La galleta GFL presentó el valor más alto de grosor ( $8.16 \pm 0.23$  mm). La proporción de extensibilidad indica el diámetro requerido para incrementar 1 mm de grosor de la galleta de tal manera que la GFN requiere extenderse en una proporción de 7.43:1 mm a diferencia de la GFL que requiere extenderse en una proporción de 6.00:1 mm. Las galletas que no se sometieron a ningún tipo de fermentación (GC, GTS y GHI) presentaron valores similares de proporción de extensibilidad

Tabla 6. Características físicas de las galletas de sorgo y galletas control<sup>1,2</sup>.

Galleta	Diámetro (D) (mm)	Grosor (G)	Proporción
			Extensibilidad <sup>1</sup>
GC	$49.83 \pm 0.40$	$7.45 \pm 0.16$	6.71
GTS	$52.5 \pm 0.98$	$7.49 \pm 0.23$	6.93
GS	$48.5 \pm 0.83$	$7.83 \pm 0.24$	6.19
GFL	$49.33 \pm 0.51$	$8.16 \pm 0.23$	6.00
GFN	$49.83 \pm 0.75$	$6.66 \pm 0.01$	7.43

<sup>1</sup>Los valores corresponden al promedio  $\pm$  desviación estándar.

<sup>2</sup>Valores con diferentes letras en la misma columna son diferentes a  $p < 0.05$ .

<sup>3</sup>Proporción de extensibilidad = diámetro/grosor.

Un valor alto de proporción de extensibilidad puede significar una mayor densidad de la galleta, y por lo tanto una menor resistencia a la fractura (“quebradiza”) de tal manera que aun cuando no se midió fuerza de fractura de las galletas es posible asumir que las galletas con mayor densidad y menor resistencia a la fractura estuvieron en el siguiente orden GFN>GTS>GC>GHI>GFL. Estos resultados pueden estar asociados a la composición química de la harina utilizada para la elaboración de las galletas.

En la Tabla 7 se muestra el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante para cada una las cinco galletas elaboradas con las diferentes harinas. Es importante resaltar que el contenido de fenoles totales en todas las galletas se incrementó de manera notable respecto a sus correspondientes harinas.

Tabla 7. Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en galletas experimentales

Muestra	Fenoles totales	TEAC	DPPH
	µgEAG/g	µmET/g	µmET/g
GC	958.14±60.7 <sup>a</sup>	793.53±27.5 <sup>a</sup>	2100.38±110.9 <sup>b</sup>
GTS	806.72±83.3 <sup>b</sup>	719.62±177.3 <sup>ab</sup>	2125.23±70.6 <sup>b</sup>
GH	887.50±42.5 <sup>ab</sup>	733.30±27.7 <sup>ab</sup>	2355.81±123.8 <sup>a</sup>
GFL	952.16±40.5 <sup>a</sup>	718.85±114.5 <sup>ab</sup>	1885.04±84.7 <sup>c</sup>
GFN	796.43±67.7 <sup>b</sup>	605.94±25.6 <sup>b</sup>	2023.85±179.0 <sup>bc</sup>

<sup>1</sup>Los valores corresponden al promedio de tres repeticiones (media±desviación estándar).

<sup>2</sup>Letras diferentes dentro de una misma columna son estadísticamente significativos (p<0.05). <sup>3</sup>Abreviaturas: GC: galleta comercial; GST: galleta trigo suave; GHIS: galleta harina de sorgo; GFL: galleta fermentada levadura; GFN: galleta fermentada natural.

Lo anterior se atribuye principalmente a que para la formulación de las galletas se utilizaron ingredientes como miel, mantequilla, azúcar que pudieron haber contribuido a dicho incremento, pero además es importante mencionar que el proceso de horneado

pudo también haber contribuido ya que es conocido que las condiciones térmicas y contenido de proteínas en las harinas promueven las reacciones de maillard con la consecuente producción de compuestos fenólicos (Chiremba y col. 2009; Dicko y col., 2005). De las cinco galletas evaluadas se observó que el mayor contenido de fenoles totales correspondió a las galletas GC y GFL con valores de  $958.14 \pm 60.7 \mu\text{gEAG/g}$  y  $952.16 \pm 40.5 \mu\text{gEAG/g}$  respectivamente. Las galletas GFN mostraron los valores más bajos de contenido de fenoles totales ( $796.43 \mu\text{gEAG/g}$ ).

La actividad antioxidante en las galletas mostró resultados hasta cierto punto consistentes con el contenido de fenoles totales, en donde los valores más altos para actividad antioxidante medida como DPPH fueron para las galletas GC ( $793.53 \pm 27.8 \mu\text{mET/g}$ ;  $p < 0.05$ ), mientras que valores altos también se observaron en las GFL ( $718.85 \mu\text{mET/g}$ ;  $p > 0.05$ ). El mismo ensayo demostró que las galletas elaboradas con harina fermentada natural (GFN) mostraron los valores más bajos de actividad antioxidante ( $605.9 \mu\text{mET/g}$ ;  $p < 0.05$ ).

Tanto el contenido de fenoles totales como de actividad antioxidante en las galletas se vio incrementado de manera considerable con respecto a sus correspondientes harinas, es importante mencionar que las galletas de sorgo (GS, GFN y GFL) todas contenían 56% de harina de sorgo, el resto de los componentes estuvo distribuido de la siguiente manera: miel (19%), mantequilla blanca (22%) y bicarbonato de sodio (2%), es posible asumir entonces que gran parte de estos valores obtenidos para fenoles totales y actividad antioxidante se atribuyen a los componentes que pueden estar presentes en estos ingredientes, además de la contribución del proceso térmico.

La cuantificación de los ácidos fenólicos de mayor importancia en la harina de sorgo, (ácido caféico, ácido *p*-coumárico y ácido ferúlico) demostró que estos compuestos se incrementaron notablemente en todas las galletas respecto a sus correspondientes harinas (Figura 7). El ácido *p*-coumárico se presentó en mayor concentración en GC y GTS, mientras que el ácido ferúlico mostró los valores más altos en GHI, GFN y GFL. De estas últimas tres galletas se encontró que las GFL presentaron los valores más altos de ácido ferúlico ( $166.84 \pm 19.29 \mu\text{g/g}$ ), seguido por GFN ( $154.23 \pm 3.77 \mu\text{g/g}$ ) y al final GHI ( $105.82 \pm 15.76 \mu\text{g/g}$ ) estos valores se incrementaron

6.45, 3.63 y 4.36 veces respectivamente con respecto a los valores encontrados en sus correspondientes harinas.

Evidentemente la adición de harina de sorgo a la formulación de la harina para la preparación de las galletas promovió un incremento en el contenido de ácido ferúlico, pero además el proceso de fermentación de la harina usando levadura para pan y el proceso de horneado contribuyeron al incremento de este compuesto en las galletas, este efecto también se presentó en el estudio realizado por Chiremba y col, (2009), ya que el efecto de horneado elevó el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante pero los resultados fueron menores a los de este estudio, esto pudiera deberse por las harinas usadas, ya que se decortican y es sabido que el proceso de decorticación elimina sucesivamente el salvado, que tiene una alta concentración de compuestos fenólicos (Awika y col, 2005).

### **Evaluación Sensorial de las Galletas Experimentales**

Los resultados del análisis sensorial en las cinco galletas formuladas con las harinas de sorgo se muestran en la Tabla 8. Los valores de la escala hedónica se colocaron en forma ascendente (1 correspondió al término hedónico “disgusta mucho” y 7 correspondió al término “gusta mucho”). Una calificación satisfactoria sensorialmente hablando correspondería al valor >4 (que es cuando el panelista califica como el valor mínimo de aceptación). Los valores presentados en la Tabla 8 representan el promedio de las calificaciones determinadas por los panelistas para cada uno de los atributos evaluados.

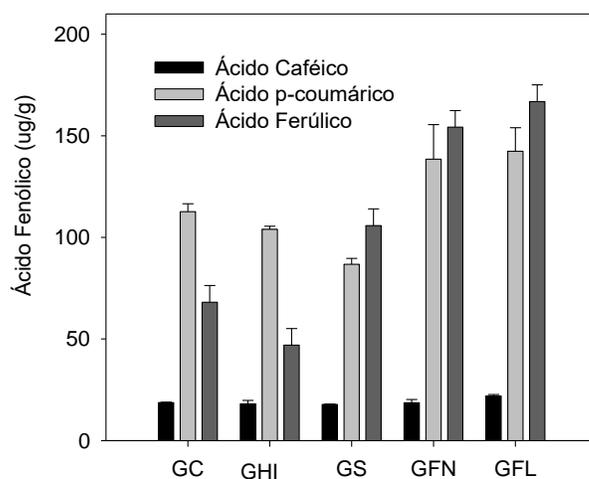


Figura 7. Contenido de ácidos hidroxicinámicos ( $\mu\text{g/g}$ ). (a) caféico, (b) p-coumárico y (c) ferúlico en galletas experimentales formuladas con harina fermentada de sorgo comparadas con harinas control.

Tabla 8. Calificación promedio de aceptación relacionada con atributos sensoriales en galletas formuladas con diferentes harinas.

	Sabor	Color	Olor	Textura	Apariencia	Aceptabilidad General
GC	5.38 <sup>a</sup>	5.25 <sup>b</sup>	5.40 <sup>a</sup>	5.33 <sup>b</sup>	5.30 <sup>b</sup>	5.07 <sup>c</sup>
GTS	5.40 <sup>a</sup>	6.17 <sup>a</sup>	5.85 <sup>a</sup>	5.85 <sup>a</sup>	6.23 <sup>a</sup>	5.20 <sup>a</sup>
GHI	4.33 <sup>b</sup>	5.53 <sup>c</sup>	4.70 <sup>a</sup>	4.70 <sup>c</sup>	5.53 <sup>b</sup>	4.77 <sup>b</sup>
GFL	2.38 <sup>c</sup>	4.12 <sup>c</sup>	3.13 <sup>c</sup>	3.28 <sup>d</sup>	4.33 <sup>c</sup>	2.58 <sup>c</sup>
GFN	2.77 <sup>c</sup>	4.40 <sup>c</sup>	3.77 <sup>b</sup>	3.63 <sup>d</sup>	4.65 <sup>c</sup>	3.05 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Los valores corresponden al promedio  $\pm$  desviación estándar (n=60). <sup>2</sup>Letras diferentes dentro de una misma columna son estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Abreviaturas: GC: galleta comercial; GTS: galleta trigo suave; GHI: galleta harina integral de sorgo; GFL: galleta fermentada levadura; GFN: galleta fermentada natural.

De manera general es posible observar que para ninguna de las galletas estudiadas se alcanzó el máximo grado de aceptación de los atributos sensoriales evaluados (valor promedio = 7). Por otra parte, las galletas formuladas con harina comercial y harina de trigo suave demostraron la aceptación satisfactoria para la mayoría todos los atributos evaluados, considerando que la mayoría de los registros promedio estuvieron  $> 4$ .

Las galletas formuladas con HTS mostraron ser de mayor agrado para los panelistas específicamente los atributos de color, textura, apariencia y aceptabilidad ( $p < 0.05$ ) Mientras que los atributos de sabor y olor no se presentaron diferencias estadísticas en cuanto al nivel de satisfacción general respecto a la GC ( $p > 0.05$ ).

Respecto a las galletas formuladas con harina de sorgo (GHI, GFN y GFL), se encontró que la GHI fue calificada como satisfactoria en todos los parámetros estudiados (valores promedio  $> 4$ ) encontrándose por debajo del nivel de aceptación de la GC y seguido por GTS. Las GFN y GFL solamente fueron calificadas como satisfactorias en los atributos de color y apariencia con valores promedio menores a los obtenidos para GHI ( $p < 0.05$ ). Estos resultados fueron determinantes para que los panelistas calificaran la aceptabilidad general de la galleta como no satisfactoria. En la Figura 8 se muestran las galletas obtenidas a partir de cada una de las harinas y utilizadas para la evaluación sensorial.

Resultados diferentes a los encontrados en este estudio fueron reportados por Chiremba, y col. (2009), quienes evaluaron la calidad sensorial de galletas elaboradas con distintos cultivares de sorgo y a distintas proporciones de extracción de harina, ellos encontraron una buena aceptación comparada con galleta de harina de trigo, no obstante es importante resaltar que en este estudio las harinas de sorgo utilizadas contenían un porcentaje muy bajo de salvado comparada con las harinas integrales utilizadas en nuestro estudio y que se reflejó en un incremento importante en el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante. Por otra parte, se asume que el proceso de fermentación en nuestras harinas provocó la producción de olores y sabores en las galletas que no fueron aceptados por el panelista.

En la Figura 8 se muestra puntuación acumulada de los panelistas expresados en porcentajes que calificaron con valores menores a cuatro, es decir los que evaluaron negativamente a las galletas. Es posible observar que el sabor de las galletas fermentadas natural y con levadura no fue del gusto de los panelistas (>50%). Mientras que el olor y la textura fue rechazada por más del 50% de los panelistas y solo para las galletas fermentadas con levadura, estas calificaciones influyeron significativamente en la aceptabilidad general en donde el sabor fue el atributo predominante para la obtención de este resultado.

De la misma manera En la Figura 9, se muestra la puntuación acumulada de los panelistas que calificaron con valores > cuatro, es decir los que calificaron positivamente a las galletas. Se observó que más del 50% de los panelistas aprobaron las galletas formuladas con harina integral comercial (GC) y harina integral de trigo suave (GTS) y harina integral de sorgo (GHI) en todos los atributos evaluados. Porcentajes menores a 50% se encontraron para las galletas formuladas con harina integral fermentada natural y con levadura (GFN y GFL).

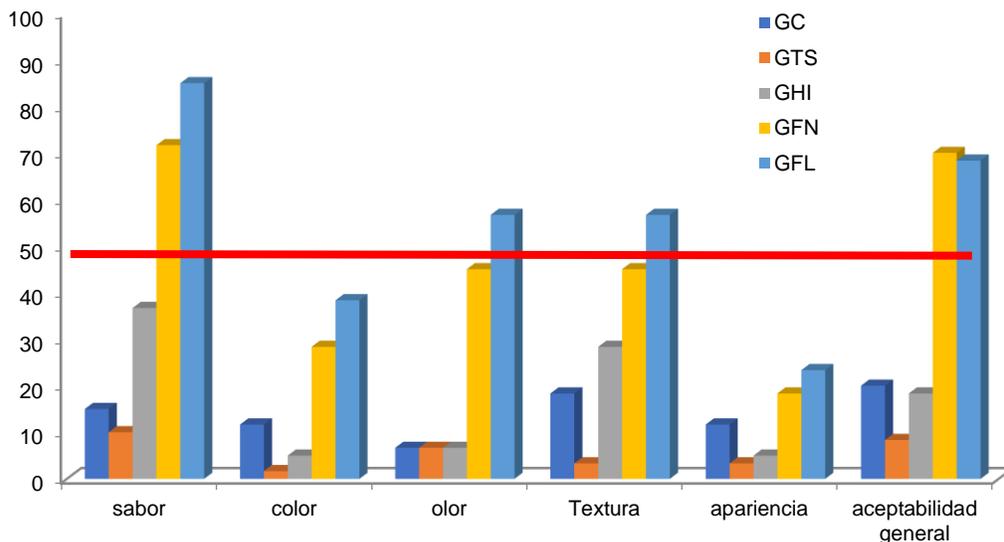


Figura 8. Porcentaje de panelistas que respondieron con valores <4 (es indiferente). Las barras corresponden a los puntajes acumulados de 1 (me disgusta mucho); 2 (me disgusta poco); 3 (me disgusta).

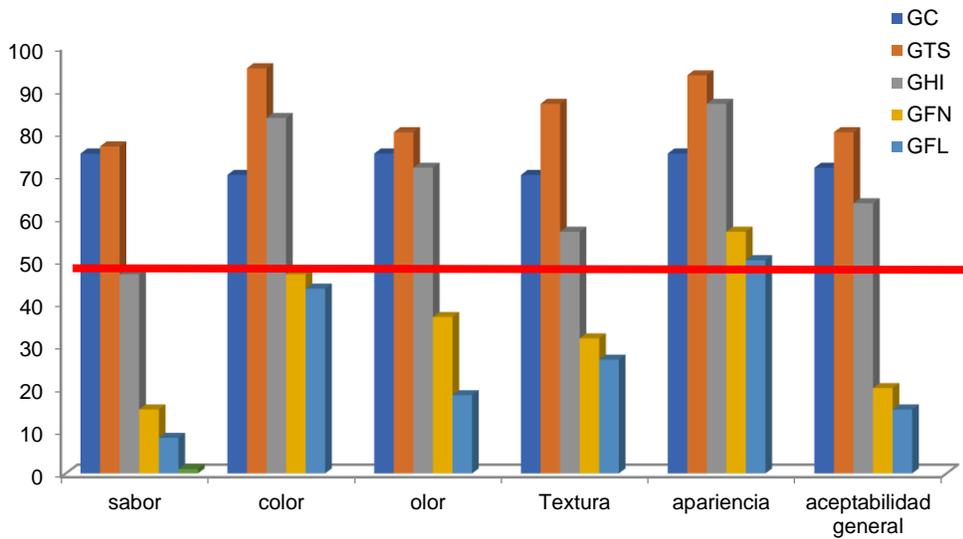


Figura 9. Porcentaje de panelistas que respondieron con valores >4 (es indiferente). Las barras corresponden a los puntajes acumulados de 7 (me gusta mucho); 6 (me gusta poco); 5 (me gusta).

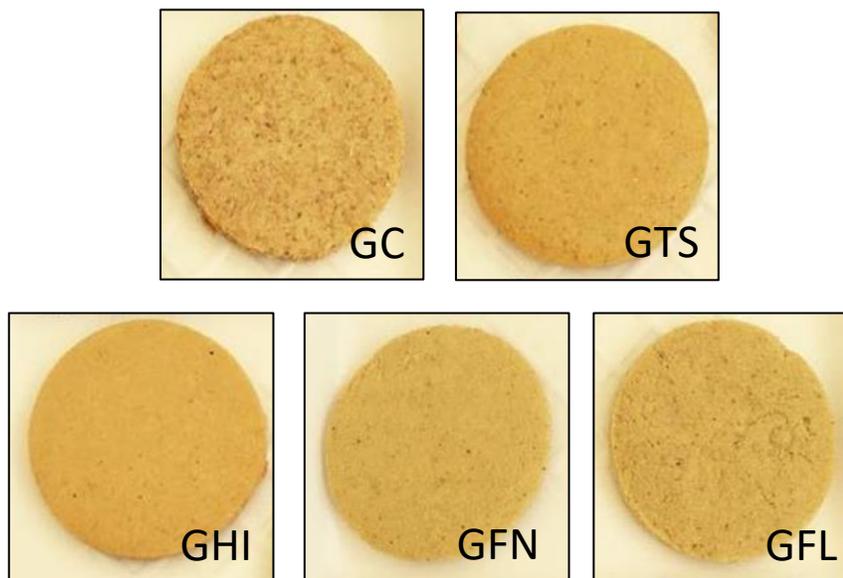


Figura 10. Galletas elaboradas con harinas de sorgo. GTC: harina integral de trigo comercial; GTS: harina integral de trigo suave; GHI: harina integral de sorgo sin fermentar; GFN: harina integral de sorgo fermentada natural; GFL: harina integral de sorgo fermentada con levadura.

## CONCLUSIONES

1. El uso de levadura panaria para fermentar harina integral de sorgo promueve el incremento de fenoles totales, potencial antioxidante y ácido ferúlico con respecto a la harina sin fermentar y a la fermentada de manera natural.
2. Galletas formuladas con harina integral de sorgo fermentada con levadura presentan un mayor contenido de fenoles totales, actividad antioxidante y ácido ferúlico.
3. El proceso de fermentación con levadura en la harina integral de sorgo afectó de manera significativa los atributos de olor, sabor y textura, repercutiendo en su aceptabilidad general.
4. El proceso de fermentación en un producto como galletas puede traer un gran impacto en el desarrollo de nuevos métodos para el procesamiento de alimentos enfocados hacia el mejoramiento de su potencial biológico.
5. Las galletas fermentadas con levadura podrían aportar beneficios en la salud debido a su alta actividad antioxidante, siempre y cuando sus propiedades sensoriales puedan ser mejoradas.
6. En México no existen reportes recientes de estudios sobre desarrollo tecnológico de este tipo de alimentos, por lo que los resultados derivados del presente trabajo ser referentes de nuevas investigaciones.

## RECOMENDACIONES

En primera instancia se recomienda llevar a cabo estudios de fermentación de harina integral de sorgo, particularmente a tiempos menores a cuatro horas con el fin de disminuir los efectos en la calidad sensorial de las galletas.

Asimismo, es importante conocer el comportamiento de las fracciones de compuestos fenólicos presentes en sorgo (fracción ligada, conjugada y libre) durante el proceso de fermentación.

Realizar estudios de absorción *in vitro* de las galletas formuladas con harina integral de sorgo con el fin de estimar el potencial biológico de compuestos fenólicos bioaccesibles en el tracto gastrointestinal.

Dada la importancia comercial que tiene la producción de sorgo blanco a nivel mundial y nacional, es necesario llevar a cabo estudios encaminados hacia la producción de alimentos funcionales derivados de este cereal.

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Adams, C.A., Novellie, L. y Liebenberg, N.V.D.W. (1976). Biochemical properties and ultrastructure of protein bodies isolated from selected cereals. *Cereal Chemistry*, 53(2), 1-12.
- Akillioglu, H. G., y 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 Science and Biotechnology*, 19(3), 633-639.
- Anson, N. M., van den Berg, R., Havenaar, R., Bast, A., y Haenen, G. R. (2009). Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science*, 49(2), 296-300.
- Awika, J. M., y Rooney, L. W. (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65(9), 1199-1221.
- Bartolome, B., Faulds, C. B., Kroon, P. A., Waldron, K., Gilbert, H.J., Hazlewood, G., y Williamson, G. (1997). An *Aspergillus niger* esterase (ferulic acid esterase III) and a recombinant *Pseudomonas fluorescens* subsp. *cellulosa* esterase (Xy1D) release a 5-5'ferulic dehydrodimer (diferulic acid) from barley and wheat cell walls. *Applied and environmental microbiology*, 63(1), 208-212.
- Blancas, B.F.J., Mercado M.G., Quirós, S.A.E., Montalvo, G. E., González, A.G.A., y Sáyago, A.S.G. (2015). Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and in vitro kinetics release of polyphenols in Mexican 'Ataulfo' mango (*Mangifera indica* L.) by-products. *Food y function*, 6(3), 859-868.
- Blancas, F.G., Almanza, P.J.C., López, R.R.I., Alarcón, A.F.J., García, M.R., y Cruz, M. (2010). La obesidad como un proceso inflamatorio. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 67(2), 88-97.
- Bondia, P.I., Aura, A.M., Vuorela, S., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., y Poutanen, K.

- (2009). Rye phenolics in nutrition and health. *Journal of cereal science*, 49(3), 323-336.
- Bowyer, S., Berghöfer, T. W., y Korpela, E. J. (1999). Extreme-Ultraviolet Emission in Abell 1795, Abell 2199, and the Coma Cluster. *The Astrophysical Journal*, 526(2), 592.
- Castillo, G.A., Arocha M.C., Armas R.N.B., Castillo A.I., Cueto C.M. E., y Herrera G.M.L. (2008). Calidad de vida relacionada con la salud en personas con enfermedades crónicas degenerativas. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, 27(4), 1.
- Catenacci, H.J., y Wyatt H.R. (2009). The obesity epidemic. *Clinics in Chest Medicine*, 30(3), 415-444.
- Chandrasekara, A., y Shahidi, F. (2012). Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated in vitro digestion and microbial fermentation. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 226-237.
- Chandrasekher, G. y Pattabiraman, T.N. (1982). Natural plant enzyme inhibitors: isolation and characterization of two trypsin inhibitors from bajra (*Pennisetum typhoides*). *Indian Journal BiochemBiophys.*, 19(1), 1-7.
- Chandrashekar, A. y Desikachar, H.S.R. (1986) Sorghum quality studies Part 11. Suitability for making dumpling (mudde). *Journal of Food Science and Technology*. 23(1), 7-10.
- Chiremba, C., Taylor, J. R., y Duodu, K. G. (2009). Phenolic content, antioxidant activity, and consumer acceptability of sorghum cookies. *Cereal chemistry*, 86(5), 590-594.
- Coghe, S., Benoot, K., Delvaux, F., Vanderhaegen, B., y Delvaux, F.R. (2004). Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: Indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52(3), 602-608.

- Córdova, V.J.Á., Barriguete, M.J. A., Lara, E.A., Barquera, S., Rosas, P.M., Hernández, A.M. y Aguilar, S.C.A. (2008). Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud pública de México*, 50(5), 419-427.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., y Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., van Berkel, W. J., y Voragen, A. G. (2005). Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2581-2588.
- Dlamini, N.R., Taylor, J.R., y Rooney, L.W. (2007). The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. *Food Chemistry*, 105(4), 1412-1419.
- Dorđević, T.M., Šiler M.S.S., y Dimitrijević, B.S.I. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, 119(3), 957-963.
- Dykes L., Rooney L. W., Waniska, R. D., y Rooney, W.L. (2005). Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6813-6818.
- Dykes, L., y Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 236-251.
- Elkhalifa, A.E.O., Schiffler, B., y Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry*, 92(1), 1-5.
- 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: 13 de septiembre 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., y Rémésy, C. (2008). Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. *Journal of Cereal Science*, 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\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200640/Panorama_Agroalimentario_Sorgo_2016.pdf). (Fecha de acceso: 19 de Mayo de 2017).

Freidin, M.B., Lauc, G., Allegri, M., Primorac, D., y Williams, F. M. (2016). Using omics in chronic pain conditions to delineate mechanisms and provide new therapeutic strategies. *Future Medicine*, 6(3), 211-215.

García, C.M.N., y Pons, G.H. E. (2014). Dieta e inflamación. *In Anales Venezolanos de Nutrición*, Fundación Bengoa, 27(1), 47-56

González R.R., Cardentey, G.J., y Casanova, M.D.L.C. (2015). Intervención sobre educación nutricional en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 19(3), 262-270.

Groff, J. L., y Gropper, S. S. (2000). The digestive system: mechanism for nourishing the body. *Advanced nutrition and human metabolism. Wadsworth Thomson Learning*, 3,24-52.

Hahn, D. H., Faubion, J. M., y Rooney, L. W. (1983). Sorghum phenolic acids, their high-performance liquid chromatography separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chemistry*, 60(4), 255-259.

- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., y Törrönen, A. R. (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6), 2274-2279.
- Hansen, E. B. (2002). Commercial bacterial starter cultures for fermented foods of the future. *International journal of food microbiology*, 78(1), 119-131.
- Hernández, E.N., Reyes, R.M., González, J.F.E., Núñez, B. L. C., y Cooper, B.B.L. (2015). Importancia de las proteínas de almacenamiento en cereales (prolaminas). *Revista Especializada en Ciencias de la Salud*, 18(1), 28.
- Hithamani, G., y 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. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(46), 11170-11179.
- Hsu, C. L., y Yen, G.C. (2008). Phenolic compounds: evidence for inhibitory effects against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. *Molecular nutrition y food research*, 52(1), 53-61.
- Hubbard, J.E., Hall, H.H. y Earle, F.R. (1950). Composition of the component parts of the sorghum kernel. *Cereal Chemistry*, 27, 415-420.
- Ibrahim, F. S., Babiker, E. E., Yousif, N. E., y El Tinay, A. H. (2005). Effect of fermentation on biochemical and sensory characteristics of sorghum flour supplemented with whey protein. *Food Chemistry*, 92(2), 285-292.
- Ilo, S., Liu, Y., y Berghofer, E. (1999). Extrusion cooking of rice flour and amaranth blends. *LWT-Food Science and Technology*, 32(2), 79-88.
- Jha, N., Krishnan, R., y Meera, M.S. (2015). Effect of different soaking conditions on inhibitory factors and bioaccessibility of iron and zinc in pearl millet. *Journal of Cereal Science*, 66, 46-52.
- Kariluoto, S., Aittamaa, M., Korhola, M., Salovaara, H., Vahteristo, L., y Marcos, T., <sup>a</sup> Loreto, M., Rosich, N., Panisello Royo, J. M., Gálvez Casas, A., Serrano Selva, J.

- P., ... y Tárrega López, P. J. (2014). Eficacia de las estrategias de motivación en el tratamiento del sobrepeso y obesidad. *Nutrición Hospitalaria*, 30(4), 741-748.
- Katina, K., Heiniö, R. L., Autio, K., y Poutanen, K. (2006). Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *Food Science and Technology*, 39(10), 1189-1202.
- Katina, K., Laitila, A., Juvonen, R., Liukkonen, K. H., Kariluoto, S., Piironen, V., y Poutanen, K. (2007). Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye. *Food Microbiology*, 24(2), 175-186.
- Kaukovirta N.A., Wilhelmson, A., y Poutanen, K. (2004). Germination: a means to improve the functionality of oat. *Agricultural and Food Science*, 13(2), 100-112
- Lang R., y Jebb S.A. (2003). Who consumes whole grains, and how much. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 123-127.
- Liukkonen, K. H., Katina, K., Wilhelmsson, A., Myllymaki, O., Lampi, A. M., Kariluoto, S., y Peltoketo, A. (2003). Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 117-122.
- Lozano, R., Gómez, D.H., Garrido, I.F., Jiménez, C.A., Campuzano, R.J.C., Franco-Marina, F., y Vos, T. (2013). La carga de enfermedad, lesiones, factores de riesgo y desafíos para el sistema de salud en México. *salud pública de méxico*, 55(6), 580-594.
- Malaguti, M., Dinelli, G., Leoncini, E., Bregola, V., Bosi, S., Cicero, A. F., y Hrelia, S. (2014). Bioactive peptides in cereals and legumes: agronomical, biochemical and clinical aspects. *International journal of molecular sciences*, 15(11), 21120-21135.
- Malleshi, N.G. y Desikachar, H.S.R. (1982). Formulation of a weaning food with low hot paste viscosity based on malted ragi (*Eleusinecoracana*) and green gram (*Phaseolusradiatus*). *Trends in Food Science and Technology Food*, 19. 193- 197.

- Malleshi, N.G. y Desikachar, H.S.R. (1986). Studies on comparative malting characteristics of some tropical cereals and millets, *Journal of the Institute of Brewing*, 92. 174-176.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., y Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Marcos, T., Loreto, M., Rosich, N., Panisello Royo, J. M., Gálvez Casas, A., Serrano Selva, J. P., y Tárraga López, P. J. (2014). Eficacia de las estrategias de motivación en el tratamiento del sobrepeso y obesidad. *Nutrición Hospitalaria*, 30(4), 741-748.
- Mathew, S., y Abraham, T.E. (2004). Ferulic acid: an antioxidant found naturally in plant cell walls and feruloyl esterases involved in its release and their applications. *Critical reviews in biotechnology*, 24(3), 59-83.
- Matos, C.R.A., Paredes, G.J., y González, R.L. (2010). Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos del Sancayo (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1),3
- Miller, H.E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash A., y Kanter M. 2000. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(3), 312- 319.
- Piironen, V. (2006). Effects of yeasts and bacteria on the levels of folates in rye sourdoughs. *International journal of food microbiology*, 106(2), 137-143.
- Priefert, H., Rabenhorst, J., y Steinbüchel, A. (2001). Biotechnological production of vanillin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(3-4), 296-314.
- Rajnarayana, K., Prabhaka, M.C., y Krishna, D.R. 2001. Influence of rice bran oil on serum lipid peroxides and lipids in human subjects. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, 45(4), 442-444.
- Ramos, J.A., Elías, A., y Herrera, F. (2006). Procesos para la producción de un alimento energético-proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la

fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(1), 51-58.

Ramos, W., López, T., Revilla, L., More, L., Huamaní, M., y Pozo, M. (2014). Resultados de la vigilancia epidemiológica de diabetes mellitus en hospitales notificantes del Perú, 2012. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31(1), 09-15.

Rice E.C.A., Miller, N. J., y Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

Robbins, R.J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2866-2887.

Rooney, L.W. y McDonough, C.M.1987. Food quality and consumer acceptance of pearl millet. Proceedings of the International Pearl Millet Workshop Hyderabad. *Inde*, 7(11), 43-61.

Rose, D. J., y Inglett, G. E. (2010). Production of feruloylated arabinoxylo-oligosaccharides from maize (*Zea mays*) bran by microwave-assisted autohydrolysis. *Food chemistry*, 119(4), 1613-1618.

Ruíz, N.A. (2005). Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros. *Revista chilena de nutrición*, 32(3), 191-199.

Salazar, L.N.J., Loarca, P.G., Campos V.R., Gaytán, M.M., Morales, S.E., Esquerra, B.J.M., y Robles, S.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*, 2016.

Salmenkallio, M. M., Katina, K., y Autio, K. (2001). Effects of bran fermentation on quality and microstructure of high-fiber wheat bread. *Cereal Chemistry*, 78(4), 429-435.

Scavariello, E.M, y Arellano, D.B. (1998). Gamma-oryzanol: an important component in rice brain oil. Spanish. *Arch LatinoamNutr.* 48(1), 7-12.

- Serna, S.S.O., Gutiérrez, U.J.A., Mora, R.S., y García S.S. (2013). Potencial nutraceutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Revista fitotecnica mexicana*, 36, 295-304.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smith AT., Kuznesof S., Richardson DP. y Seal CJ. (2003). Behavioural, attitudinal and dietary responses to the consumption of wholegrain foods, *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(2), 455-467
- Sroka, Z., y Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), 753-758.
- Tayyem, R. F., Bawadi, H. A., Shehadah, I. N., Abu-Mweis, S. S., Agraib, L. M., Bani-Hani, K. E., y Heath, D. D. (2015). Macro-and micronutrients consumption and the risk for colorectal cancer among Jordanians. *Nutrients*, 7(3), 1769-1786.
- Ti, H., Zhang, R., Li, Q., Wei, Z., y Zhang, M. (2015). Effects of cooking and in vitro digestion of rice on phenolic profiles and antioxidant activity. *Food Research International*, 76, 813-820.
- Urias, D. (2001). Efecto de Amiloglucosidasa en la Cinética de Fermentación de Cervezas tipo Lager Elaboradas a Partir de Mattas de Sorgo o Cebada. Maestría en Biotecnología. *ITESM. Monterrey, NL, México*.
- Vitaglione, P., Napolitano, A., y Fogliano, V. (2008). Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science and Technology*, 19(9), 451-463.
- Wang, T., He, F., y Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7(1), 101-111.

- Weickert, M. O., Möhlig, M., Schöfl, C., Arafat, A. M., Otto, B., Viehoff, H., y Pfeiffer, A. F. (2006). Cereal fiber improves whole-body insulin sensitivity in overweight and obese women. *Diabetes care*, 29(4), 775-780.
- Wu, L., Huang, Z., Qin, P., y Ren, G. (2013). Effects of processing on phytochemical profiles and biological activities for production of sorghum tea. *Food research international*, 53(2), 678-685.
- Xu Z, Hua N, Godber JS. (2001) Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride. *Agric Food Chem*, 49(4), 2077-2081
- Zaroug, M., Orhan, I. E., Senol, F. S., y Yagi, S. (2014). Comparative antioxidant activity appraisal of traditional Sudanese kisra prepared from two sorghum cultivars. *Food chemistry*, 156, 110-116.
- Zielinski, H., Kozłowska, H., y Lewczuk, B. (2001). Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Science y Emerging Technologies*, 2(3), 159-169.