



EL SABER DE MIS HIJOS
HARA MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos
Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de los Alimentos

**Optimización del proceso de estabilización por extrusión térmica de
salvado de sorgo: efecto sobre la actividad antioxidante y vida de
anaquel**

TESIS

Como requisito parcial para obtener del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS DE LOS ALIMENTOS

Presenta:

M.C. Raquel Alejandra Ortiz Cruz

Hermosillo, Sonora

Junio de 2020

APROBACIÓN

Optimización del proceso de estabilización por extrusión térmica de salvado de sorgo: efecto sobre la actividad antioxidante y vida de anaquel

M.C. Raquel Alejandra Ortiz Cruz

Dr. Benjamín Ramírez Wong
Director de la tesis

Dra. Ana Irene Ledesma Osuna
Sinodal

Dra. Beatriz Montaña Leyva
Sinodal

Dra. Dalia Isabel Sánchez Machado
Sinodal

Dr. Jaime López Cervantes
Sinodal

Hermosillo, Sonora

Junio de 2020

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Doctor en Ciencias de los Alimentos** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente

M.C. Raquel Alejandra Ortiz Cruz

Dra. Carmen María López Saiz
Coordinador del Programa de Posgrado

Hermosillo, Sonora

Junio de 2020

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora, en especial al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos (DIPA) por abrirme sus puertas y brindarme la oportunidad de dar un paso más en mi vida profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por proveer el patrocinio para la realización de esta tesis de doctorado.

A mi director de tesis, el Dr. Benjamín Ramírez Wong, por su confianza al recibirme como estudiante y brindarme la oportunidad de culminar este posgrado. Agradezco su tiempo, dedicación, paciencia y apoyo incondicional. Fue una gran experiencia haber trabajado bajo su dirección, mi admiración y respeto para usted.

A mi comité de tesis, los Dres. Ana Irene Ledesma, Beatriz Montaña, Dalia Isabel Sánchez y Jaime López por su interés y asesoría, además de sus observaciones siempre enriquecedoras a este trabajo.

Al Ing. Ignacio Morales Rosas, por su apoyo durante los procesos de extrusión.

A María del Socorro Favela (Coty), por su ayuda y compañía durante mi estancia en el DIPA.

Al Dr. Jesús Enrique Chan Higuera, por su apoyo, consejos y experiencias. Por los buenos momentos y palabras de fortaleza, sin duda amigo, esto no hubiera sido igual sin ti.

A mis compañeros, maestros y a cada persona que aportó a este trabajo de investigación.

A mi esposo Victor Alfonso, por su paciencia y palabras de aliento. Por creer en mí, por ser mi compañero de vida y por estar conmigo en los mejores momentos y en los difíciles también. Agradezco su esfuerzo y sacrificio para construir un mejor futuro, sé que la recompensa está cerca, Te amo.

A mis hermanos Juan Antonio, Milagros y Adrián, por su apoyo, risas y palabras de ánimo, los quiero.

A mis padres, Juan Antonio y María del Carmen, no alcanzan las palabras para agradecer lo que ustedes han hecho en mi vida. Estaré agradecida siempre por su ayuda invaluable e incondicional hacia mi familia y hacia mí. Gracias por invertir tiempo y esfuerzo en este trabajo, de no ser por ustedes, este proyecto no se habría finalizado, gracias totales.

DEDICATORIA

A mis padres Juan Antonio y Carmelita, por su comprensión y su ayuda incondicional. Por enseñarme que las adversidades se afrontan con valentía y perseverancia. Este trabajo también es fruto de su esfuerzo, los amo infinitamente.

A mi pequeño Victor Isaac, que llegó a endulzar mi vida. Por ser la fuente de mi esfuerzo y el mayor motivo para concluir este trabajo. Eres lo mejor que me ha pasado en la vida.

RESUMEN

El salvado de sorgo es una buena fuente de antioxidantes debido a las altas concentraciones de compuestos fenólicos que se encuentran principalmente unidos a la pared celular. Estos antioxidantes pueden ser mayormente aprovechados al promover su liberación por el proceso de extrusión térmica. El objetivo del presente estudio fue estabilizar el salvado de sorgo rojo por el método de extrusión térmica, estudiar su potencial antioxidante y el efecto del proceso sobre la vida de anaquel. Se decortizó sorgo rojo en un molino abrasivo durante 65 s para obtener el salvado y se separó en muestras para acondicionarlas a diferentes contenidos de humedad, en un rango de 25-35 % dejándose reposar a 4 °C durante 12 h. Las muestras se extruyeron variando la temperatura de la cuarta zona de extrusión en un rango de 140 – 180 °C para obtener salvado de sorgo extrudido. Se evaluó el efecto de las variables del proceso de extrusión, humedad de alimentación (HA) y temperatura de la cuarta zona de extrusión (T), sobre el contenido de compuestos fenólicos (libres, unidos y totales) y la actividad antioxidante, utilizando la técnica de DPPH. Se obtuvieron las condiciones óptimas de extrusión utilizando un diseño de experimentos central rotatable, y a todos los datos se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confiabilidad de 95 %. El ANDEVA reveló que el mayor impacto de las condiciones del proceso se presentó en el contenido de fenoles libres y su actividad antioxidante cuando se utilizaban las condiciones óptimas del proceso de extrusión: HA = 30 % y T = 160 °C, las cuales se validaron experimentalmente para comprobar los valores predichos. Además, fue evaluado el efecto del proceso de extrusión sobre la vida de anaquel, almacenando los salvados de sorgo crudo y el extrudido durante 42 días. Al finalizar el tiempo se realizaron las determinaciones de acidez titulable, ácidos grasos libres e índice de peróxidos, para conocer el grado de rancidez. Se observó que el salvado de sorgo extrudido mantuvo constantes los niveles de ácidos grasos libres e índice de peróxidos durante el almacenamiento, en comparación con el salvado de sorgo crudo. Por otra parte, se identificó y cuantificó por HPLC la presencia de los ácidos fenólicos cafeico, p-cumárico y fenólico en el salvado almacenado. Los resultados demuestran que la extrusión puede retardar los procesos de oxidación

enzimática, ya que los ácidos grasos libres y el índice de peróxidos no incrementaron durante el tiempo de almacenamiento. Además, el proceso de extrusión mejora la extracción de los compuestos fenólicos reflejándose en el incremento de la actividad antioxidante.

ABSTRACT

Sorghum bran is a rich source of antioxidants due to the high concentrations of phenolic compounds that are mainly attached to the cell wall. These antioxidants can be mostly exploited by promoting their release by the thermal extrusion process. The objective of the present study was to stabilize red sorghum bran by the thermal extrusion method, study its antioxidant potential and the effect of the process on the shelf life. Red sorghum was decorticated in an abrasive mill for 65 s to obtain the bran and it was separated into samples to condition them at different humidity contents, in a range of 25 -35 %, leaving to stand at 4 °C for 12 h. The samples were extruded by varying the temperature of the fourth extrusion zone in a range of 140 - 180 °C to obtain extruded sorghum bran. The effect of the variables of the extrusion process, feed moisture (HA) and temperature of the fourth extrusion zone (T), on the content of phenolic compounds (free, bound and total) and on antioxidant activity, was evaluated using DPPH technique. Optimum extrusion conditions were obtained using a rotatable central experiment design, and all data were analyzed for variance (ANDEVA) with a 95 % reliability level. ANDEVA revealed that the greatest impact of the process conditions was on the free phenols content and its antioxidant activity when the optimal conditions of the extrusion process were used: HA = 30 % and T = 160 °C, which were validated experimentally to check the predicted values. In addition, the effect of the extrusion process on the shelf life was evaluated, storing the raw sorghum bran and the extrudate for 42 days. At the end of the time, titratable acidity, free fatty acid and peroxide index determinations were made to evaluate the degree of rancidity. It was observed that the extruded sorghum bran kept the levels of free fatty acids and peroxide index constant during the storage, compared to raw sorghum bran. On the other hand, the presence of caffeic, p-cumaric and phenolic acids in the stored bran was identified and quantified by HPLC. The results show that extrusion can retard the processes of enzymatic oxidation, since the free fatty acids and the peroxide index were not increased during the storage time. In addition, the extrusion process improves the extraction of the phenolic compounds and reflected in the increase antioxidant activity.

CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
CONTENIDO	ix
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
Generalidades del Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench)	4
Producción y Alimentos Derivados del Sorgo	4
Anatomía del Grano de Sorgo.....	5
Pericarpio.....	6
Endospermo.....	6
Germen.....	8
Composición Química del Grano de Sorgo.....	8
Carbohidratos	8
Lípidos	9
Proteínas	9
Vitaminas y minerales.....	11
Fitoquímicos Antioxidantes del Sorgo	11
Ácidos fenólicos	12
Flavonoides.....	14
Proantocianidinas	14
Policosanoles.....	16
Molienda Abrasiva.....	18
Tamaño de partícula	19
Salvado de Sorgo.....	20
Mecanismos de Autooxidación.....	21
Oxidación por acción enzimática	24
Procesos de Estabilización del Salvado.....	26
Extrusión	27
Efecto de la Extrusión sobre los Compuestos Fenólicos y la actividad Antioxidante	29
Actividad Antioxidante del Sorgo.....	30
Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)	31
HIPÓTESIS	33
OBJETIVOS	34
Objetivo General	34
Objetivos Específicos.....	34
MATERIALES Y MÉTODOS	35
Materia Prima.....	35

	Página
Reactivos	35
Decorticación del grano de sorgo.....	37
Caracterización fisicoquímica del salvado de sorgo	37
Análisis proximal.....	37
Color	38
pH.....	38
Distribución de tamaño de partícula	38
Proceso de Extrusión del Salvado de Sorgo	40
Acondicionamiento.....	40
Proceso de extrusión	40
Secado.....	43
Molienda	43
Análisis químico de los extrudidos	43
Obtención de extractos.....	43
Evaluación de la capacidad antioxidante.....	45
Actividad secuestrante del radical DPPH	45
Contenido de compuestos fenólicos.....	46
Perfil de ácidos grasos	46
Vida de Anaquel del Salvado de Sorgo Extrudido.....	47
Almacenamiento	47
Evaluación química del sorgo almacenado.....	47
Desgrasado de las muestras	47
Acidez titulable	48
pH.....	48
Ácidos grasos libres.....	48
Índice de peróxidos.....	49
Evaluación de la actividad antioxidante	49
Identificación de ácido ferúlico, cafeico y <i>p</i> -cumárico	49
Diseño y Análisis Estadístico	50
Optimización de las Variables del Proceso de Extrusión	50
Validación de las condiciones óptimas del proceso de extrusión y análisis de los extrudidos.....	51
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
Cinética de decorticado.....	52
Análisis fisicoquímico del salvado de sorgo	52
Análisis proximal	52
pH	55
Distribución de tamaño de partícula.....	55
Evaluación química de los extrudidos	58
Efecto de la HA y T sobre el contenido de humedad de los extrudidos.....	58
Efecto de la HA y T sobre los compuestos fenólicos	61
Efecto de la HA y T sobre la capacidad antioxidante.....	64
Efecto del proceso de extrusión sobre el perfil de ácidos grasos	66

	Página
Evaluación física de los extrudidos	70
Color	70
Optimización de las condiciones del proceso de extrusión del salvado de sorgo	70
Validación experimental de las variables optimizadas	72
Estudio del salvado de sorgo extrudido almacenado	72
Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la calidad del salvado.....	72
Acidez titulable	76
pH.....	76
Ácidos grasos libres.....	76
Índice de peróxidos.....	79
Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante	81
Correlaciones simples entre los parámetros del almacenamiento	84
Identificación y caracterización de los ácidos hidroxicinámicos: cafeico, p-cumárico y ferúlico.....	86
CONCLUSIONES	92
RECOMENDACIONES	93
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

LISTA DE TABLAS

TABLA	Página	
1	Diseño experimental con diferentes combinaciones de humedad de acondicionamiento/temperatura de extrusión, para la obtención de salvado de sorgo.	41
2	Análisis proximal del grano de sorgo y la fracción de salvado.....	54
3	Valores de pH para el grano de sorgo y la fracción de salvado.....	56
4	Diseño experimental con diferentes combinaciones de humedad de alimentación/temperatura, para la obtención de salvado de sorgo estabilizado con el máximo contenido de compuestos fenólicos y máxima capacidad antioxidante.....	59
5	Coeficientes de los modelos de predicción y análisis de varianza que muestran la relación entre los factores de procesamiento y los análisis químicos del extrudido	60
6	Perfil de ácidos grasos (% con respecto del total) en salvado de sorgo y tratamientos extrudidos.....	67
7	Grupos de ácidos grasos encontrados en salvado de sorgo crudo y en los trece tratamientos de salvado de sorgo extrudidos	69
8	Parámetros de color del grano de sorgo, fracción de salvado de sorgo crudo y extrudidos de salvado de sorgo, determinados mediante colorimetría triestímulo.....	71
9	Valor predicho y valor experimental de las evaluaciones químicas de salvado de sorgo rojo obtenido usando las condiciones óptimas del proceso de extrusión.....	74
10	Análisis de varianza del efecto del tiempo de almacenamiento sobre algunas características químicas del salvado de sorgo.....	75
11	Valores de acidez y pH del salvado de sorgo crudo y extrudido a diferentes tiempos de almacenamiento.	77
12	Análisis de varianza del efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del salvado de sorgo	82

TABLA	Página
13 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del salvado de sorgo.....	83
14 Coeficientes de correlación de los parámetros de rancidez, el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.....	85
15 Efecto del almacenamiento en el contenido de ácidos fenólicos presentes en las fracciones de fenoles libres y unidos, de salvado de sorgo crudo y extrudido, expresado en $\mu\text{g/g}$ de muestra.....	91

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1 Sección longitudinal del grano de sorgo	7
2 Estructura de los principales ácidos fenólicos presentes en el salvado de sorgo.....	13
3 a) Estructura de 3-desoxiantocianinas b) Estructura de antocianinas comúnmente encontradas en cereales y vegetales	15
4 Estructura general de taninos condensados.....	17
5 Reacciones del mecanismo de autoxidación por radicales libres de ácidos grasos insaturados.	22
6 Reacciones de propagación en procesos de autoxidación de ácidos grasos insaturados.....	23
7 Componentes de un extrusor de tornillo simple	28
8 Diagrama general del trabajo de investigación	36
9 Muestras del grano de sorgo, harina de sorgo, salvado de sorgo crudo y de los 13 tratamientos extrudidos, utilizadas para la determinación de color.....	39
10 Extrusor de un solo tornillo utilizado para la obtención de salvado de sorgo extrudido	42
11 a) extrudidos secos, b) disminución de tamaño de partícula de los extrudidos en un molino de martillo.	44
12 Cinética de tiempo de decorticado de salvado de sorgo rojo.....	53
13 Distribución de tamaño de partícula del salvado de sorgo.....	57
14 Efecto de la humedad de alimentación (HA) y la temperatura de extrusión (T) sobre el contenido de compuestos fenólicos ($\mu\text{gEAG/g}$): a) fenoles libres, b) fenoles unidos y c) fenoles totales.....	62

FIGURA	Página
15 Efecto de la humedad de alimentación y la temperatura del proceso de extrusión sobre la capacidad antioxidante en salvado de sorgo rojo, determinada por la técnica de DPPH ($\mu\text{molET/g}$): a) fenoles libres, b) fenoles unidos y c) fenoles totales.	65
16 Zona de condiciones óptimas del proceso de extrusión, donde los parámetros a optimizar fueron los compuestos fenólicos libres (FL) y la capacidad antioxidante (DPPH-FL).....	73
17 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de AGL en salvado de sorgo crudo (SC) y extrudido (SE).....	78
18 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el índice de peróxidos en salvado crudo (SC) y salvado extrudido (SE)..	80
19 Cromatograma y espectro de los estándares de ácidos fenólicos.....	88
20 Ácidos fenólicos en salvado de sorgo crudo. a) fracción de fenoles libres, b) fracción de fenoles unidos	89
21 Ácidos fenólicos en salvado de sorgo extrudido. a) fracción de fenoles libres, b) fracción de fenoles unidos	90

INTRODUCCIÓN

El sorgo ocupa el quinto lugar en producción a nivel mundial. Es un cultivo resistente a la sequía, es más económico de producir y es utilizado principalmente para alimentación animal. Sin embargo, en gran parte de África y Asia es cultivado por los agricultores como alimento básico a nivel de subsistencia (FAO, 2017; Duodu *et al.*, 2003). Es un cereal rico en fitoquímicos promotores de la salud, como son los ácidos fenólicos, antocianinas, proantocianidinas y otros flavonoides. Estos compuestos se caracterizan por presentar alta capacidad antioxidante) y se encuentran concentrados en las capas externas del grano, lo que se conoce como fracción de salvado (Dicko *et al.*, 2003; Rocchetti *et al.*, 2020).

Estudios epidemiológicos han demostrado que incluir en la dieta diaria productos a base de cereales integrales se asocia con la disminución del riesgo de desarrollar ciertas enfermedades crónicas como la obesidad, enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo II y algunos tipos de cáncer (Awika and Rooney, 2004; Sikwese and Duodu, 2007). Estos beneficios se les atribuyen a diversos componentes como la fibra dietaria, compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos presentes en los cereales integrales (Awika *et al.*, 2005). Hoy en día, los compuestos fenólicos son generalmente considerados como componentes deseables de la alimentación humana debido a su actividad antioxidante, por lo tanto, se consideran de importancia nutricia (Awika *et al.*, 2003).

En la actualidad se ha incrementado la demanda y la necesidad de desarrollar alimentos funcionales debido a las modificaciones y necesidades dietarias, dietas libres de gluten o por la búsqueda de una vida más saludable. Algunos cereales que han sido estudiados ampliamente por sus beneficios a la salud son el trigo, la avena o el arroz. En los últimos años, se ha propuesto el uso de cereales no convencionales como el sorgo, para su uso e inclusión en la dieta (Rocchetti *et al.*, 2020).

Sin embargo, se sabe también que el consumo de sorgo en humanos se ve limitado por factores antinutricionales, como la presencia de taninos, que afectan la digestibilidad de las proteínas y la eficiencia alimentaria. Por esta razón, en algunos países se consume sorgo libre de taninos, lo que provoca una selección artificial contra los taninos y en ocasiones se rechazan también otros compuestos de importancia nutricia que se encuentran en el grano (Luzardo-Ocampo *et al.*, 2020).

Por otra parte, otro factor que puede afectar el consumo del sorgo, en especial de la fracción de salvado, es la oxidación. En la búsqueda del mayor aprovechamiento de los compuestos antioxidantes, se obtiene el salvado mediante procesos como el decortinado, que consiste en la separación de las capas externas del resto del grano (endospermo) (Chen *et al.*, 2013b). Durante el proceso de decortinado o blanqueado de cereales, se llevan a cabo reacciones de oxidación lipídica, que provocan el deterioro de la calidad tanto del salvado como los productos que de él se generan (Frankel, 1984; Malekian *et al.*, 2000).

A la fecha se conocen diversos procesos tecnológicos que se han desarrollado con la finalidad de mejorar la digestibilidad proteica y eficiencia alimentaria, como los métodos térmicos (Luzardo-Ocampo *et al.*, 2020). En el caso del daño por oxidación, se han empleado procesos llamados de estabilización de salvado, que pueden ser por métodos químicos, térmicos o enzimáticos (Prabhakar and Venkatesh, 1986).

Uno de los procesos más utilizados para la estabilización y mejora de la digestibilidad del salvado es la extrusión térmica, un proceso de cocción rápida a altas temperaturas, que logra mantener la calidad del salvado almacenado por más tiempo, en comparación con otros métodos de estabilización (Porta, 1993). Además de estos beneficios, el proceso de extrusión puede promover la liberación de compuestos fenólicos, que se encuentran principalmente ligados por enlaces éster a la matriz alimentaria y de esta forma potenciar las propiedades bioactivas de los compuestos, como la actividad antioxidante (Zielinski *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2014).

Por lo anterior, se propone la extrusión como proceso de estabilización y potenciador de la actividad antioxidante del salvado de sorgo rojo, el cual pudiera ser incluido en la formulación de alimentos funcionales, como cereales para desayuno, botanas, harinas, entre otros, aportando a los mismos componentes bioactivos con capacidad antioxidante.

El objetivo del presente estudio fue optimizar las variables del proceso de extrusión con el propósito de obtener salvado de sorgo con la máxima capacidad antioxidante y mayor tiempo de vida de anaquel.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Generalidades del Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench)

Producción y Alimentos Derivados

El sorgo es el quinto cereal en importancia a nivel mundial detrás del maíz, el trigo, arroz y cebada, aportando el 3% de la producción total. La producción mundial de sorgo es en promedio de 58 millones de toneladas. En México la producción de sorgo en el año 2017 fue de aproximadamente 4.8 millones de toneladas ocupando el cuarto lugar en producción a nivel mundial; además, en el mismo año fue el segundo grano más producido en el país (FAOSTAT, 2019). En Estados Unidos el sorgo se destina principalmente para consumo animal (Dykes *et al.*, 2005), sin embargo, algunos productos a base de sorgo en ocasiones son utilizados como sustitutos de productos de trigo por personas con enfermedad celiaca (Fenster, 2003). El sorgo es un cultivo resistente a la sequía y, por lo tanto, una fuente importante de alimento en las regiones semiáridas del mundo, algunos alimentos basados en sorgo forman parte de la dieta básica de poblaciones asiáticas y africanas (Gu *et al.*, 2004). En México al igual que en Estados Unidos la totalidad de la producción cultivada de este cereal se destina a consumo animal.

En algunas zonas de África y Asia, el sorgo es un cultivo alimentario vital para millones de personas. Este cereal se consume como grano entero, o decorticado, usando morteros tradicionales o decortidores mecánicos (Taylor *et al.*, 2006). Al separar las capas externas del grano se eliminan también los polifenoles, lo que reduce el contenido de taninos, disminuyendo la astringencia y mejorando la digestibilidad (Taylor and Dewar, 2001). El sorgo molido tiene diversos usos, desde papillas suaves hasta fermentados para la preparación de bebidas como el mahewu en Zimbabwe (Dlamini *et al.*, 2007). En algunas culturas africanas, se prefieren los sorgos con taninos debido a que el consumo de estas papillas da sensación de saciedad por mayor tiempo, se disminuye la digestibilidad y, además, los taninos de los sorgos pigmentados dan un color característico a ciertos alimentos. También existe la

creencia de que estos alimentos promueven la salud de los bebés que están por nacer (Awika and Rooney, 2004).

En el mundo occidental el uso del sorgo en alimentos de consumo humano es casi inexistente. En general, este cereal es utilizado como alimento para animales (Taylor *et al.*, 2006). Sin embargo, actualmente en los países desarrollados existe una creciente demanda de alimentos y bebidas libres de gluten, especialmente por parte de las personas con enfermedad celíaca y otras intolerancias, ya que no pueden consumir productos de trigo, cebada o centeno (Awika and Rooney, 2004; Taylor *et al.*, 2006)

El sorgo es considerado una fuente potencial de alimentos y bebidas para consumo humano, solamente es necesario mejorar o desarrollar nuevas alternativas para incorporar al sorgo en la dieta convencional y de esta manera recibir los beneficios que el consumo de este cereal pudiera ofrecer a la salud.

La industria alimentaria de algunos países de África del Sur y Japón, han estado explorando el uso del sorgo para la producción de alimentos listos para el consumo, como galletas, pastas y snacks (Taylor *et al.*, 2006). Uno de los desafíos en la producción de estos productos, es la aceptabilidad, pues a pesar de que se ha reportado la presencia de actividad antioxidante, en ocasiones el aspecto o el sabor del producto impactan en su aceptación. Por lo anterior en ocasiones es necesario el uso de aditivos como almidones nativos y pre-gelatinizados, hidrocoloides, grasas, huevos entre otros, esto para mejorar la calidad y aceptación de los alimentos (Taylor and Dewar, 2001; Dlamini *et al.*, 2007).

Anatomía del Grano

Las características de los granos de sorgo muestran una gran diversidad en color, forma, tamaño y en algunos aspectos de sus componentes anatómicos. La cariósida

o grano de sorgo se compone de tres partes principales: pericarpio (cubierta exterior), endospermo (tejido de almacenamiento) y embrión o germen (Figura 1).

Las proporciones relativas del pericarpio, germen y endospermo del grano varían dependiendo de la variedad de sorgo. Para granos de tamaño medio, se ha encontrado una proporción de 6, 10 y 84% del peso seco del grano, respectivamente (Rooney *et al.*, 1981).

Pericarpio

El pericarpio es el elemento estructural más externo de la cariopsis y se compone de tres subcapas: el epicarpio, el mesocarpio y el endocarpio. El epicarpio se compone de células gruesas, alargadas y rectangulares que tienen un revestimiento en la superficie exterior. El mesocarpio y la parte media es la capa más gruesa del pericarpio del sorgo, pero su espesor varía mucho entre los distintos genotipos. El endocarpio, que es la subcapa más interna del pericarpio se compone de células transversales y de una capa de células tubulares que transportan la humedad al grano. Justo debajo del endocarpio está la testa o revestimiento de la semilla. En algunos genotipos de sorgo la testa está muy pigmentada, su grosor es mayor o en ocasiones el grano carece de este componente. Este es un factor que influye en la coloración del grano, además de la genética y el espesor del pericarpio, y el color de endospermo (FAO, 1995; Rooney *et al.*, 1982).

Endospermo

El mayor componente del grano de sorgo es el endospermo, el cual es un tejido importante de almacenaje. Se compone de una capa de aleurona y de zonas periféricas de textura córnea y harinosa. En todos los sorgos, la aleurona es una sola capa que está inmediatamente debajo del revestimiento de la semilla o testa. El endospermo periférico se caracteriza por sus células rectangulares largas, que son muy compactas y que contienen gránulos amiláceos y de proteína; estas son prolaminas solubles en alcohol, que constituyen la mayor proporción de la proteína total del grano (FAO, 1995).

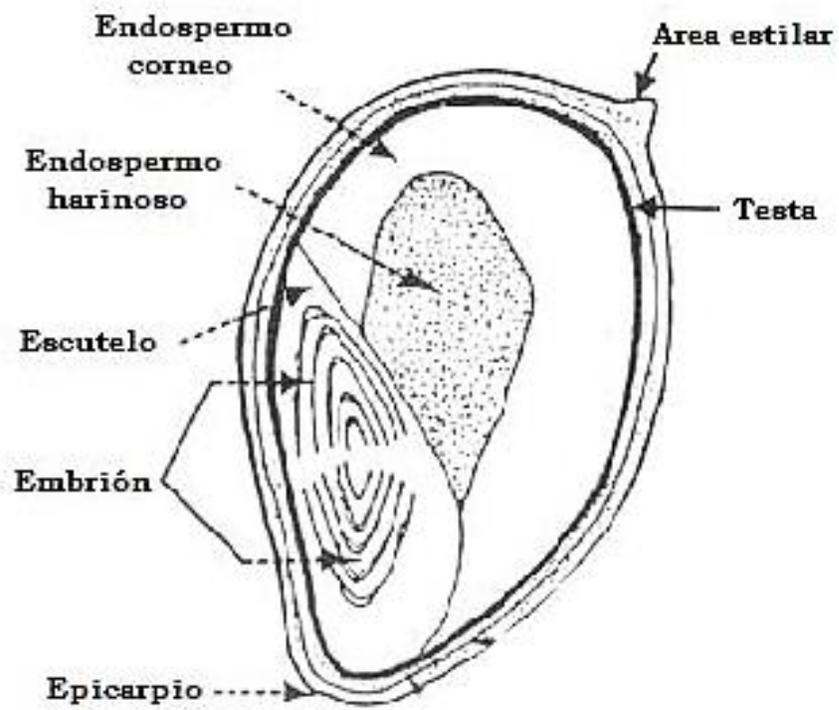


Figura 1. Sección longitudinal del grano de sorgo.
Fuente: Rooney, 1971.

Germen

El germen está compuesto por dos partes principales que son el eje embrionario y el escutelo. El embrión juega un papel importante en la absorción de agua y en la susceptibilidad al ataque de mohos en los granos de sorgo. El escutelo es un tejido de almacenamiento, rico en lípidos, proteína, enzimas, minerales y pocos gránulos de almidón (Rooney *et al.*, 1982).

Composición Química

El grano de sorgo está constituido principalmente de almidón, seguido por proteínas, polisacáridos no amiláceos y lípidos, además de vitaminas, minerales y polifenoles. Cada componente químico es variable según genotipo, fertilidad del suelo, la inestabilidad del medio ambiente y el estrés biótico (Rami *et al.*, 1998).

Carbohidratos

Los carbohidratos presentes en los vegetales, pueden cumplir dos funciones diferentes: de estructura (celulosa, hemicelulosa) y almacenamiento (almidón, fructosanos) (Anglani, 1998).

En el grano de sorgo, el almidón es el carbohidrato mayoritario. En sorgos normales, el almidón está compuesto principalmente de amilopectina (70–77%), sin embargo, existen algunas mutantes del grano que contienen solo amilopectina (sorgos cerosos) o almidón con altos contenidos de amilosa (Anglani, 1998; Léder, 2004).

La fructosa, glucosa, maltosa, rafinosa y sucrosa, son azúcares primarios presentes en el grano de sorgo, siendo fructosa y glucosa la de mayor concentración. Las variedades de sorgo dulce, contienen al menos el doble de azúcares que los sorgos normales (Anglani, 1998).

El sorgo contiene polisacáridos no amiláceos que se encuentran principalmente en las paredes celulares del pericarpio y el endospermo, estos son hemicelulosa y celulosa (Léder, 2004). La hemicelulosa está compuesta por xilanos y estos están divididos en arabinoxilanos, glucuronoxilanos y glucuronoarabinoxilanos siendo los primeros los que se encuentran en mayor porcentaje (55%) (Dicko *et al.*, 2006).

La celulosa está presente en la pared celular aproximadamente en un 40%. Se compone por diversos β -glucanos, estos no son extraíbles en agua y tienden a formar soluciones viscosas y pegajosas (Dicko *et al.*, 2006).

El sorgo también contiene polímeros (no carbohidratos), como ligninas que pueden constituir hasta el 20% de la pared celular total (Hatfield *et al.*, 1999).

Lípidos

Como en la mayoría de los cereales, en el sorgo los lípidos se encuentran principalmente en el germen y contienen varias clases de lípidos, incluidos lípidos no polares en un 80% aproximadamente, glucolípidos (18%) y fosfolípidos (Taylor and Belton, 2002). También se ha encontrado que el grano de sorgo contiene lípidos de cadena larga, de los cuales el 37–44% fueron policosanoles (Hwang *et al.*, 2004).

Los triacilgliceroles son el componente principal de los lípidos del sorgo (80-90% de los lípidos totales). Contiene aproximadamente 49% de ácido linoleico, 31% de ácido oleico, 14% de ácido palmítico, 2.7% de ácido linolénico y 2.1 % de ácido esteárico (Waniska and Rooney, 2000; Taylor and Belton, 2002).

Proteínas

El sorgo contiene alrededor del 7 al 15% en base seca de proteínas, de las cuales 15% corresponden a albuminas, 27% a las glutelinas y el resto (60%) corresponde a las

prolaminas. Las prolaminas están constituidas hasta por un 80% de proteínas denominadas kafirinas. Por lo tanto, las kafirinas al ser la proporción más alta de las proteínas del sorgo, son en gran medida las que determinan su calidad proteica (Godwin *et al.*, 2009; loerger *et al.*, 2007). La causa principal de la pobre digestibilidad del sorgo se atribuye al entrecruzamiento de las proteínas β y γ kafirinas, lo cual inhibe la digestión de la α kafirina, la principal proteína de almacenamiento del sorgo (Duodu *et al.*, 2003). Otro factor causante de la baja digestibilidad de la proteína del sorgo es la interacción entre taninos y proteínas (Serna-Saldívar, 1996).

Las kafirinas se clasifican como α , β , γ ó δ , o también en base al peso molecular y la solubilidad. El endospermo contiene alrededor del 66% al 84% de α -kafirina, 8% al 13% de β -kafirina, y el 9% a 21% de γ -kafirina; se han observado muy bajos niveles de δ -kafirinas (Belton *et al.*, 2006). El peso molecular de las α -kafirinas se encuentra en un rango de 21 a 25 kDa y son ricas en aminoácidos no polares y se encuentran principalmente en forma de monómeros y oligómeros. Estas proteínas forman principalmente enlaces disulfuro intramoleculares. Las β -kafirinas tienen un peso molecular aproximadamente de 18 kDa, son ricas en los aminoácidos azufrados como metionina y cisteína y se encuentran en formas monoméricas y poliméricas. La γ -kafirinas tienen un peso molecular de aproximadamente 20 kDa y son ricas en los aminoácidos prolina, cisteína e histidina. Estas subunidades se encuentran como oligómeros y polímeros. Las δ -kafirinas tienen un peso molecular de aproximadamente 13 kDa y son ricas en metionina (Belton *et al.*, 2006; De Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010; Oria *et al.*, 1995; Shull *et al.*, 1991). En general, las prolaminas del sorgo son ricas en ácido glutámico y aminoácidos no polares (prolina, leucina y alanina), pero el aminoácido esencial lisina se encuentra casi ausente. De acuerdo con diversos estudios realizados en las kafirinas, se ha demostrado que estas se encuentran principalmente en los cuerpos esféricos de las proteínas, los cuales están incrustados en una matriz proteica de glutelina, y rodeados por gránulos de almidón. Los cuerpos proteicos miden de 0.4 a 2 μm de diámetro (Taylor *et al.*, 1984a), con una “envoltura” compuesta principalmente de β y γ -kafirinas y un interior compuesto predominantemente por α -kafirina (Duodu *et al.*, 2003; Shull *et al.*, 1991).

Las proteínas del sorgo tradicionalmente se extraen siguiendo la clasificación de Osborne (Osborne, 1907). Esta clasificación divide a las proteínas de la siguiente manera: albuminas aquellas que son solubles en agua, globulinas las que son solubles en soluciones salinas, prolaminas aquellas solubles en alcohol y glutelinas, proteínas solubles en soluciones ácidas o básicas. Sin embargo, este método de clasificación, no separa las fracciones de proteínas limpiamente, es decir, produce en ocasiones un traslape significativo de las fracciones (De Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010).

Vitaminas y minerales

El sorgo es una buena fuente de tocoferoles y vitaminas especialmente las del complejo B (tiamina, riboflavina, piridoxina, entre otras). Además, pueden encontrarse vitaminas liposolubles como la A, D, E y K. Las vitaminas se encuentran principalmente en la capa aleurona y el germen; por esta razón, el proceso de decorticación genera un sorgo refinado pero con pérdida parcial de estos nutrientes (Léder, 2004; Dicko *et al.*, 2006).

Al igual que las vitaminas, en el grano de sorgo los minerales se localizan en la capa aleurona y el germen. Este cereal se considera una buena fuente de potasio y prácticamente no contiene sodio. Los granos enteros proveen una buena cantidad de magnesio, hierro, zinc, fosforo y cobre (Dicko *et al.*, 2006; Léder, 2004).

Fitoquímicos Antioxidantes del Sorgo

El sorgo es una fuente rica en diversos fitoquímicos como taninos, ácidos fenólicos, antocianinas, fitoesteroles y policosanoles. Los compuestos fenólicos poseen uno o más anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo. Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y son los metabolitos secundarios más abundantes de las plantas, con más de 8,000 estructuras fenólicas conocidas actualmente, que van

desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta sustancias altamente polimerizadas como los taninos (Dai and Mumper, 2010).

El contenido de polifenoles totales en sorgo se ve afectada por factores genéticos y ambientales, tales como el color de la planta, espesor del pericarpio, enfermedades, clima, condiciones de cultivo, entre otros. Estos compuestos se concentran en las capas externas del grano de sorgo (pericarpio y testa). A la fecha estos compuestos están siendo estudiados arduamente debido a su capacidad antioxidante, propiedades hipocolesterolémicas y otros beneficios potenciales para la salud (Awika and Rooney, 2004; Sikwese and Duodu, 2007; Svensson *et al.*, 2010).

Ácidos Fenólicos

Todas las variedades de sorgos contienen ácidos fenólicos, que se encuentran en el pericarpio, testa, capa de aleurona y endospermo. Estos compuestos se pueden clasificar en: ácidos hidroxibenzóicos y ácidos hidroxicinámicos (Dykes and Rooney, 2006). Los ácidos hidroxibenzóicos se derivan directamente del ácido benzoico e incluyen al ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzóico, ácido vanílico, ácido siríngico y ácido protocatéquico, entre otros. Por otra parte, el ácido cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico son considerados ácidos hidroxicinámicos, caracterizados por presentar una estructura C3-C6 (Dykes and Rooney, 2007; Dykes and Rooney, 2006). En la Figura 2 se muestra la estructura de algunos ácidos fenólicos de mayor concentración en el salvado de cereales como el trigo y el sorgo.

Los ácidos fenólicos se encuentran principalmente ligados o unidos al ácido ferúlico (esterificados con los polímeros de la pared celular), siendo este el compuesto fenólico predominante (24-47%) (Dykes and Rooney, 2007; Awika and Rooney, 2004). El ácido gálico se caracteriza por encontrarse sólo en forma ligada, mientras que el ácido cinámico se encuentra solamente en forma libre (Dykes and Rooney, 2006).

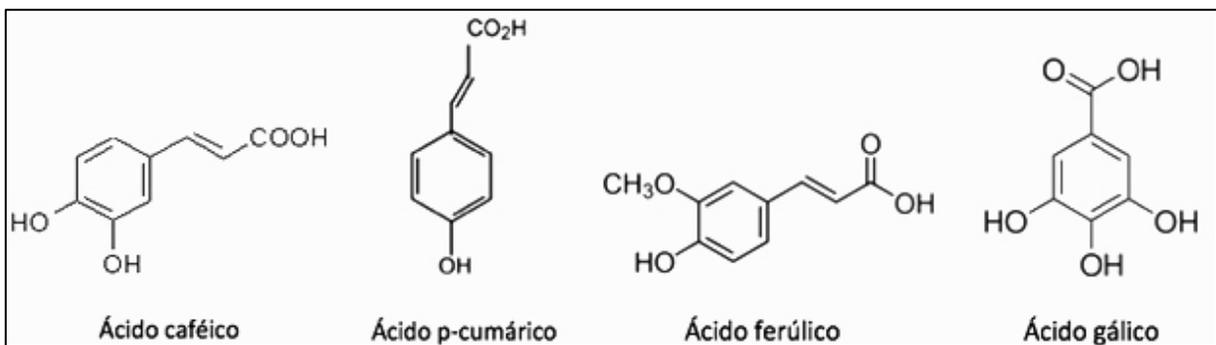


Figura 2. Estructura de los principales ácidos fenólicos presentes en el salvado de sorgo.

Fuente: Peñarrieta *et al.*, 2014.

Los niveles de ácidos fenólicos en las diferentes variedades de sorgo no se correlacionan con la presencia o los niveles de otros fenoles (antocianinas o taninos) (Awika and Rooney, 2004). Sin embargo, Waniska *et al.* (1989) observaron un aumento de los niveles de ácidos fenólicos libres en sorgos con testa pigmentada (con taninos) en comparación con aquellos que carecían de pigmentos en la testa.

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos que se encuentran en el pericarpio de todos los cereales. Dentro de este grupo de compuestos se encuentran las antocianinas, que son los flavonoides más estudiados en el sorgo. En general, esta clase de compuestos son solubles en agua y contribuyen a los tonos azules, púrpuras y rojos en las plantas (Awika and Rooney, 2004).

La estructura básica de los flavonoides es el núcleo flavánico, que contiene 15 átomos de carbono dispuestos en tres anillos (C6-C3-C6), que están etiquetados como A, B y C (Dai and Mumper, 2010). Las antocianinas estudiadas en el sorgo se caracterizan por no presentar el grupo hidroxilo de la posición 3 en el anillo C, por esta razón son llamadas 3-desoxiantocianinas (Figura 3) (Awika and Rooney, 2004). Hay dos 3-desoxiantocianinas más comunes, apigenidina de color amarillo y luteolinidina de color naranja (Dykes and Rooney, 2006). Se ha reportado que los flavonoides tienen propiedades antioxidantes, antialérgicas, anticancerígenas, antiinflamatorias, entre otras (Awika and Rooney, 2004).

Proantocianidinas

El sorgo es único entre los principales cereales debido a que produce polifenoles poliméricos conocido como taninos.

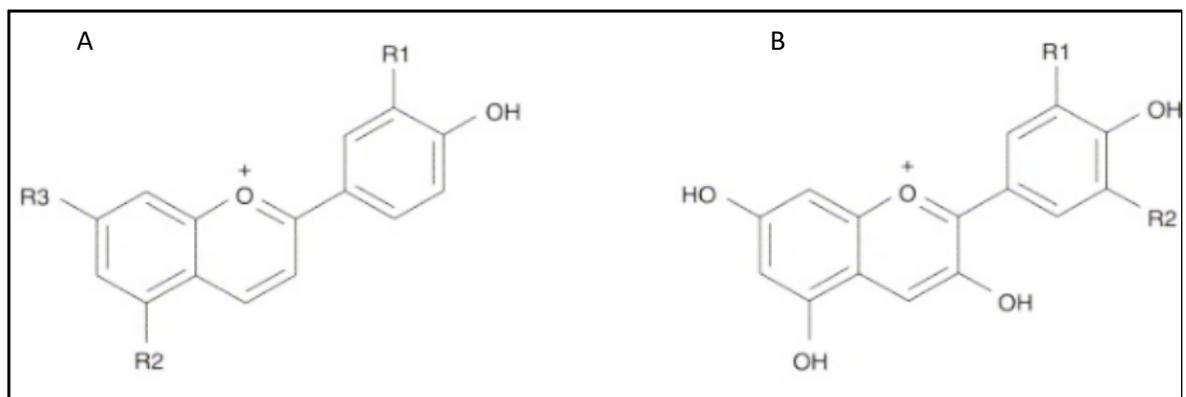


Figura 3. a) Estructura de 3-desoxiantocianinas b) Estructura de antocianinas comúnmente encontradas en cereales y vegetales.

Fuente: Dykes and Rooney, 2006.

Estos compuestos se producen en los sorgos con testa pigmentada (sorgos tipo II y III) que tienen los genes dominantes B1B2 y le confieren resistencia al grano; además de la astringencia en los alimentos (Dlamini *et al.*, 2007; Awika and Rooney, 2004).

Los taninos presentes en el grano son del tipo condensado. El ácido tánico, un tanino hidrolizable, nunca se ha encontrado en el sorgo. Los taninos condensados son unidades polimerizadas de flavonoles (Figura 4) (Awika and Rooney, 2004).

Los taninos tienen los más altos niveles antioxidantes que cualquier cereal analizado. Estos compuestos 15-30 veces más eficaces en eliminar los radicales peroxilo que los fenoles simples, por esta razón, se pudiera hacer uso de ellos como posibles antioxidantes biológicos (Gu *et al.*, 2004). Sin embargo, a pesar de sus posibles efectos benéficos como antioxidantes, los taninos se han asociado a la reducción de la digestibilidad proteica del sorgo, debido a que se forman complejos taninos-proteínas inhibiendo algunas enzimas proteolíticas (Duodu *et al.*, 2002; Waniska *et al.*, 1989; Dlamini *et al.*, 2007).

Policosanoles

Policosanoles o alcoholes grasos, son una mezcla de alcoholes alifáticos de alto peso molecular. Se encuentran generalmente en forma libre o esterificados con átomos de 24-34 carbonos, su fórmula general es $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{OH}$ (Awika and Rooney, 2004).

Estos compuestos están siendo estudiado con mayor intensidad, debido a que se han reportado que ejercen importantes efectos beneficiosos a la salud, como la capacidad de modificar los niveles de lípidos séricos, disminuir la agregación plaquetaria, ayuda al aumento de la resistencia muscular, entre otras (Hwang *et al.*, 2004).

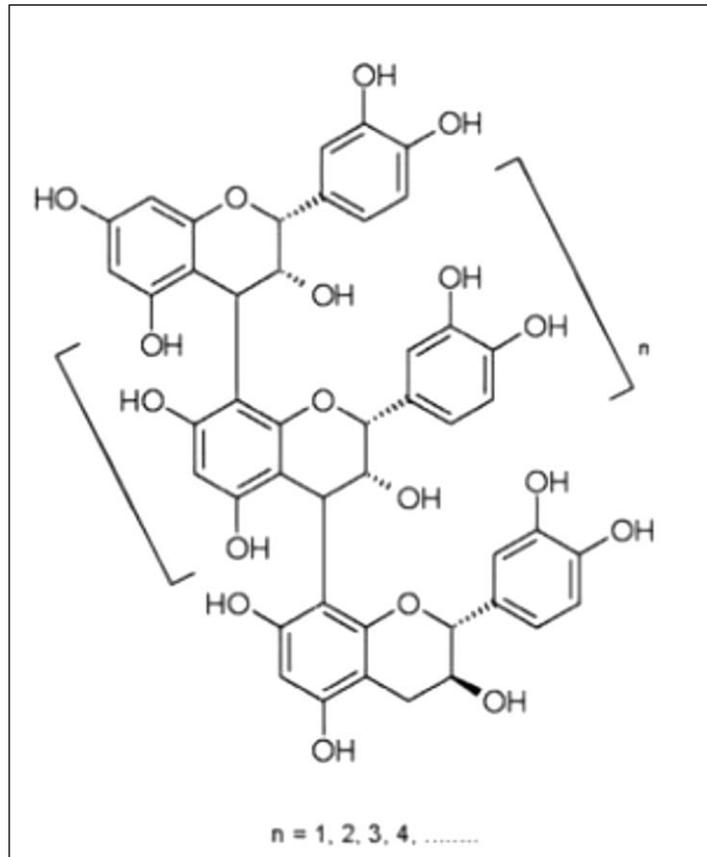


Figura 4. Estructura general de taninos condensados.
Fuente: Awika and Rooney, 2004.

Junto con otros compuestos, los policosanoles conforman la cera de las plantas. En el sorgo, la cera comprende aproximadamente 0.2% del grano, por lo general este valor es más alto que en otros cereales. Los policosanoles representan 19 a 46% de la cera de sorgo, con octacosanol (C28) y triacontanol (C30) los más abundantes; esto se traduce en aproximadamente 38-92 mg de policosanol por cada 100 g de grano de sorgo (Hwang *et al.*, 2004; Awika and Rooney, 2004).

Molienda Abrasiva

Los procesos de molienda, tanto húmeda como seca, han sido ampliamente utilizados para la separación del salvado y el germen, para la obtención de harina y almidón a base de cereales. Sin embargo, esto no es fácil de lograr, debido a las limitaciones de los molinos de rodillos tradicionales donde la separación del salvado y el endospermo no es completa. Por esta razón, se han desarrollado otros procesos que cubran óptimamente con la separación de los componentes de los granos (Chen *et al.*, 2013a).

El proceso de decortinado abrasivo o descascarillado tiene la finalidad de separar el salvado del resto del grano (Chen *et al.*, 2013b). En 1960 un grupo de investigadores encontraron que las capas externas de los granos de arroz podían eliminarse de forma sucesiva mediante abrasión sin dañar los granos. El primer prototipo de decortinado abrasivo se utilizó para evaluar las características del proceso de descascarado de cebada y sorgo, midiendo el grado de abrasión y la tasa de extracción de harina, además de la reproducibilidad del proceso. Los resultados de la prueba mostraron que el proceso y el equipo son eficaces para la eliminación del salvado sin daños en el grano de una manera consistente (Hogan *et al.*, 1964). Este método tiene otras ventajas ya que es relativamente barato y además no se requieren grandes instalaciones para llevar a cabo la operación (Chen *et al.*, 2013b).

El proceso de decortinado afecta el valor nutritivo de los cereales, ya que los nutrientes están distribuidos de manera desigual en las diferentes fracciones. Este método es efectivo para la concentración de los fitoquímicos presentes en el sorgo, especialmente

en el salvado. Aunque se conoce la naturaleza antioxidante de estos compuestos, son pocos los estudios donde se evalúe el efecto del salvado de sorgo como ingrediente de alimentos funcionales, tanto en el área de tecnología de alimentos como en la evaluación del potencial impacto en la salud.

Distribución de Tamaño de Partícula

Diversos estudios han reportado que el salvado es una fuente importante de compuestos antioxidantes y de fibra; además, puede proveer atributos deseables en un alimento, como el color, sin afectar propiedades sensoriales en alimentos como el pan, galletas o botanas. Estas características y el incremento en la demanda de alimentos funcionales, convierten al salvado de sorgo en un importante suplemento con impacto potencial a la salud (Awika *et al.*, 2005).

El salvado de sorgo contiene varios fitoquímicos que podrían ser absorbidos durante la digestión. Hay diversos factores que aún no han sido bien documentados cuando se habla de disponibilidad de compuestos antioxidantes. Entre esos factores está la distribución del tamaño de partícula, pues los compuestos pudieran no estar disponibles debido a la estructura o matriz donde se encuentran. En un proceso digestivo normal, después de la masticación se modifica la distribución del tamaño de partícula, pero aún no se digiere y pasa al intestino grueso. La mayor parte del salvado intacto pasa al colon distal, donde se fermenta. Por esta razón la distribución del tamaño de partícula inicial es importante (Brewer *et al.*, 2014). En algunos estudios donde se ha evaluado el efecto del tamaño de partícula sobre el proceso de digestión, señalan que una distribución del tamaño de partícula reducido se asocia con una disminución en el contenido de agua en las heces (Awika *et al.*, 2005).

Algunos autores reportan que el proceso de molienda ultra-fina puede ser utilizado para modificar físicamente la estructura de la matriz de los cereales, aumentando con esto el área de superficie de contacto de la partícula y por lo tanto la exposición de compuestos antioxidantes. Este tipo de molienda ha sido utilizado con el fin de

aumentar la bioaccesibilidad de ácidos fenólicos a partir de salvado de trigo (Hemery *et al.*, 2010).

Salvado de Sorgo

En los cereales se le conoce como salvado a la capa externa que envuelve al grano (pericarpio), que en el caso del sorgo está compuesto por el pericarpio y la capa aleurona, representando de. 4.9 al 8% de peso del grano (Hama *et al.*, 2011). El salvado se separa fácilmente por decorticación abrasiva, un proceso dirigido hacia la eliminación gradual por la fricción de las capas externas del grano (Awika and Rooney, 2004).

El salvado de sorgo se caracteriza por tener altas concentraciones de compuestos antioxidantes, como ácidos fenólicos, flavonoides y proantocianidinas. Esta fracción contiene de tres a seis veces mayor contenido de compuestos fenólicos y por ende mayor actividad antioxidante en comparación con el grano completo (Awika *et al.*, 2005). Las propiedades antioxidantes del sorgo, se han asociado con beneficios a la salud, impactando en enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, procesos inflamatorios, entre otros (Dykes and Rooney, 2007).

Otros componentes del salvado de sorgo son los lípidos, que se encuentran presentes entre un 7 a 9%, incluyendo triacilglicéridos, ácidos grasos libres, policosanoles, aldehídos grasos, esteroides libres, ésteres de cera y ésteres de esteroides, siendo los triacilglicéridos los componentes mayoritarios (da Silva and Taylor, 2004; Weller and Hwang, 2005). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) se encuentran en mayor proporción (> 84%), y por tal motivo el aceite de sorgo es más susceptible a la oxidación (Hadbaoui *et al.*, 2010). Las reacciones de autooxidación son una de las causas del deterioro de los lípidos, trayendo consigo características indeseables en los alimentos, como son sabores y olores desagradables (rancidez)

(Moure *et al.*, 2001). Se han propuesto diversos métodos para mantener al salvado en estado óptimo para la producción de alimentos con calidad nutricia. Dentro de estos tratamientos se encuentra el desgrasado del salvado, sin embargo, se ha reportado que en el proceso se extraen también antioxidantes (Buitimea-Cantúa *et al.*, 2013).

Mecanismo de Autooxidación del Salvado

La autooxidación es un proceso secuencial, ya que se genera una cascada de oxidación causada por radicales libres, provocando la degradación de grasas y aceites de origen natural (Porter *et al.*, 1986). Ese proceso consta de tres etapas: iniciación, propagación y terminación (Figura 5) (Porter *et al.*, 1995).

La iniciación se refiere al proceso que convierte un ácido graso (estable) en un peróxido lipídico reactivo, $R\bullet$. Esto puede presentarse a causa un proceso de hidrólisis térmica o por la abstracción de un átomo de hidrógeno de un enlace R-H, por acción de un iniciador de radicales libres (Porter *et al.*, 1986).

La etapa de propagación normalmente comienza con la adición de oxígeno molecular al radical libre generado ($R\bullet$). En la segunda etapa de propagación, que limita la velocidad de reacción, se lleva a cabo la abstracción de un átomo de hidrógeno de un enlace R-H por un radical peroxilo ($ROO\bullet$) para generar $ROOH$ y otro radical $R\bullet$. La etapa de propagación puede ser más complicada que los simples pasos de transferencia y adiciones que se muestran en la Figura 5. También en esta etapa pueden llevarse a cabo acoplamientos radical-oxígeno, transferencia de átomos o grupos, fragmentación, reestructuración y ciclación (Figura 6) (Porter *et al.*, 1995).

El proceso de terminación se produce a través de uno de los tres mecanismos: 1) la interacción de dos radicales que dan como resultado una o dos moléculas estables; 2) la descomposición de un radical alcoxilo, producido a través de la descomposición del hidroperóxido, que reduce la molécula lipídica en dos compuestos estables; o 3) la hidrólisis del hidroperóxido a través de la enzima hidroperóxido liasa.

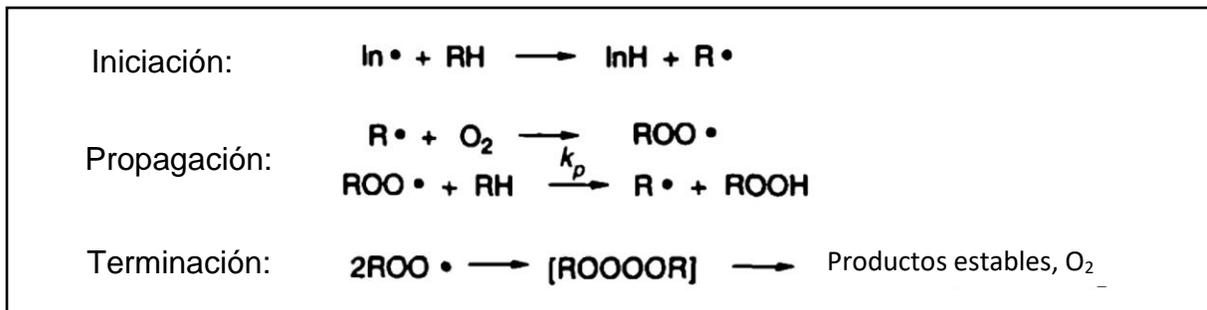


Figura 5. Reacciones del mecanismo de autoxidación por radicales libres de ácidos grasos insaturados.

Fuente: Porter *et al.*, 1995.

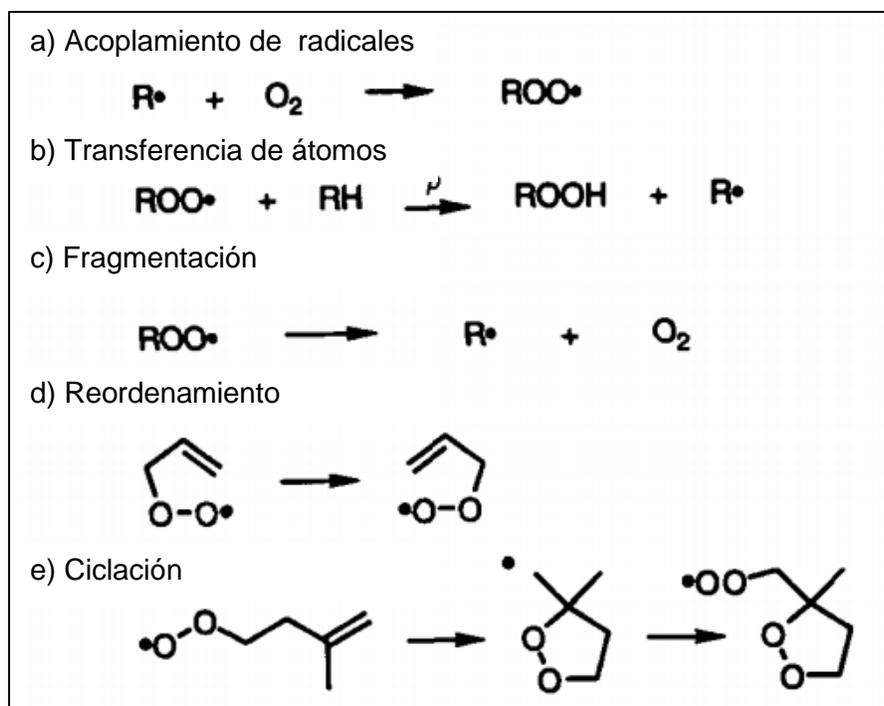


Figura 6. Reacciones de propagación en procesos de autoxidación de ácidos grasos insaturados.
Fuente: Porter *et al.* 1995.

Las reacciones de terminación generan productos de oxidación secundaria que pueden ser volátiles y estables. Estos compuestos volátiles comienzan a acumularse y una vez que se excede el umbral del olor para ciertos productos de oxidación secundaria, los consumidores pueden percatarse de la rancidez (Doblado-Maldonado *et al.*, 2012).

La oxidación lipídica es una causa importante de deterioro de la calidad en alimentos y afecta negativamente a la integridad de los sistemas biológicos. Los cambios oxidativos en los alimentos dan lugar al desarrollo de malos sabores, la pérdida de nutrientes, compuestos bioactivos, e incluso formación de compuestos potencialmente tóxicos (Shahidi and Zhong, 2010).

En cereales se llevan a cabo estas reacciones de oxidación, como en el caso del arroz, trigo y otros cereales, que al someterse a un proceso de pulimento o decorticación (que consiste en separar el salvado del endospermo), el aceite del salvado queda expuesto a las enzimas lipolíticas presentes, las cuales actúan como catalizadores de la hidrólisis de triacilglicéridos de cadena larga y destruyen el enlace éster que une los ácidos grasos con el glicerol (Malekian *et al.*, 2000).

Como resultado de dicha reacción enzimática se producen ácidos grasos libres insaturados (AGLI), los cuales se oxidan por medio de dos mecanismos: la acción enzimática de oxidasas y oxigenasas presentes en el salvado y la autooxidación debida a productos generados por el primer mecanismo, provocando con esto la pérdida de la calidad alimentaria y disminuyendo la vida de anaquel (Malekian *et al.*, 2000).

Oxidación por Acción Enzimática

La lipoxigenasa (LOX) cataliza la oxidación de los ácidos grasos insaturados tales como ácidos linoleico y linolénico. La LOX puede afectar el color, sabor y propiedades nutritivas de los cereales (Malekian *et al.*, 2000).

El proceso de oxidación enzimática está fuertemente asociado con el tipo de grano y las propiedades físicas, químicas de los lípidos presentes. Si el grano se daña por la cosecha, el transporte o la molienda, la compartimentación celular se rompe, permitiendo que las enzimas lipolíticas interactúen más fácilmente con el aceite que se almacenó previamente, ya que aumenta la probabilidad de que los lípidos que se liberan entren en contacto con el oxígeno atmosférico y los prooxidantes, como los rayos UV o los metales, promoviendo la iniciación (Suzuki, 2011). Las enzimas lipasa y la lipoxigenasa, son activadas generalmente cuando hay un rompimiento de tejidos, en el caso de los cereales, este daño puede ser causado por el proceso de molienda o decorticación.

La lipasa cataliza la hidrólisis de tri, di y monoacilgliceroles para producir ácidos grasos libres (AGL) y glicerol. Posteriormente se generan hidroperóxidos de ácidos grasos por acción de las lipoxigenasas. Los AGL son mejores sustratos para la oxidación catalítica de la lipoxigenasa y son más inestables químicamente en presencia de prooxidantes que los triacilgliceroles progenitores. Los triacilgliceroles con un ácido graso insaturado en la posición 1 o 3 se oxidan más rápidamente que los que presentan un residuo de acilo insaturado en la posición 2 (más protegida) (Xu *et al.*, 1998; Malekian *et al.*, 2000).

Todos los pasos de propagación y ramificación son el resultado de procesos autooxidativos que operan en los peróxidos formados en el paso de iniciación. El radical peróxido tiene suficiente energía para contribuir a la extracción de hidrógeno de otro ácido graso insaturado que forma un radical lipídico y un hidroperóxido lipídico (ROOH). En la propagación, el radical lipídico reacciona con el oxígeno atmosférico, formando un nuevo peróxido lipídico y, mediante la repetición de esta reacción, forma muchas moléculas diferentes de hidroperóxido lipídico (Xu *et al.*, 1998).

La etapa de terminación ocurre por diversos mecanismos, puede ser por la interacción de los radicales libres con antioxidantes, que detienen la propagación y ramificación de productos de descomposición de peróxido e hidroperóxido, evitando la rancidez. Además, la terminación también puede presentarse por acción de la enzima

hidroperóxido liasa, que cataliza la descomposición de hidroperóxidos en dos moléculas estables más pequeñas (Doblado-Maldonado *et al.*, 2012).

Procesos de Estabilización del Salvado

Durante el proceso de decortinado o blanqueado de cereales para la obtención de las capas de salvado, los lípidos del salvado quedan expuestos a las enzimas lipolíticas presentes en este, y las cuales actúan como catalizadores de la hidrólisis de triglicéridos de cadena, rompiendo el enlace éster que une los ácidos grasos con el glicerol. Los ácidos grasos libres insaturados (AGLI) generados de la reacción enzimática son fáciles de oxidar por dos mecanismos: 1) la acción enzimática de oxidasas y oxigenasas presentes en el salvado; y 2) la autooxidación de los productos generados por el primer mecanismo (Frankel, 1984).

En la actualidad se han estudiado y desarrollado diversos métodos para evitar la rancidez por acción enzimática. Esos tratamientos se han aplicado principalmente en salvado de arroz, sin embargo, los estudios en cereales como trigo o sorgo aún son escasos. En todos los métodos el principal objetivo es la eliminación o inactivación de las enzimas responsables de la degradación lipídica. Esta operación se conoce como estabilización del salvado y debe llevarse a cabo no más de una hora después del proceso de decortinado (Zullaikah *et al.*, 2005).

La estabilización del salvado también inactiva otros inhibidores nutricionales eliminando su toxicidad sin causar daño a la calidad de sus proteínas, además de que destruye hongos, bacterias y otra contaminación causada por insectos, lo cual le permite incrementar su vida de anaquel y la seguridad alimentaria (Sharif *et al.*, 2014).

Se han establecido diferentes procesos de estabilización de salvado, que incluyen tratamientos químicos, térmicos, y enzimáticos. Dentro de los métodos químicos se encuentra la modificación de pH y los vapores de etanol. Sin embargo, los investigadores han concluido que estos métodos no son del todo eficaces. En el caso

de la modificación del pH, es necesario trabajar con un pH estable por debajo de la actividad de la enzima y los resultados no son contundentes. Por otra parte, los vapores de etanol dieron como resultado final una eliminación del 15% de aceite y el salvado mostró susceptibilidad a la rancidez después de 6 meses de almacenamiento (Prabhakar and Venkatesh, 1986).

Los métodos más recomendados por su eficacia y en ocasiones bajos costos, son aquellos que involucran temperaturas elevadas, como la extrusión, tostado, microondas, fuerzas óhmicas, entre otras. Dependiendo del tipo de tratamiento térmico, las lipasas pueden ser reversiblemente inhibida o permanentemente desnaturalizado. Se ha reportado que en los procesos de calor seco se obtienen salvados con menos estabilidad y, por ende, con menor tiempo de vida de anaquel (Malekian *et al.*, 2000).

Extrusión

La extrusión de alimentos es un proceso en el que un material (grano, harina o subproducto) es forzado a fluir, bajo una o más de una serie de condiciones de mezclado, calentamiento y cizallamiento, a través de una placa/boquilla diseñada para dar formar o expandir los ingredientes. En la Figura 7 se muestra el diseño general de un equipo extrusor de un solo tornillo.

El método de extrusión es altamente versátil, pues puede ser aplicado en diferentes procesos de alimentos. Puede ser utilizado para lograr cambios físicos, químicos o bioquímicos. Mediante extrusión se puede cocer, dar forma, mezclar, modificar texturas y hasta eliminar agentes patógenos de los alimentos procesados (Riaz *et al.*, 2000).

La extrusión térmica también se ha utilizado como método de estabilización de salvado, lográndose la inactivación de lipasas y peroxidasas durante el proceso en condiciones normales (Sharif *et al.*, 2014).

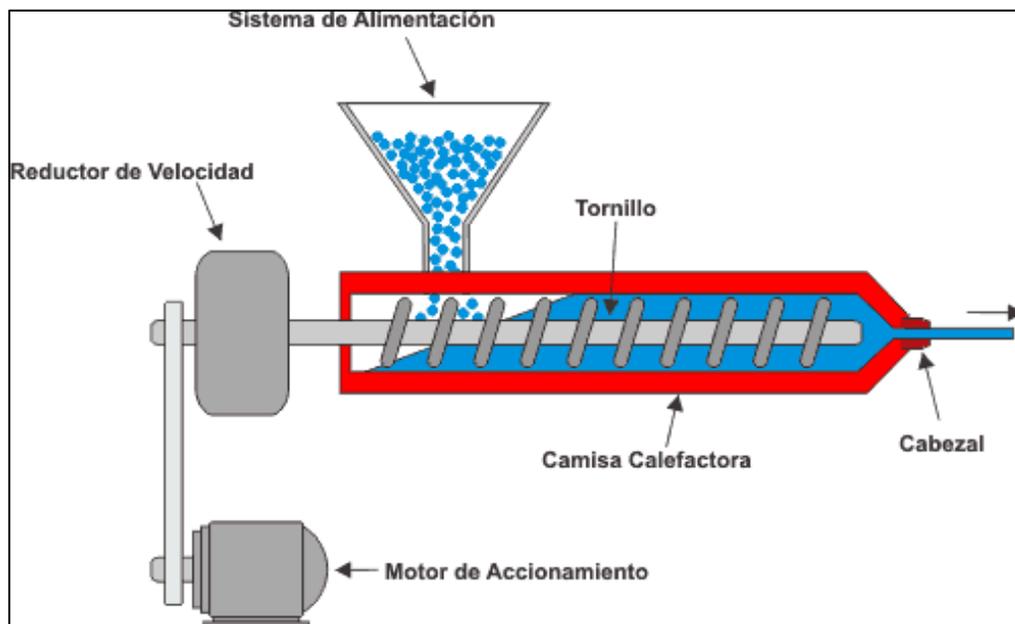


Figura 7. Componentes de un extrusor de tornillo simple.

Fuente: <http://www.textoscientificos.com/imagenes/extrusion.gif> (Fecha de consulta: agosto 2016).

Con esto se alarga el tiempo de almacenamiento en forma óptima y condiciones nutricias deseables del salvado (Porta *et al.*, 1993). Además de evitar las reacciones enzimáticas que causan la rancidez y pérdida de la calidad del salvado.

El proceso de extrusión causa algunas modificaciones en los componentes del salvado. En un estudio (Sharma *et al.*, 2004) donde se estabilizó salvado por dos métodos diferentes, calor seco y extrusión térmica, se observó que hubo una disminución en el contenido de lisina y ácido fítico, se incrementó la capacidad de absorción de agua en el sorgo extrudido en comparación con el estabilizado con calor seco.

También se registraron cambios en la solubilidad de la proteína, siendo mayor en el salvado crudo, mientras que el contenido de almidón dañado fue mayor en el salvado estabilizado. El color del salvado estabilizado por extrusión fue marrón oscuro, mientras que el de calor seco fue más claro. En si no se reportaron cambios importantes en el contenido de ácidos grasos libres en el salvado estabilizado, sin embargo, el salvado extrudido se almacenó hasta por 60 días.

Efecto de la Extrusión sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante

Los compuestos fenólicos presentes en los cereales se encuentran principalmente en la fracción de salvado. La matriz donde se encuentran embebidos estos compuestos es muy compleja, lo que dificulta el acceso de las enzimas que ayudan a la liberación de los compuestos fenólicos al tracto gastrointestinal. Por esta razón su biodisponibilidad es muy baja.

Para el aprovechamiento de estos compuestos antioxidantes, es necesario romper la matriz de salvado y facilitar la liberación y absorción de los compuestos. Para este propósito, se han desarrollado diversas tecnologías de procesamiento como la cocción por extrusión.

La extrusión tiene dos efectos opuestos sobre los compuestos fenólicos en los granos de cereales. Por un lado, los compuestos pueden sufrir reacciones de descarboxilación debido a la alta temperatura y humedad del proceso, promoviendo la polimerización de fenoles y taninos. Esto conduce a la reducción de la capacidad de extracción y de la actividad antioxidante. Por otro lado, la extrusión corta matrices de la pared celular y rompe los enlaces covalentes de polifenoles de alto peso molecular, lo que resulta en una mejora de la accesibilidad de los compuestos fenólicos. El efecto neto del proceso de extrusión sobre los compuestos fenólicos totales, depende de qué efecto es predominante (Wang *et al.*, 2014).

Se han reportado algunos estudios en cereales como el trigo donde el nivel de compuestos bioactivos presentes en los productos extruidos se ve incrementado. Tal es el caso del ácido ferúlico, que se ha reportado que después del proceso de extrusión aumenta hasta tres veces su concentración. El aumento en los niveles de ciertos ácidos fenólicos en productos extrudidos es generalmente debido a la liberación de los compuestos de la matriz de la pared celular (Zielinski *et al.*, 2001). Este comportamiento es también reportado por Ramos-Enríquez *et al.*, (2018), quienes indicaron un incremento en los compuestos fenólicos al optimizar las condiciones del proceso de extrusión en salvado de trigo.

Capacidad Antioxidante del Sorgo

Actualmente la capacidad antioxidante es uno de los parámetros utilizados para evaluar o predecir beneficios potenciales de compuestos fitoquímicos de plantas (Awika *et al.*, 2003).

El sorgo es un cereal que contienen fenoles simples, ácidos hidroxibenzoico, ácidos hidroxicinámicos, antocianinas, proantocianidinas y varios otros flavonoides. Hoy en día, los compuestos fenólicos son generalmente considerados como componentes deseables de la alimentación humana, debido a su capacidad antioxidante; por lo

tanto, se consideran de importancia nutricia (Dicko *et al.*, 2006). En el sorgo, a los compuestos fenólicos se les atribuye la mayor aportación de la capacidad antioxidante del grano (Awika *et al.*, 2003).

Estudios sobre cómo los fitoquímicos del sorgo impactan en la salud humana es escasa. Sin embargo, la evidencia epidemiológica sugiere que el consumir sorgo regularmente en la dieta, tiene propiedades anticancerígenas. Los estudios en animales de experimentación también indican que el consumo de sorgo promueve la salud cardiovascular. Es de gran importancia establecer los mecanismos de acción de los compuestos antioxidantes, y evaluar en humanos los efectos benéficos que provee este cereal, tomando en cuenta que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial (Rao *et al.*, 2018; Okarter and Liu, 2010; Awika and Rooney, 2004).

Uno de los problemas que se presentan al momento de evaluar la capacidad antioxidante de los fitoquímicos, es que no toma en cuenta otros efectos que pudieran ser tanto beneficiosos como perjudiciales, como podría ser la modificación de la actividad enzimática o las vías de señalización celular (Awika and Rooney, 2004). Esto se complica aún más, debido a la falta de métodos estandarizados para la medición de la capacidad antioxidante. Los métodos utilizados en la actualidad no siempre son los adecuados, tomando en cuenta la naturaleza de la muestra. Además, debe tomarse en cuenta que cuando se habla de compuestos antioxidantes, es importante conocer el hecho de que, la medición de la capacidad antioxidante *in vitro*, no representa la actividad antioxidante real que un producto alimenticio o una fracción del producto podrían tener *in vivo* después de la ingestión (Gökmen *et al.*, 2009).

Metodología de Superficie de Respuesta (MSR)

El Método de Superficie de Respuesta (MSR) es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas que son útiles para el modelo y análisis de problemas en los que la respuesta de interés es afectada por diversas variables (Montgomery, 2004).

Se ha utilizado para crear prototipos de productos donde se pueden modelar los efectos de los niveles de los ingredientes y/o las condiciones de procesamiento. La MSR se utiliza principalmente para economizar dinero y reducir el tiempo de pruebas al disminuir el número de ensayos que se llevan a cabo (White *et al.*, 2010).

La MRS se aplica en situaciones donde varios factores influyen potencialmente una medida de desempeño o característica de calidad del producto o del proceso. Esta medición del desempeño o característica es llamada respuesta. Las aplicaciones reales de la MSR involucran más de una respuesta. Los factores de entrada son llamados variables independientes, y se encuentran sujetas al controlador para propósitos de un experimento (Myers *et al.*, 2016).

El objetivo de la utilización de MRS es llegar de forma rápida y eficiente, hasta la zona general del óptimo. Una vez que se ha encontrado la región del óptimo, puede emplearse un modelo más elaborado, como el de segundo orden y llevarse a cabo un análisis para localizar esta región. El último objetivo de la MSR, es determinar las condiciones de operación óptimas del sistema o determinar una región de espacio de los factores, en la que se integren los requerimientos de operación (Bezerra *et al.* 2008).

HIPÓTESIS

La estabilización del salvado de sorgo rojo por el método de extrusión térmica incrementará la capacidad antioxidante del salvado, incrementando su tiempo de vida de anaquel.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la humedad de alimentación y la temperatura del proceso de extrusión sobre los compuestos fenólicos del salvado de sorgo, y optimizar la máxima concentración de esos compuestos y la capacidad antioxidante utilizando la técnica de superficie de respuesta y evaluar su impacto sobre la vida de anaquel.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar fisicoquímicamente el salvado de sorgo rojo obtenido mediante el método de decorticación abrasiva.
2. Evaluar el efecto de la humedad de alimentación (HA) y temperatura (T) sobre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.
3. Obtener las condiciones óptimas del proceso de estabilización térmica por extrusión del salvado del sorgo con base en la obtención del máximo contenido de fenoles y capacidad antioxidante.
4. Evaluar el impacto del proceso de extrusión sobre la vida de anaquel y la capacidad antioxidante del salvado de sorgo durante el almacenamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diagrama General de la Investigación

En la Figura 8 se muestra el esquema general de trabajo que se planteó para este estudio.

Materia Prima

Se utilizó sorgo rojo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) de la cosecha 2016, proveniente de los Mochis, Sinaloa. El sorgo rojo fue limpiado manualmente, eliminando todo tipo de impurezas y posteriormente fue guardado a temperatura de refrigeración y en completa oscuridad hasta su uso.

Reactivos

Para la determinación de compuestos fenólicos totales se utilizó el estándar de ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck, Darmstadt, Germany); para actividad antioxidante se utilizó el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y Trolox (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). En la determinación de ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico se utilizaron sus correspondientes estándares, los cuales fueron comprados de una compañía de reactivos (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Los solventes fueron grado HPLC (metanol, acetonitrilo, ácido trifluoroacético y agua). Los demás reactivos químicos fueron grado analítico, comprados de una compañía de reactivos (JT Baker Deventer, The Netherlands).

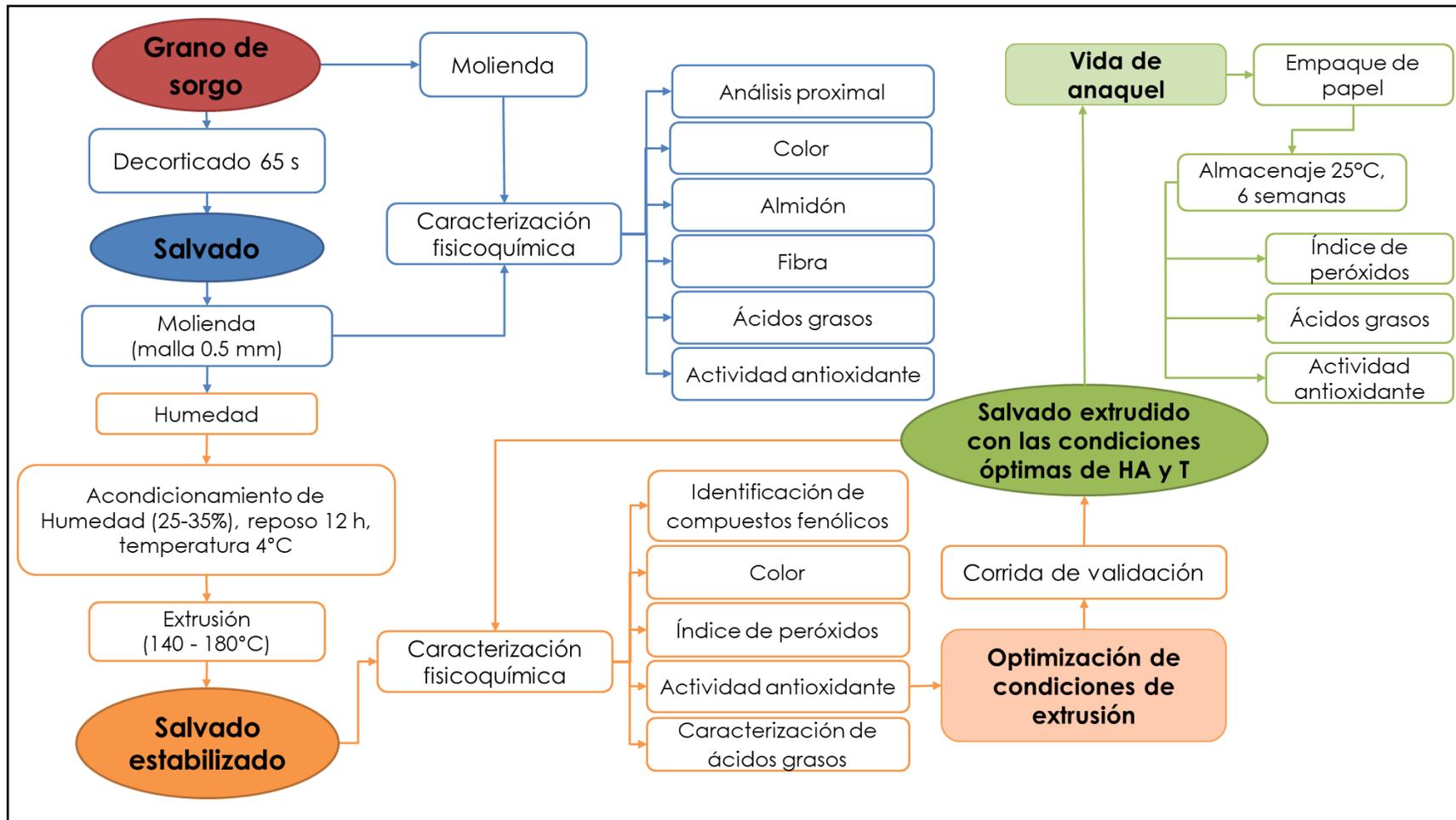


Figura 8. Diagrama general del trabajo de investigación. HA: humedad de alimentación, T: temperatura de la cuarta zona de extrusión.

Decorticación del Grano de Sorgo

Se llevó a cabo una cinética de tiempo de decortinado con el fin de seleccionar el tiempo en el cual la remoción del salvado es total. El grano de sorgo se separó en lotes de 2 kg, los cuales se sometieron al proceso de molienda abrasiva, utilizando un mini decortificador tipo PRL (Laboratorio Prairie Regional, Nutana Machine Co., Saskatoon, Canadá) (Reichert, 1982). Se obtuvieron tres fracciones de salvado de molindas para los tiempos de decorticación de 60, 90 o 120 s. El porcentaje de remoción del grano se calculó por diferencia en peso. Las fracciones de salvado fueron molidas en un molino de mortero (Retsch RM 200, Haan, Alemania) haciéndolas pasar a través de una malla de 0.5 mm.

Caracterización Físicoquímica del Salvado

El grano entero, las fracciones de salvado y la harina (endospermo) se analizaron mediante las determinaciones de análisis proximal, color y pH.

Análisis Proximal

El análisis proximal del grano de sorgo entero y el salvado obtenido se realizó siguiendo los procedimientos oficiales de AACCC (2000). Las evaluaciones fueron las siguientes: contenido de humedad (método, 44.16), contenido de cenizas (método, 08-12) y contenido de grasa cruda (método, 30-20). El análisis de proteína se hizo por el método de combustión de Dumas, usando un determinador de nitrógeno (Modelo FP-528, LECO Corp. MI, USA), método AOAC- 990.03 (1984). El factor de conversión utilizado para obtener el porcentaje de proteína fue de 6.25.

Color

Las muestras se pusieron en cajas de Petri de 3.5 cm de diámetro y 1 cm de altura para las mediciones de color (Figura 9) (L = luminosidad; + a = rojo, - a = verde, + b = amarillo, - b = azul), las cuales se llevaron a cabo utilizando un colorímetro (Hunter Lab MiniScan XE PLUS, Reston VA, USA).

pH

El pH se determinó utilizando el método 02-52 de la AACC (2000). A 10 g de muestra se le agregaron 100 mL de agua recientemente hervida y a temperatura ambiente, se agitó por 10 minutos hasta lograr su completa homogeneización. Después de 15 min de reposo, se decantó el sobrenadante y se le determinó el pH con un potenciómetro (HANNA Instruments, model HI110).

Distribución de Tamaño de Partícula

Se obtuvo utilizando un separador de tamices (Rotachoc, Chopin Instruments, serial 46902, Villeneuve-La-Garenne, France) y el siguiente procedimiento: una muestra de salvado de sorgo de 50 g de muestra molida se pasó a través de los siguientes tamices: No. 20 (841 μm), 40 (420 μm), 60 (250 μm), 80 (177 μm), 100 (149 μm) y fondo (<149 μm). Se colocaron en el separador durante 15 min (Platt et al., 2010).

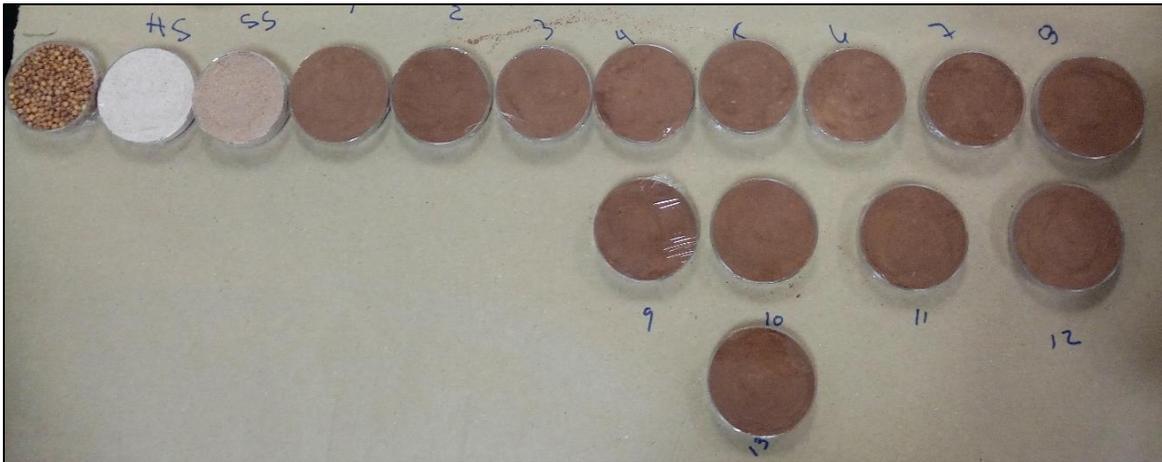


Figura 9. Muestras del grano de sorgo, harina de sorgo, salvado de sorgo crudo y de los 13 tratamientos extrudidos, utilizadas para la determinación de color.

Posteriormente las fracciones del sorgo molido retenidas en cada malla se pesaron para obtener la distribución del tamaño de partícula (DTP) con la siguiente ecuación:

$$DTP = \frac{\textit{gramos detenidos en cada malla}}{\textit{gramos de muestra inicial}} \times 100 \quad \text{Ecuación (1)}$$

El resultado de esta determinación se reportó en porcentaje retenido en cada una de ellas. El análisis se realizó por triplicado.

Proceso de Extrusión del Salvado de Sorgo

Acondicionamiento

Se pesaron 14 lotes de 350 g de salvado de sorgo crudo, y cada uno de ellos se homogenizó individualmente en una mezcladora (Kitchen Aid, Modelo MK45SSWH, St. Joseph, Michigan, USA) durante 5 min. Durante el mezclado se agregó agua destilada conforme a lo establecido en el diseño experimental en un rango de 25 – 35 % p/p como se muestra en la Tabla 1. Las muestras de salvado de sorgo extrudido se almacenaron en bolsas de polietileno a 4 °C en oscuridad, durante 12 horas.

Proceso de Extrusión

El salvado de sorgo acondicionado se alimentó al extrusor bajo las siguientes condiciones: tornillo número 2 (relación de compresión nominal 2:1); velocidad del tornillo de 100 rpm; velocidad de alimentación de la tolva de 50 rpm; y diámetro de apertura del dado de 3 mm. El proceso se llevó a cabo en un extrusor de un solo tornillo (Figura 10) (Brabender Instruments, Modelo E19 / 25 D, OHG, Duisburg, Alemania) con cuatro zonas de calentamiento.

Tabla 1. Diseño experimental con diferentes combinaciones de humedad de acondicionamiento/temperatura de extrusión, para la obtención de salvado de sorgo.

Tratamiento	Factores del proceso	
	HA ¹ (%)	T ² (°C)
1	26.46	145.86
2	33.54	145.86
3	26.46	174.14
4	33.54	174.14
5	25.00	160.00
6	35.00	160.00
7	30.00	140.00
8	30.00	180.00
9	30.00	160.00
10	30.00	160.00
11	30.00	160.00
12	30.00	160.00
13	30.00	160.00

¹HA: Humedad de alimentación, ²T: Temperatura de la cuarta zona de calentamiento.



Figura 10. Extrusor de un solo tornillo utilizado para la obtención de salvado de sorgo extrudido.

Las temperaturas dentro del barril en la primera, segunda y tercera zonas fueron de 60, 80 y 110 °C, respectivamente, y la temperatura de la cuarta zona se estableció de acuerdo con el diseño del experimento (rango: 140 - 180 °C). Al final del extrusor se obtuvieron los extrudidos de salvado, los cuales se dejaron enfriar a 25 °C.

Secado

Las muestras de salvado de sorgo extruido a diferentes condiciones de humedad y temperatura se enfriaron a temperatura ambiente (25 °C), y posteriormente se secaron a 60 °C durante 30 min en un secador de túnel (Figura 11a).

Molienda

Una vez seco los diferentes tratamientos de salvado de sorgo extruido, se molieron en un molino de mortero (Retsch RM 200, Haan, Alemania) hasta pasar a través de una malla de 0.5 mm (Figura 11b) y posteriormente se almacenaron a 4 °C en bolsas de polietileno selladas en la oscuridad hasta su análisis.

Análisis Químico de los Extrudidos

Obtención de Extractos

La evaluación de la actividad antioxidante se llevó a cabo en extractos metanólicos del grano de sorgo, del salvado crudo y de los diferentes tratamientos de salvado de sorgo extruido.

La fracción de compuestos fenólicos libres se obtuvo de la siguiente manera: se mezcló 1 g de muestra con 15 mL de metanol acuoso al 80%, se sonicó (Branson Ultrasonics, Model: 5800, U. S.) durante 1 h y se centrifugó (Thermo Scientific™ Sorvall™ Stratos, U.S.) a 3000 g durante 15 minutos.



Figura 11. a) extrudidos secos, b) disminución de tamaño de partícula de los extrudidos en un molino de martillo.

Los sobrenadantes se separaron y los residuos se extrajeron dos veces. Las muestras se filtraron y se evaporaron a sequedad en un evaporador rotatorio (BÜCHI Labortechnik, AG) a 40 °C. Posteriormente, los extractos se disolvieron en 5 mL de metanol al 50 %. Los residuos de esta extracción se utilizaron para la obtención de los extractos metanólicos de compuestos fenólicos unidos.

Enseguida 100 mg de residuo se mezcló con 15 mL de NaOH 2 N y se sonicó por 3 h, se ajustó el pH a 1.5 – 2 y se le agregó el doble del volumen de acetato de etilo, se agitó vigorosamente por 2 min y se centrifugó. Los sobrenadantes se separaron y los residuos se extrajeron dos veces más. Las muestras se evaporaron a sequedad en un evaporador rotatorio a 40 °C. Posteriormente los extractos se disolvieron en 5 mL de metanol al 50 %.

El contenido de compuestos fenólicos libres, unidos y totales se expresó en microgramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra ($\mu\text{gEAG/g}$) (Awika *et al.*, 2003).

Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Actividad secuestrante del radical DPPH

El ensayo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) se basa en una reacción colorimétrica en la cual el radical estable DPPH pierde su color al ser reducido por acción de un antioxidante. Esto se midió en un espectrofotómetro de UV visible (xMark Microplate Spectrophotometer System, US) a 515 nm. Brevemente, el ensayo consistió en disolver 2.5 mg de radical DPPH en 100 mL de metanol, se ajustó la solución a una absorbancia de 0.7 ± 0.2 . Enseguida, 280 μL de solución de radical se le agregaron a 20 μL de cada una de las muestras. Después de 30 min a temperatura ambiente y en obscuridad se leyó la absorbancia de cada una de las muestras contra blanco reactivo (Brand-Williams *et al.*, 1995). Los resultados se expresaron en micro moles equivalentes de Trolox por gramo de muestra ($\mu\text{molET/g}$).

Compuestos fenólicos

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos en los extractos de fenoles libres y unidos. Se mezclaron 150 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu con 120 μL de carbonato de sodio 7 % y 5 μL de muestra y se incubó por 1 h. La absorbancia fue leída a 765 nm (xMark Microplate Spectrophotometer System, US). El estándar utilizado fue ácido gálico, y los resultados se expresaron en microgramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra ($\mu\text{gEAG/g}$) (Kaluza *et al.*, 1980).

Perfil de Ácidos Grasos

Los ácidos grasos (AG) fueron determinados por cromatografía de gases, cuantificados en forma de metilésteres (FAMES). Los ácidos grasos se metilaron siguiendo el procedimiento de Sánchez-Machado *et al.* (2009), con algunas modificaciones. Específicamente se pesaron 200 mg de salvado de sorgo en un tubo con rosca, se adicionaron 2 mL de tolueno y 3 mL de HCL metanólico al 5% recién preparado. Esta mezcla se agitó en el vortex y se calentó por 2 horas a 70 °C en baño de agua. Después se enfrió a temperatura ambiente, y se añadieron 3 mL de K_2CO_3 al 6% y 2 mL de tolueno, seguido de agitación en vortex. La mezcla se centrifugó a 2,400 rpm por 5 minutos, después se separó la fase orgánica (superior) y se secó con Na_2SO_4 anhídrido. El cromatógrafo de gases (VARIAN 3800) está equipado con un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar CP-Sil 88 (100 m x 0.25 mm, Agilent).

Las condiciones de operación fueron: volumen de inyección, 6.0 μL ; temperatura del inyector, 250 °C; gas portador, helio; y temperatura del detector, 260 °C. El gradiente de temperatura en el horno de la columna inicio en 100 °C por 5 minutos, seguido por incrementos de 4 °C/min hasta 240 °C, permaneciendo 30 min. Los picos individuales de los ácidos grasos se identificaron por comparación de los tiempos de retención de AG del estándar de referencia (Supelco 37). La abundancia relativa de cada AG se estima en proporción al área del pico identificado.

Vida de Anaquel del Salvado de Sorgo Extrudido

Almacenamiento

Se evaluó el efecto del proceso de extrusión sobre la calidad del salvado de sorgo extrudido durante su almacenamiento. La muestra de sorgo extrudido fue aquella obtenida con las condiciones optimizadas. Muestras de 100 g de salvado de sorgo extrudido optimizado y salvado de sorgo sin extrudir (control) se empacaron en bolsas de papel Kraft de 7 x 13 cm. Las bolsas se almacenaron durante 42 días a 25 °C en oscuridad y aisladas de corrientes de aire. Cada 7 días se tomó una muestra para poder observar los efectos del proceso de extrusión a diferentes tiempos de almacenamiento.

Evaluación Química del Salvado de Sorgo Almacenado

A las muestras tomadas cada 7 días se les evaluó el grado de deterioro del salvado determinando la acidez, ácidos grasos libres, índice de peróxidos, pH. Además, se evaluó el efecto del almacenamiento sobre el contenido de fenoles y actividad antioxidante.

Desgrasado de las Muestras

Después del almacenamiento, a las muestras se les extrajo la fracción lipídica. Los lípidos se obtuvieron usando hexano, en agitación durante 5 h. Después de la extracción, se filtraron para eliminar la fracción harinosa y el disolvente se evaporó para la obtención de los lípidos los cuales inmediatamente se colocaron en viales ámbar a 4 °C. Las fracciones desgrasadas (harinosa) se almacenaron a -20 °C para la obtención de extractos metanólicos.

Acidez Titulable

Esta determinación se llevó a cabo utilizando el método Ca 5a-40 de la AOCS (1989) y nos permite apreciar el grado de deterioro de la muestra por acción de microorganismos. Además, la acidez se relaciona con el contenido de ácidos grasos libres. Se mezclaron 0.1 g de aceite, 0.5 mL de alcohol etílico al 95% y 3 gotas de fenolftaleína y se tituló con una solución de NaOH 0.1 N.

pH

Se determinó el pH utilizando la técnica previamente descrita en la página 38 de esta sección.

Ácidos Grasos Libres

Esta prueba se llevó a cabo siguiendo el método Ca 5a-40 de la AOCS (1989) y proporciona una idea de la cantidad de grasa que se perderá al ser neutralizado para remover los ácidos grasos libres. Se pesaron 0.1 g de muestra y se adicionó 0.5 mL de alcohol etílico al 95% neutralizado con álcali y 3 gotas de fenolftaleína. Se tituló con una solución de NaOH 0.1 N. El porcentaje de ácidos grasos libres en la mayoría de las grasas y aceites son calculados como ácido oleico. Los cálculos se realizaron utilizando la siguiente fórmula:

$$AGL \text{ como oléico, en } \% = \frac{mL \text{ de NaOH} \times N \text{ de NaOH} \times 28.2}{\text{peso de la muestra}} \quad \text{Ecuación (2)}$$

Índice de Peróxidos

Con el fin de evaluar la pérdida de la calidad del salvado, por la formación de hidroperóxidos, se determinó el índice de peróxidos siguiendo el método Cd 8-53 de la AOCS (1989) con algunas modificaciones. Se pesaron 0.2 g de aceite y se añadió 30 µL de KI y 1.2 mL de solución de ácido acético/cloroformo y se agitó vigorosamente por 1 min. Se adicionaron 1.2 mL de agua y 3 gotas de almidón, para titular con una solución de tiosulfato de sodio 0.01N. se utilizó la siguiente fórmula para los cálculos:

$$\text{meq de peróxido por Kg de muestra} = \frac{(S-B)(N)*1000}{\text{peso de la muestra}} \quad \text{Ecuación (3)}$$

Donde:

B=titulación del blanco

S=titulación de la muestra

N=Normalidad del tiosulfato de sodio

Evaluación de Compuestos fenólicos y Capacidad Antioxidante

Obtención de Extractos y Evaluación de la Capacidad Antioxidante

La obtención de extractos y las determinaciones de fenoles y evaluación de la capacidad antioxidante se llevó a cabo como se describió anteriormente en las páginas 43- 46.

Identificación de Ácidos Cafeico, *p*-Cumárico y Ferúlico

Los ácidos fenólicos fueron cuantificados en un equipo de HPLC-DAD (Agilent 1200, Santa Clara, CA), usando una columna de fase reversa Zorbax Eclipse Plus C18, 4.6 mm x 100 mm (3.5 µm), de acuerdo con la metodología descrita por Ayala-Soto

et al. (2014), con modificaciones. Las condiciones de operación fueron: volumen de inyección, 5.0 μ L, temperatura de la columna de 30 °C. El gradiente de elución escalonado se realizó con agua acidificada con ácido trifluoroacético a pH 2 (A) y acetonitrilo (B) de la siguiente manera: a los 0 min 15 % B; a los 10 min 35 % B; a los 11 min 55 % B, a una velocidad de flujo de 0.6 mL/min; a los 12 min 75 % B con velocidad de flujo de 0.8 mL/min; a los 13 min 100 % B con velocidad de flujo de 1.0 mL/min, a 25 °C. La identificación de los picos de los ácidos ferúlico y p-cumárico y cafeico se basó en el tiempo de retención de los estándares.

Diseño de Experimentos y Análisis Estadístico

Se realizó un diseño experimental de composición central de dos factores y cinco niveles. Los factores de procesamiento fueron: humedad de alimentación y temperatura de extrusión, dando como resultado un total de 13 tratamientos (Tabla 1).

Los datos obtenidos de las determinaciones fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de confiabilidad del 95%. El análisis estadístico se llevó a cabo con el Software Design Expert V.7.0.0 (Stat-Ease, Minneapolis, MN).

Optimización de las Variables del Proceso de Extrusión

La optimización se realizó con el fin de encontrar la combinación de variables del proceso de extrusión donde se presente los máximos contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

Para realizar este procedimiento, se utilizó el Software Design Expert V.7.0.0 (StatEase, Minneapolis, MN). Para la optimización del contenido de humedad de alimentación (HA) y la temperatura de la cuarta zona del extrusor (T) se seleccionaron las variables respuesta: contenido de compuestos fenólicos libres

(FL) (maximizar) y capacidad antioxidante de la fracción de compuestos fenólicos libres (DPPH-FL) (maximizar).

Una vez que se obtuvieron las gráficas de contorno, se aplicó la superposición de superficies para encontrar la combinación de la región de condiciones óptimas de procesamiento (Myers, 2009), las cuales fueron: humedad de alimentación (HA) y temperatura (T) de la cuarta zona del extrusor. Se obtuvieron gráficas de contorno y se estableció la selección de la combinación de las condiciones óptimas de procesamiento.

Validación de las Condiciones Óptimas del Proceso de Extrusión y Análisis de los Extrudidos

La validación de las condiciones de extrusión estimadas (humedad de alimentación y temperatura) por el modelo, se evaluaron experimentalmente extruyendo salvado de sorgo con esas condiciones. Al salvado de sorgo extrudido con las condiciones óptimas se le realizaron las determinaciones de contenido de compuestos fenólicos libres (FL) y capacidad antioxidante de la fracción de compuestos fenólicos libres (DPPH-FL), y se compararon con los valores estimados del modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética de Decorticado

Los resultados de la cinética de tiempo de decorticado del grano de sorgo rojo se muestran en la Figura 12. Para calcular el tiempo de decorticado, se llevó a cabo una regresión lineal usando la siguiente ecuación de la recta:

$$\text{Tiempo de decorticado} = \frac{\% \text{ remoción de salvado} - 4.2517}{5.4938} \quad \text{Ecuación (4)}$$

De acuerdo con esta ecuación, el tiempo para una remoción del 10 % de salvado fue de 65 s. El porcentaje de remoción se obtuvo por diferencia de pesos. Buitimea-Cantúa *et al.*, (2013), llevaron a cabo decorticaciones seriadas (1 – 6 min) de granos de sorgo rojo, reportando un tiempo de abrasión de 4 min como el adecuado para la remoción completa de la fracción de salvado. Estas diferencias con los resultados obtenidos pudieran deberse a que se usaron diferentes variedades de sorgo rojo y posiblemente los granos tenía diferente dureza.

Análisis Fisicoquímico del Salvado de Sorgo

Análisis Proximal

La composición química del grano y el salvado de sorgo se muestran en la Tabla 2. Se encontraron diferencias significativas entre la composición del grano de sorgo y el salvado. En el grano, el contenido de ceniza y grasa fue menor ($p < 0.05$) que en el salvado de sorgo crudo; sin embargo, el contenido de proteína fue mayor en el grano.

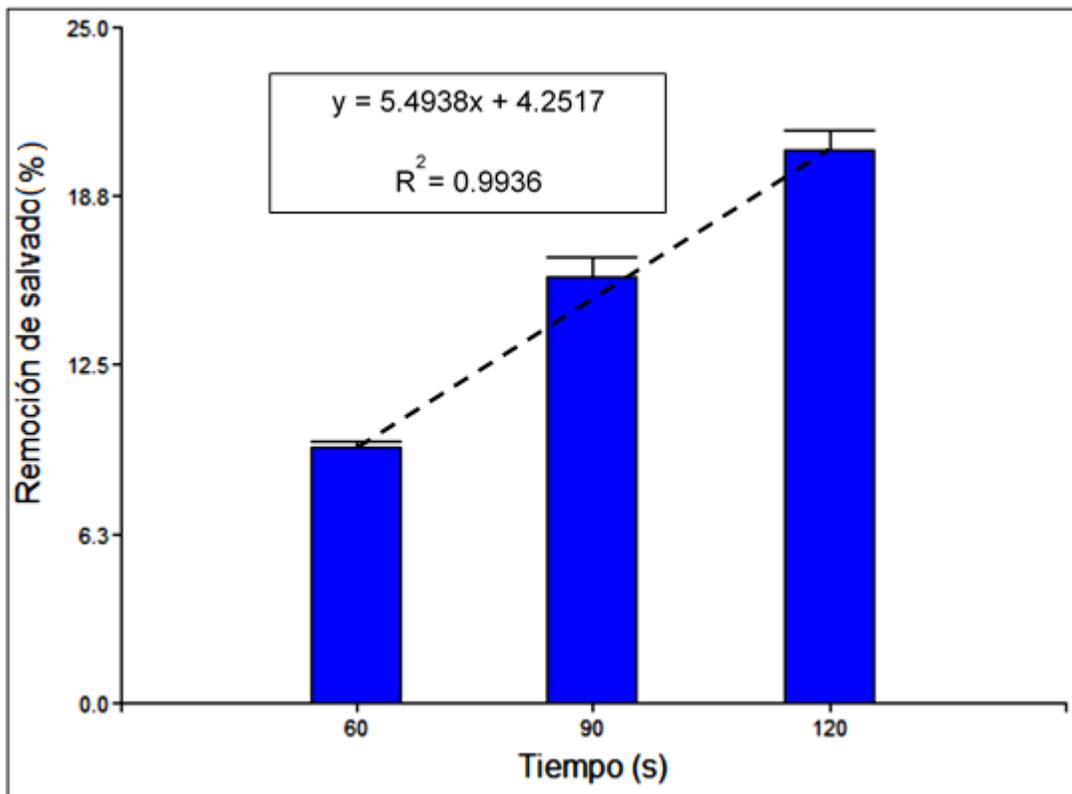


Figura 12. Cinética de tiempo de decorticado de salvado de sorgo rojo.

Tabla 2. Análisis proximal del grano de sorgo y la fracción de salvado (g/100g, base seca)¹.

Sorgo rojo	Humedad ¹	Ceniza ²	Grasa ²	Proteína ²	Carbohidratos ³
Grano	7.70 ± 0.05 ^a	1.62 ± 0.04 ^b	4.00 ± 0.06 ^b	11.69 ± 0.16 ^a	75.05 ± 0.25 ^a
Salvado	7.26 ± 0.23 ^b	3.61 ± 0.02 ^a	7.24 ± 0.04 ^a	10.42 ± 0.07 ^b	71.56 ± 0.24 ^b

¹ Los resultados se presentan como la media ± desviación estándar; n = 3. Diferentes letras dentro de cada columna indican diferencias significativas (p <0.05).

² Reportados en base seca.

³ Reportados como diferencia de los otros componentes químicos.

Estas diferencias, se deben al proceso de decortinado, el cual concentra ciertos compuestos abundantes en las diferentes fracciones anatómicas del grano. Como se esperaba, el contenido de grasa fue mayor en el salvado de sorgo que en el grano.

pH

La medición de pH es una técnica que nos permite conocer el nivel acidez en el alimento, lo que pudiera indicar la presencia de ácidos grasos libres, que son altamente susceptibles a la degradación y por ende se presenta el deterioro del alimento.

En la Tabla 3 se muestra el pH del grano y del salvado de sorgo. El pH en el salvado de sorgo fue menor que en el grano. El pH de un alimento se puede relacionar con el contenido de lípidos, que en este caso es mayor en el salvado del sorgo en comparación con la cariósida completa. Debido a que los compuestos lipídicos mayoritarios son los triacilglicérols y están conformados en su mayoría por ácidos grasos polinsaturados, presentan mayor susceptibilidad a la oxidación y por lo tanto al deterioro del salvado (Malekian *et al.*, 2000).

Distribución del Tamaño de Partícula

En la Figura 13 se muestra la distribución del tamaño de partícula del salvado de sorgo. Se puede observar que el mayor porcentaje salvado es retenido entre las mallas No. 80 (177 μm) y fondo (<149 μm) (66.29 %). Esto indica que la mayor proporción del salvado se considera como fino. Se ha reportado que el tamaño de partícula juega un papel importante en las propiedades texturales del producto final y tiene un impacto en la capacidad de digestión de ciertos componentes de la harina y el salvado, como son la fibra y algunas proteínas. Por otra parte, se sabe que las fracciones finas, con tamaños de partícula reducidos, impactan benéficamente sobre algunas propiedades biofuncionales, como la antioxidante.

Tabla 3. Valores de pH para el grano de sorgo y la fracción de salvado.

Muestra	pH ¹
Grano de sorgo	6.92 ± 0.02 ^a
Salvado	6.46 ± 0.01 ^b

¹ Diferentes letras en la columna indican diferencias significativas (P <0.05). Valores ± desviaciones estándar; n = 3.

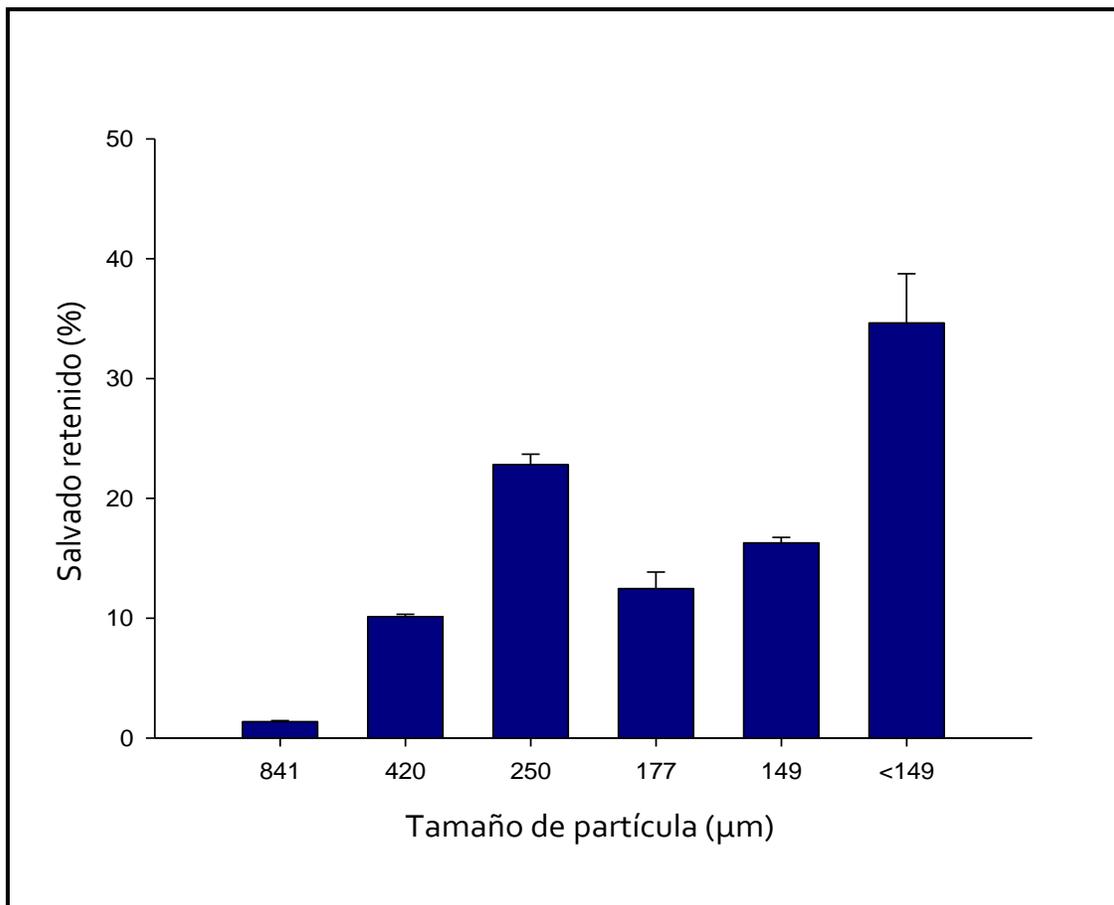


Figura 13. Distribución de tamaño de partícula del salvado de sorgo.

En el caso del salvado de sorgo, esto pudiera mejorar la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en el mismo, pues se incrementa la superficie de contacto, dejando más expuestos a dichos compuestos para ejercer su función (Wang *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 2010).

Evaluación Química de los Extrudidos

Se evaluó el contenido protéico de los extrudidos el cual varió entre 10.46 y 10.93 g/100g de muestra (base seca), sin presentarse diferencias significativas entre los tratamientos.

En la Tabla 4 se muestran los resultados del contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presente en el salvado de sorgo y los diferentes tratamientos extrudidos conforme se planteó en el diseño experimental. Estos datos se usaron para realizar el análisis de varianza (ANDEVA) y la optimización de las variables de extrusión (HA y T), para potencializar el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.

Efecto de HA y T sobre el Contenido de Humedad de los Extrudidos

En la Tabla 5 se muestran los coeficientes de las ecuaciones del modelo de predicción y el análisis de varianza (ANDEVA), el cual mostró que el contenido de humedad (CH) de los extrudidos fue afectada muy significativamente en términos lineales de HA ($p < 0.0004$). El modelo que da ajuste para el contenido de humedad de los extrudidos se presenta en la Ecuación 5:

$$Y_{CH} = 20.04 + 2.04 (HA) \quad \text{Ecuación (5)}$$

Tabla 4. Diseño experimental con diferentes combinaciones de humedad de alimentación/temperatura, para la obtención de salvado de sorgo estabilizado con el máximo contenido de compuestos fenólicos y máxima capacidad antioxidante.

Tratamiento	Factores del proceso		Variables respuesta						
	HA ²	T ³	CH ⁴	FL ⁵	FU ⁶	FT ⁷	DPPH-FL ⁸	DPPH-FU ⁹	DPPH-FT ¹⁰
	%	°C	%		µg EAG/g			µmol ET/g	
	X ₁	X ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇
SS ¹	-	-	7.26	6381.36	23035.16	29416.53	11.93	55.27	67.20
1	26.46	145.86	18.37	7739.49	20277.09	28016.58	12.31	38.02	50.33
2	33.54	145.86	22.77	6665.64	20457.35	27122.99	10.86	34.64	45.51
3	26.46	174.14	17.41	6449.32	24706.43	31155.75	11.01	40.84	51.85
4	33.54	174.14	21.59	8249.38	21461.68	29711.06	13.00	28.07	41.08
5	25.00	160.00	15.89	6812.42	27796.66	34609.09	11.43	78.20	89.63
6	35.00	160.00	21.33	7002.99	22775.03	29778.02	9.13	59.62	68.75
7	30.00	140.00	21.18	7422.74	26869.59	34292.34	10.64	66.75	77.39
8	30.00	180.00	17.26	7237.33	26019.78	33257.11	9.55	58.68	68.23
9	30.00	160.00	17.89	7878.55	19375.77	27254.33	15.91	41.03	56.94
10	30.00	160.00	20.06	7693.14	19839.31	27532.45	15.01	46.85	61.86
11	30.00	160.00	20.26	7639.06	19993.82	27632.88	13.40	41.59	54.99
12	30.00	160.00	20.70	7810.95	20843.63	27795.12	14.96	34.83	49.79
13	30.00	160.00	21.28	8033.07	21616.19	29649.26	14.97	35.21	50.18

¹SS: salvado de sorgo sin extruir; ²HA: Humedad de alimentación (%), ³T: Temperatura de la cuarta zona de calentamiento (°C), ⁴CH: Contenido de humedad (%), ⁵FL: Fenoles libres, ⁶FU: Fenoles unidos, ⁷FT: Fenoles totales (µgEAG/g), ⁸DPPH-FL: capacidad antioxidante de fenoles libres, ⁹DPPH-FU: capacidad antioxidante de fenoles unidos, ¹⁰DPPH-FT: capacidad antioxidante de fenoles totales (µmolET/g).

Tabla 5. Coeficientes de los modelos de predicción y análisis de varianza que muestran la relación entre los factores de procesamiento y los análisis químicos del extrudido.

Coeficientes	CH ³ %	FL ⁴ µgEAG/g	FU ⁵ µgEAG/g	FT ⁶ µgEAG/g	DPPH-FL ⁷ µmolET/g	DPPH-FU ⁸ µmolET/g	DPPH-FT ⁹ µmolET/g
Intercepto							
β	20.04	7810.95	20333.75	27972.81	14.85	39.90	54.75
Lineal							
β ₁ ¹	2.04 ^{***}	124.46 ^{ns}	-1270.77 ^{ns}	-1146.90 ^{ns}	-0.34 ^{ns}	-5.30 ^{ns}	-5.64 ^{ns}
β ₂ ²	-0.96 ^{ns}	nd	528.98 ^{ns}	532.90 ^{ns}	-0.087 ^{ns}	-1.90 ^{ns}	-1.98 ^{ns}
Cuadrático							
β ₁₁	-0.43 ^{ns}	-412.35 ^{***}	1441.14 ^{ns}	1114.74 ^{ns}	-1.88 ^{***}	6.90 ^{ns}	5.02 ^{ns}
β ₂₂	-0.13 ^{ns}	-201.19 ^{**}	2020.56 ^{ns}	1905.32 ^{ns}	-1.98 ^{***}	3.80 ^{ns}	1.83 ^{ns}
Interacción							
β ₁₂	-0.054 ^{ns}	718.48 ^{***}	-856.25 ^{ns}	-137.77 ^{ns}	0.86 ^{ns}	-2.35 ^{ns}	-1.49 ^{ns}
Lack of fit	0.7595 ^{ns}	0.4404 ^{ns}	0.0092 ^{***}	0.0124 ^{**}	0.1508 ^{ns}	0.0048 ^{***}	0.0058 ^{***}
P	0.0006 ^{***}	<0.0001 ^{***}	0.2413 ^{ns}	0.3395 ^{ns}	0.0155 ^{**}	0.7861 ^{ns}	0.8520 ^{ns}
C.V.	5.58	2.19	11.29	8.44	10.04	36.09	27.18
R ²	0.7706	0.9151	0.5558	0.4946	0.8193	0.2528	0.2107

¹β₁: humedad de alimentación, ²β₂: Temperatura de la cuarta zona de calentamiento, ³CH: Contenido de humedad (%), ⁴FL: Fenoles libres, ⁵FU: Fenoles unidos, ⁶FT: Fenoles totales (µgEAG/g), ⁷DPPH-FL: capacidad antioxidante de fenoles libres, ⁸DPPH-FU: capacidad antioxidante de fenoles unidos, ⁹DPPH-FT: capacidad antioxidante de fenoles totales (µmolET/g) nd: no detectado, ns:no significativo (p>0.05), **Significativo (p<0.05), *** Muy significativo (p<0.01).

El contenido de humedad de los extrudidos varió de 15.29 a 22.77 % en los diferentes tratamientos. El menor contenido de humedad se observó en los productos extrudidos a mayor temperatura (perdida de humedad de 42.46 %). Esto posiblemente debido a que las altas temperaturas promueven la evaporación de agua, lo que se traduce en una mayor pérdida de humedad o menor contenido de humedad en los extrudidos. Escalante-Aburto *et al.*, (2014) obtuvieron extruidos de maíz azul e informaron pérdidas de humedad de hasta 43 % en extruidos con una humedad de alimentación de 23 % y una temperatura de extrusión de 150 °C.

Efecto de la HA y T sobre el Contenido de Compuestos Fenólicos

En la Tabla 4 se muestran los resultados de las evaluaciones químicas realizadas a los extrudidos de salvado de sorgo. Se determinó el contenido de compuestos fenólicos libres (FL), unidos (FU) y totales (FT).

En el ANDEVA que se presenta en la Tabla 5, se observa el efecto de HA y T sobre el FL. Los efectos fueron altamente significativos en términos cuadráticos de HA ($p < 0.0002$) y de T ($p < 0.0115$). Además, la interacción de las dos variables tuvo un efecto muy significativo ($p < 0.0001$) sobre esta fracción de compuestos fenólicos. En la Ecuación 6 se presenta el modelo de ajuste en términos de los factores codificados para FL:

$$Y_{FL} = 7810.95 + 718.48 (HA)(T) - 412.35 (HA)^2 - 201.19(T)^2 \quad \text{Ecuación (6)}$$

Los valores de FL estuvieron en el rango de 6449.32 - 8249.38 $\mu\text{gEAG/g}$. En la Figura 14 se muestra el efecto de HA y T sobre el contenido de compuestos fenólicos. EL mayor contenido de FL se presenta a altas temperaturas y alta humedad de alimentación ($T = 180$ °C y $HA = 35$ %).

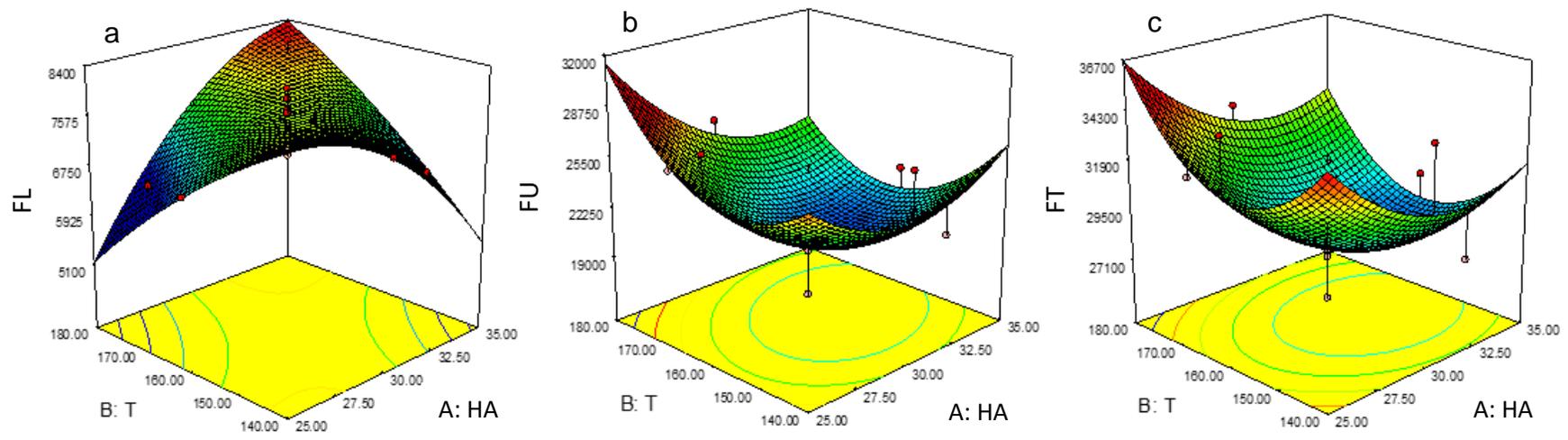


Figura 14. Efecto de la humedad de alimentación (HA) y la temperatura de extrusión (T) sobre el contenido de compuestos fenólicos ($\mu\text{gEAG/g}$): a) fenoles libres, b) fenoles unidos y c) fenoles totales.

La fracción de compuestos fenólicos unidos (FU) y los fenoles totales (FT) no se afectaron por los factores HA y T ($p > 0.05$). Sin embargo, en la Figura 13 se puede observar una tendencia al incremento en el contenido de FU y FT, a la temperatura más elevada (180 °C) y baja humedad de alimentación (25 %). Los valores de FU estuvieron en el rango de 19375.8 - 27796.7 $\mu\text{gEAG/g}$ y el de FT entre 27123.0 - 34609.1 $\mu\text{gEAG/g}$ (Tabla 4). El contenido de compuestos fenólicos libres se incrementó y al mismo tiempo los fenoles unidos se vieron disminuidos. Esto puede deberse a la liberación de los compuestos fenólicos anclados a la pared celular por efecto de la temperatura del proceso.

Diversos autores han reportado el efecto del proceso de extrusión sobre los compuestos fenólicos de diferentes cereales. Zielinski *et al.*, (2001) reportaron un incremento en la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en salvados extrudidos de diversos cereales, como cebada, arroz y avena, asociando tal efecto al tratamiento térmico. Ramos-Enríquez *et al.*, (2018) observaron un incremento en el contenido de fenoles unidos y totales en salvado de trigo a temperaturas de extrusión de 140 °C y 180 °C y humedad de alimentación de 30 %. Además, Ti *et al.*, (2015) reportaron un incremento del 17 % en el contenido de fenoles libres de salvado de arroz extrudido, atribuyendo el efecto al proceso de extrusión. Sin embargo, otros estudios reportan un efecto contrario, como el publicado por de Morais *et al.*, (2014), quienes observaron un decremento en el contenido de compuestos fenólicos libres de diferentes genotipos de sorgo. Algunos autores reportan que a humedades de alimentación mayores al 18 %, se promueve la polimerización de compuestos fenólicos y taninos, disminuyéndose la capacidad de extracción y actividad antioxidante de los mismos (Awika *et al.*, 2003; Taylor and Duodu, 2015). Además, la reducción de compuestos fenólicos puede atribuirse a la alteración de su estructura a causa de la alta temperatura del proceso de extrusión que también puede conducir a la disminución de la actividad antioxidante (Awika *et al.*, 2003).

Se ha reportado que el proceso de extrusión tiene dos efectos sobre los compuestos fenólicos de los cereales: 1) la alta temperatura provoca la degradación y la

polimerización de los compuestos fenólicos termolábiles; y 2) el tratamiento térmico promueve la desintegración de la pared celular y rompe los enlaces covalentes de polifenoles complejos de alto peso molecular, mejorando la accesibilidad de los compuestos fenólicos (Zielinski *et al.*, 2001; Altan *et al.*, 2009; Brennan *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2012; Ramos-Enríquez *et al.*, 2018). Además, la humedad de alimentación también afecta el contenido de compuestos fenólicos: a baja humedad de alimentación la fuerza de corte es mayor, y se espera que los compuestos fenólicos sean más susceptibles a la degradación térmica; a alta humedad, se han observado pérdidas aún mayores en el contenido de compuestos fenólicos, sin embargo, a una humedad de alimentación óptima, los compuestos fenólicos están protegidos de la degradación térmica, permaneciendo estables (Rudra *et al.*, 2015; Adarkwah-Yiadom *et al.*, 2017). Por otro lado, la accesibilidad y liberación de los compuestos fenólicos depende en gran medida del tipo de matriz alimentaria y las condiciones de extrusión. Por lo anterior, es necesario establecer las variables óptimas del proceso de extrusión para cada alimento (Acosta-Estrada *et al.*, 2014; Ti *et al.*, 2015).

Efecto de la HA y T sobre la Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos fenólicos fue evaluada mediante el método de DPPH (Tabla 4). El ANDEVA (Tabla 5) muestra que la fracción de fenoles libres se afectó significativamente en términos cuadráticos de HA y T ($p < 0.0054$ y $p < 0.0042$, respectivamente). El modelo de ajuste para DPPH-FL en términos de los factores codificados se muestra en la Ecuación 7:

$$Y_{DPPH-FL} = 14.85 - 1.88(FM)^2 - 1.98(T)^2 \quad \text{Ecuación (7)}$$

La capacidad antioxidante se mantuvo en el rango de 9.13 - 15.91 $\mu\text{molET/g}$. Los valores más altos se presentaron cuando HA = 30 % y T = 160 °C (Figura 15).

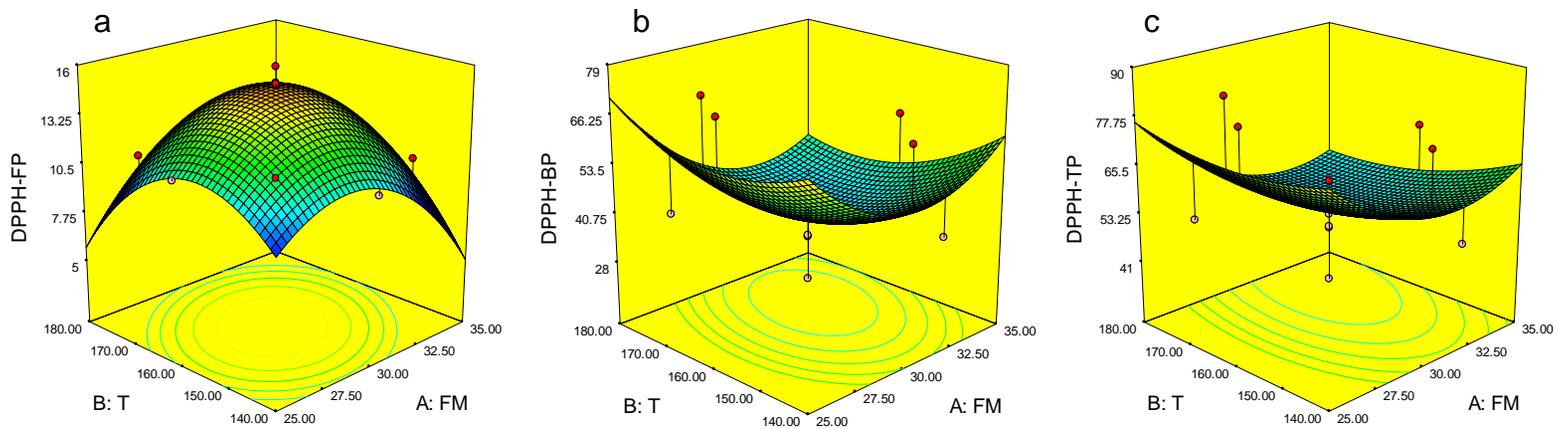


Figura 15. Efecto de la humedad de alimentación y la temperatura del proceso de extrusión sobre la capacidad antioxidante en salvado de sorgo rojo, determinada por la técnica de DPPH ($\mu\text{molET/g}$): a) fenoles libres, b) fenoles unidos y c) fenoles totales.

La capacidad antioxidante de los cereales se debe principalmente a los ácidos fenólicos que están unidos covalentemente a la pared celular, así como a otros compuestos como los flavonoides, carotenoides y tocoferoles (Esposito *et al.*, 2005). La ruptura de los enlaces covalentes debido al proceso de extrusión se refleja en un aumento en la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos totales libres (Taylor *et al.*, 2015). Ti *et al.*, (2015) mencionan que la temperatura de alrededor de 170 °C, es suficiente para romper los enlaces entre los componentes de la pared celular y los compuestos fenólicos, como el ácido ferúlico, mejorando la accesibilidad y con ello incrementa la capacidad antioxidante. Esposito *et al.*, (2005) evaluaron la capacidad antioxidante del salvado de arroz negro extrudido y observaron un incremento en la capacidad antioxidante de la fracción de compuestos fenólicos libres, asociando este comportamiento con la ruptura de los enlaces entre la pared celular y los compuestos fenólicos por efecto del proceso de extrusión.

Efecto del Proceso de Extrusión sobre el Perfil de Ácidos Grasos

Los resultados de la evaluación del contenido de ácidos grasos en los salvados de sorgo crudo y extrudido se muestran en la Tabla 6. El ácido linoleico (18:2n6) se encontró en mayor concentración (45 %) tanto en el salvado de sorgo crudo como en los tratamientos de sorgo extrudidos, seguido del ácido oleico (18:1) con 34 % y palmítico (16:0) con 15 %. Además, en la Tabla 7 se presentan los grupos de ácidos grasos presentes en el salvado crudo y los salvados extrudidos, siendo los predominantes los ácidos grasos poliinsaturados con un 22% y los monoinsaturados con 17%. En general los resultados presentados en estas tablas no revelan un impacto significativo del proceso de extrusión sobre el perfil de ácidos grasos del salvado extrudido.

Tabla 6. Perfil de ácidos grasos (% con respecto del total) en salvado de sorgo y tratamientos extrudidos del T1 al T6¹.

Ácido graso	Sorgo crudo	T1	T2	T3	T4	T5	T6
C13:0	0.12 ± 0.00	0.20 ± 0.09	0.13 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.11 ± 0.01	0.16 ± 0.09
C14:0	0.09 ± 0.01	0.17 ± 0.05	0.08 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.00
C15:0	0.04 ± 0.01	-	-	-	-	0.05 ± 0.00	-
C16:0	15.38 ± 0.01	16.35 ± 0.75	15.65 ± 0.04	15.69 ± 0.11	15.70 ± 0.07	15.27 ± 0.03	15.61 ± 0.33
C16:1	0.45 ± 0.01	0.48 ± 0.04	0.45 ± 0.00	0.46 ± 0.05	0.45 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.46 ± 0.02
C17:0	0.07 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.07 ± 0.01
C18:0	1.51 ± 0.11	1.67 ± 0.21	1.39 ± 0.04	1.82 ± 0.03	1.39 ± 0.05	1.83 ± 0.04	1.50 ± 0.18
C18:1n9 c	34.77 ± 0.01	33.49 ± 0.34	34.21 ± 0.11	33.81 ± 0.04	34.70 ± 0.19	33.88 ± 0.04	34.51 ± 0.26
C18: 2n6 c	44.74 ± 0.12	44.67 ± 0.08	45.02 ± 0.20	44.83 ± 0.28	44.69 ± 0.03	44.83 ± 0.11	44.84 ± 0.57
C20:0	0.27 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.26 ± 0.01
C18:3n6	0.16 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.13 ± 0.03
C20:1n9	0.20 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.19 ± 0.02	1.24 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.03
C18:3n3, C21:0	1.36 ± 0.02	1.21 ± 0.02	1.22 ± 0.01	1.23 ± 0.03	-	1.19 ± 0.02	1.19 ± 0.03
C22:0	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.13 ± 0.02	0.14 ± 0.00	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.03
C20:3n3, C20:4n6	-	0.27 ± 0.06	0.31 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.34 ± 0.00	0.04 ± 0.00	-
C24:0	-	0.29 ± 0.06	0.33 ± 0.00	0.30 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.28 ± 0.06
C24:1n9	-	-	-	-	-	0.41 ± 0.06	-
C22:6n3	0.71 ± 0.05	0.47 ± 0.21	0.52 ± 0.06	0.49 ± 0.09	0.43 ± 0.07	0.72 ± 0.07	0.58 ± 0.36

¹ Promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

Tabla 6-Bis. Perfil de ácidos grasos (% con respecto del total) en salvado de sorgo y tratamientos extrudidos del T7 al T13¹ (Continuación).

Ácido graso	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13
C13:0	0.12 ±0.00	0.13 ± 0.00	0.08 ±0.00	0.18 ± 0.09	0.17 ±0.06	0.12 ±0.00	0.20 ±0.11
C14:0	0.11 ±0.01	0.13 ± 0.00	-	0.09±0.02	0.09 ±0.00	0.10 ±0.01	0.09 ±0.01
C15:0	-	-	-	-	-	-	-
C16:0	15.71 ±0.10	16.41±0.09	14.92±0.41	15.99±0.42	16.00±0.56	15.90±0.10	15.76±0.27
C16:1	0.47 ± 0.01	0.46 ±0.01	0.45 ±0.01	0.46 ±0.02	0.46 ±0.05	0.45 ±0.00	0.47 ±0.01
C17:0	0.09 ±0.00	0.08 ±0.00	0.07 ±0.01	0.07 ±0.00	0.07 ±0.00	0.10 ±0.01	0.08 ±0.01
C18:0	1.91 ±0.05		1.42 ±0.03	1.40 ±0.03	1.48 ±0.03	35.08±0.05	1.64 ±0.09
C18:1n9 c	33.93±0.05	34.93±0.15	33.97±0.39	34.10±0.36	33.87±0.55	45.40±0.11	34.25±0.50
C18: 2n6 c	44.45±0.06	44.98±0.06	46.40±0.33	45.25±0.25	45.30±0.19	0.24 ±0.01	45.17±0.43
C20:0	0.25 ±0.02	0.24 ±0.00	0.23 ±0.02	0.23 ±0.01	0.21 ±0.01	0.11 ±0.01	0.22 ±0.02
C18:3n6	0.14 ±0.00	0.11 ±0.00	0.12 ±0.01	0.09 ±0.04	0.09 ±0.02	0.20 ±0.00	0.11 ±0.05
C20:1n9	0.18 ±0.03	0.20 ±0.00	0.19 ±0.01	1.20 ±0.03	0.19 ±0.00	1.22 ±0.00	0.18 ±0.00
C18:3n3, C21:0	1.20 ±0.05	1.21 ±0.03	1.23 ±0.00	0.13 ±0.01	1.21 ±0.02	0.14 ±0.00	1.16 ±0.03
C22:0	0.14 ±0.00	0.15 ±0.01	0.30 ±0.03	0.29 ±0.06	0.13 ±0.03	0.33 ±0.02	0.12 ±0.01
C20:3n3, C20:4n6	0.32 ±0.02	0.32 ±0.00	0.24 ±0.10	0.19 ±0.11	0.28 ±0.05	0.22 ±0.00	0.27 ±0.01
C24:0	0.37 ±0.00	0.25 ± 0.04	-	-	0.17 ±0.07	-	-
C24:1n9	-	-	-	-	-	-	-
C22:6n3	0.61 ± 0.01	0.42 ±0.11	0.37 ±0.17	0.32 ±0.21	0.29 ±0.16	0.38 ±0.03	0.28 ±0.11

¹ Promedio de dos repeticiones ± desviación estándar.

Tabla 7. Grupos de ácidos grasos encontrados en salvado de sorgo crudo y en los trece tratamientos de salvado de sorgo extrudidos¹.

Tratamiento	Ácidos grasos			
	Saturados	Mono insaturados	Poliinsaturados	Omega 3 ²
Sorgo crudo	2.20 ± 0.23	17.61 ± 0.01	22.73 ± 0.09	12.28 ± 0.03
T1	3.14 ± 0.37	16.99 ± 0.04	22.57 ± 0.06	11.72 ± 0.20
T2	2.25 ± 0.02	17.33 ± 0.08	22.77 ± 0.15	11.98 ± 0.07
T3	2.31 ± 0.31	17.14 ± 0.05	22.66 ± 0.21	11.84 ± 0.06
T4	2.26 ± 0.02	17.58 ± 0.13	22.56 ± 0.05	11.71 ± 0.12
T5	2.27 ± 0.29	17.16 ± 0.03	22.78 ± 0.09	11.93 ± 0.05
T6	2.98 ± 0.18	17.48 ± 0.18	22.71 ± 0.48	12.09 ± 0.26
T7	2.34 ± 0.28	17.20 ± 0.04	22.73 ± 0.04	11.91 ± 0.04
T8	2.17 ± 0.35	17.70 ± 0.11	22.70 ± 0.09	12.19 ± 0.11
T9	2.13 ± 0.14	17.21 ± 0.11	22.68 ± 0.26	11.86 ± 0.13
T10	2.28 ± 0.35	17.28 ± 0.25	22.79 ± 0.23	11.52 ± 0.24
T12	2.29 ± 0.20	17.17 ± 0.39	22.80 ± 0.18	11.79 ± 0.33
T13	2.29 ± 0.36	17.16 ± 0.08	22.89 ± 0.08	11.87 ± 0.04

¹Promedio de 2 repeticiones ± desviación estándar.

²Suma de los ácidos: C18:3n3, C20:3n3 y C22:6n3.

Evaluación Física de los Extrudidos

Color

En la Tabla 8 se presentan los parámetros de color del grano de sorgo entero, así como de la fracción de salvado crudo y de los trece tratamientos de salvado de sorgo de extrudidos. L indica la luminosidad en un rango de 0 a 100 (negro a blanco) y los valores de a (rojo a verde) y b (amarillo a azul) muestran las coordenadas de cromaticidad. El grano entero presentó mayor luminosidad (L=74.59) en comparación con la fracción de salvado (L=63.23), esta diferencia se puede deber a la presencia del endospermo en el grano, donde las tonalidades son más claras, además en el salvado de sorgo se encuentran pigmentos que al estar concentrados disminuyen su luminosidad. Por otra parte, los tratamientos de sorgo extrudidos presentaron tonalidades más oscuras que la fracción de salvado crudo. Esto, puede atribuirse a las condiciones térmicas y de humedad aplicadas durante el proceso de extrusión, donde pudieran llevarse a cabo reacciones de Maillard y caramelización, que se caracterizan por un oscurecimiento (Rufian and Delgado, 2009).

Los valores de a y b para los tratamientos extrudidos de salvado mostraron mayor intensidad en comparación con el grano y el salvado de sorgo crudo. Esto puede deberse a que las capas externas del grano son ricas en compuestos que se caracterizan por su pigmentación, por ejemplo, los flavonoides y las antocianinas, que son consideradas pigmentos encargados de brindar tonalidades rojizas (Awika and Rooney, 2004; Awika *et al.*, 2005).

Optimización de las Condiciones del Proceso de Extrusión del Salvado de Sorgo

Se buscó obtener la mejor combinación de variables del proceso de extrusión para obtener el contenido máximo de compuestos fenólicos y máxima capacidad antioxidante.

Tabla 8. Parámetros de color del grano de sorgo, facción de salvado de sorgo crudo y extrudidos de salvado de sorgo, determinados mediante colorimetría triestímulo¹.

Muestra	Color		
	L ²	a ³	b ⁴
Grano	74.59 ± 2.19	5.35 ± 1.40	10.54 ± 0.53
Salvado	63.23 ± 2.66	8.57 ± 0.62	13.34 ± 1.42
T1	41.69 ± 1.02	12.99 ± 0.26	16.94 ± 0.53
T2	41.08 ± 0.48	13.29 ± 0.20	16.43 ± 0.35
T3	40.95 ± 1.44	13.30 ± 0.12	16.04 ± 1.59
T4	41.38 ± 1.59	13.66 ± 0.10	17.46 ± 0.09
T5	40.95 ± 1.44	12.45 ± 0.69	15.80 ± 1.09
T6	41.38 ± 1.59	13.36 ± 0.51	12.21 ± 0.85
T7	39.07 ± 1.09	13.44 ± 0.45	14.88 ± 4.33
T8	40.33 ± 0.52	13.49 ± 0.19	17.10 ± 0.31
T9	40.23 ± 0.51	12.21 ± 1.44	14.74 ± 1.97
T10	40.69 ± 0.94	12.88 ± 0.37	16.02 ± 0.50
T11	41.18 ± 4.55	12.82 ± 1.85	15.86 ± 2.60
T12	42.56 ± 0.85	11.64 ± 4.59	17.85 ± 0.30
T13	44.08 ± 5.12	11.63 ± 1.91	14.47 ± 2.72

¹ Promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

²L: intensidad de color (100 = luminosidad y 0 = oscuridad), +a³: aumento de color rojo y -a³: aumento de color verde; + b⁴: aumento de color amarillo y -b⁴: aumento de color azul.

Con base en los resultados del ANDEVA (Tabla 5) donde se muestra que hubo un efecto significativo sobre el contenido de compuestos fenólicos libres (FL) y su capacidad antioxidante (DPPH-FL), se utilizó el método convencional gráfico para la optimización de las variables del proceso de extrusión: humedad de alimentación y temperatura. Esto con el fin de obtener el máximo contenido de fenoles libres y la máxima capacidad antioxidante usando el método de DPPH-FL. En la Figura 16 se muestra la zona que corresponde a la mejor combinación de las variables del proceso: HA = 30 % y T = 160 °C, con valores predichos de 7810.9 µgEAG/g para FL y 14.85 µmolET/g para DPPH-FL.

Validación Experimental de las Variables Optimizadas

Se llevó a cabo la corrida de extrusión bajo las condiciones óptimas obtenidas anteriormente. Los demás factores del proceso permanecieron constantes.

Los resultados de las evaluaciones del contenido de compuestos fenólicos libres y su actividad antioxidante se presentan en la Tabla 9, y muestran un 95% de ajuste a los valores predichos. Por lo anterior, se considera que la MRS sirvió para llevar a cabo la optimización de las condiciones de HA y T para obtener la máxima cantidad de FL y la máxima capacidad antioxidante medida como DPPH-FL.

Estudio del Salvado de Sorgo Extrudido Almacenado

Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre la Calidad del Salvado

Se evaluó el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la calidad del salvado de sorgo extrudido y crudo. En la Tabla 10, se muestra el análisis de varianza (ANDEVA) del efecto del tiempo de almacenamiento y el tipo de salvado sobre la acidez, pH, ácidos grasos libres (AGL), e índice de peróxido (IP). El tipo de salvado fue el factor que más afectó a los parámetros de calidad, seguido por el tiempo de almacenamiento y por último la interacción de ambos factores.

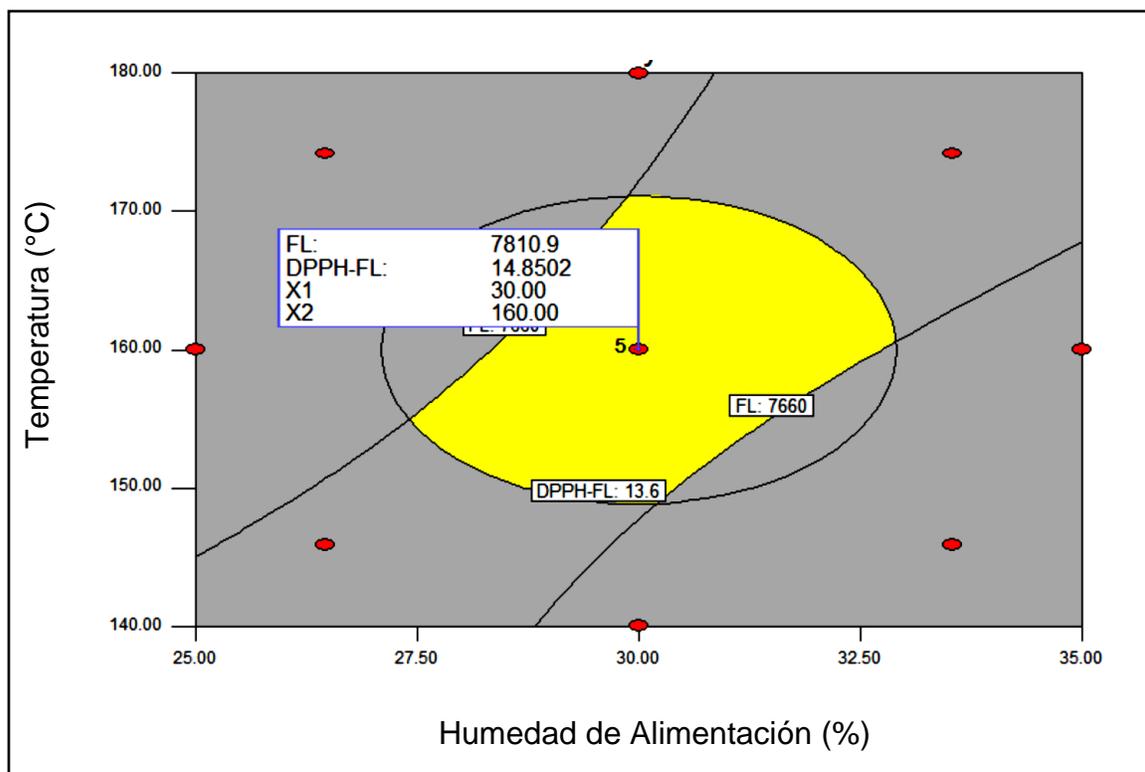


Figura 16. Zona de condiciones óptimas del proceso de extrusión, donde los parámetros a optimizar fueron los compuestos fenólicos libres (FL) y la capacidad antioxidante (DPPH-FL).

Tabla 9. Valor predicho y valor experimental de las evaluaciones químicas de salvado de sorgo rojo obtenido usando las condiciones óptimas del proceso de extrusión¹.

Variable respuesta	Valor predicho	Valor experimental (95 % de ajuste)
FL ² (µgEAG/g)	7810.90 ± 162.59	7428.95 ± 184.81
DPPH-FL ³ (µmolET/g)	14.85 ± 0.87	14.12 ± 0.83

¹Promedio de 2 repeticiones ± desviación estándar.

²FL: fenoles libres, ³DPPH-FL: evaluación de la actividad antioxidante de fenoles libres.

Tabla 10. Análisis de varianza del efecto del tiempo de almacenamiento sobre algunas características químicas del salvado de sorgo.

Fuente de variación	GL ²	F ¹			
		Acidez	pH	AGL ³	IP ⁴
Tiempo de almacenamiento (TA)	2	18.43**	1.52 ^{ns}	335.31**	41.84**
Tipo de salvado (TS)	1	3.57 ^{ns}	0.27 ^{ns}	1974.04**	122.81**
TA*TS	2	1.00 ^{ns}	26.32**	331.71**	52.50**
Error	6				
Total	11				

¹F: medida de precisión de la prueba; ²GL: grados de libertad; ³AGL: ácidos grasos libres; ⁴IP: índice de peróxido.

ns: no significativo (p>0.05)

* significativo (p<0.05)

** muy significativo (p<0.01)

El parámetro más afectado por los factores anteriores fue el contenido de AGL (Tabla 10). En la Tabla 11 se presentan los efectos del tiempo de almacenamiento y el tipo de salvado (salvado de sorgo crudo (SC) y salvado de sorgo extrudido (SE)) sobre la acidez y el pH.

Acidez Titulable

En la Tabla 11 se observa un incremento significativo ($p < 0.05$) en el índice de acidez del SC, de 0.018 % (día 0) a 0.02 % (día 42), mientras que en el SE no se presentaron diferencias significativas con el tiempo de almacenamiento. Esto pudiera deberse a que en el SC aún siguen activas enzimas lipolíticas como la lipasa, que hidroliza a los triacilgliceroles para producir glicerol y ácidos grasos libres, lo que puede reflejarse en el aumento de la acidez (Malekian *et al.*, 2000).

pH

No se observan diferencias significativas en la determinación de pH por efecto del tiempo de almacenamiento ni por el tipo de salvado (Tablas 10 y 11).

Ácidos Grasos Libres

El porcentaje de ácidos grasos libres (AGL) es un indicador de la rancidez del salvado. En el caso del SC se observó un incremento significativo de 2.70 % en el día 0 a 6.32 % el día 42 de almacenamiento. Este porcentaje de ácidos grasos pudiera asociarse con el incremento en el índice de acidez al día 42 del estudio. En la Figura 17 se muestra el efecto del tiempo de almacenamiento sobre los AGL, donde se observa el aumento en el salvado crudo y en el caso del salvado extrudido, los AGL permanecen constantes durante el almacenamiento.

Tabla 11. Valores de acidez y pH del salvado de sorgo crudo y extrudido a diferentes tiempos de almacenamiento¹.

Almacenamiento (Días)	Tipo de Salvado ^{2,3}	Acidez (%)	pH
0	SC	0.018 ± 0.0003 ^{ab}	6.53 ± 0.01 ^a
	SE	0.017 ± 0.0009 ^{ab}	6.40 ± 0.01 ^c
21	SC	0.017 ± 0.0003 ^{ab}	6.41 ± 0.04 ^{bc}
	SE	0.016 ± 0.0006 ^b	6.47 ± 0.01 ^{abc}
42	SC	0.020 ± 0.0012 ^a	6.41 ± 0.04 ^{bc}
	SE	0.019 ± 0.0006 ^a	6.49 ± 0.01 ^{ab}

¹Los valores son la media de dos repeticiones ± la desviación estándar.

²SC: salvado crudo; ³SE: salvado extrudido.

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas (P<0.05).

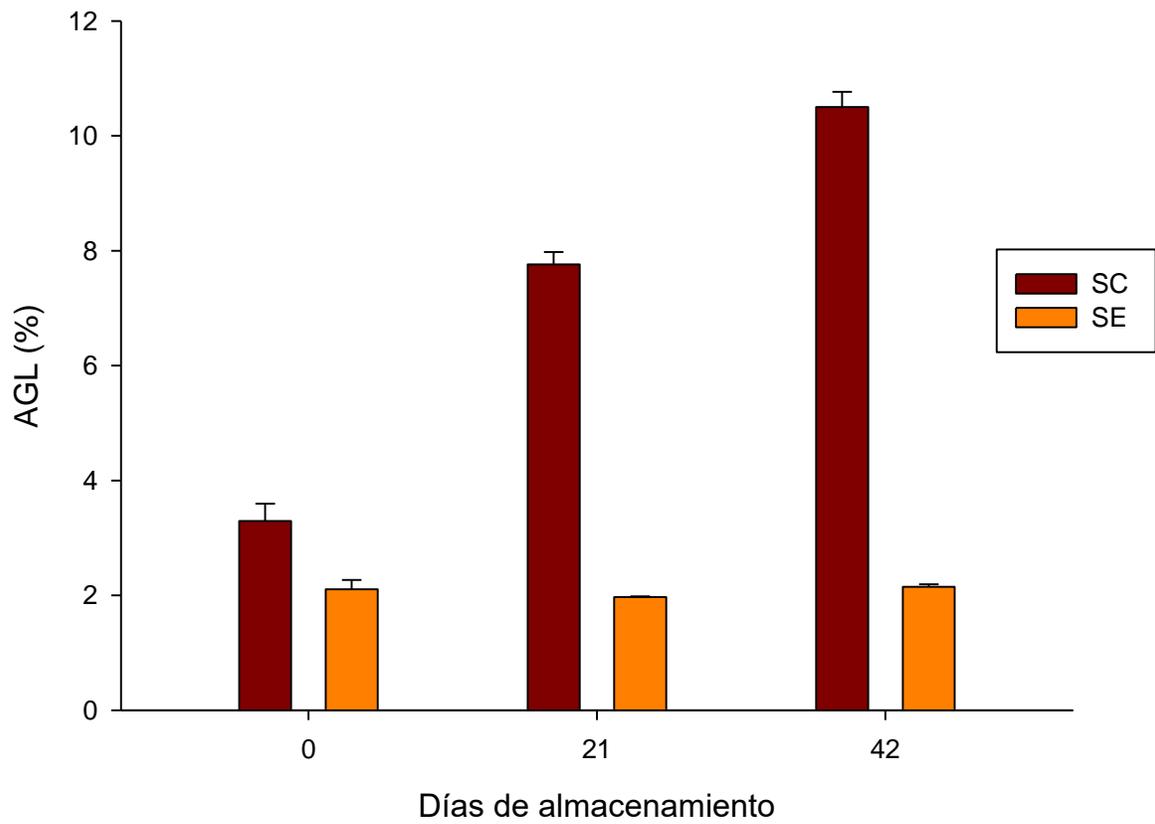


Figura 17. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de AGL en salvado de sorgo crudo (SC) y extrudido (SE).

Se ha reportado que el sorgo puede ser almacenado por largos periodos de tiempo cuando el grano permanece intacto, una vez decortinado, se libera la enzima lipasa, que degrada los triacilglicéridos, lo que resulta en un aumento de los ácidos grasos libres en un período de almacenamiento corto, afectando las propiedades fisicoquímicas (Zhang *et al.*, 2005).

El comportamiento de los AGL en el salvado de sorgo extrudido puede deberse al proceso de estabilización térmica al que fue sometido, que inhibe la acción de las enzimas lipolíticas, sin embargo, en el sorgo crudo al no ser sometido a ningún proceso térmico, es susceptible a la acción enzimática y por esa razón pudiera estar incrementando el contenido de AGL y en consecuencia la acidez (Frankel, 1984; Porta, 1993; Malekian *et al.*, 2000).

Índice de Peróxidos

El índice de peróxidos se evaluó con el fin de determinar el contenido de hidroperóxidos generados durante las primeras etapas de rancidez oxidativa del salvado. El SC presentó un incremento constante durante el tiempo de almacenamiento iniciando con 7.9 meq de peróxido y finalizando en 12.3 meq de peróxido por Kg de muestra, en el SE no se observaron diferencias significativas. En la Figura 18 se presenta el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el índice de peróxidos en el SC y el SE, donde se observa que fue significativamente mayor en el salvado crudo, mientras que en el salvado extrudido no se observan cambios significativos. Este comportamiento puede atribuirse al proceso de extrusión, el cual funcionó para inactivar a las enzimas causantes de la degradación lipídica (Porta, 1993).

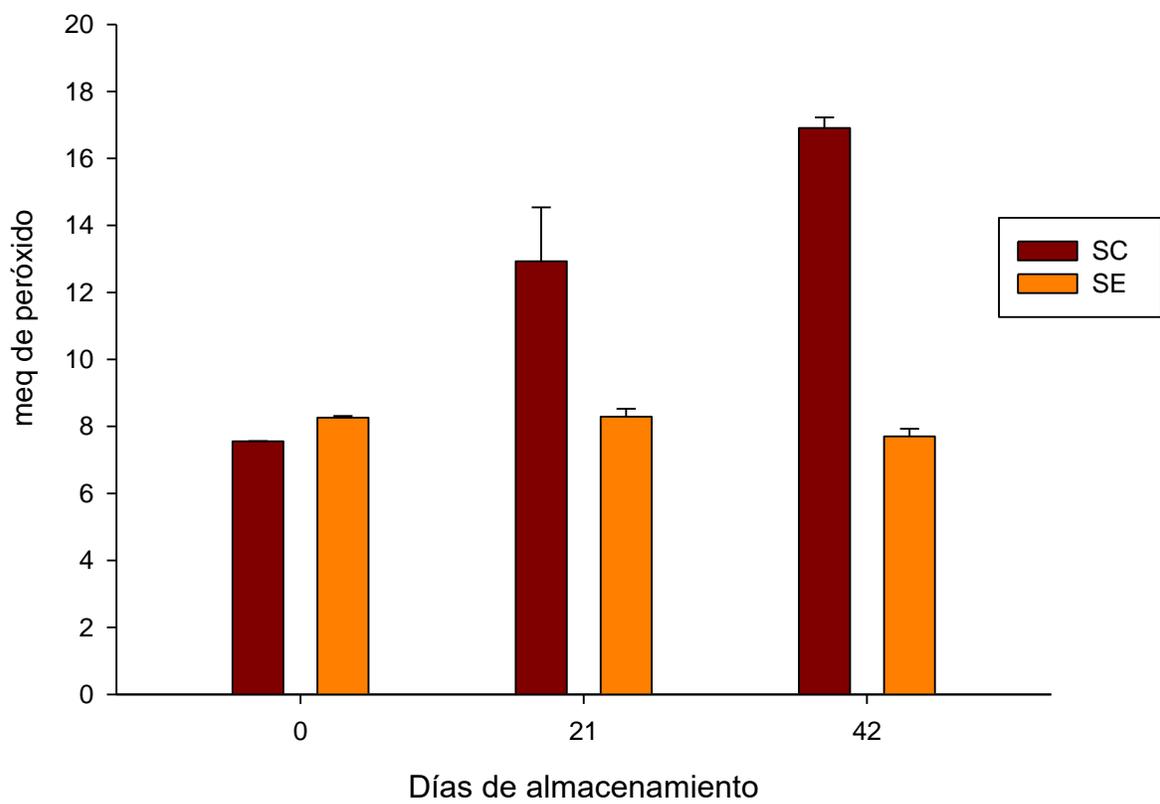


Figura 18. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el índice de peróxidos en salvado crudo (SC) y salvado extrudido (SE).

Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre los Compuestos Fenólicos y la Capacidad Antioxidante

Con el fin de conocer el efecto del almacenamiento sobre la actividad antioxidante del salvado, se evaluó el contenido de fenoles de las fracciones libres (FL) y unidos (FU), así como la capacidad antioxidante por el método de DPPH. En la Tabla 12 se muestra el ANDEVA del efecto del tiempo de almacenamiento y el tipo de salvado sobre el contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante. Los dos factores impactaron significativamente en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, siendo la capacidad antioxidante de la fracción libre (DPPH-FL) el parámetro más afectado. En la Tabla 13 se presenta el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos del salvado de sorgo crudo y extrudido. No se observan cambios significativos en los compuestos fenólicos por efecto del tiempo de almacenamiento; sin embargo, en el SE se muestra un mayor contenido de compuestos fenólicos. Esto, puede deberse a que el proceso de extrusión promueve la liberación de compuestos de la matriz celular, haciéndolos más accesibles para su cuantificación en comparación con el SC.

De igual manera, en las Tablas 12 y 13 se muestra el ANDEVA y el efecto del almacenamiento en la capacidad antioxidante del salvado de sorgo crudo y salvado extrudido. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en DPPH-FL y DPPH-FU durante el tiempo de almacenamiento encontrándose valores dentro del rango de 11.25-14.57 $\mu\text{molET/g}$ y 33.14–43.87 $\mu\text{molET/g}$, respectivamente. Sin embargo, en DPPH-FT del salvado extrudido se presentaron diferencias significativas en el día 21 con el valor más alto (60.56 $\mu\text{molET/g}$) y al final del estudio se observó una disminución en de la capacidad antioxidante total del salvado crudo.

Tabla 12. Análisis de varianza del efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del salvado de sorgo.

Fuente de variación	GL ²	F ¹					
		FL ³	FU ⁴	FT ⁵	DPPH-FL ⁶	DPPH-FU ⁷	DPPH-FT ⁸
Tiempo de almacenamiento (TA)	2	15.22**	27.73**	31.65**	6.18*	4.43 ^{ns}	10.93**
Tipo de salvado (TS)	1	15.21**	83.57**	124.93**	7.02*	3.64 ^{ns}	9.70*
TA*TS	2	4.82 ^{ns}	3.62 ^{ns}	2.99 ^{ns}	7.96*	4.96 ^{ns}	3.59 ^{ns}
Error	6						
Total	11						

¹F: medida de precisión de la prueba; ²GL: grados de libertad, ³FL: fenoles libres, ⁴FU: fenoles unidos, ⁵FT: fenoles totales, ⁶DPPH-FL: capacidad antioxidante de fenoles libres, ⁷DPPH-FU: capacidad antioxidante de fenoles unidos, ⁸DPPH-FT: capacidad antioxidante de fenoles totales.

ns: no significativo (p>0.05)

* significativo (p<0.05)

** muy significativo (p<0.01)

Tabla 13. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del salvado de sorgo¹.

Almacenamiento (Días)	Tipo de Salvado ^{2,3}	FL ⁴	FU ⁵ µg EAG/g	FT ⁶	DPPH-FL ⁷	DPPH-FU ⁸ µmol ET/g	DPPH-FT ⁹
0	SC	6812.42 ± 43.70 ^{ab}	19650.80 ± 0.00 ^{bc}	26463.23 ± 43.70 ^b	12.16 ± 0.35 ^{ab}	43.87 ± 2.04 ^a	56.03 ± 1.70 ^{ab}
	SE	7489.72 ± 88.13 ^a	20825.09 ± 43.70 ^{ab}	28314.81 ± 131.84 ^a	14.57 ± 0.39 ^a	40.84 ± 1.86 ^{ab}	49.75 ± 0.50 ^{ab}
21	SC	6070.77 ± 371.47 ^b	18847.34 ± 43.70 ^c	24918.11 ± 415.17 ^c	11.99 ± 1.22 ^b	38.96 ± 2.39 ^{ab}	50.11 ± 2.30 ^{ab}
	SE	6580.66 ± 327.77 ^{ab}	21319.53 ± 349.62 ^a	27900.19 ± 21.85 ^a	13.61 ± 0.30 ^{ab}	42.16 ± 1.59 ^{ab}	60.56 ± 1.53 ^a
42	SC	6866.50 ± 32.78 ^a	17240.42 ± 742.92 ^d	24106.92 ± 710.17 ^c	12.31 ± 0.45 ^{ab}	33.14 ± 4.25 ^b	45.37 ± 2.01 ^b
	SE	6812.42 ± 43.70 ^{ab}	19619.90 ± 437.03 ^{bc}	26432.32 ± 393.32 ^b	11.25 ± 0.67 ^b	41.22 ± 1.86 ^{ab}	48.66 ± 0.42 ^{ab}

¹Los valores son la media de dos repeticiones ± la desviación estándar.

²SC: Salvado crudo; ³SE: salvado extrudido, ⁴FL: fenoles libres, ⁵FU: fenoles unidos, ⁶FT: fenoles totales, ⁷DPPH-FL: capacidad antioxidante de fenoles libres, ⁸DPPH-FU: capacidad antioxidante de fenoles unidos, ⁹DPPH-FT: capacidad antioxidante de fenoles totales.

Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas (P<0.05).

Hu *et al.*, (2018) estabilizaron salvado de trigo con vapor sobrecalentado y al igual que en el presente estudio, no reportan diferencias significativas en el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante. No obstante, algunos autores han reportado modificaciones en el contenido de compuestos fenólicos de cereales que se han sometido a procesos térmicos y que han sido almacenados hasta por 6 meses. Tal es el caso de Bergonio *et al.* (2016) que estabilizaron salvado de arroz con calentamiento seco, calentamiento húmedo y microondas, sin observar cambios en los compuestos fenólicos durante los primeros 2 meses de almacenamiento. En el caso de la capacidad antioxidante, ellos reportaron un incremento a lo largo de los 6 meses de almacenamiento, atribuyendo este comportamiento a la liberación de compuestos fenólicos unidos generados por posibles reacciones enzimáticas y no enzimáticas, dando como resultado compuestos fenólicos libres. Dar *et al.*, (2016) evaluaron la estabilidad de los compuestos fenólicos de botanas adicionadas con salvado de trigo, arroz y avena almacenados por 6 meses. Ellos reportaron una disminución constante del contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el tiempo de almacenamiento, siendo menor la disminución durante los 3 meses finales del estudio. Estos cambios fueron atribuidos a la dilución de los compuestos antioxidantes por aumento de la humedad y a la posible oxidación durante el almacenamiento.

El comportamiento de los compuestos fenólicos observado durante el tiempo de almacenamiento evaluado en este estudio es favorable, ya que se ha reportado que la presencia de los compuestos fenólicos puede proveer capacidad antioxidante y con esto, eliminar radicales libres o actuar como quelantes de iones metálicos que pueden promover la oxidación de lípidos, mejorando con esto la vida de anaquel del producto (Brennan *et al.*, 2011).

Correlaciones Simples entre los Parametros del Almacenamiento

En la Tabla 14 se presenta la matriz de correlación entre los parámetros químicos indicadores de rancidez, donde se observa una asociación positiva entre los resultados de los ácidos grasos libres y los de índice de peróxidos.

Tabla 14. Coeficientes de correlación de los parámetros de rancidez, el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

	Acidez	pH	AGL ¹	IP ²	FL ³	FU ⁴	FT ⁵	DPPH-FL ⁶	DPPH-FU ⁷	DPPH-FT ⁸
DPPH-FT	NS	NS	-0.8404**	-0.8413**	NS	0.8768**	0.8211**	NS	0.9545**	1.00
DPPH-FU	NS	0.6859*	-0.7790**	-0.8037**	NS	0.7450**	0.6543*	NS	1.00	
DPPH-FL	-0.5909*	NS	NS	NS	0.6124*	NS	0.6494*	1.00		
FT	-0.5947*	NS	-0.9018**	-0.8216**	NS	0.9637**	1.00			
FU	-0.6914*	NS	-0.8946**	-0.8279**	NS	1.00				
FL	NS	NS	NS	NS	1.00					
IP	NS	-0.5783*	0.9681**	1.00						
AGL	NS	NS	1.00							
pH	NS	1.00								
Acidez	1.00									

¹AGL: ácidos grasos libres, ²IP: Índice de peróxidos, ³FL: fenoles libres, ⁴FU: fenoles unidos, ⁵FT: fenoles totales, ⁶DPPH-FL: capacidad antioxidante de fenoles libres, ⁷DPPH-FU: capacidad antioxidante de fenoles unidos, ⁸DPPH-FT: capacidad antioxidante de fenoles totales.

*Correlación significativa (P <0.05)

*Correlación muy significativa (P <0.01)

Este comportamiento es de esperarse, pues al incrementarse la concentración de AGL, se genera una mayor cantidad de peróxidos por acción de las lipoxigenasas presentes en el salvado de sorgo crudo (Malekian *et al.*, 2000). La oxidación lipídica puede presentarse como consecuencia de someter al salvado a procesos con altas temperaturas en presencia de oxígeno, como el caso del freído o cocción con microondas (Hu *et al.*, 2018). Sin embargo, con base en nuestros resultados se puede decir que el proceso de extrusión a las condiciones empleadas, no promueve la rancidez oxidativa y evita o retarda la oxidación enzimática. Diversos autores han reportado que el tratamiento de extrusión térmica reduce la actividad de las enzimas lipolíticas, retardando la liberación de ácidos grasos y el incremento de la acidez, extendiendo la vida de anaquel en harinas de sorgo (Meera *et al.*, 2011), harinas de mijo (Nantanga and Seetharaman, 2008) y avena (Lehitinen *et al.*, 2003).

Por otra parte, la Tabla 14 muestra una correlación negativa entre los resultados de AGL y los de el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. La disminución en el contenido de compuestos fenólicos puede atribuirse a diferentes factores, uno de ellos es el incremento de AGL, ya que los compuestos fenólicos, que se caracterizan por su alta capacidad antioxidante, pueden estabilizar a los compuestos inestables producto de la oxidación de los AGL. Este comportamiento se reflejado en un decremento de la capacidad antioxidante.

Identificación y Caracterización de los Ácidos Hidroxicinámicos: Cafeico, *p*-Cumárico y Ferúlico

En la Figura 19 se presentan los estándares de ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico, utilizados para la identificación tomando en cuenta los tiempos de retención, los cuales fueron: 4.8, 6.8 y 7.5 s, respectivamente. En las Figuras 20 y 21 se muestran los ácidos fenólicos presentes en el salvado de sorgo crudo y extrudido.

Se llevó a cabo la identificación y cuantificación de los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico en los extractos de fenoles libres (FL) y fenoles unidos (FU) mediante la técnica

de HPLC. En la Tabla 15 se muestra el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el contenido de los ácidos fenólicos del salvado de sorgo crudo y salvado extrudido. No se observaron diferencias significativas en la concentración de los compuestos por efecto del almacenamiento y en general, los ácidos fenólicos analizados se encuentran en mayor concentración en la fracción unida. Este resultado era de esperarse puesto que se conoce que los ácidos fenólicos se encuentran principalmente ligados a la pared celular (Acosta-Estrada *et al.* 2014). En la fracción de FL del salvado de sorgo crudo, los ácidos que predominan son el ácido cafeico y *p*-cumárico y en el caso del salvado de sorgo extrudido el compuesto predominante es el ácido ferúlico, el cual se encuentra en una mayor concentración en comparación con el salvado crudo. Además, se puede observar que el salvado de sorgo extrudido presenta mayor concentración de los compuestos en comparación con el salvado crudo. Este comportamiento se le puede atribuir al proceso de extrusión, ya que se ha reportado que puede romper los enlaces covalentes de polifenoles de alto peso molecular y además cortar matrices de la pared celular, lo que mejora la accesibilidad de los compuestos fenólicos (Wang *et al.*, 2014). Además se ha reportado que, del total de ácidos fenólicos, el ácido ferúlico se encuentra presente entre 24-47 % (Dykes and Rooney 2007; Awika and Rooney, 2004). Estos resultados concuerdan con los obtenidos con Zielinski *et al.*, (2001) que reportaron un incremento en el ácido ferúlico y cumárico presentes en trigo, avena, y centeno, atribuyendo esto al proceso de extrusión térmica.

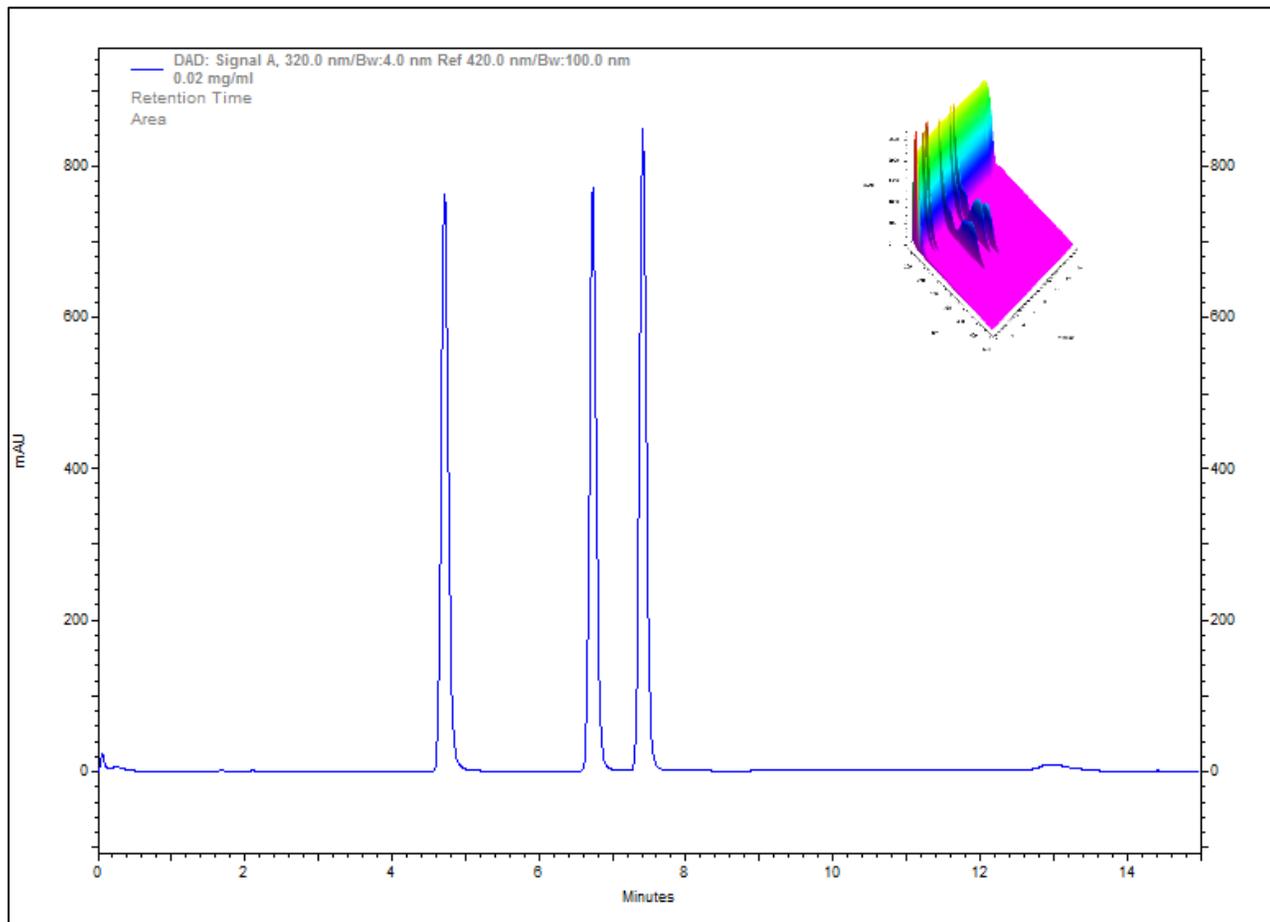


Figura 19. Cromatograma y espectro de los estandares de acidos fenólicos.

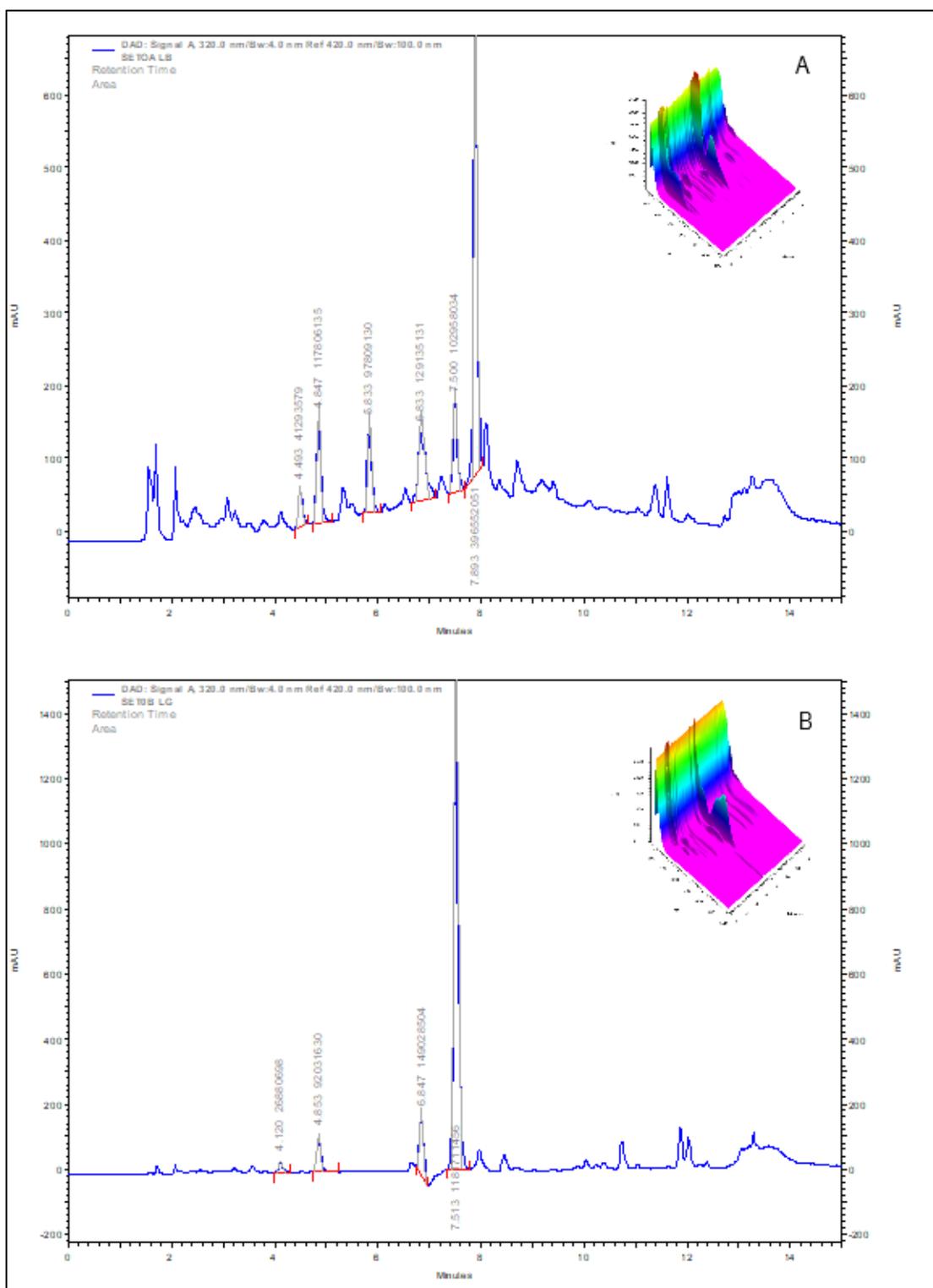


Figura 20. Ácidos fenólicos en salvado de sorgo crudo. a) fracción de fenoles libres, b) fracción de fenoles unidos.

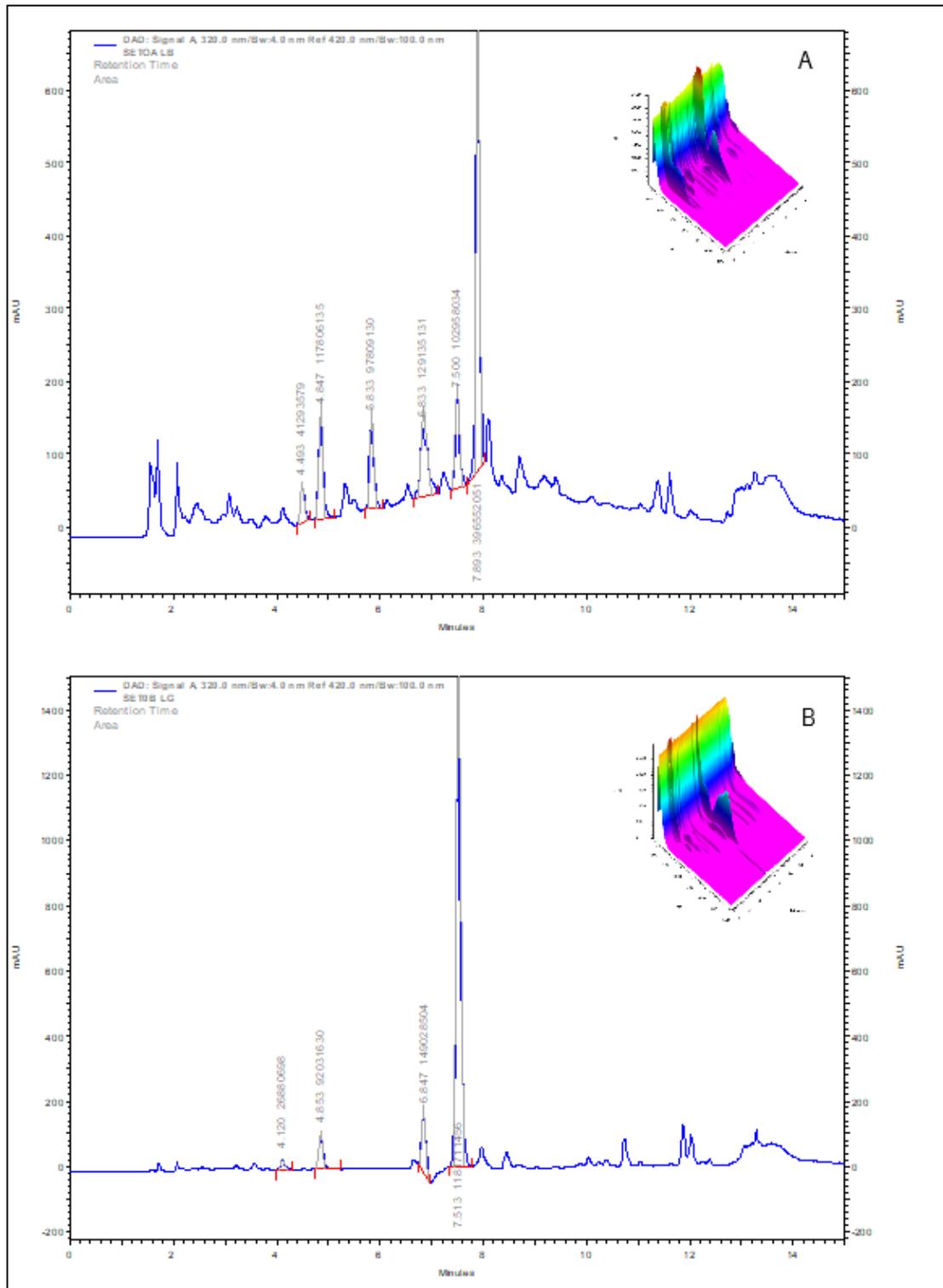


Figura 21. Ácidos fenólicos en salvado de sorgo extrudido. a) fracción de fenoles libres, b) fracción de fenoles unidos.

Tabla 15. Efecto del almacenamiento en el contenido de ácidos fenólicos presentes en las fracciones de fenoles libres y unidos, de salvado de sorgo crudo y extrudido, expresado en $\mu\text{g/g}$ de muestra.

Almacenamiento (Días)	Muestra ^{1,2}	FL ¹			FU ²		
		Cafeico	Cumárico	Ferúlico	Cafeico	Cumárico	Ferúlico
0	SC	10.83 \pm 0.70 ^a	12.44 \pm 0.56 ^a	6.32 \pm 0.42 ^b	71.70 \pm 6.51 ^a	158.16 \pm 2.53 ^a	1714.94 \pm 150.39 ^a
	SE	15.30 \pm 0.69 ^a	16.85 \pm 0.93 ^a	17.52 \pm 0.65 ^a	94.18 \pm 30.70 ^a	186.34 \pm 0.68 ^a	1895.29 \pm 103.57 ^a
21	SC	12.13 \pm 1.19 ^a	13.52 \pm 1.56 ^a	7.49 \pm 1.00 ^b	77.34 \pm 10.72 ^a	171.24 \pm 7.88 ^a	1803.66 \pm 94.71 ^a
	SE	14.77 \pm 1.99 ^a	17.03 \pm 2.42 ^a	17.52 \pm 2.49 ^a	120.88 \pm 50.93 ^a	198.81 \pm 24.79 ^a	2132.46 \pm 458.66 ^a
42	SC	11.36 \pm 0.57 ^a	11.88 \pm 0.60 ^a	7.20 \pm 0.44 ^b	54.00 \pm 2.79 ^a	169.85 \pm 27.54 ^a	1797.85 \pm 414.19 ^a
	SE	14.60 \pm 1.13 ^a	16.58 \pm 1.11 ^a	17.35 \pm 1.36 ^a	101.15 \pm 30.59 ^a	180.66 \pm 37.41 ^a	2012.14 \pm 446.81 ^a

¹SC: Sorgo crudo; ²SE: Sorgo extrudido; ³FL: fenoles libres; ⁴FU: fenoles unidos.
 Letras distintas dentro de cada columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).
 Los valores son la media de dos repeticiones \pm la desviación estándar.

CONCLUSIONES

Utilizando el proceso de extrusión térmica, se incrementó el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, observándose un impacto benéfico en el tiempo de almacenamiento del salvado extrudido.

Se logró la optimización de las variables del proceso de extrusión maximizando el contenido de compuestos fenólicos libres (FL) y su capacidad antioxidante (DPPH-FL) del salvado de sorgo rojo. Las condiciones de extrusión con las que se obtuvieron los máximos valores de los parámetros anteriores fueron: HA= 30 % y T= 160 °C. La fracción de fenoles unidos y fenoles totales no se afectaron por efecto de las variables del proceso de extrusión. La validación de las variables optimizadas dio como resultado que el contenido de FL y DPPH-FL experimental se ajusta en un 95% a los valores predichos teóricamente.

El salvado de sorgo extrudido tuvo mayor estabilidad en la calidad en comparación con el salvado de sorgo crudo, ya que no presento cambios químicos deteriorativos durante el tiempo de almacenamiento. Asimismo, no se presentaron cambios en el contenido de compuestos fenólicos, en la capacidad antioxidante del salvado, ni en el contenido de ácidos fenólicos por efecto del almacenamiento. Sin embargo, la concentración de ácidos fenólicos fue mayor en el salvado de sorgo extrudido en comparación con el salvado sin extrudir, como consecuencia de la liberación de compuestos fenólicos por el proceso de extrusión. La extrusión no afectó el contenido de ácidos grasos durante el almacenamiento.

RECOMENDACIONES

Complementar el estudio del comportamiento de los ácidos fenólicos utilizando metodologías como HPLC-MS, con el fin de conocer los cambios que se presentan en los compuestos fenólicos tras el proceso de extrusión.

Llevar a cabo un estudio de vida de anaquel acelerado o de hasta 6 meses de almacenamiento, para conocer el comportamiento de la capacidad antioxidante después de tiempos prolongados de almacenaje.

Elaborar productos alimenticios adicionados con salvado de sorgo extrudido y determinar el grado de digestibilidad y aceptabilidad que presentan mediante estudios sensoriales. Por otra parte, evaluar el efecto del consumo de estos alimentos sobre la actividad antioxidante y el perfil de lípidos séricos llevando a cabo intervenciones dietarias o bioensayos con animales de experimentación, ya que se ha reportado que el consumo frecuente de cereales integrales tiene un impacto benéfico sobre el perfil de lípidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acosta-Estrada, B. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food chemistry*, 152, 46-55..
- Adarkwah-Yiadom, M., & Duodu, K. G. (2017). Effect of extrusion cooking and simulated in vitro gastrointestinal digestion on condensed tannins and radical scavenging activity of type II and type III whole grain sorghum. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(10), 2282-2294.
- Altan, A., McCarthy, K. L., & Maskan, M. (2009). Effect of extrusion process on antioxidant activity, total phenolics and β -glucan content of extrudates developed from barley-fruit and vegetable by-products. *International journal of food science & technology*, 44(6), 1263-1271.
- American Association of Cereal Chemists (2000). Approved Methods of the AACC, 10th Ed. Method 46-13. The Association: St. Paul, MN.
- Anglani, C. (1998). Sorghum carbohydrates—A review. *Plant foods for human nutrition*, 52(1), 77-83.
- Awika, J. M., & Rooney, L. W. (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65(9), 1199-1221.
- Awika, J. M., McDonough, C. M., & Rooney, L. W. (2005). Decorticating sorghum to concentrate healthy phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6230-6234.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Ayala-Soto, F. E., Serna-Saldívar, S. O., García-Lara, S., & Pérez-Carrillo, E. (2014). Hydroxycinnamic acids, sugar composition and antioxidant capacity of arabinoxylans extracted from different maize fiber sources. *Food hydrocolloids*, 35, 471-475.
- Belton, P. S., Delgadillo, I., Halford, N. G., & Shewry, P. R. (2006). Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 272-286.
- Bergonio, K. B., Lucatin, L. G. G., Corpuz, G. A., Ramos, N. C., & Duldulao, J. B. A. (2019). Improved shelf life of brown rice by heat and microwave treatment. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2019, 378-385.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brennan, C., Brennan, M., Derbyshire, E., & Tiwari, B. K. (2011). Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 22(10), 570-575.

Brewer, L. R., Kubola, J., Siriamornpun, S., Herald, T. J., & Shi, Y. C. (2014). Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. *Food chemistry*, 152, 483-490.

Buitimea-Cantúa, N. E., Torres-Chávez, P. I., Ledesma-Osuna, A. I., Ramírez-Wong, B., Robles-Sánchez, R. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2013). Effect of defatting and decortication on distribution of fatty acids, phenolic and antioxidant compounds in sorghum (*Sorghum bicolor*) bran fractions. *International journal of food science & technology*, 48(10), 2166-2175.

Chen, Y., Dunford, N. T., & Goad, C. (2013). Phytochemical composition of extracts from wheat grain fractions obtained by tangential abrasive dehulling. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 353-359.

Chen, Y., Dunford, N. T., & Goad, C. (2013). Evaluation of wheat bran obtained by tangential abrasive dehulling device. *Food and bioprocess technology*, 6(7), 1655-1663.

da Silva, L. S., & Taylor, J. R. (2004). Sorghum bran as a potential source of kafirin. *Cereal chemistry*, 81(3), 322-327.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.

Dar, B. N., Sharma, S., & Nayik, G. A. (2016). Effect of storage period on physiochemical, total phenolic content and antioxidant properties of bran enriched snacks. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(4), 755-761.

De Mesa-Stonestreet, N. J., Alavi, S., & Bean, S. R. (2010). Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. *Journal of food science*, 75(5), 90-104.

de Moraes Cardoso, L., Montini, T. A., Pinheiro, S. S., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Martino, H. S. D., & Moreira, A. V. B. (2014). Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food chemistry*, 152, 210-217.

Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G., & van Berkel, W. J. (2006). Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *African journal of biotechnology*, 5(5), 384-395.

- Dlamini, N. R., Taylor, J. R., & 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.
- Doblado-Maldonado, A. F., Arndt, E. A., & Rose, D. J. (2012). Inhibition of lipase for the stabilization of whole wheat flour during storage using salts commonly found in baking formulations. In *AACCI*.
- Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, 38(2), 117-131.
- Dykes, L., & Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal science*, 44(3), 236-251.
- Dykes, L., Rooney, L. W., Waniska, R. D., & 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., & Rooney, L. W. (2007). Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal foods world*, 52(3), 105-111.
- Escalante-Aburto, A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., López-Cervantes, J., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., Barrón-Hoyos, J. M., ... & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Obtaining ready-to-eat blue corn expanded snacks with anthocyanins using an extrusion process and response surface methodology. *Molecules*, 19(12), 21066-21084.
- Esposito, F., Arlotti, G., Bonifati, A. M., Napolitano, A., Vitale, D., & Fogliano, V. (2005). Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Research International*, 38(10), 1167-1173.
- FAO (2017). FAOSTAT. Retrieved December 16, 2019, from World Crops Website: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- FAO. (1995). El sorgo y el mijo en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición N°27. ISBN 92-5-303381-9.
- FAOSTAT. (2019). Disponible en: <http://faostat.fao.org>. Consulta: diciembre 2019.
- Fenster, C. (2003, July). White food sorghum in the American diet. In *US grains council 43rd board of delegates meeting July*.
- Frankel, E. N. (1984). Lipid oxidation: mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(12), 1908-1917.
- Gökmen, V., Serpen, A., & Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7), 278-288.

- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., ... & Prior, R. L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of nutrition*, 134(3), 613-617.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., ... & Prior, R. L. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *The Journal of nutrition*, 134(3), 613-617.
- Hadbaoui, Z., Djeridane, A., Yousfi, M., Saidi, M., & Nadjemi, B. (2010). Fatty acid, tocopherol composition and the antioxidant activity of the lipid extract from the sorghum grains growing in Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(3), 215-220.
- Hatfield, R. D., Wilson, J. R., & Mertens, D. R. (1999). Composition of cell walls isolated from cell types of grain sorghum stems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(6), 891-899.
- Hemery, Y. M., Anson, N. M., Havenaar, R., Haenen, G. R., Noort, M. W., & Rouau, X. (2010). Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Research International*, 43(5), 1429-1438.
- Hogan, J. T., Normand, F. L., & Deobald, H. J. (1964). Method for removal of successive surface layers from brown and milled rice. *Rice Journal*, 67(48), 27-34.
- Hu, Y., Wang, L., & Li, Z. (2018). Superheated steam treatment on wheat bran: Enzymes inactivation and nutritional attributes retention. *LWT*, 91, 446-452.
- Hwang, K. T., Weller, C. L., Cuppett, S. L., & Hanna, M. A. (2004). Policosanol contents and composition of grain sorghum kernels and dried distillers grains. *Cereal chemistry*, 81(3), 345-349.
- Ioerger, B., Bean, S. R., Tuinstra, M. R., Pedersen, J. F., Erpelding, J., Lee, K. M., & Herrman, T. J. (2007). Characterization of polymeric proteins from vitreous and floury sorghum endosperm. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(25), 10232-10239.
- Kaluza, W. Z., McGrath, R. M., Roberts, T. C., & Schroeder, H. H. (1980). Separation of phenolics of *Sorghum bicolor* (L.) Moench grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(6), 1191-1196.
- Léder, I. (2004). Sorghum and millets. *Cultivated plants, primarily as food sources*, 1, 66-84.
- Lehtinen, P., Kiiliäinen, K., Lehtomäki, I., & Laakso, S. (2003). Effect of heat treatment on lipid stability in processed oats. *Journal of Cereal Science*, 37(2), 215-221.

Luzardo-Ocampo, I., Ramírez-Jiménez, A. K., Cabrera-Ramírez, Á. H., Rodríguez-Castillo, N., Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Gaytán-Martínez, M. (2020). Impact of cooking and nixtamalization on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds from two sorghum varieties. *Food chemistry*, 309, 125684.

Malekian, F. (2000). Lipase and lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in rice bran during storage. *Bulletin*, 1-68.

Meera, M. S., Bhashyam, M. K., & Ali, S. Z. (2011). Effect of heat treatment of sorghum grains on storage stability of flour. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2199-2204.

Montgomery, D. C. (2017). *Design and analysis of experiments*. John Wiley & sons.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.

Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. John Wiley & Sons.

Nantanga, K. K., Seetharaman, K., de Kock, H. L., & Taylor, J. R. (2008). Thermal treatments to partially pre-cook and improve the shelf-life of whole pearl millet flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(11), 1892-1899.

Okarter, N., & Liu, R. H. (2010). Health benefits of whole grain phytochemicals. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(3), 193-208.

Oria, M. P., Hamaker, B. R., & Schull, J. M. (1995). In vitro protein digestibility of developing and mature sorghum grain in relation to α -, β -, and γ -kafirin disulfide crosslinking. *Journal of Cereal Science*, 22(1), 85-93.

Osborne, T. B. (1907). *The proteins of the wheat kernel* (No. 84). Carnegie institution of Washington.

Porta, A. V. (1993). El proceso de extrusión en cereales y habas de soja I. Efecto de la extrusión sobre la utilización de nutrientes. *Avances en Nutrición y Alimentación Animal: IX Curso de Especialización FEDNA*, 109-115.

Porter, N. A. (1986). Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *Accounts of Chemical Research*, 19(9), 262-268.

Porter, N. A., Caldwell, S. E., & Mills, K. A. (1995). Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids*, 30(4), 277-290.

Prabhakar, J. V., & Venkatesh, K. V. L. (1986). A simple chemical method for stabilization of rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(5), 644-646.

Rami, J. F., Dufour, P., Trouche, G., Fliedel, G., Mestres, C., Davrieux, F., ... & Hamon, P. (1998). Quantitative trait loci for grain quality, productivity, morphological and agronomical traits in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Theoretical and applied genetics*, 97(4), 605-616.

Ramos-Enríquez, J. R., Ramírez-Wong, B., Robles-Sánchez, R. M., Robles-Zepeda, R. E., González-Aguilar, G. A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2018). Effect of extrusion conditions and the optimization of phenolic compound content and antioxidant activity of wheat bran using response surface methodology. *Plant foods for human nutrition*, 73(3), 228-234.

Rao, S., Santhakumar, A. B., Chinkwo, K. A., Wu, G., Johnson, S. K., & Blanchard, C. L. (2018). Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. *Journal of Cereal Science*, 84, 103-111.

Riaz, M. N. (Ed.). (2000). *Extruders in food applications*. CRC press.

Rocchetti, G., Giuberti, G., Busconi, M., Marocco, A., Trevisan, M., & Lucini, L. (2020). Pigmented sorghum polyphenols as potential inhibitors of starch digestibility: An in vitro study combining starch digestion and untargeted metabolomics. *Food Chemistry*, 312, 126077.

Rooney, L. W., Miller, F. R., & Mertin, J. V. (1981, October). Variation in the structure and kernel characteristics of sorghum. In *Proceedings of the international symposium on sorghum grain quality* (Vol. 28, pp. 143-162).

Rudra, S. G., Jakhar, N., Nishad, J., Saini, N., Sen, S., Bhardhwaj, R., ... & Kaur, C. (2015). Extrusion conditions and antioxidant properties of sorghum, barley and horse gram based snack. *Vegetos-An International Journal of Plant Research*, 28(2), 171-182.

Rufián-Henares, J. A., & Delgado-Andrade, C. (2009). Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. *Food Research International*, 42(3), 394-400.

Serna Saldívar, S. R. O. (1996). *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*.

Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.

Sharif, M. K., Butt, M. S., Anjum, F. M., & Khan, S. H. (2014). Rice bran: A novel functional ingredient. *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(6), 807-816.

- Sharma, H. R., Chauhan, G. S., & Agrawal, K. (2004). Physico-chemical characteristics of rice bran processed by dry heating and extrusion cooking. *International Journal of Food Properties*, 7(3), 603-614.
- Shull, J. M., Watterson, J. J., & Kirleis, A. W. (1991). Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L. Moench) based on molecular weight, solubility, and structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(1), 83-87.
- Sikwese, F. E., & Duodu, K. G. (2007). Antioxidant effect of a crude phenolic extract from sorghum bran in sunflower oil in the presence of ferric ions. *Food chemistry*, 104(1), 324-331.
- Suzuki, Y. (2011). Isolation and characterization of a rice (*Oryza sativa* L.) mutant deficient in seed phospholipase D, an enzyme involved in the degradation of oil-body membranes. *Crop science*, 51(2), 567-573.
- Svensson, L., Sekwati-Monang, B., Lutz, D. L., Schieber, A., & Ganzle, M. G. (2010). Phenolic acids and flavonoids in nonfermented and fermented red sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9214-9220.
- Taylor, J. N., Novellie, L., & Liebenberg, N. W. (1984). Sorghum protein body composition and ultrastructure. *Cereal Chemistry*, 61(1), 69-73.
- Taylor, J. R., & Dewar, J. (2001). Developments in sorghum food technologies. 43, 217-264.
- Taylor, J. R., & Belton, P. S. (Eds.). (2002). *Pseudocereals and less common cereals: grain properties and utilization potential*. Springer Science & Business Media.
- Taylor, J. R., Schober, T. J., & Bean, S. R. (2006). Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *Journal of cereal science*, 44(3), 252-271.
- Taylor, J. R., & Duodu, K. G. (2015). Effects of processing sorghum and millets on their phenolic phytochemicals and the implications of this to the health-enhancing properties of sorghum and millet food and beverage products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(2), 225-237.
- Ti, H., Zhang, R., Zhang, M., Wei, Z., Chi, J., Deng, Y., & Zhang, Y. (2015). Effect of extrusion on phytochemical profiles in milled fractions of black rice. *Food chemistry*, 178, 186-194.
- Wang, T., He, F., & Chen, G. (2014). Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. *Journal of Functional Foods*, 7, 101-111.

Waniska, R. D., Poe, J. H., & Bandyopadhyay, R. (1989). Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. *Journal of Cereal Science*, 10(3), 217-225.

Weller, C. L., & Hwang, K. T. (2005). Extraction of lipids from grain sorghum DDG. *Transactions of the ASAE*, 48(5), 1883-1888.

White, M. G., Rodríguez, V., & Castillo, C. (2010). Utilización del método de superficie de respuesta para formular una base de banano (*Musa AAA*) para batidos. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 081-094.

Xu, X., Balchen, S., Høy, C. E., & Adler-Nissen, J. (1998). Production of specific-structured lipids by enzymatic interesterification in a pilot continuous enzyme bed reactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(11), 1573-1579.

Zhang, G., & Hamaker, B. R. (2005). Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) flour pasting properties influenced by free fatty acids and protein. *Cereal chemistry*, 82(5), 534-540.

Zhu, K., Huang, S., Peng, W., Qian, H., & Zhou, H. (2010). Effect of ultrafine grinding on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber. *Food Research International*, 43(4), 943-948.

Zielinski, H., Kozłowska, H., & Lewczuk, B. (2001). Bioactive compounds in the cereal grains before and after hydrothermal processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2(3), 159-169.

Zullaikah, S., Lai, C. C., Vali, S. R., & Ju, Y. H. (2005). A two-step acid-catalyzed process for the production of biodiesel from rice bran oil. *Bioresource technology*, 96(17), 1889-1896.