

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**

**Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas**



**Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en  
Ciencias Biológicas**

**“PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y  
NUTRICIONALES DE PRODUCTOS EXTRUDIDOS  
Y POPEADOS DE SORGO INTEGRAL DE  
DIFERENTES VARIEDADES”**

**Lic. Emilce E. LLOPART**

**Director: Dra. Silvina R. DRAGO**

**Codirector: Ing. Rolando J. GONZÁLEZ**

**Área de Cereales y Oleaginosas**

**Instituto de Tecnología de Alimentos -Facultad de Ingeniería Química**

**2015**

*“Juzga tu éxito por lo que tuviste  
que renunciar para obtenerlo”*

**Dalai Lama**



**A mis amados padres**

**La presente tesis dio lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones a reuniones científicas:**

**Publicaciones en revistas científicas:**

- ✓ Physicochemical properties of sorghum and technological aptitude for popping. Llopart, E. E. & Drago, S. R. (2015). Nutritional changes after popping. LWT-Food Science and Technology. Aceptado.
- ✓ Effects of extrusion conditions on physical and nutritional properties of extruded whole grain red sorghum (sorghum spp). Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L., & González, R. J. (2013). International Journal of Food Science and Nutrition. 65 (1), 34-41.

**Trabajos completos presentados en reuniones científicas**

- ✓ Llopart, E. E., González, R. J. y Drago S.R. Relación de propiedades fisicoquímicas de sorgo con su aptitud tecnológica para el popeado. Propiedades nutricionales y antioxidantes de muestras selectas. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC), 17, 18 y 19 de Noviembre de 2014. Córdoba, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Harinas de sorgo integral extrudido destinadas a la producción de alimentos para consumo humano. 22° Fiesta Provincial del Sorgo y Cosecha Gruesa, 14 de Junio de 2013. Hermoso Campo, Chaco, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E. Propiedades de hidratación de harinas de grano entero de sorgo blanco y rojo extrudidos. XVII Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral, 4 y 5 de Setiembre de 2013. Santa Fe, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R. y González, R. J. Propiedades fisicoquímicas de sorgos blanco y rojo expandidos por extrusión. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos “Desafíos para una producción sustentable y competitiva” (CICYTAC 2012), 14 al 16 de Noviembre de 2012. Córdoba, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Aplicación de la extrusión a harinas de sorgo integral para la producción de

- alimentos destinados a consumo humano. II Simposio Nacional de Sorgo. El cultivo Perfecto, 1 y 2 de Agosto 2012. Pergamino, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R. y González, R. J. Aplicación de lecho fluidizado para obtener sorgo popeado para consumo humano. II Simposio Nacional de Sorgo. El cultivo Perfecto, 1 y 2 de Agosto 2012. Pergamino, Argentina.
  - ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Propiedades nutricionales de extrudidos de sorgo integral rojo. XV Congreso Latinoamericano y del Caribe de Nutricionistas y Dietistas, XI Congreso Argentino de Graduados en Nutrición. 10, 11 y 12 de Mayo de 2012, Rosario, Santa Fe, Argentina.
  - ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Efectos de las condiciones de extrusión en las propiedades fisicoquímicas de productos extrudidos de sorgo integral de bajo contenido de taninos. XIII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), 19 - 21 de Octubre de 2011, Buenos Aires, Argentina.

#### **Resúmenes:**

- ✓ Cian, R.E., Llopart, E., López-Oliva ME, Weisstaub, A., Zuleta, A. y Drago, S.R. Efecto del consumo de expandidos de maíz con alga *Pyropia columbina* en la salud colónica de ratas Wistar en crecimiento. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2014), 17 - 19 de Noviembre de 2014, Córdoba, Argentina.
- ✓ Cian, R.E., Llopart, E., Weisstaub, A., Zuleta, A. y Drago, S.R. Efecto del consumo de expandidos de maíz/ alga *Pyropia columbina* en el metabolismo lipídico y estado oxidativo de ratas Wistar. V Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CICYTAC 2014), 17 - 19 de Noviembre de 2014, Córdoba, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R. y González, R. J. Popeado de sorgos blancos y rojos. XV Congreso Latinoamericano y del Caribe de Nutricionistas y Dietistas, XI Congreso Argentino de Graduados en Nutrición, 10, 11 y 12 de Mayo de 2012, Rosario, Argentina.
- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Efectos de las condiciones de extrusión en las propiedades antioxidantes de harinas

precocidas de sorgo integral de bajo contenido de tanino. XXXIV Reunión del Capítulo Argentino de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (Caslan). III Jornadas Internacionales de Actualización en Nutrición y Tecnología de Alimentos “*El Alimento como Promotor de la Salud*”, 15 - 16 de Septiembre de 2011, Rosario, Argentina.

- ✓ Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L. y González, R. J. Efectos de las condiciones de extrusión en las propiedades de hidratación de las harinas precocidas de sorgo integral de bajo contenido de taninos. XXXIV Reunión del Capítulo Argentino de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (Caslan). III Jornadas Internacionales de Actualización en Nutrición y Tecnología de Alimentos “*El Alimento como Promotor de la Salud*”, 15 - 16 de Septiembre de 2011, Rosario, Argentina.

## Agradecimientos

A Dios.

A mis padres Graciela y Jorge, mi hermano Matías y mi sobrino Alejandro, que me acompañan y apoyan en forma incondicional, alentándome con optimismo y amor.

A la memoria de mis amados abuelos, La Elvi, Luisa y Alejandro.

Un agradecimiento muy especial Silvina Drago y Rolando González, por haber confiado en mí, enseñarme y acompañarme en forma profesional y humana en cada paso dado.

A mis amigos, especialmente a Gime, Meri, Norita, Meli, Sole, y Raúl por escucharme, comprenderme y acompañarme siempre.

A todos mis compañeros del Instituto de Tecnología de Alimentos, quienes generosamente compartieron sus conocimientos y experiencias, colaborando muy profesionalmente y haciendo grata cada jornada.

A la Universidad del Centro Educativo Latinoamericano (UCEL), donde comenzó mi formación e inspiración.

Al Programa Escala de Estudiantes de Posgrado de la Asociación de Universidades del Grupo Montevideo, a través del cual obtuve una beca para realizar una estancia de formación en la Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araraquara, Brasil.

A la Educación Pública y Gratuita, particularmente a la Universidad Nacional del Litoral, la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas y al Instituto de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ingeniería Química, por la calidad de la enseñanza recibida y por haberme permitido superar mi formación.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por las becas internas Tipo 1 y 2 recibidas, con las cuales fue posible realizar la presente tesis.

A todos, **MUCHAS GRACIAS!**

## Índice de Contenido

|  |        |
|--|--------|
| Índice de Contenido.....   | VII    |
| Índice de Tablas.....  | XIII   |
| Índice de Figuras .....  | XIX    |
| Abreviaturas y Símbolos .....  | XXIV   |
| Resumen .....  | XXVIII |
| Abstract.....  | XXXV   |
| I. INTRODUCCIÓN.....   | 1      |
| I.1. EFECTO DEL CONSUMO DE GRANO ENTERO SOBRE LA SALUD .....                                 | 2      |
| I.1.1. Fibra de grano entero: efectos sobre la salud .....                                   | 3      |
| I.1.2. Fenoles de grano entero: efectos sobre la salud .....                                 | 4      |
| I.1.3. Efectos del consumo de grano entero sobre el peso corporal.....                       | 6      |
| I.1.4. Efectos del consumo de GE sobre las enfermedades cardiovasculares y lípidos en sangre | 7      |
| I.1.5. Efectos del consumo GE sobre la función intestinal .....                              | 8      |
| I.1.6. Efectos del consumo de GE sobre la microbiota.....                                    | 8      |
| I.1.7. Consumo de GE y Estrés oxidativo.....   | 10     |
| I.1.7.1. Sistemas de defensa antioxidante .....  | 12     |
| I.1.7.2. Sistemas de defensa antioxidante endógeno enzimático .....                          | 13     |
| I.1.7.3. Sistema antioxidante endógeno no enzimático.....                                    | 15     |
| I.1.7.4. Sistemas antioxidante exógeno.....  | 16     |
| I.1.8. Malondialdehído (MDA) como indicador de peroxidación lipídica .....                   | 16     |
| I.1.9. Inmunoglobulina A secretora (sIgA).....   | 17     |
| I.1.10. Especies reactivas de oxígeno y señalización celular.....                            | 18     |
| I.1.11. Fibra y Metabolismo del Calcio (Ca) .....  | 18     |
| I.2. EL GRANO DE SORGO .....   | 20     |
| I.2.1. Generalidades, composición y características .....                                    | 20     |
| I.2.2. Utilización y situación actual del Sorgo .....  | 24     |
| I.3. Alimento funcional.....   | 27     |
| I.4. Enfermedad celíaca.....   | 28     |
| I.5. EL PROCESO DE POPEADO .....   | 30     |
| I.5.1. Generalidades .....   | 30     |
| I.5.2. Factores que afectan el proceso de popeado.....                                       | 31     |

|            |   |    |
|------------|---|----|
| I.5.3.     | Transformaciones del material durante el popeado .....                        | 33 |
| I.5.4.     | Métodos de evaluación del material popeado .....                              | 33 |
| I.6.       | EL PROCESO DE EXTRUSIÓN .....   | 35 |
| I.6.1.     | Generalidades .....   | 35 |
| I.6.2.     | Factores que afectan el proceso de extrusión .....                            | 37 |
| I.6.3.     | Transformaciones del material durante la extrusión.....                       | 38 |
| I.6.4.     | Métodos de evaluación del material extrudido.....                             | 41 |
| I.6.5.     | Métodos de evaluación de las harinas precocidas .....                         | 42 |
| II.        | OBJETIVO GENERAL .....  | 44 |
| II.1.      | Objetivos Específicos .....   | 44 |
| III.       | MATERIALES Y MÉTODOS.....   | 46 |
| III.1.     | MATERIAS PRIMAS .....   | 46 |
| III.1.1.   | Método para clasificar sorgos según el contenido de taninos condensados ..... | 46 |
| III.1.2.   | Caracterización química de los granos .....                                   | 46 |
| III.1.2.1. | Determinación de la composición centesimal de la materia prima .....          | 46 |
| III.1.2.2. | Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P)...    | 47 |
| III.1.2.3. | Contenido de Polifenoles Totales (PFT), Libres y Ligados (PF Lib y PF Lig)    | 47 |
| III.1.2.4. | Determinación del contenido de Ácido Fítico (AF) .....                        | 47 |
| III.1.3.   | Caracterización física de los granos de sorgo.....                            | 48 |
| III.1.3.1. | Peso hectólitro (PH) .....  | 48 |
| III.1.3.2. | Relación de molienda (RM) .....   | 48 |
| III.1.3.3. | Porcentaje de flotación (%F) .....  | 48 |
| III.1.3.4. | Densidad aparente (DA) .....  | 48 |
| III.2.     | PROCESO DE POPEADO .....  | 49 |
| III.2.1.   | Materia prima .....   | 49 |
| III.2.2.   | Condiciones de popeado .....  | 49 |
| III.2.3.   | Evaluación de los productos popeados .....                                    | 49 |
| III.2.3.1. | Volumen Aparente.....   | 49 |
| III.2.3.2. | Rendimiento .....   | 50 |
| III.2.3.3. | Aptitud de popeado (AP).....  | 50 |
| III.3.     | PROCESO DE EXTRUSIÓN .....  | 50 |
| III.3.1.   | Materia prima .....   | 50 |
| III.3.2.   | Diagrama de Molienda de los granos de sorgo.....                              | 50 |

|              |  |           |
|--------------|--|-----------|
| III.3.3.     | Diseño experimental .....  | 51        |
| III.3.4.     | Extrusión y evaluación del proceso .....   | 52        |
| III.3.4.1.   | Consumo específico de energía mecánica (CEEM) .....  | 52        |
| III.3.5.     | Evaluación de las muestras extrudidas .....  | 53        |
| III.3.5.1.   | Evaluaciones fisicoquímicas de productos extrudidos .....  | 53        |
| III.3.5.1.1. | Índice de expansión (E) .....  | 53        |
| III.3.5.1.2. | Volumen específico (VE) .....  | 53        |
| III.3.5.1.3. | Evaluación de la dureza sensorial (DS) .....   | 53        |
| III.3.5.2.   | Evaluaciones fisicoquímicas de las harinas precocidas .....  | 54        |
| III.3.5.2.1. | Solubilidad en agua (S) .....  | 54        |
| III.3.5.2.2. | Absorción de agua (AA) .....   | 54        |
| III.3.5.2.3. | Respuesta Amilográfica .....   | 54        |
| III.3.5.2.4. | Determinación de Almidón Gelatinizado .....  | 55        |
| III.3.5.2.5. | Observación microscópica .....   | 55        |
| III.3.5.3.   | Evaluaciones nutricionales de los extrudidos .....   | 55        |
| III.3.5.3.1. | Determinación del contenido de ácido fítico (AF) .....   | 55        |
| III.3.5.3.2. | Determinación del contenido de polifenoles (PF) libres .....   | 55        |
| III.3.5.3.3. | Determinación de la capacidad antioxidante (CAO) .....   | 55        |
| III.3.6.     | Determinación de compuestos fenólicos (ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico). Optimización de un método de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) con detección ultravioleta ..... | 56        |
| III.3.6.1.   | Aparatos y Software .....  | 57        |
| III.3.6.2.   | Condiciones cromatográficas .....  | 57        |
| III.3.6.3.   | Preparación de las soluciones madres .....   | 58        |
| III.3.6.4.   | Preparación de las muestras .....  | 58        |
| III.3.7.     | Extrusión de harinas refinadas .....   | 58        |
| III.4.       | <b>EVALUACIONES NUTRICIONALES DE HARINAS SELECTAS PRECOCIDAS POR POPEADO Y EXTRUSIÓN .....</b>   | <b>59</b> |
| III.4.1.     | Determinación de la composición centesimal .....   | 59        |
| III.4.2.     | Determinación de Almidón Total .....   | 59        |
| III.4.3.     | Determinación de Almidón Gelatinizado .....  | 59        |
| III.4.4.     | Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P) .....  | 59        |
| III.4.5.     | Bioaccesibilidad de minerales .....  | 59        |
| III.4.6.     | Digestibilidad proteica (DPR) .....  | 60        |
| III.4.7.     | Determinación del contenido de Lisina disponible (LD) .....  | 61        |



|            |   |    |
|------------|---|----|
| III.4.8.   | Contenido de Polifenoles Totales (PFT), Libres y Ligados (PF Lib y PF Lig)... | 61 |
| III.4.9.   | Determinación del contenido de Ácido Fítico (AF) .....                        | 61 |
| III.4.10.  | Determinación de la capacidad antioxidante (CAO).....                         | 61 |
| III.5.     | EVALUACIONES NUTRICIONALES CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN .....              | 62 |
| III.5.1.   | Modelo de experimentación .....   | 62 |
| III.5.1.1. | Dietas .....  | 62 |
| III.5.1.2. | Animales.....   | 62 |
| III.5.2.   | Determinaciones sobre el ciego y contenido cecal.....                         | 64 |
| III.5.2.1. | Contenido de polifenoles (PF).....  | 64 |
| III.5.2.2. | Poder reductor en contenido cecal, plasma e hígado.....                       | 64 |
| III.5.2.3. | Determinación de sIgA.....  | 64 |
| III.5.2.4. | Determinación de enzimas cecales .....  | 65 |
| III.5.2.5. | Estudios inmunohistoquímicos.....   | 65 |
| III.5.2.6. | Determinación de apoptosis de colonocitos .....                               | 67 |
| III.5.3.   | Determinaciones relacionadas con el perfil lipídico.....                      | 67 |
| III.5.4.   | Determinaciones relacionadas con el estrés oxidativo .....                    | 68 |
| III.5.4.1. | Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.....            | 68 |
| III.5.4.2. | Determinación de Catalasa (CAT) .....   | 69 |
| III.5.4.3. | Determinación de la actividad de Glutación reductasa (GR).....                | 69 |
| III.5.4.4. | Determinación de la actividad de Glutation Peroxidasa (GPx).....              | 70 |
| III.5.4.5. | Determinación de los contenidos de GSH y GSSG.....                            | 70 |
| III.5.5.   | Determinación del contenido de proteínas .....                                | 71 |
| III.5.6.   | Determinaciones relacionadas al metabolismo óseo y mineral .....              | 71 |
| III.5.6.1. | Absorción aparente de Ca.....   | 71 |
| III.5.6.2. | Contenido y densidad mineral ósea .....                                       | 71 |
| III.5.6.3. | Volumen óseo .....  | 72 |
| III.5.6.4. | Estudio de la composición ósea en el Fémur Derecho .....                      | 72 |
| III.6.     | ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS .....                                  | 72 |
| IV.        | RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....  | 75 |
| IV.1.      | CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LOS HÍBRIDOS DE SORGO... 75                 | 75 |
| IV.1.1.    | Características químicas de los sorgos .....                                  | 75 |
| IV.1.1.1.  | Clasificación de los sorgos según contenido de taninos.....                   | 75 |
| IV.1.1.2.  | Composición química de los sorgos .....                                       | 75 |

|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| IV.1.2.   | Características físicas de los sorgos .....   | 81  |
| IV.1.3.   | Conclusiones Parciales .....  | 84  |
| IV.2.     | ESTUDIO DEL PROCESO DE POPEADO DE SORGOS .....  | 86  |
| IV.2.1.   | Elección de las condiciones del proceso de popeado .....  | 86  |
| IV.2.2.   | Popeado de los granos de sorgo.....   | 86  |
| IV.2.2.1. | Relación entre los parámetros fisicoquímicos y la aptitud para el popeado de los granos de sorgo .....                                      | 89  |
| IV.2.3.   | Evaluación nutricional de muestras selectas de harinas de granos popeados.....  | 91  |
| IV.2.4.   | Conclusiones parciales .....  | 100 |
| IV.3.     | ESTUDIO DEL PROCESO DE EXTRUSION DE SORGOS INTEGRALES ...   | 101 |
| IV.3.1.   | Efectos de las variables de extrusión sobre las características físicas y texturales de los productos expandidos de sorgos integrales ..... | 101 |
| IV.3.1.1. | Consumo Específico de Energía Mecánica (CEEM) .....   | 103 |
| IV.3.1.2. | Índice de Expansión (E) .....   | 103 |
| IV.3.1.3. | Volumen Específico (VE) .....   | 104 |
| IV.3.1.4. | Evaluación de la Dureza Sensorial (DS) .....  | 104 |
| IV.3.2.   | Efecto de las condiciones del proceso de extrusión en las propiedades de hidratación de harinas integrales extrudidas de sorgos .....       | 106 |
| IV.3.2.1. | Solubilidad en Agua (S) .....   | 107 |
| IV.3.2.2. | Absorción de Agua (AA).....   | 108 |
| IV.3.2.3. | Respuesta Amilográfica.....   | 109 |
| IV.3.2.4. | Gelatinización (%G).....  | 110 |
| IV.3.2.5. | Observación microscópica.....   | 110 |
| IV.3.2.6. | Relación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales con el grado de cocción (GC).....  | 110 |
| IV.3.3.   | Efecto de las condiciones de extrusión en propiedades nutricionales de las harinas integrales extrudidas de sorgo.....                      | 111 |
| IV.3.3.1. | Contenido de ácido fólico (AF) y Pérdida de ácido fólico (Pérdida de AF)...   | 113 |
| IV.3.3.2. | Contenido de polifenoles (PF).....  | 114 |
| IV.3.3.3. | Capacidad antioxidante (CAO) .....  | 115 |
| IV.3.4.   | Evaluación nutricional de muestras selectas de extrudidos de sorgo integral...  | 117 |
| IV.3.5.   | Determinación de Fenoles por HPLC.....  | 125 |
| IV.3.5.1. | Elección del método a utilizar para la determinación de compuestos fenólicos por HPLC   | 125 |
| IV.3.5.2. | Estudio de las condiciones de hidrólisis sobre compuestos fenólicos.....  | 125 |
| IV.3.5.3. | Contenido de los ácidos fenólicos cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico.   | 125 |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| IV.3.6.   | Extrusión de harinas de sorgo refinadas .....  | 128 |
| IV.3.6.1. | Efectos de la extrusión sobre las características fisicoquímicas de los productos expandidos de sorgos descascarados ..... | 128 |
| IV.3.6.2. | Evaluación nutricional de las muestras descascaradas y extrudidas .....  | 131 |
| IV.3.7.   | Comparación de los efectos de los procesos de popeado y de extrusión en las propiedades nutricionales .....                | 136 |
| IV.3.8.   | Conclusiones parciales .....   | 137 |
| IV.4.     | ESTUDIO IN VIVO DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES DE HARINAS INTEGRALES EXTRUDIDAS DE SORGOS .....                          | 139 |
| IV.4.1.   | Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en la ingesta de alimentos y la ganancia de peso .....        | 139 |
| IV.4.2.   | Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido a nivel colónico  | 142 |
| IV.4.2.1. | Estudio del ciego y de las heces .....   | 142 |
| IV.4.2.2. | Características del contenido cecal.....   | 143 |
| IV.4.2.3. | Enzimas cecales.....   | 146 |
| IV.4.2.4. | Actividad proliferativa y apoptosis de la mucosa del colon proximal y distal de ratas                                      | 149 |
| IV.4.2.5. | Actividades de enzimas relacionadas con el estado inflamatorio y antioxidante en colon proximal y distal de ratas .....    | 153 |
| IV.4.3.   | Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en el estado oxidativo a nivel hepático.....                  | 162 |
| IV.4.4.   | Efecto del consumo de las dietas de grano entero de sorgo extrudido en el estado oxidativo a nivel plasmático.....         | 166 |
| IV.4.5.   | Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en el perfil lipídico   | 168 |
| IV.4.6.   | Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en la biodisponibilidad del Ca.....                           | 170 |
| IV.4.6.1. | Absorción aparente de Ca.....  | 170 |
| IV.4.6.2. | Contenido y densidad mineral .....   | 171 |
| IV.4.6.3. | Estudio del Volumen Óseo en la Tibia Derecha.....  | 173 |
| IV.4.6.4. | Estudio de la composición ósea en el Fémur Derecho .....   | 174 |
| IV.4.7.   | Conclusiones parciales .....   | 175 |
| V.        | CONCLUSIONES FINALES .....   | 180 |
| VI.       | BIBLIOGRAFÍA .....   | 186 |

## Índice de Tablas

**Tabla I.2.1:** Composición química del sorgo (g/ 100g de porción comestible).

**Tabla I.2.2:** Aminoácidos y calidad proteica del grano de sorgo.

**Tabla I.2.3:** Ácidos grasos de sorgo.

**Tabla III.3.1:** Niveles de Humedad y Temperatura correspondientes al Diseño Experimental

**Tabla III.3.2:** Ensayos de condiciones cromatográficas.

**Tabla III.5.1:** Composición de la dieta control (C), dieta con sorgo blanco integral extrudido (SBE) y sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.1.1:** Valores de p para Chi-cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para asimetría y Z para Curtosis para proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), PFT (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig) y ácido fítico (AF) y minerales (Fe: Hierro, Zn: Zinc, Ca: Calcio, Cu: Cobre, K: Potasio, Mg: Magnesio, Na: Sodio y P: Fósforo).

**Tabla IV.1.2:** Resultados de ANOVA para proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), ácido fítico (AF), Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P, evaluando el efecto del color.

**Tabla IV.1.3:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE) y cenizas (CZ), polifenoles totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig) y ácido fítico (AF) de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.1.4:** Contenido de minerales totales (Fe: Hierro, Zn: Zinc, Ca: Calcio, Cu: Cobre, K: Potasio, Mg: Magnesio, Na: Sodio y P: Fósforo) en mg/kg (ppm) en base seca, de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.1.5:** Valores p para el test de Kruskal-Wallis para (PFT), PF Libres (PF Lib) y PF Ligados (PF Lig) según color.

**Tabla IV.1.6:** Características físicas: Relación Molienda (RM), Peso Hectolítrico (PH), Porcentaje de Flotación (%F) y Densidad Aparente (DA) de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.1.7:** Valores de p para Chi-cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para asimetría y Z para Curtosis para RM, PH, %F y DA.

**Tabla IV.1.8:** Resultados de ANOVA para RM y DA evaluando el efecto del color.

**Tabla IV.1.9:** Valores de p para el test de Kruskal-Wallis PH y %F evaluando el efecto del color.

**Tabla IV.2.1:** Ensayos para la elección de las condiciones de popeado.

**Tabla IV.2.2:** Volumen Aparente (VA) y Rendimiento (R) luego del popeado a 250°C - 14% H y a 250°C - 18% H y Aptitud de Popeado (AP) a 250°C - 14% H y 250°C - 18% H de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.2.3:** Valores de p para las pruebas de normalidad para Volumen Aparente (VA), Rendimiento (R) y Aptitud de Popeado (AP) a 250°C - 18% H y 250°C - 14% H.

**Tabla IV.2.4:** Resultados de ANOVA para VA, R y AP a 250°C - 18% H y 250°C - 14% H evaluando el efecto del color.

**Tabla IV.2.5:** Pesos de las componentes en el PCA para color proteínas (PR), relación de molienda (RM), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), volumen aparente (VA) y rendimiento (R) a 250°C - 18% H.

**Tabla IV.2.6:** Análisis Regresión Múltiple entre AP y RM y color para los granos de sorgo.

**Tabla IV.2.7:** Composición centesimal de muestras selectas: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Hierro (Fe), Zinc (Zn), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na), Fósforo (P)), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib) y PF Ligados (PF Lig) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y popeadas de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

**Tabla IV.2.8:** Propiedades nutricionales de muestras selectas: bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y popeadas de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

**Tabla IV.2.9:** Resultados de ANOVA Multifactor para los efectos del proceso, el color y su interacción en la composición centesimal (proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig)) y propiedades nutricionales (biodisponibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO)) de

las muestras popeadas selectas y de sus harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

**Tabla IV.2.10:** Razones molares AF/Fe, AF/Zn, AF/Ca y AFxCa/Zn, de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y popeadas de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

**Tabla IV.3.1:** Valores obtenidos para el consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE) y dureza sensorial (DS) en las distintas condiciones de extrusión para sorgo blanco integral (SB) y sorgo rojo integral (SR).

**Tabla IV.3.2:** Resultados de ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE) y evaluación sensorial de dureza (DS) en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión para sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.3.3:** Valores obtenidos para la solubilidad en agua (S) y absorción de agua (AA) en las distintas condiciones de extrusión para sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

**Tabla IV.3.4:** Resultados de ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para Solubilidad en agua (S) y Absorción de Agua (AA) en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión para sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.3.5:** Valores obtenidos para Consistencia inicial (Ci), Consistencia inicial a 95oC (C95i), Consistencia final a 95oC (C95f), Retrogradación (RG) Gelatinización (%G) ciertas condiciones de extrusión de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

**Tabla IV.3.6:** Contenido de ácido fítico (AF) y Pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF), polifenoles (PF) y capacidad antioxidante (CAO) de las muestras de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) integral extrudidos.

**Tabla IV.3.7:** Resultados del ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF), Polifenoles (PF) y Capacidad Antioxidante (CAO) en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

**Tabla IV.3.8:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Hierro (Fe), Zinc (ZN), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na) y Fósforo (P)), Ácido Fítico (AF), PFT

(PFT), PF Libres (PF Lib) y PF Ligados (PF Lig) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas selectas de sorgo blanco (SBE) y sorgo rojo (SRE).

**Tabla IV.3.9:** Propiedades nutricionales de muestras selectas: bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y popeadas de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

**Tabla IV.3.10:** Resultados de ANOVA Multifactor para los efectos del proceso, el color y su interacción en la composición centesimal (proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig)) y propiedades nutricionales (biodisponibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO)) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas\* selectas de sorgo blanco (SBE) y rojo (SRE).

**Tabla IV.3.11:** Razones molares AF/Fe, AF/Zn, AF/Ca y AFxCa/Zn, de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas selectas de sorgo blanco (SBE) y sorgo rojo (SRE).

**Tabla IV.3.12:** Contenido de ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico en extractos libres y ligados de harina de sorgo blanco nativo (SB), sorgo rojo nativo (SR), sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

**Tabla IV.3.13:** Valores obtenidos para el consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE), solubilidad (S) y absorción de agua (AA) para harinas de sorgo blanco integral extrudido (SBE), sorgo blanco descascarado extrudido (SBDE), sorgo rojo integral extrudido (SRE) y sorgo rojo descascarado extrudido (SRDE).

**Tabla IV.3.14:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), fibra dietaria total (FDT), cenizas (CZ), contenido de minerales: Hierro (Fe), Zinc (Zn), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na) y Fósforo (P), digestibilidad proteica (%), PF Libres (PF Lib) y ligados (PF Lig), Ácido Fítico (AF) y capacidad antioxidante (CAO) de harinas de sorgo descascarado blanco (SBD) y rojo (SRD), sorgo descascarado extrudido blanco (SBDE) y rojo (SRDE).

**Tabla IV.4.1:** Ingesta total, ingesta diaria, ganancia de peso (GP) y eficiencia.

**Tabla IV.4.2:** Peso del ciego vacío, ciego vacío relativo al peso corporal (PC), peso de las heces y agua de las heces de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.3:** Contenido cecal (CC), pH del contenido cecal, PF Cecales (PF Cecal), Poder Reductor y sIgA en el contenido cecal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.4:** Profundidad de las criptas (cells/Hemicryts), antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) (%) y Apoptosis (TUNEL) (%) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.5:** Actividades de enzimas antioxidantes en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.6:** Cocientes Cu ZnSOD/CAT, MnSOD/CAT y GR/GP en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.7:** Factores NrF2 y NF-κB en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.8:** Peso de los hígados de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.9:** Contenido de malondialdehído (MDA) y poder reductor en hígado de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.10:** Actividad de Catalasa (CAT), glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG) y relación GSH/GSSG en hígado de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).



**Tabla IV.4.11:** Contenido de malondialdehído (MDA) y Poder Reductor en plasma de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.12:** Contenido Mineral Total (CMT y CMT t60), Densidad Mineral Total t60 (DMT t60), de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.13:** Densidad Mineral de la Columna (C-DM t60), del Fémur (F-DM t60), del Fémur distal (Fd-DM t60), de la Tibia (T-DM t60) y de la Tibia proximal (Tp-DM t60) ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Tabla IV.4.14:** Composición ósea del fémur derecho: Cenizas, Contenido Orgánico (CO), relación Cenizas/CO, Calcio (Ca), Fósforo (P) y relación Ca/P de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

## Índice de Figuras

**Figura I.1.1:** Núcleo estructural de los principales grupos de PF.

**Figura I.1.2:** La superación de los sistemas pro-oxidantes por los antioxidantes favorece la instauración del estrés oxidativo, caracterizado por la producción exacerbada de radicales libres (RL) y especies reactivas (no radicales) de oxígeno (ERO) o de óxido de nitrógeno (ERON). Esta situación conlleva el desarrollo de daños oxidativos, por medio de oxidación a las biomoléculas y/o por la alteración de la homeostasis. A su vez, los daños oxidativos, están involucrados en la etiología de enfermedades crónicas no transmisibles.

**Figura I.1.3:** Sistemas enzimáticos de defensa antioxidante. GSH: glutatión, GSSG: glutatión oxidado, NADP: nicotinamida adeninucleótido-fosfato, NADPH: nicotinamida adeninucleótido-fosfato reducido, SOD: superóxido dismutasa.

**Figura I.2.1:** Corte transversal de granos de sorgo con y sin testa pigmentada.

**Figura I.2.2:** Cadena de valor del sorgo.

**Figura I.4.1:** Esquema general de una máquina extrusora.

**Figura I.4.2:** Esquema de transformaciones por extrusión de harinas.

**Figura I.4.3:** Diagrama de las formas físicas del almidón y los métodos de evaluación.

**Figura III.3.1:** Diagrama de molienda para obtener la materia prima para la extrusión.

**Figura IV.1.1:** Sorgo blanco nativo y posterior al blanqueo (a). Sorgo rojo nativo y posterior al blanqueo (b).

**Figura IV.2.1:** Pesos de los Componentes de las proteínas (PR), relación de molienda (RM), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), color, volumen aparente (VA) y rendimiento (R) a 250°C - 18% H, para los híbridos de sorgo.

**Figura IV.2.2:** Fotografías de Sorgo Blanco popeado a 250°C - 18% H (a) y Sorgo Rojo popeado a 250°C - 14% H (b).

**Figura IV.2.3:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco nativo (SB) y sorgo rojo nativo (SR) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco popeado (SBP) y sorgo rojo popeado (SRP).

**Figura IV.2.4:** Porcentaje de reducción de minerales (Hierro (Fe), Zinc (ZN), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na) y Fósforo (P)) luego del popeado.

**Figura IV.2.5:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en sorgo blanco nativo (SB), sorgo rojo nativo (SR), sorgo blanco popeado (SBP) y sorgo rojo popeado (SRP).

**Figura IV.3.1.** Fotografía de los productos de Sorgo Blanco (a) y Sorgo Rojo (b) integral extrudidos.

**Figura IV.3.2.** Superficies respuesta para el Consumo Específico De Energía Mecánica (CEEM) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.

**Figura IV.3.3:** Superficies respuesta para la Expansión (E) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.

**Figura IV.3.4:** Superficies respuesta para el Volumen Especifico (VE) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.

**Figura IV.3.5:** Superficies respuesta para la Dureza Sensorial de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura (T) y humedad (H) extrudidos.

**Figura IV.3.6:** Superficies respuesta para la Solubilidad en Agua (S) de las harinas extrudidas de SR y SB integral en función de la temperatura y la humedad del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.7:** Superficies respuesta para la Absorción de Agua (AA) de las harinas extrudidas de SR y SB integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.7:** Superficies respuesta para la Absorción de Agua (AA) de las harinas extrudidas de SR y SB integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.8:** Superficies respuesta para la Pérdida de Fítico (Pérdida de F) de las harinas extrudidas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.9:** Superficies respuesta para el contenido de polifenoles (PF) de las harinas extrudidas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.10:** Superficies respuesta para la capacidad antioxidante de las harinas extrudidas de sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura (T) y humedad (H) del proceso de extrusión.

**Figura IV.3.11:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco nativo (SB) y sorgo rojo nativo (SR) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

**Figura IV.3.12:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas selectas de sorgo blanco (SBE) y sorgo rojo (SRE).

**Figura IV.3.13:** Cromatograma HPLC de extracto ligado de SR. Identificación de los picos para ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico.

**Figura IV.3.14:** Contenido total de ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico (ug/g) en Sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) nativos y extrudidos.

**Figura IV.3.15:** Granos, harinas y extrudidos de granos enteros y descascarados de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

**Figura IV.3.16:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ) y fibra dietaria total (FDT) de las harinas de sorgo integral blanco (SB) y rojo (SR), sorgo descascarado blanco (SBD) y rojo (SRD).

**Figura IV.3.17:** Porcentaje de reducción de minerales: Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P, luego del descascarado.

**Figura IV.3.18:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco descascarado (SBD) y sorgo rojo descascarado (SRD) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco descascarado extrudido (SBDE) y sorgo rojo descascarado extrudido (SRDE).

**Figura IV.3.19:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR), harinas descascaradas de sorgo blanco (SBD) y rojo (SRD), harinas de sorgo extrudido blanco (SBE) y rojo (SRE) y harinas de sorgo descascarado extrudido blanco (SBDE) y rojo (SRDE).

**Figura IV.3.20:** Porcentaje de reducción de ácido fítico (AF), polifenoles totales (PFT) y capacidad antioxidante (CAO) en harinas de sorgo blanco popeado (SBP), sorgo rojo popeado (SRP), sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

**Figura IV.4.1:** Actividad de  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa en contenido cecal.

**Figura IV.4.2:** PCNA en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.3:** TUNEL en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.4:** Inmunotinción de la enzima COX-2 en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.5:** Inmunotinción de la enzima iNOS en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.6:** Inmunotinción de la enzima CuZnSOD en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.7:** Inmunotinción de la enzima MnSOD en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.8:** Inmunotinción de la enzima Catalasa (CAT) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.9:** Enzimas Glutation Reductasa (GR) y Glutation Peroxidasa (GPx) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.10:** Inmunotinción de la enzima Glutation Reductasa (GR) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.11:** Inmunotinción de la enzima Glutation Peroxidasa (GPx) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.12:** Inmunotinción del factor Nrf2 en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.13:** Inmunotinción del factor NF- $\kappa$ B en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.14:** Actividad de las enzimas Glutation Reductasa (GR) y Peroxidasa (GPx) en tejido hepático de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.15:** Colesterol y triglicéridos (TG) hepáticos de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.16:** Lípidos plasmáticos (colesterol y triglicéridos) de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

**Figura IV.4.17:** Ingesta Diaria de Ca (Ingesta de Ca), Excreción fecal diaria de Ca (Excreción de Ca) y Absorción aparente de Ca (% Absorción Ca) en ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo extrudido (SRE).

**Figura IV.4.18:** Volumen óseo (VO%) en ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo extrudido (SRE).

## Abreviaturas y Símbolos

- % Abs. ap. Ca: Absorción Aparente de Ca
- %F: porcentaje de flotación
- %G: gelatinización
- OH: radical hidroxilo que son extremadamente inestables, y al
- AA: absorción de agua
- AF: ácido fítico
- AP: aptitud de popeado
- b.s.: base seca
- C: control
- C95f: consistencia final a 95°C
- C95i: consistencia inicial a 95°C
- Ca: calcio
- CAO: capacidad antioxidante
- CAT: Catalasa
- CC: contenido cecal
- C-DM: densidad mineral de la columna
- CEEM: consumo específico de energía mecánica
- CEM: coeficiente de extinción molar
- Ci: consistencia inicial a 30°C
- CMT: contenido mineral total
- CO: contenido orgánico
- Cu: cobre
- CV: coeficiente de variación
- CZ: cenizas
- d: diámetro del expandido
- D: es el diámetro promedio del material extrudido
- DA: densidad aparente
- db: es el diámetro de la boquilla del extrusor
- DM (%): Porcentaje del mineral dializado
- DMT: densidad mineral total

DPR: digestibilidad proteica  
DS: dureza sensorial  
E: expansión  
EE: extracto etéreo  
Fd-DM: densidad mineral de fémur distal  
F-DM: densidad mineral del fémur  
Fe: hierro  
FI: fibra insoluble  
FS: fibra soluble  
GC: grado de cocción  
GP: ganancia de peso  
GE: grano entero  
GI: gastrointestinal  
GPx: Glutation Peroxidasa  
GR: Glutation Reductasa  
GSH: glutatión reducido  
GSSG: glutatión oxidado  
H: humedad  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peróxido de hidrógeno  
HTST: altas temperaturas por corto tiempo  
IgA: Inmunoglobulina A  
K: constante=  $61,3 \cdot 10^{-3} \text{ J g}^{-1}$ ,  
K: potasio  
L: absorbancia A-B, 0,42 es el factor de conversión de la dinitrofluorobenceno-lisina  
LD: lisina disponible  
M: peso de la muestra  
MD: mg del mineral dializado  
MDA: malondialdehído  
Mg: magnesio  
MM: mg del mineral total en la muestra  
N: rpm del tornillo extrusor ( $\text{min}^{-1}$ )  
Na: sodio



NNP: nitrógeno no proteico  
NT: contenido de nitrógeno total en la muestra  
 $O_2^-$ : anión superóxido  
P: fósforo  
PC: peso corporal  
PCA: análisis de componentes principales  
PCNA: antígeno nuclear de células proliferantes  
Pérdida de F: pérdida de fítico  
PF Lib: polifenoles libres  
PF Lig: polifenoles ligados  
PF: polifenol  
PFT: polifenoles totales  
PH: peso hectolítrico  
Ppm: partes por millón  
PR: proteínas  
Ps: Peso seco de la muestra  
QS: Caudal másico  
R: rendimiento  
RG: retrogradación  
RM: relación molienda  
S: solubilidad en agua  
SB: sorgo blanco  
SBD sorgo blanco descascarado  
SBDE sorgo blanco descascarado extrudido  
SBE: sorgo blanco extrudido  
SBP: sorgo blanco popeado  
SR: sorgo rojo  
SRD: sorgo rojo descascarado  
SRDE: sorgo rojo descascarado extrudido  
SRE: sorgo rojo extrudido  
SRP: sorgo rojo popeado  
T.H.: tejido húmedo

T: temperatura

T: torque en Unidades Brabender

T-DM: densidad mineral de la tibia

TG: triglicéridos

Tp-DM: densidad mineral de la tibia proximal

TUNEL: apoptosis

VA: volumen aparente

VE: volumen específico

VO: volumen óseo

Zn: zinc

## Resumen

Las recomendaciones dietéticas de la Estrategia Mundial dirigida a las poblaciones que sugieren el consumo de cereales integrales son apropiadas para la población Argentina, cuyos hábitos alimentarios se reflejan en la prevalencia de sus patologías: elevados niveles de colesterol, de sobrepeso y los altos índices de enfermedades cardiovasculares que manifiestan la necesidad general de reducir la ingesta de energía, grasas saturadas, trans y colesterol, en concomitancia con el aumento del consumo de fibra.

El concepto de grano entero (GE) se refiere al cereal integral y comprende a los granos intactos, molidos, quebrados o en hojuelas, cuyos principales componentes (el endospermo almidonoso, el germen y el salvado) están presentes en las mismas proporciones en las que existen en el grano intacto.

El sorgo es una fuente principal de energía, proteínas, vitaminas y minerales para millones de habitantes de las regiones más pobres del mundo. Además, este cereal presenta una comprobada versatilidad bajo condiciones agronómicas muy adversas. Una ventaja muy importante del sorgo es que no posee gluten y se lo puede utilizar como materia prima para el desarrollo de alimentos destinados a la creciente población celíaca.

La incorporación de los GE a la dieta de la población se ve reducida por la falta de hábitos. A esto se le suma el inconveniente de los mayores tiempos de cocción y la escasa variedad de productos elaborados con ellos, debido a la dificultad de incorporarlos en los alimentos, ya que algunos de sus componentes afectan negativamente las características tecno-funcionales de varias formulaciones. Una posibilidad para facilitar su incorporación es transformarlos en productos expandidos a través de la extrusión, la cual es una tecnología apropiada para las transformaciones de cereales, dado que permite obtener variedad de productos, con distintas texturas para la elaboración alimentos. Este proceso ofrece una alta versatilidad de operaciones, como son: mezclado, cocción, texturización y secado parcial, además de ser muy beneficioso desde el punto de vista de la utilización de la energía, mano de obra y espacio requerido para su instalación. Otra tecnología de expansión es el popeado en lecho fluidizado, que implica la explosión del grano con la consiguiente transformación del cereal, siendo un método tradicional, muy sencillo, económico y rápido. Este proceso mejora la vida útil al inactivar microorganismos no deseables y ciertos anti-nutrientes, añadiendo sabor a los granos y por lo tanto mejorando su aceptabilidad.

El efecto beneficioso sobre la salud de los GE se debe a la fibra, micronutrientes y fitoquímicos presentes en la capa exterior del grano y en el germen. Respecto a la fibra, sus efectos dependen de su fermentabilidad. La fibra fermentable (arabinosilanos solubles y  $\beta$ -glucanos) puede reducir el colesterol en sangre y la respuesta glicémica postprandial y la no fermentable (celulosa y arabinosilanos) puede aumentar la velocidad del tránsito intestinal y el volumen de las heces, disminuyendo el contacto entre compuestos carcinógenos y las células epiteliales de colon. Sumado a esto, la fermentación de la fibra, también puede producir cantidades significativas de butirato, que protege a las células epiteliales contra la carcinogénesis y al disminuir el pH colónico por los ácidos orgánicos generados, aumenta la absorción de calcio (Ca).

En el caso de GE, el ácido fítico y los polifenoles inhiben la absorción de minerales y la digestibilidad proteica. Sin embargo, los procesos tecnológicos como extrusión y popeado pueden reducir el contenido de ácido fítico y mejorar la biodisponibilidad de minerales y la digestibilidad proteica.

El objetivo de esta tesis fue evaluar los efectos de dos procesos de expansión: la extrusión y el popeado en las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas integrales precocidas de sorgo de distinta variedad o cultivar, a fin de estudiar la factibilidad de incorporar al sorgo en la formulación de alimentos aptos para celíacos.

Se analizaron híbridos de sorgo (14 sorgos blancos: SB y 14 sorgos rojos: SR) y se clasificaron como bajos en taninos o sin taninos condensados, con lo cual eran aptos para el consumo humano. Fueron evaluados en cuanto a su composición química respecto a: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), Ácido Fítico (AF), Polifenoles Totales (PFT), Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig). Los valores hallados se encontraron dentro de los rangos informados en la bibliografía. De las determinaciones químicas realizadas se observó que PR, EE, CZ, AF, Fe Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P presentaron distribución normal. Se observaron diferencias según se trataba SB o SR en los contenidos de Fe, Zn, Na, AF, Cu, y P, siendo los 3 primeros mayores en SB. Por otra parte, PFT, PF Lib y PF Lig no presentaron distribución normal y además, hubo diferencias según el color del grano. Al analizar sus medianas, todas fueron mayores para los SR. Esto es de esperar ya que los sorgos con testa pigmentada poseen más PF. Los contenidos de PF Lig fueron, en todos los casos, mayores a PF Lib.

Respecto a las características físicas, se evaluaron: relación de molienda (RM), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F) y densidad aparente (DA), siendo los valores obtenidos similares a los hallados en la bibliografía. Sólo presentaron distribución normal RM y DA, y no difirieron con el color de los híbridos. El PH y %F no presentaron una distribución normal y el primero presentó diferencia acorde al color del híbrido, siendo mayor en SR.

De los 28 híbridos analizados no todos presentaron aptitud tecnológica para el popeado. Como indicadores se evaluaron: volumen aparente (VA) y rendimiento de explosión (R). En las condiciones de proceso de 250°C - 18% H se obtuvieron los mayores VA (10-19 cm<sup>3</sup>/g) y de R (62 y 95%). Se encontró que cuanto más duro fue el grano (mayor RM, PH, DA y contenido proteico, y menor %F) mayor fue el VA del producto popeado y que el R fue mayor en SB. Para poder predecir la capacidad de explosión de los granos de sorgo, se definió el parámetro Aptitud de Explosión (AP). A través de la determinación de la RM y considerando el color del híbrido, sería posible predecir en un 71%, la buena aptitud de popeado, si se obtiene un AP mayor o igual a 9.

Se seleccionaron los productos popeados a 250°C - 18% H (híbrido SB1) y a 250°C - 14% H (híbrido SR7) y se analizaron sus harinas precocidas en cuanto a: PR, EE, Fibra Dietaria Total (FDT), CZ, minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), biodisponibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD), AF, PFT, PF Lib, PF Lig y capacidad antioxidante (CAO). El análisis de estas muestras mostró que el proceso de popeado no afectó significativamente PR y EE, pero redujo el contenido de CZ y FDT. El contenido de almidón gelatinizado fue mayor en sorgo blanco popeado (SBP), por lo que fue la muestra con mayor grado de cocción (GC). Todos los minerales se redujeron por el popeado. La DFe aumentó luego del popeado, la DZn se redujo y la de DCa no se modificó. La DPR no cambió y la LD disminuyó 24% y 16% para SBP y sorgo blanco popeado (SRP), respectivamente. Hubo una reducción del contenido de PF Lib y PF Lig, AF y CAO. Sin embargo, las harinas precocidas integrales obtenidas por popeado pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Los híbridos SB5 y SR14 fueron extrudidos a distintas H (14, 16,5 y 19%) y T de extrusión (164, 182 y 200°C). Sobre los productos extrudidos se evaluaron: PR, EE, FDT, CZ, minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), DFe, DZn y DCa, DPR, LD, AF, PFT, PF Lib, PF Lig y CAO. El SR alcanzó un mayor GC que el SB, con mayores valores de

consumo específico de energía mecánica (CEEM), volumen específico (VE), expansión (E), solubilidad (S) y gelatinización (G%) y con predominio de gránulos totalmente destruidos, generando menor capacidad de absorción de agua (AA).

El SB es más duro que el SR y requiere condiciones más severas que el SR para alcanzar similar GC. En el SB predominaron los gránulos cocidos sin destruir, resultando en una mayor AA y menores valores de CEEM, VE, E, S y G%. La muestra de mayor dureza sensorial fue la de menor GC obtenida a 164°C - 19% H, tanto para SB como para SR, y por su parte las más blandas fueron las obtenidas a 200°C - 19% H para el caso de SB y a 200°C - 14% H para el SR. El aumento de la H de extrusión produjo una reducción significativa del contenido de AF, de los PF y de la CAO. El aumento de T generó una disminución en el contenido de AF para ambos tipos de sorgo y de PF para SB.

Es posible obtener una harina precocida para preparar mezclas instantáneas para sopas tipo crema y papillas con buenas propiedades de hidratación con extrudidos de GE de sorgo a 200°C - 14% H. Si se desea obtener un producto tipo snack con buenas características fisicoquímicas y sensoriales las condiciones de extrusión serían a 182°C - 14% H. Si el resto de las materias primas utilizadas son sin TACC, sería posible elaborar alimentos con sorgo integral extrudido para toda la población, incluyendo a la celiaca.

Se seleccionaron condiciones de proceso que permitieran obtener un expandido tipo snack y sobre las harinas precocidas se realizaron los análisis de composición previamente mencionados. Se observó que el proceso de extrusión no afectó significativamente el contenido de ningún macronutriente y que el almidón gelatinizado fue mayor para el SRE. El contenido de Fe aumentó luego de la extrusión para ambas muestras. La DFe aumentó significativamente luego de la extrusión, la de DZn disminuyó y la DCa no varió. La DPR aumentó luego de la extrusión (15 y 25 %) y la LD se redujo (20 y 31%) para sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE), respectivamente. Si bien hubo una reducción del contenido de PF Lib, PF Lig, AF y CAO, las harinas precocidas integrales obtenidas por extrusión pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Se analizó el contenido de ácidos fenólicos: cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico luego de una hidrólisis ácida. El SR presentó la mayor cantidad de fenoles libres y ligados. La extrusión redujo ambos tipos de fenoles en ambos sorgos, pero el SR sufrió las mayores pérdidas, aunque el contenido siguió siendo mayor que en el SBE.

El descascarado produjo una reducción significativa de los macro y micronutrientes, pero la extrusión de las muestras descascaradas no afectó significativamente el contenido de ningún macronutriente, al igual que la extrusión de los sorgos integrales. El contenido de AF, PFT y CAO fue menor en las muestras de sorgos descascarados extrudidos, como consecuencia de las reducciones ocasionadas por ambos procesos.

Ambos procesos tecnológicos de expansión permitieron obtener productos a partir de sorgos integrales aptos para consumo humano y con posibilidades de uso en la elaboración de alimentos sin TACC. El proceso de popeado generó reducción de CZ, FDT y minerales, y mayores pérdidas de CAO, mientras que la extrusión aumentó en mayor medida la DFe y DPR. El mayor GC en popeado fue para el SB y el mayor GC en extrusión fue para el SR.

Los estudios in vivo mostraron que la ingesta total de los animales alimentados con GE de sorgo extrudido fue menor que la de los alimentados con la dieta C, manifestándose el efecto de saciedad de la fibra. Sin embargo la eficacia de la dieta fue igual en todos los grupos. No se observó ningún cambio en el tamaño del ciego, pero el consumo de alimentos a base de GE de sorgo extrudido, redujo el pH cecal y la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa y la  $\beta$ -Glucuronidasa.

Los estudios inmunohistoquímicos en el colon indican que el SRE indujo una disminución de la proliferación de colonocitos, pero no pareció afectar significativamente a la muerte celular en la mucosa del colon proximal y distal. El SBE generó una hiperproliferación y aumento de la apoptosis de las células epiteliales del colon distal.

Respecto al estrés oxidativo en colon, se podría suponer un estado antioxidante en los animales alimentados con dieta GE de sorgo extrudido, respecto a los alimentados con la dieta C. El SRE mostró en relación al C, niveles similares de enzima MnSOD, disminuidos de CuZnSOD y aumentado de Catalasa (CAT) (solo en la zona distal). Por otra parte la Glutathion Reductasa (GR) aumentada junto con la Glutathion Peroxidasa (GPx) sin modificar, indicaría que la producción de  $O_2^-$  se encuentra disminuida o similar al C, y que la cantidad que se produce de  $H_2O_2$  sería degradada vía CAT (aumentada a nivel distal). La relación GR / GPx fue dos veces superior a la del C, lo que indicaría un estado reducido. En el caso de la dieta con SBE, se observó que las enzimas SOD estaban disminuidas, que la CAT y la GPx estaban aumentadas en la zona distal y la GR estaba

aumentada en ambas zonas, dando lugar a un comportamiento similar a la dieta de SRE. Al estar las SOD disminuidas y la CAT aumentada, también se podría decir que existe un mejor estado de protección antioxidante. Por otra parte, el factor de transcripción Nrf2 está aumentado en las dietas con sorgo, esto indicaría una mayor expresión de genes de enzimas detoxificantes.

En cuanto a los marcadores de estrés oxidativo a nivel hepático, los animales alimentados con dietas de GE de sorgo extrudido, no presentaron diferencias respecto a CAT, GPx y glutatión reducido (GSH) con la dieta C, pero mostraron menor contenido de glutatión oxidado (GSSG) y por lo tanto, mayor relación GSH/GSSG, lo que indicaría un estado reductor. Los animales alimentados con SRE tenían similar GPx hepática y mayor GR, reforzando la idea de condiciones reducidas.

En cuanto al perfil lipídico, en hígado, las ratas alimentadas con dietas de sorgo no presentan diferencias respecto al C. Sin embargo, en plasma, se observaron diferencias en el contenido de triglicéridos (TG), siendo menores los TG en las dietas de GE de sorgo extrudido.

Si bien la dieta de SRE tuvo menor absorción aparente de Ca y los lotes alimentados con GE de sorgo extrudido presentaron menor ingesta de Ca, esto no impactó de forma negativa en la salud ósea, medidas a través del CMT, la DMT y DM en distintos huesos. Sin embargo, se observaron diferencias con el C en cuanto al contenido de cenizas, materia orgánica y P, lo que implicaría cierto desbalance en el metabolismo de este mineral. Además, el contenido de Ca fue menor en el lote SRE, relacionado con la menor absorción aparente de este mineral.

En términos generales, se observó que la dieta con SRE fue más beneficiosa que el SBE en los distintos aspectos estudiados. Debido a que una de las principales diferencias entre los sorgos es el contenido de PF, se podría adjudicar a éstos el efecto beneficioso.

**En conclusión, el estudio de las características fisicoquímicas y nutricionales permitió caracterizar cultivares argentinos de sorgo rojo y blanco aptos para el consumo humano. Se definió un indicador de la aptitud para el popeado que será útil en la elección de variedades para obtener “palomitas de sorgo”.**

**Se estudiaron y definieron condiciones de trabajo en tecnologías de expansión como el popeado y la extrusión de granos enteros de sorgo que permitirán obtener**



**alimentos e ingredientes de grano entero aptos para celíacos, con buenas propiedades fisicoquímicas y sensoriales.**

**Los extrudidos manifestaron interesantes propiedades antioxidantes a nivel colónico, principalmente por el consumo de SRE, lo cual se adjudica al mayor contenido de PF.**

## Abstract

Global Strategy Dietary Recommendations directed to populations, which suggest the consumption of whole grains, are appropriate for the Argentina population, whose eating habits are reflected in the prevalence of pathologies like elevated cholesterol levels, overweight and high rates of cardiovascular disease that show the overall need to reduce energy intake, saturated and trans fatty acids and cholesterol, in conjunction with increasing fiber intake.

Whole grains (WG) shall consist of the intact, ground, cracked or flaked caryopsis, whose principal anatomical components (the starchy endosperm, germ and bran) are present in the same relative proportions as they exist in the intact caryopsis.

Sorghum is a major source of energy, protein, vitamins and minerals for millions of people in the poorest regions of the world. In addition, this cereal has proven agronomic versatility under very adverse conditions. A very important advantage of sorghum is that it has no gluten and can be used as ingredient for the development of foods for the growing celiac population.

The incorporation of WG to the diet is reduced by the lack of habits. In addition, they have higher cooking times and there is low variety of WG products due to the difficulty of incorporating them in foods because some of their components adversely affect techno-functional properties of various formulations. One possibility for favoring their incorporation into diet is transforming them into extruded expanded products. Extrusion is an appropriate technology for cereal processing, since it allow obtaining a variety of products, with different texture for food preparation. This process provides high versatility of operations, including: mixing, cooking, texturing and partial drying, in addition to be very beneficial from the point of view of energy usage, labor and space required for installation. Another cereal expansion technology is popping in fluidized bed, which involves the explosion of grain with subsequent transformation of cereal. It is a traditional, very simple, inexpensive and rapid method. This process improves the useful life since inactivates undesirable microorganisms and certain anti-nutrients, adding flavor to the grains and thereby enhancing their acceptability.

The beneficial effect of WG on health is due to fiber, micronutrients and phytochemicals present in the out layer of grain and germ. Regarding the fiber, their effects

depend on their fermentability. Fermentable fiber (soluble arabinoxylans and  $\beta$ -glucans) can reduce blood cholesterol and postprandial glycemic response and non-fermentable (cellulose and arabinoxylans) can increase the speed of intestinal transit and stool bulk, reducing contact between carcinogenic compounds and colon epithelial cells. Added to this, the fermentation of fiber can also produce significant amounts of butyrate, which protects epithelial cells against carcinogenesis, and generated organic acids reduce colonic pH increasing the absorption of calcium (Ca).

In case of GE, phytic acid and polyphenols inhibit the absorption of minerals and reduce protein digestibility. However, technological processes such as extrusion and popping can reduce phytic acid content and improve the bioavailability of minerals and protein digestibility.

The aim of this thesis was to evaluate the effects of two expansion processes: extrusion and popping on physicochemical and nutritional properties of precooked whole grain flours from different sorghum variety or cultivars, in order to study the feasibility of incorporating sorghum in formulations of foods suitable for celiac people.

Analyzed sorghum hybrids (14 white sorghum: WS, and 14 red: RS) were classified as low in tannins or without condensed tannins, which were suitable for human consumption. They were evaluated regarding to: protein (PR), ether extract (EE), ash (CZ), minerals (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na and P), Phytic Acid (AF), total polyphenols (PFT), free polyphenols (PF free) and bound polyphenols (PF bound). The values were within the ranges reported in bibliography. It was noted that PR, EE, CZ, AF, Fe Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na and P were normally distributed. Differences in the content of Fe, Zn, Na, AF, Cu and P were observed according to color grain, the first of three being higher in WS. On the other hand, PFT, PF free and PF bound were not normally distributed and there were differences between color grains. All medians were higher for RS, which is expected as sorghum grains with pigmented testa have more PF. PF bound contents were in all cases greater than PF free.

Regarding physical characteristics, milling ratio (MR), test weight (TW), percentage of flotation (% F) and bulk density (BD) were evaluated. Values were similar to those found in bibliography. Only MR and BD presented normal distribution, with significant differences according to the color of the grains. TW and % F did not present normal distribution, and TW values were higher in RS.

Not all 28 hybrids analyzed have technological ability to pop. As indicators, apparent volume (AV) and popping performance (PP) were evaluated. At 250°C-18 % M the higher AV (10-19 cm<sup>3</sup>/g) and PP (62 and 95 %) were obtained. It was found that the harder the grain (higher MR, TH, and BD, protein content and lower %F), the higher AV was, and PP was higher in WS. In order to predict popping ability (PA) of sorghum grains, an indicator was defined. Through the determination of RM and the colour it was possible to predict the 71% of the hybrids having PA, if the value is higher 9.

Products popped at 250°C -18 % M (WS1 hybrid) and 250°C-14 % M (RS7 hybrid) were selected and analyzed regarding: PR, EE, total dietary fiber (TDF), CZ, minerals (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na and P), Fe, Zn and Ca bioaccessibility (DFe, DZn and DCa), protein digestibility (DPR), available lysine (AL), AF, PFT, PF free and PF bound and antioxidant capacity (CA). The analysis of these samples showed that the popping did not affect PR and EE, but reduced CZ and TDF content. Gelatinized starch content was higher in PWS, thus this sample showed higher degree of cooking (DC). All minerals were reduced by popping. After popping, DFe increased, DZn decreased and DCa was unchanged. DPR did not change and AL decreased 24 % and 16 % for WSP and RSP, respectively. There was a reduction of AF, PF free and PF bound contents, and AOC. However, whole sorghum flours precooked by popping have high antioxidant capacity.

WS5 and RS14 sorghum hybrids were extruded at different extrusion M (14, 16.5 and 19 %) and T (164, 182 and 200°C). Extruded products were evaluated regarding: PR, EE, TDF, CZ, minerals (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na and P), DFe, DZn and DCa, PRD, AL, PFT, PF free, PF bound, AF, and AOC. RS reached higher DC than WS, with higher values of specific mechanical energy consumption (SMEC), specific volume (SE), expansion (E), solubility (S), and gelatinization (G %) and predominantly fully destroyed granules, generating smaller capacity of water absorption (WA).

WS was harder than RS and required harder conditions than RS to achieve a similar DC. Cooked but undestroyed granules were predominant in WS, resulting in higher WA and lower values of SMEC, SV, E, S and G %. The sample with higher sensory hardness presented the lowest DC and was obtained at 164°C-19 %M for both, WS and RS. The softer samples were obtained at 200°C - 19% M and 200°C - 14% M for WS and RS, respectively. Higher extrusion M content produced a significant reduction of AF and PFT

content and the AOC. Higher T caused a decrease of FA content for both types of sorghum, and PF for WS.

It is possible to obtain a precooked flour for instant mixes used as ingredients for cream-like soups and porridges with good hydration properties extruding sorghum at 200°C - 14% M. If a snack-type product with good physicochemical and sensory characteristics is the target, extrusion conditions must be 182°C - 14% M. Using other without TACC raw materials, it would be possible to develop foods with extruded whole sorghum for celiac people.

Precooked flours obtained at snack- type conditions were evaluated. It was observed that the extrusion process did not significantly affect macronutrient content and gelatinized starch was higher for the ERS. The content of Fe increased after extrusion for both samples. DFe increased significantly after the extrusion, DZn decreased and DCa remained unchanged. DPR increased after extrusion (15 and 25 %) and AL was reduced (20 and 31 %) for EWS and ERS, respectively. There was a reduction in the content of PF free, PF bound, FA and AOC, but precooked whole flours obtained by extrusion can be considered an important source of antioxidants.

The content of phenolic acids: caffeic, p-coumaric, ferulic and sinapic after acid hydrolysis was analyzed. RS showed the highest amount of free and bound phenolics. Extrusion reduced phenolics in both types of sorghum, but the ERS suffered the greatest losses, although the content remained higher than in EWS.

Dehulling resulted in a significant reduction in macro and micronutrients, but extrusion did not significantly affect any macronutrient content, like extrusion of whole sorghum. The content of FA, PFT and AOC was lower in extruded dehulled sorghum because of the reductions resulting from both processes.

Both technological expansion processes allow obtaining suitable products from whole sorghum for human consumption and useful in without TACC food processing. Popping produced reduction of CZ, TDF and minerals, and further losses of AOC, while extrusion increased PRD and DFe. Higher percentage of gelatinized starch was obtained for WS, but higher DC was obtained for RS by extrusion.

In vivo studies showed that total intake of animals fed with extruded WG sorghum was lower than that of C diet, demonstrating the fiber effect on satiety. However diet efficiency was the same for all groups. No changes were observed in the size of cecum, but

the consumption of WG sorghum diets reduced cecal pH and the activity of  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -glucuronidase.

Immunohistochemical studies on colon indicated that ERS induced a decrease in the proliferation of colonic cells but did not affect cell apoptosis in proximal or distal colon. EWS induced hyperproliferation and increased apoptosis of epithelial cells of the distal colon.

Regarding oxidative stress in colon, an antioxidant state was suggested in WG sorghum diet in relation to C diet. ERS showed similar level of MnSOD enzyme, diminished CuZnSOD and increased Catalase (CAT) (only in distal colon). Moreover, Glutathione Reductase (GR) increased and Glutathione Peroxidase (GPx) was unchanged, which indicated the production of  $O_2^-$  was reduced or similar to the C, and  $H_2O_2$  was degraded by CAT (higher at distal colon). GR/GPx ratio was twice higher than de C, indicating a reduced state. In the case of EWS diets, it was observed that SOD enzyme was decreased, the CAT and GPx were increased at distal colon and the GR was increased in both areas, resulting in a behavior diet similar to ERS. The fact that SOD is decreased and CAT increased, also means that there is an antioxidant state. Moreover, the Nrf2 transcription factor was increased in WG sorghum diets, which would imply a higher detoxifying enzyme gene expression.

Regarding hepatic markers of oxidative stress, animals fed with WG diets have similar CAT, GPx, GSH than C diet, but showed lower concentration of oxidized glutathione (GSSG) and higher GSH/GSSG ratio, indicating more reducing conditions. SRE animals had similar hepatic GPx and higher GR strengthen the idea of reducing conditions

Regarding lipid profile, in liver, rats fed with sorghums diets presented no differences respect to the C. However, in plasma, differences in the content of triglyceride (TG) were observed, TG being lower in WG sorghum diets.

Although SRE diet had lower apparent absorption of Ca and animals fed with GE extruded sorghum had lower intake of Ca, this did not impact negatively on bone health, measured by CMT, DMT and DM in different bones. However, differences with C diet were observed regarding ash content, organic matter and P, which would imply a certain imbalance in the metabolism of this mineral. Additionally, the content of Ca was lower in SRE diets, related to lower apparent absorption of this mineral.

In general, it was observed that the SRE diet was more beneficial than the SBE diets the studied aspects. Because one of the main difference between both types of sorghum is PF content, it could be responsible of the beneficial effects.

**In conclusion, the study of physicochemical and nutritional characteristics allowed characterize Argentine sorghum cultivars of red and white sorghum fit for human consumption. An indicator of fitness for popping that will be useful in choosing varieties for "pop sorghum" was defined.**

**Working conditions in expansion technologies such as extrusion and popping of whole grain sorghum were studied and defined. They will provide whole grain food and ingredients suitable for celiacs, with good physicochemical and sensory properties.**

**Extrudates showed interesting in vivo antioxidant properties, mainly ERS, which is attributed to the higher content of phenolics.**

# I. INTRODUCCIÓN



## I. INTRODUCCIÓN

Los cereales integrales son fundamentales para lograr y mantener una salud óptima, ya que su consumo implica el aporte de varios compuestos, tales como fibra dietética (FD), antioxidantes, minerales, vitaminas, lignanos y compuestos fenólicos (Slavin, 2005).

En las recomendaciones dietéticas de la “Estrategia Mundial dirigida a las poblaciones” (CODEX, 2006), se indica el consumo de cereales integrales, con el fin de lograr una alimentación con alto consumo de fibras, en concordancia con una reducción de la ingesta energética y de grasas saturadas. Sin embargo, en una investigación realizada en los Estados Unidos, se observó que el consumo de cereales en adultos era de 6,7 raciones al día, pero sólo 1.0 de estas raciones eran de cereal integral (Cleveland y col., 2000) y en niños y adolescentes, la ración diaria era menor a 1.0 (Harnack, 2003). Al ser el consumo muy inferior a la recomendación, en el 2010 se fijaron objetivos focalizados en transmitir mensajes que permitieran lograr el aumento de la ingesta de alimentos a base de grano entero (GE), destacando los beneficios que aportan (Liu, 2007). En Sudamérica, los cereales son una fuente popular de alimentación, pero la mayoría se consume en forma refinada (Slavin, 2005). Particularmente, en Argentina se pueden apreciar las secuelas de una alimentación occidentalizada, reflejada en los desequilibrios dislipidémicos, acompañados de síndrome metabólico, exceso de peso y enfermedades cardiovasculares crecientes (Coniglio y col., 2009, Ferrante y col., 2011).

El sorgo es una fuente principal de energía, proteínas, vitaminas y minerales para millones de habitantes de las regiones más pobres del mundo. Además, este cereal presenta una comprobada versatilidad bajo condiciones agronómicas muy adversas. Todas las tecnologías de procesamiento de cereales se pueden aplicar al sorgo, con lo cual son múltiples los alimentos que podrían obtenerse a partir él. Cabe destacar una ventaja muy importante de este cereal: no posee gluten y se lo puede utilizar como materia prima para el desarrollo de alimentos destinados a la población celíaca (FAO, 1995).

La incorporación de los granos enteros en la dieta de la población se ve reducida por la falta de hábitos. A esto se le suma el inconveniente de los mayores tiempos de cocción y la escasa variedad de productos elaborados con ellos, debido a la dificultad de añadirlos en los alimentos, ya que algunos de sus componentes afectan negativamente las características tecno-funcionales de varias formulaciones (Drago y col., 2010). Una

posibilidad para incrementar su consumo es transformarlos en productos expandidos a través de la extrusión, la cual es una tecnología apropiada para la transformación de cereales, dado que permite obtener variedad de productos, con distintas texturas (González y col., 2002a, Drago y col., 2010). Este proceso ofrece una alta versatilidad de operaciones, como son: mezclado, cocción, texturización y secado parcial, además de ser muy beneficioso desde el punto de vista de la utilización de la energía, mano de obra y espacio requerido para su instalación (González y col., 2002b). Otra tecnología de expansión es el popeado, que implica la explosión del grano, con la consiguiente transformación del cereal, siendo un método tradicional, muy sencillo, económico y rápido (González y col., 2002b). Este proceso cocina los granos, mejora la vida útil al inactivar microorganismos no deseables y ciertos anti-nutrientes, añadiendo además sabor y por lo tanto mejorando su aceptabilidad (Mishra y col., 2014).

### **I.1. EFECTO DEL CONSUMO DE GRANO ENTERO SOBRE LA SALUD**

Los beneficios del consumo de GE en la salud no sólo se atribuyen al salvado, sino también a los demás componentes: antioxidantes, vitaminas, minerales, hidratos de carbono complejos y fitonutrientes. El efecto protector de los cereales integrales se debe a la acción sinérgica de sus componentes, contenidos principalmente en el salvado y en el germen (Jensen y col., 2006, Liu, 2007).

Cada vez existen más pruebas científicas de que los productos de cereales de GE protegen contra el desarrollo de enfermedades crónicas. En términos de salud pública, las más importantes son la obesidad (Van de Vijver y col., 2009), el síndrome metabólico (Sahyoun y col., 2006), la diabetes tipo 2 (Murtaugh y col., 2003), la enfermedad cardiovascular (Mellen y col., 2008) y el cáncer (Larsson y col., 2005, Chan y col., 2007, Schatzkin y col., 2008). Estas enfermedades están relacionadas con el estilo de vida, especialmente con una dieta desequilibrada rica en energía, carente de fibra y de compuestos bioactivos tales como micronutrientes y fitoquímicos. Debido al alto número de compuestos protectores que poseen los GE, puede haber varios mecanismos fisiológicos que conlleven a los beneficios en la salud, como ser: mecánicos dentro del tracto digestivo (la fibra no fermentable puede aumentar el tiempo de tránsito y el volumen fecal), hormonales (el Zn, Se y ácido nicotínico participan en la activación y la síntesis de

hormonas), antioxidantes (en los que intervienen los micronutrientes), anti-inflamatorios (por ejemplo,  $\alpha$ -linolénico, Cu y ácido ferúlico), anti-cancerígenos (muchos micronutrientes), vinculados a la regulación de genes (flavonoides), señalización celular (los polifenoles -PF- y el estado redox), metabolismo energético (las vitaminas del complejo B) y efectos sobre las enzimas (algunos minerales y oligoelementos) (Fardet, 2010).

### **I.1.1. Fibra de grano entero: efectos sobre la salud**

La fibra dietaria (FD) se define de manera diferente en todo el mundo y los avances han sido lentos en acordar una definición universal (Howlett y col., 2010). La FD se define por la A.A.C.C. (2006) como “las partes comestibles de plantas o los carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso”. La FD incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina, sustancias vegetales asociadas y la fracción de almidón no digerido en el intestino delgado (almidón resistente). Así mismo el Código Alimentario Argentino (CAA) define como fibra alimentaria a cualquier material comestible que no sea hidrolizado por las enzimas endógenas del tracto digestivo humano, incluyendo polisacáridos no almidón, pectinas, almidón resistente, inulina, oligofruktosa, polidextrosa, maltodextrinas resistentes, fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, transgalactooligosacáridos, y todos los que en el futuro incorpore la Autoridad Sanitaria Nacional (CAA, 2008).

Tradicionalmente, la FD se clasifica de acuerdo a su solubilidad, en un intento de relacionar los efectos fisiológicos a sus características químicas (Slavin, 2008). Se considera que las fibras solubles (FS) tienen efectos beneficiosos sobre los lípidos séricos, mientras que las fibras insolubles (FI) están vinculadas con beneficios laxantes. Sin embargo, a pesar de estas generalizaciones de uso común, la evidencia científica es inconsistente: la inulina (FS) no parece disminuir el colesterol en sangre, y el efecto de la FI en el peso de las heces es muy variable (Slavin, 2013a).

Las FD exhiben una amplia gama de propiedades fisicoquímicas y los correspondientes efectos fisiológicos. El papel de la fibra en la salud se ha extendido mucho más allá de la mejora del tránsito intestinal, e incluye beneficios sobre los factores

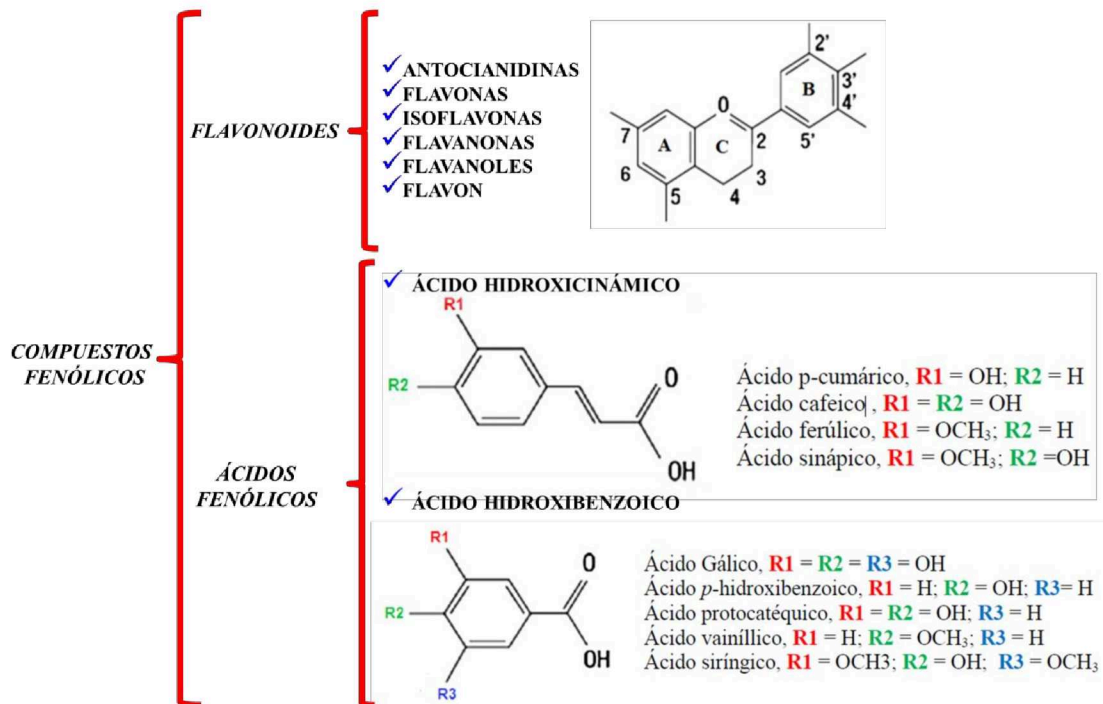
de riesgo de enfermedad cardiovascular, el control del peso, la función inmune y la salud del colon. Sin embargo, es evidente que no todas las fibras son iguales en términos de los tipos y el alcance de los beneficios que proporcionan para la salud. Características tales como la solubilidad, capacidad de fermentación y la viscosidad son determinantes del efecto que la fibra tendrá en el cuerpo (Jones, 2010, Slavin, 2013a).

### **I.1.2. Fenoles de grano entero: efectos sobre la salud**

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal, cuya estructura molecular se caracteriza por la presencia de uno o varios anillos fenólicos, denominados polifenoles (PF). En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en PF puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades (Perez-Vizcaino y col., 2009). Existen varias clases y subclases de PF que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de PF son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Figura I.1.1) (Quiñones y col., 2012).

El concepto de biodisponibilidad cobra gran importancia, dado que los PF más abundantes no siempre son los más activos en el organismo, ya sea porque tienen una menor actividad intrínseca, su absorción en el intestino es baja, son altamente metabolizados o porque se excretan rápidamente (Manach y col., 2004). La mayoría de los PF están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, formas que no se pueden absorber. La mayoría de los glucósidos resisten probablemente la hidrólisis ácida del estómago y llegan intactos al intestino. Estas sustancias deben hidrolizarse por enzimas intestinales como la  $\beta$ -Glucosidasa y la lactasa-florizina hidrolasa, o deben ser degradadas por la microflora del colon antes de poder asimilarse (D'Archivio y col., 2010). Durante el proceso de absorción, se conjugan en las células del intestino y posteriormente sufren procesos de metilación, sulfatación y/o glucuronidación en el hígado. Como consecuencia de estos procesos, las formas que se encuentran en el plasma y en los tejidos son muy distintas de las que están presentes en los alimentos, y esto dificulta la tarea de identificación de los metabolitos y la evaluación de su actividad biológica (Natsume y col.,

2003). La estructura química de los PF determina su absorción y la naturaleza de los metabolitos circulantes en el plasma (D'Archivio y col., 2010). Para estudiar indirectamente la biodisponibilidad de los PF se puede evaluar el incremento en la capacidad antioxidante (CAO) del plasma tras el consumo de alimentos ricos en estos compuestos (Natsume y col., 2003).



**Figura I.1.1:** Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles.

Este conjunto de moléculas con CAO se encuentran principalmente en frutas, verduras y cereales integrales (Barbosa y col., 2008). El contenido de estos compuestos en los alimentos y bebidas está afectado por varios factores: clima, tipo de suelo, tipo de cultivo, exposición al sol, entre otros. El pelado de las frutas y vegetales y el descascarado de cereales pueden disminuir el contenido de PF, ya que éstos están presentes en mayor concentración en sus partes más externas. Además, la cocción y el almacenamiento también pueden variar la cantidad de estos compuestos (D'Archivio y col., 2007). El ácido ferúlico es el ácido fenólico más abundante en los granos de cereales, principalmente ubicado en las partes exteriores del grano, constituyendo su fuente dietética principal (Manach y col., 2004).

Los PF poseen importante influencia sobre la salud humana, siendo numerosos los estudios que confirman una acción protectora, correlacionando la ingestión de PF con una menor incidencia de enfermedades crónicas, tales como enfermedad cardiovascular, diabetes y cáncer (Del Río y col., 2013, Lima y col., 2014). En consecuencia, existe un considerable interés en el aumento de su contenido en la dieta y es valorado como un producto natural deseable para incorporarlo en alimentos funcionales (Benzie y Wachtel-Galor, 2012).

El fenol quizás más estudiado es el ácido ferúlico, al cual se le adjudican múltiples cualidades tales como: antioxidante (reduce el estrés oxidativo causado durante la diabetes, la peroxidación de lípidos), anti-apoptótico, antimicrobiano, anti-inflamatorio, reductor de colesterol y glucosa en sangre, hipotensor, supresor del crecimiento de tumores (Fardet, 2010).

### **I.1.3. Efectos del consumo de grano entero sobre el peso corporal**

Los estudios epidemiológicos han demostrado claramente que los cereales integrales pueden proteger contra la obesidad y el aumento de peso, y tal hecho no sólo se le adjudica a la FD sino también a los compuestos bioactivos tales como los PF, en particular el ácido ferúlico (Fardet, 2010).

La FS posee la capacidad de aumentar la viscosidad, lo que retrasa el vaciado gástrico, aumentando la saciedad y ayudando al control de peso al reducir la ingesta de energía por los mecanismos post-ingestivos (Koh-Banerjee y col., 2004, Wanders y col., 2014). Esto conduce a una menor respuesta de la glucosa cuando se ingieren cantidades suficientes (Wood, 2007). Entonces, los mecanismos por los que la FD tiene efectos positivos sobre el peso corporal implicarían efectos hormonales, a través de la reducción de secreción de insulina al limitar la difusión de la glucosa hacia los enterocitos para su absorción, efectos metabólicos, por el aumento de la oxidación de grasas y disminución de su acumulación debido a una mayor sensación de saciedad, y efectos dados por la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en colon (Slavin, 2005, Wanders y col., 2014).

Cabe mencionar que los PF también producen AGCC al fermentarse en el colon y existen investigaciones donde se observó que su combinación con la fibra produjo una reducción de la ingesta (Zduńczyk y col., 2006).

#### **I.1.4. Efectos del consumo de GE sobre las enfermedades cardiovasculares y lípidos en sangre**

Existe evidencia científica de que los GE pueden prevenir la enfermedad cardiovascular. Esto se adjudica principalmente a la FD y a los PF (Mellen y col., 2008, Fardet y col., 2012, Ye y col., 2012).

Los estudios epidemiológicos sugieren que la ingesta adecuada de fibra disminuye el riesgo de enfermedad cardiovascular y enfermedad coronaria, principalmente a través de una reducción de los niveles lipoproteínas de baja densidad (LDL). Los resultados de los ensayos clínicos aleatorios son inconsistentes, pero sugieren que la fibra puede desempeñar un papel beneficioso en la reducción de los niveles de proteína C reactiva, niveles de apolipoproteína y presión arterial, los cuales son biomarcadores de la enfermedad cardíaca (Eshak y col., 2010, Johansson-Persson y col., 2014, Hartley y col., 2015). Las fibras solubles en agua disminuyen la concentración de colesterol LDL en suero, sin afectar la de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Brouns y col., 2012, Mietus-Snyder y col., 2012).

En los últimos años numerosos estudios han avalado los efectos beneficiosos de la ingesta de PF sobre la salud, especialmente sobre el sistema cardiovascular (Quiñones y col., 2012). Los efectos de los PF son fundamentalmente consecuencia de sus propiedades antioxidantes (Schroeter y col., 2006). Estos compuestos presentan efectos vasodilatadores, son capaces de mejorar el perfil lipídico y atenúan la oxidación de las LDL. Presentan claros efectos anti-inflamatorios y estos compuestos son a su vez, capaces de modular los procesos de apoptosis en el endotelio vascular (Fuhrman y Aviram, 2001, Dell'Agli y col., 2004, Fardet, 2010, Fenercioglu y col., 2010).

### **I.1.5. Efectos del consumo GE sobre la función intestinal**

El consumo de GE se recomienda para mantener un adecuado funcionamiento intestinal, ya que puede aumentar el peso fecal y acortar el tiempo de tránsito intestinal (Slavin, 2003).

La FD tiene gran influencia en la función intestinal, aumentando el volumen y la consistencia de las heces, disminuyendo el tiempo de tránsito, y aumentando la frecuencia de excreción de las heces, contribuyendo a una correcta excreción y a la prevención de trastornos gastrointestinales (Fardet, 2010). El aumento del volumen de las heces se debe principalmente a la fibra no fermentable, pero la fermentable puede aumentar la masa bacteriana, y por consiguiente aumentar la frecuencia y el peso de las heces (Van Loo y col., 2002, Fardet, 2010). En un estudio realizado en humanos se mostró que el consumo de 11-20 g/día de fibra proveniente de GE durante 4 semanas provocó una disminución del tiempo de tránsito intestinal, un aumento de la frecuencia de excreción y del peso de las heces, e incluso mejoró su consistencia, sin manifestación de desórdenes del tracto gastrointestinal (GI) (Bird y col., 2008).

Por otra parte, el efecto de los PF (en particular los flavonoides) de la dieta sobre el transporte intestinal de electrolitos no está bien establecido, ya que los datos disponibles señalan a estos compuestos como diarreicos (Nguyen y col., 1991, Cermak y col., 1998) o antidiarreicos (Carlo y col., 1993).

### **I.1.6. Efectos del consumo de GE sobre la microbiota**

Múltiples investigaciones han demostrado los efectos positivos del consumo de GE sobre la composición (cantidad y calidad) de la microbiota, actuando como prebiótico (Fardet, 2010, Holmes y col., 2011). Es probable que la suma de las partes de los GE, es decir la fibra, los antioxidantes y compuestos bioactivos, contribuyan a la salud gastrointestinal (Jonnalagadda y col., 2011).

La FD junto con los PF de los vegetales que no se absorben en el intestino delgado alcanzan el colon y son fermentados, lo que podría influir en la producción de determinados metabolitos microbianos (Manach y col., 2004), siendo la fermentación de la fibra la más estudiada.



La fermentación de la fibra en el colon por la microbiota produce AGCC, que pueden aumentar notablemente la biomasa del tracto GI y cambiar la composición de su flora (Kaczmarczyk y col., 2012). Los principales AGCC obtenidos son acetato, propionato y butirato, en una proporción 60:25:14 (dependiendo de la dieta) (Gil, 2010). Las células epiteliales del colon utilizan preferentemente butirato como fuente de energía, que es considerado un nutriente clave que determina la actividad metabólica y el crecimiento de los colonocitos, y puede funcionar como un factor de protección primaria contra los trastornos del colon, aunque los datos sobre este tema son contradictorios (Pereira y col., 2004). Los AGCC son solubles en agua y se absorben en el torrente sanguíneo. El acetato y el propionato son metabolizados en el cerebro y los músculos y se eliminan por el hígado, con lo cual disminuyen la producción hepática de colesterol al interferir con su síntesis. Además, estos ácidos grasos contribuyen aproximadamente un 10% a los requerimientos de energía (Blaut, 2014).

La fermentación y la producción de AGCC también inhiben el crecimiento de organismos patógenos mediante la reducción del pH luminal y fecal. Un pH bajo reduce la formación de compuestos tóxicos tales como amoníaco, aminos y compuestos de la degradación de péptidos (Smith y Macfarlane, 1996) y disminuye la actividad de las enzimas bacterianas no deseadas (Thornton, 1981, Pylkas y col., 2005, Farmer y col., 2014).

Los AGCC están asociados con un menor riesgo de cáncer, porque reducen la proliferación de líneas celulares que lo generan, favoreciendo el desarrollo de una microbiota colónica saludable (es decir, efecto prebiótico) (Slavin, 2003b, Costabile y col., 2008, Lattimer y Haub, 2010, Kaczmarczyk y col., 2012).

Los PF dietarios son también sustratos para la microbiota colónica y no sólo pueden inhibir la proliferación de algunas bacterias patógenas, sino que también fomentan el crecimiento, la proliferación y la supervivencia de las bacterias intestinales beneficiosas (Hervert-Hernández y Goñi, 2011).

La composición y la actividad de la microbiota intestinal se desarrollan desde el nacimiento y están sujetas a una compleja interacción que depende del genoma del huésped, su estilo de vida y la nutrición (Nicholson y col., 2012). Esta flora compleja puede producir tanto efectos negativos (sustancias carcinogénicas, genotóxicas, promotoras de tumores), como positivos en el huésped mejorando su salud (actividad anticancerígena

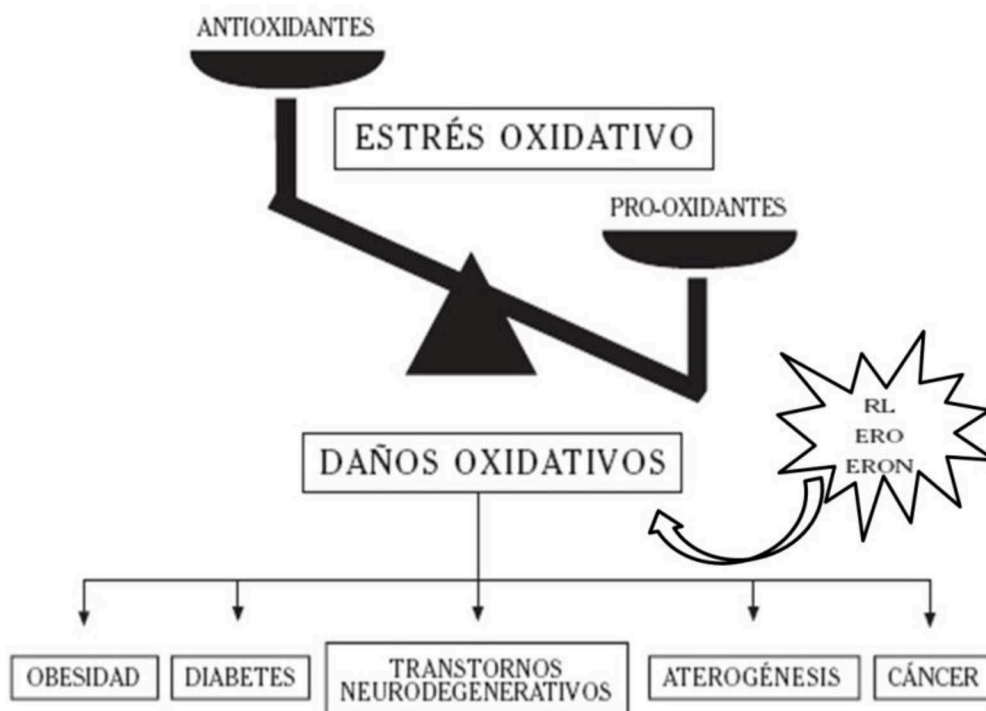
en el intestino grueso) (Gorbach y Goldin, 1990, Marteau y col., 1990, Cumming y MacFarlane, 1991, Cumming y MacFarlane, 1997). La medición de ciertas enzimas bacterianas indicaría la capacidad de la microflora para apoyar estas transformaciones. De esta manera se ha sugerido que varias enzimas bacterianas, tales como la Mucinasas,  $\beta$ -Glucuronidasa,  $\beta$ -Glucosidasa y nitroreductasa, podrían jugar un papel importante en la carcinogénesis del colon convirtiendo pre-carcinógenos en carcinógenos (Rowland, 1988, Justil y col., 2010). La Mucinasas es importante porque degrada la mucina que ejerce un efecto protector en el colon. La  $\beta$ -Glucuronidasa es de interés debido a que es la enzima que hidroliza los glucurónidos biliares cuando llegan al colon, los cuales son productos conjugados resultado de la desintoxicación hepática, cuya hidrólisis puede liberar la toxina (Shiau y Chang, 1983, Brady y col., 2000). De forma similar, la  $\beta$ -Glucosidasa puede estar implicada en la generación de sustancias cancerígenas (Goñi y col., 2005). Existen evidencias de que la producción de enzimas bacterianas con importancia toxicológica (Mucinasas,  $\beta$ -Glucosidasa,  $\beta$ -Glucuronidasa, entre otras), puede estar influenciada por el consumo de diferentes tipos y cantidades de FD (Mallett y col., 1986, Shiau y Ong 1992, Rowland y Tanaka 1993, Goñi y col., 2005, Kosmala y col., 2014).

#### **I.1.7. Consumo de GE y Estrés oxidativo**

En el metabolismo celular y durante la respiración celular se forman radicales libres o especies de oxígeno reactivas (ROS). Este término comprende una variedad de derivados del metabolismo del oxígeno que son altamente reactivos con otras biomoléculas, e incluyen al anión superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) y al radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ) que son extremadamente inestables, y al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que tiene más estabilidad pues no presenta electrones desapareados como las anteriores, y puede difundir libremente a través de las membranas (Alfadda y Sallam, 2012, Khan, 2012). Los radicales libres tienen alta reactividad y tendencia a donar oxígeno a otras sustancias blanco, por lo que son considerados oxidantes. Los antioxidantes son cualquier sustancia que retrasa o inhibe el daño oxidativo en una molécula blanco, neutralizando los radicales libres al donarles electrones (Cayuela, 2010).

El proceso de estrés oxidativo ocurre por la existencia de un desequilibrio entre los sistemas oxidativos y los mecanismos antioxidantes, a favor de los primeros, llevando a la

generación de grandes cantidades de radicales libres o al detrimento de la velocidad de neutralización de éstos (Halliwell y col., 2004). Este proceso conduce a la oxidación de biomoléculas con la consiguiente pérdida de sus funciones biológicas, así como al descontrol homeostático junto al potencial daño oxidativo a las células y tejidos (Halliwell y col., 2004, Hicks y col., 2006). La cronicidad del estrés oxidativo conlleva importantes implicaciones en el desarrollo de las enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la obesidad, la aterogénesis, la diabetes, los trastornos neurodegenerativos y el cáncer (Galili y col., 2007) (Figura I.1.2).



**Figura I.1.2:** La superación de los sistemas pro-oxidantes frente a los antioxidantes favorece la instauración del estrés oxidativo, caracterizado por la producción exacerbada de radicales libres (RL) y especies reactivas (no radicales) de oxígeno (ERO) o de óxido de nitrógeno (ERON). Esta situación conlleva al desarrollo de daños oxidativos, por medio de oxidación de las biomoléculas y/o por la alteración de la homeostasis. A su vez, los daños oxidativos están involucrados en la etiología de enfermedades crónicas no transmisibles (Adaptado de Barbosa y col., 2008).

Los cereales integrales pueden proteger al cuerpo contra el estrés oxidativo y por ende tener efectos beneficios contra las enfermedades mencionadas: el síndrome metabólico (Ford y col., 2003), la obesidad (Higdon y Frei, 2003), la diabetes (Maiese y col., 2008), el cáncer (Bartsch y Nair, 2006) y accidentes cerebro vasculares (Castelao y Gago-Domingue, 2008). Esto se debe a que los GE son buenas fuentes de antioxidantes

(Fardet, 2010), de lo que existe evidencia in vitro (Serpen y col., 2008). Sin embargo, esto se manifiesta de forma diferente in vivo (Beattie y col., 2003, Andersson y col., 2007, Fardet y col., 2008). Los antioxidantes en cereales difieren en su estructura y modo de acción. Pueden ser antioxidantes indirectos, tales como Fe, Zn, Cu y Se, que actúan como cofactores de enzimas antioxidantes, o captadores de radicales directos tales como el ácido ferúlico, PF (lignanós y antocianinas), carotenoides, vitamina E y compuestos específicos para cada cereal. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades REDOX, que pueden desempeñar un papel importante en la neutralización de los radicales libres (Bors y col., 2001), como así también a la inhibición de enzimas oxidativas tales como la lipooxigenasa y ciclooxigenasa (Shi y col., 2001). En general, los compuestos fenólicos que poseen orto-hidroxiolos, como por ejemplo el ácido cafeico y el anillo B de algunos flavonoides, tienen actividades antioxidantes más altas que los otros (Natella y col., 1999, Shi y col., 2001). Se sugiere que los PF unidos a fibra sobreviven a la digestión en el intestino delgado (primer sitio donde se absorben), llegan al colon donde la fibra se fermenta y los PF se liberan lentamente, ya que los oligosacáridos unidos a ácido ferúlico se convierten en un buen sustrato para las esterasas bacterianas, que provocan la liberación lenta y continua de los fenoles. Luego pueden pasar a la mucosa del colon, ser absorbidos y pasar al torrente sanguíneo, a través de la vena porta, llegando al hígado donde se metabolizan (Liu, 2007, Vitaglione y col., 2008).

#### **I.1.7.1. Sistemas de defensa antioxidante**

En el organismo debe existir un balance entre los pro-oxidantes y antioxidantes, ya que el estrés oxidativo o la pérdida de este balance se correlaciona con muchas enfermedades. Es por este motivo que los sistemas biológicos poseen una gran diversidad de sustancias, de naturaleza enzimática y no enzimática, que constituyen los denominados sistemas de defensa antioxidante. Para contrarrestar la excesiva producción de agentes oxidantes, el organismo posee sistemas de protección y mecanismos para luchar contra sus efectos tóxicos (Cayuela, 2010). Tales sistemas funcionan a tres niveles:

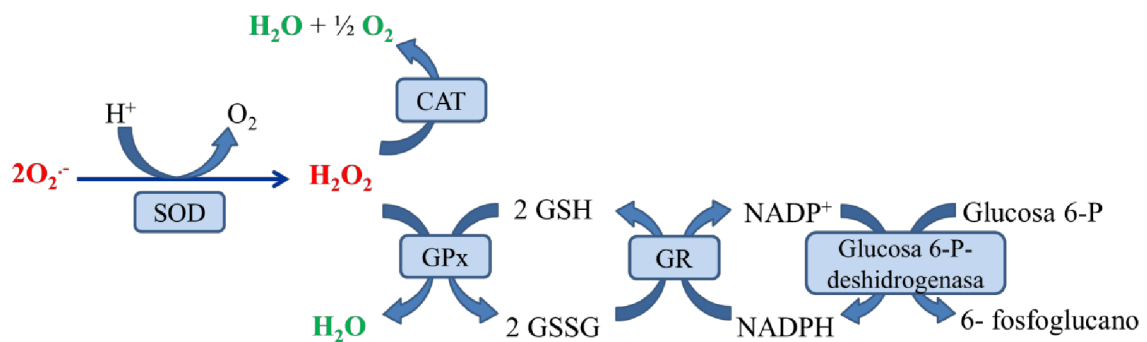
1) Sistemas que previenen la formación de radicales libres, como los inhibidores de enzimas que catalizan la formación de los mismos,

2) Cuando estos sistemas de protección primaria son insuficientes y los agentes oxidantes ya están formados, se activan moléculas que los captan y eliminan su alta reactividad y se las denomina antioxidantes, cuyo objetivo principal es prevenir la oxidación de las importantes molécula biológicas,

3) Cuando los sistemas de defensa antioxidantes no son suficientes y se produce daño oxidativo, se ponen en marcha mecanismos de reparación que reconocen las moléculas deterioradas y las reparan o reciclan, como en el caso de las proteínas y lípidos modificados por oxidación y ADN modificado (Ďuračková, 2010).

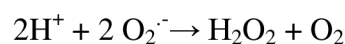
### I.1.7.2. Sistemas de defensa antioxidante endógeno enzimático

Constituye la primera y mejor línea de defensa y elimina las ROS a través de enzimas que trabajan en cadena (Figura I.1.3). Entre ellas se encuentran:



**Figura I.1.3:** Sistemas enzimáticos de defensa antioxidante. GSH: glutatión, GSSG: glutatión oxidado, NADP: nicotinamida adenindinucleótido-fosfato, NADPH: nicotinamida adenindinucleótido-fosfato reducido, SOD: superóxido dismutasa (Adaptado de Cayuela, 2010).

- **Superóxido dismutasa (SOD):** las superóxidos dismutasas son una familia de metaloenzimas que catalizan la dismutación del anión superóxido en oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno según la siguiente reacción:



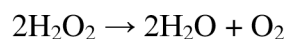
El  $\text{H}_2\text{O}_2$  producido por estas y otras enzimas, a diferencia del  $\text{O}_2^-$  que permanece en su sitio de producción, se difunde libremente a través del citoplasma y membranas

celulares, razón por la que las células ponen en marcha otros sistemas enzimáticos dentro de la cadena de detoxificación de radicales libres para evitar este proceso.

La familia SOD se distribuye de forma ubicua en casi todas las formas de vida aeróbicas y se divide en cuatro clases basadas en cofactores metálicos: SOD cobre / zinc (CuZnSOD), SOD manganeso (MnSOD), SOD hierro (FeSOD) y níquel (SOD NiSOD). Independientemente de su expresión basal estable en la fisiología normal, la transcripción de SOD se rige por una diversa serie de estrés-estímulos internos y externos (Zelko y col., 2002). En principio, CuZnSOD se encuentra predominantemente en el citoplasma, mientras que MnSOD se encuentra en la mitocondria. La mayoría de las ROS se producen en la cadena de transporte de electrones donde MnSOD juega un papel central en la protección contra el daño oxidativo (Chung y col., 2012), y su efecto antioxidante es fuertemente dependiente de su nivel de expresión (Silva y col., 2005).

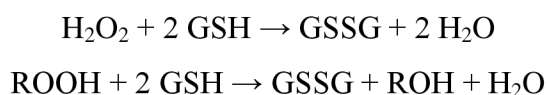
La inducción de las SOD también ocurre cuando hay una sobre producción de  $O_2^{\cdot-}$ . Un exceso de SOD no acompañado por la actividad de la Catalasa puede ser perjudicial para el organismo, puesto que el peróxido de hidrógeno se acumula (Groeger y col., 2009).

- **Catalasa (CAT):** es una enzima peroxidasa que se encuentra en casi todos los organismos vivos que están expuestos al oxígeno, y está principalmente en los peroxisomas. Esta enzima cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno molecular y agua según la siguiente reacción química:



La CAT protege a las células del  $H_2O_2$  generado dentro de ellas, cuando su concentración es alta porque su afinidad es baja y tiene constantes de velocidad relativamente elevadas (Nicholls, 2012).

- **Glutación peroxidasa (GPx):** es una enzima que cataliza la reducción del  $H_2O_2$  y de hidroperóxidos orgánicos empleando el glutatión (GSH) como co-sustrato, el cual se oxida pasando a glutatión oxidado (GSSG).



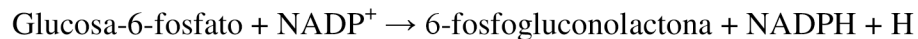
Esta enzima se regula por una variedad de estímulos ambientales, especialmente el suplemento de Se en la dieta (Lubos y col., 2011).

- **Glutación reductasa (GR):** cataliza la conversión del GSSG a su forma reducida (GSH) utilizando un equivalente redox en forma de NADPH y manteniendo así el equilibrio GSH/GSSG.



Tiene elevada afinidad por su sustrato, pero baja actividad catalítica. Esta enzima es esencial para evitar la acumulación de GSSG que es tóxico para la célula (Paskerová y col., 2012).

- **Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD):** La G6PD participa del ciclo de las pentosas, cuyo objetivo es producir NADPH (molécula que almacena poder reductor), para permitir reacciones de óxido-reducción en las diferentes células del organismo.



Las actividades de la GPx y de la GR están acopladas a la producción de NADPH por la G6PD en la vía de las pentosas-fosfato (Yang y col., 2011).

- **Óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2):** Dos enzimas importantes que intervienen en la activación de la respuesta inflamatoria son la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2). iNOS y COX-2 pueden catalizar la síntesis de óxido nítrico (NO) y de prostaglandina E2 (PGE2), que causa sepsis y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Guha y Mackman, 2001). Por lo tanto, la inhibición de la expresión de estas enzimas o de sus productos puede ayudar a reducir la inflamación y condiciones relacionadas. La inflamación crónica juega un papel crucial en el desarrollo de trastornos relacionados con síndrome metabólico, obesidad, resistencia a la insulina, incluyendo la aterosclerosis (Arkan y col., 2005, Van Gaal y col., 2006).

### **I.1.7.3. Sistema antioxidante endógeno no enzimático**

Está integrado por una serie de sustancias de bajo peso molecular que en presencia de compuestos oxidables (como ADN, proteínas o lípidos), se oxidan antes que éstos y

retrasan, inhiben, previenen o amortiguan su oxidación, la producción de radicales libres o sus efectos deletéreos. Constituyen un complemento de la acción de las enzimas antioxidantes, siendo la GSH una de las principales.

- **Glutación reducido (GSH):** es el agente de detoxificación celular más abundante y sus niveles se regulan en respuesta al estado redox. Reacciona con moléculas inestables como las ROS, donando un equivalente de reducción y se convierte en reactivo, pero reacciona rápidamente con otro glutación reactivo para formar GSSG, lo cual es posible debido a la concentración relativamente alta de glutación en las células. El GSH se regenera a partir del GSSG, reacción catalizada por la GR. En células y tejidos sanos, más del 90% de glutación está en la forma reducida y menos del 10% existe como GSSG y la relación GSH/GSSG se considera un indicador del estado oxidativo (Circu y Aw, 2012, Zhang y Forman, 2012).

#### **I.1.7.4. Sistemas antioxidante exógeno**

Existe un consenso científico creciente de que los antioxidantes provenientes de la dieta reducen la incidencia de enfermedades como el cáncer, las neurodegenerativas y cardiovasculares, reducen el daño al ADN y tienen propiedades anti-envejecimiento. Los antioxidantes exógenos interactúan con la red de antioxidantes endógenos, lo cual tiene un efecto sinérgico en la actividad antioxidante total del organismo. Algunos de los antioxidantes derivados de los alimentos más estudiados incluyen a las vitaminas C y E, carotenoides y a los PF dentro del grupo de los flavonoides (Da Costa y col., 2012).

#### **I.1.8. Malondialdehído (MDA) como indicador de peroxidación lipídica**

El estrés oxidativo puede ser cuantificado midiendo el malondialdehído (MDA), que es un marcador bioquímico de la peroxidación lipídica en plasma y tejidos (Rodrigo y col., 2011). Es un producto de descomposición de los lípidos oxidados y su aumento se relaciona con el aumento del estrés oxidativo (Grotto y col., 2009). Reacciona con el ácido



tiobarbitúrico, constituyendo lo que se conoce como sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS).

La mayor parte de los estudios en animales que han medido TBARS plasmático o tisulares han reportado disminuciones significativas con el consumo de té o administración de PF (Frei y Higdon, 2003). Sin embargo, la utilidad del ensayo TBARS como una medida de la peroxidación de lípidos in vivo es cuestionable debido a su falta de especificidad para MDA en muestras biológicas y su susceptibilidad a la oxidación in vivo (Janero, 1990).

### **I.1.9. Inmunoglobulina A secretora (sIgA)**

El intestino tiene como función esencial la absorción de nutrientes y agua para la realización de las funciones corporales, contribuyendo también a la homeostasis iónica. Sumado a lo anterior, debe mantener en el lumen la cantidad adecuada de microorganismos que forman la microbiota, cumpliendo así su función de barrera intestinal. Los componentes de esa barrera son la capa de moco, la inmunoglobulina A secretora (sIgA), los péptidos antimicrobianos, y el sistema inmune de la mucosa. Incluso la microbiota puede ser vista como parte de ella, en cuanto a que es un factor modulador importante implicado en su regulación. Todos estos elementos funcionan de una manera altamente integrada e interdependiente (Martínez-Augustin y col., 2014).

La sIgA luminal es producida mayoritariamente en forma local e inducida por citoquinas. Constituye uno de los principales mecanismos de defensa en la mucosa intestinal y resiste la intensa actividad proteolítica del lumen intestinal. La sIgA es capaz de unirse y bloquear los antígenos microbianos y/o ayudar al sistema inmunológico a luchar contra los microbios invasores una vez que están a su alcance, también induce aglutinación bacteriana (Macpherson y col., 2008, Martínez-Augustin y col., 2014). Su función más importante es evitar la adhesión de antígenos a la superficie del enterocito, mediante la formación de complejos inmunitarios de gran tamaño que son retenidos en la capa de mucus. De esta manera, neutraliza toxinas, virus y microorganismos (Fagarasan y col., 2010). Por lo antes mencionado, la reducción de la producción de sIgA tiene consecuencias importantes para el huésped. Por ejemplo, ratones deficientes en sIgA muestran un aumento en bacterias filamentosas segmentadas (Suzuki y col., 2004) y en los

seres humanos, se ha asociado con el desarrollo de la enfermedad inflamatoria intestinal (Marks y col., 2010). Es por esto que el contenido de sIgA fecal es un indicador de la función inmune de la mucosa (Langkamp-Henken y col., 2012).

Anteriormente se mencionó que los GE al ser fermentados producen butirato y se cree que éste preserva la barrera de la mucosa colónica al mantener uniones estrechas entre las células epiteliales, aumentando el transporte de sIgA secretora en el colon (Masters y col., 2010).

#### **I.1.10. Especies reactivas de oxígeno y señalización celular**

- **Factor de transcripción:** El Nrf2 regula la expresión inducible de numerosos genes de enzimas detoxificantes y antioxidantes, mediante su unión a una secuencia específica del ADN conocida como ARE (de sus siglas en inglés: "Antioxidant Response Element"), que puede ser activada por diversos compuestos oxidantes y/o electrófilos de naturaleza química muy diversa (Zhang, 2006).

- **Factor nuclear:** El factor nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) es una proteína que se une al potenciador de la cadena ligera  $\kappa$  de inmunoglobulinas en las células B. Pertenece a la familia de los factores de transcripción NF- $\kappa$ B que es ubicua y participa en la respuesta inmune e inflamatoria, en el desarrollo, formación, progresión y apoptosis de tumores (Hayden y Ghosh, 2008). El NF- $\kappa$ B desencadena procesos de supervivencia, incluyendo el aumento de la transcripción de enzimas antioxidantes como la Superóxido Dismutasa, Catalasa y Glutatión. La sobreactivación del NF- $\kappa$ B se relaciona con inflamación y cáncer (Echeverri y col., 2008).

#### **I.1.11. Fibra y Metabolismo del Calcio (Ca)**

El Calcio (Ca) tiene como función principal la construcción y el mantenimiento de huesos y dientes, y además otras funciones metabólicas de vital importancia. Actúa como mediador intracelular cumpliendo una función de segundo mensajero, interviene en las funciones de las membranas celulares, es esencial para la transmisión del impulso nervioso y la formación de neurotransmisores, participa en el funcionamiento del músculo

esquelético y la contracción del músculo liso y es necesario en los procesos de coagulación sanguínea (Campbell, 2014).

La mayor parte de la absorción del Ca se produce en el intestino delgado, siendo en promedio 30% en los adultos. Sin embargo, si el mineral continúa ionizado y en solución, alrededor de un 5% se absorbe en el colon (Sánchez y col., 2002). La regulación del Ca es compleja, se realiza en forma precisa y es llevada a cabo por el sistema endocrino que permite un equilibrio dinámico del catión entre los distintos compartimentos corporales, de forma que el Ca disuelto del medio extracelular y parte del que se encuentra en el hueso son intercambiables (Pérez-Llamas y col., 2010). El Ca y el P forman parte de la hidroxiapatita, un componente importante de los huesos y los dientes.

Los GE de cereales podrían contribuir a la buena salud de los huesos, cartílagos, dientes, colágeno, articulaciones y tendones, por la acción combinada del ácido linolénico, Fe, Zn, Mg, Mn, Cu, P, Ca, K, ácido nicotínico, tocotrienoles, filoquinona (vitamina K) y b-criptoxantina. La relación Ca:P en los principales cereales, y la observada en sorgo es de aproximadamente 0,08 a 0,41 (Ojeda y col., 2010), la cual se halla por debajo de la proporción de 1:1 a 2:1 que se recomienda para un uso satisfactorio del Ca en el cuerpo (Velasco y col., 2009). Es poco probable que el Ca de los cereales de GE contribuya significativamente a la salud de los huesos y los dientes (Fardet, 2010). Sin embargo, el GE de trigo contiene también potenciadores de la absorción de Ca, como ser fructanos y almidón resistente, que aumentan la absorción aparente de Ca de 20 a 50% en ratas. De manera similar, la inulina aumenta la absorción de Ca en alrededor de un 12% en humanos (Coudray y col., 1997, López y col., 2000, López y col., 2001).

El efecto de los oligosacáridos indigeribles, tales como los fructanos, en la absorción y el metabolismo de Ca, y la salud de los huesos (medido por índices tales como el contenido mineral óseo y la densidad, y/o tasa de resorción ósea/osteopenia) está cada vez más reconocida hoy en día, tanto en ratas como en humanos (Scholz-Ahrens y col., 2007a, Scholz-Ahrens y Schrezenmeir, 2007b). La absorción de Ca se ve reforzada con la ingesta de alimentos no digeribles y altamente fermentables, principalmente fructanos (Van den Heuvel y col., 2000, Tahiri y col., 2003). Estos efectos pueden deberse a que luego de la fermentación en colon, el pH luminal disminuye favoreciendo la solubilidad del Ca y aumentando su absorción paracelular y transcelular (Cummings y Macfarlane, 2002, Tahiri y col., 2003).

Otra consideración a contemplar cuando se trabaja con GE, es la presencia de ácido fítico que inhibe la absorción de Ca y otros minerales. Sin embargo, los procesos tecnológicos antes mencionados como la extrusión pueden reducir el contenido de ácido fítico (Llopart y col., 2013) y mejorar la bio-accesibilidad del Ca.

## **I.2. EL GRANO DE SORGO**

### **I.2.1. Generalidades, composición y características**

El sorgo es un cultivo herbáceo de la familia Poaceae o Graminae, subfamilia Panicoideae, tribu Andropogoneae, especie *Sorghum bicolor* (L.) Moench (Collar, 2007). Este cereal responde muy bien a una diversidad de suelos, con características adversas de fertilidad, textura, pendiente, pedregosidad y pH. En algunas regiones del mundo, este cultivo está sustituyendo al maíz por su resistencia a enfermedades virales y fúngicas, y poca demanda de agua, lo que lo convierte en un cereal de menor costo (Zeledón y col., 2007, INTA, 2013). Su importancia ha aumentado considerablemente en los últimos años debido a su utilización en la alimentación humana (Zeledón y col., 2007). Por su buena adaptabilidad y rendimiento se lo ha denominado “el cereal del siglo XXI” (Pérez y col., 2010).

Los granos de sorgo generalmente son de forma esférica, con peso aproximado de 20 a 30 mg, y pueden ser blancos, rojos, amarillos, pardos o marrones. En los granos disecados se encontró un 7,9% de pericarpio (presumiblemente pericarpio más testa y aleurona), 9,8% de germen y 82,3% de endospermo (Gil, 2010).

Los granos de sorgo son de tipo cariopsis, en el que el pericarpio está totalmente unido al endospermo (Collar, 2007). Posee un pericarpio grueso compuesto por tres capas: el epicarpio, el mesocarpio y el endocarpio. A diferencia de otros cereales, el sorgo contiene gránulos de almidón en su pericarpio, que se localizan en el mesocarpio (Hoseney, 1991).

Respecto a la composición del sorgo, en la Tabla I.2.1 se presentan los contenidos en 100 g de porción comestible.

**Tabla I.2.1:** Composición química del sorgo (g/ 100g de porción comestible) (Gil, 2010).

| Humedad | Carbohidratos digeribles | Proteínas | Lípidos | Minerales | Fibra dietaria |
|---------|--------------------------|-----------|---------|-----------|----------------|
| 14,0    | 59,3                     | 8,3       | 3,1     | 1,5       | 13,8           |

Aproximadamente el 80%, 16% y el 3% de las **proteínas** se encuentran en el endospermo, en el germen y en el pericarpio, respectivamente (Taylor y Schüssler, 1986). En la Tabla I.2.2 se pueden observar algunos de los aminoácidos y la calidad proteica del grano de sorgo.

Por no tener prolaminas tóxicas, este cereal es un ingrediente apto para ser consumido por toda la población, incluida la celíaca. El sorgo puede usarse como sustituto del trigo en productos cocidos libres de gluten, generalmente sin levadura (Collar, 2007).

**Tabla I.2.2:** Aminoácidos y calidad proteica del grano de sorgo (Gil, 2010)..

| Aminoácidos (g/ 100g de proteína) |      |
|-----------------------------------|------|
| Lisina                            | 2,7  |
| Treonina                          | 3,3  |
| Metionina + Cistina               | 2,8  |
| Triptofano                        | 1,0  |
| Calidad proteica (%)              |      |
| Digestibilidad                    | 84,8 |
| Valor biológico                   | 59,2 |
| Utilización proteica neta         | 50,0 |

El **almidón**, principal componente de los granos, comprende el 80-82% del endospermo, y tiene una composición similar a la de los gránulos de almidón de maíz. El almidón del sorgo contiene 70-80% de amilopectina y 20-30% de amilosa. En el sorgo ceroso o waxy, el almidón está compuesto por amilopectina (más de 97%) con propiedades similares a las del maíz waxy (Serna-Saldívar y Rooney, 1995).

La dureza del endospermo en granos de sorgo es determinada por la genética y el medio ambiente. El endospermo se compone de dos partes: una córnea, que contiene gránulos de almidón estrechamente vinculados en una matriz de proteína rígida y se caracteriza por ser traslúcida y más resistente a la molienda, y la otra harinosa opaca, blanda, con menor contenido de proteínas y más fácil de romper durante el procesamiento (Rooney, 2004).

En cualquier material de semilla hay dos fuentes de **fibra alimentaria**: la cáscara o el pericarpio y los componentes estructurales de la pared celular. El principal componente de FI del sorgo es la celulosa y varía del 1,19 al 5,23 % (FAO, 1995).

El sorgo contiene entre 2,1 y 5% de **lípidos**. El 75% de los lípidos está en el germen y el resto queda repartido más o menos por igual, entre el salvado y el endospermo (Hoseney, 1991). La composición de ácidos grasos del sorgo se presenta en la Tabla I.2.3.

**Tabla I.2.3:** Ácidos grasos de sorgo (Hoseney, 1991)..

| Ácidos grasos     | %  |
|-------------------|----|
| 16:0 (palmítico)  | 12 |
| 18:0 (esteárico)  | 1  |
| 18:1 (oleico)     | 35 |
| 18:2 (linoleico)  | 49 |
| 18:3 (linolénico) | 3  |

El **germen** representa un 9,8% del peso del grano. En él se concentran vitaminas, minerales, proteínas, azúcares y aceite y resulta la parte con mayor valor nutricional (FAO, 1995).

Respecto a los **micronutrientes**, el sorgo contiene vitaminas del complejo B y algunas variedades de endospermo amarillo contienen beta-caroteno, que podría ser convertido en vitamina A por el cuerpo humano. Entre las vitaminas B, las concentraciones de tiamina, riboflavina y niacina son semejantes a las del maíz. Sin embargo, diferentes investigadores han observado amplias variaciones en las concentraciones, especialmente para la niacina (Hulse y col., 1980). En el grano de sorgo también se han encontrado cantidades detectables de otras vitaminas liposolubles, como ser, D, E y K. En el grano del sorgo, la materia mineral está distribuida desigualmente y se halla más concentrada en el germen y en el revestimiento de la semilla (FAO, 1995).

Todos los sorgos contienen ácidos fenólicos, la mayoría contienen flavonoides y sólo algunas variedades con testa pigmentada presentan taninos condensado (Dykes y Rooney, 2006). Los ácidos fenólicos se encuentran en el pericarpio, la testa, la capa aleurona y el endospermo (Hahn y col., 1984). Hahn y col. (1983) identificaron ácidos fenólicos libres y ligados en el sorgo. Los libres se encuentran en las capas externas (testa, pericarpio, y aleurona), mientras que los ácidos ligados están asociados con las paredes celulares (Hahn y col., 1984, Yu y Tuinstra, 2001). Según Hahn y col. (1983), los ácidos

fenólicos en sorgo están presentes principalmente en forma ligada y entre ellos predomina el ácido ferúlico. Los fitoquímicos presentes en sorgo, como los compuestos fenólicos, son importantes para la nutrición humana (Awika y Rooney, 2004). Entre los cereales, el sorgo posee uno de los contenidos más alto de compuestos fenólicos, alcanzando hasta 6 g/100 g en algunas variedades (Dicko y col., 2005), además de tener casi todos los tipos de compuestos fenólicos (Awika y Rooney, 2004). Los fenoles más abundantes en sorgo son el ácido cafeico, cumárico, ferúlico y sinápico (Hahn y col., 1983, Verbruggen y col., 1993).

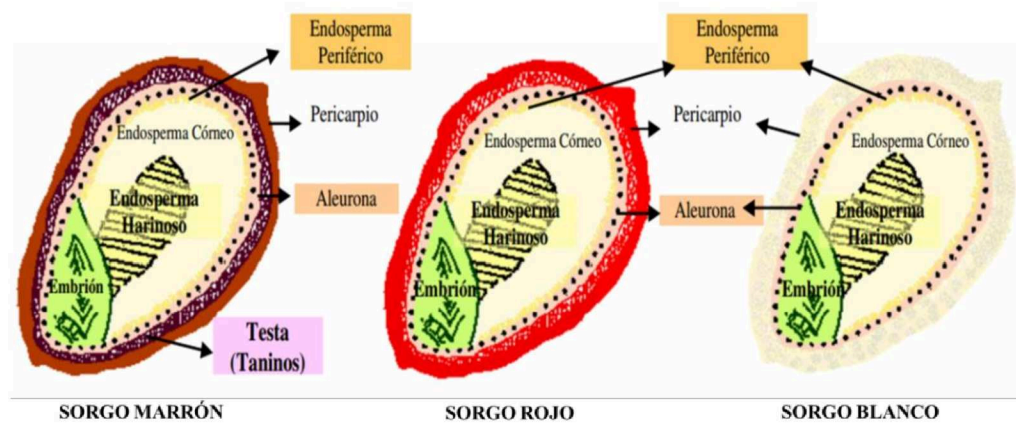
Los granos de sorgo, en mayor o menor medida, tienen sustancias tánicas. Algunos sólo tienen PF solubles o hidrolizables (ácidos gálico y elágico) y otros, además poseen taninos condensados (catequinas, flavonoides, etc.). Estos últimos están ubicados en la testa o cubierta seminal y de acuerdo al grosor de ésta, varía su contenido (Castro, 2002). Los taninos son señalados como los responsables de la mayor o menor preferencia de los pájaros a los granos de sorgo (porque generan astringencia). Esta ventaja agronómica se acompaña con desventajas nutricionales (Serna-Saldívar y Rooney, 1995), ya que bajo condiciones óptimas, los taninos del sorgo son capaces de unirse y precipitar proteínas (Butler y col., 1984), además de reducir la biodisponibilidad de micronutrientes (Walter y col., 2004). Opuestamente se plantea que las proantocianidinas (taninos condensados), originalmente clasificadas como factores antinutricionales, pueden tener beneficios para la salud de los seres humanos al actuar como antioxidantes (Clifford, 2000, Awika, 2003a).

El color del pericarpio no es un indicador fiable de los taninos en sorgos. Boren y Waniska (1992) investigaron el contenido de taninos en una amplia variedad de sorgos que diferían en el color del pericarpio. Sorgos blancos, amarillos, rojos, o marrones pueden o no tener taninos dependiendo de la presencia de una testa pigmentada. Esto está controlado principalmente por los genes y las variedades de sorgo se dividen en tres grupos basados en su genética y los análisis químicos (Dykes y Rooney, 2006):

- Tipo I: no poseen testa pigmentada, no contienen taninos y tienen bajos niveles de fenoles.
- Tipo II: poseen testa pigmentada, contienen taninos condensados en baja o nula cantidad y presentan taninos hidrolizables que se depositan en vesículas dentro de la testa.

- Tipo III: poseen testa pigmentada y contienen taninos condensados que se depositan a lo largo de las paredes celulares de la testa y algunos están presentes en el pericarpio (Earp y col., 2004).

En la Figura I.2.1 se puede apreciar la estructura de un grano de sorgo con y sin testa pigmentada.



**Figura I.2.1:** Corte transversal de granos de sorgo con y sin testa pigmentada (Adaptada de Chessa, 2007).

### I.2.2. Utilización y situación actual del Sorgo

El sorgo se cultiva para obtener alimentos, piensos y bebidas alcohólicas y no alcohólicas, alimentos de malta y biocombustibles (CODEX, 2012). El mercado derivado del sorgo es muy amplio, dado que este cereal puede ser molido (por molienda seca o húmeda), extrudido, popeado, panificado, pastificado, fermentado, es decir, se le pueden aplicar todos los procesos que se utilizan actualmente en la tecnología de cereales. Se comercializan alimentos a base de GE o harina de sorgo, tales como: alimentos libres de gluten, galletas, cereales, barras, panes, pastas, bizcochos, cerveza libre de gluten, aperitivos, embutidos, entre otros (Collar, 2007, Barberis y Sánchez, 2013).

El sorgo es muy versátil, y además de utilizarse como alimento para animales y humanos, es una fuente potencialmente importante de nutraceuticos tales como los compuestos fenólicos y antioxidantes. Sumado a lo anterior, puede ser importante como fuente de bioetanol y otros productos bioindustriales (Taylor y col., 2006, Collar, 2007).



Entre los años 2006 y 2010, en Argentina se duplicó el área de siembra de este cultivo, pasando de 0,5 a 1 M/ha. Una parte del área de sorgo (el 20% aproximadamente entre sorgos graníferos, sileros y azucarados) es destinada a la elaboración de silos, y el resto es destinado a la producción de granos de diferentes calidades y objetivos (consumo animal, uso industrial, bioenergía (etanol), molienda seca, molienda húmeda, etc.). En la Figura I.2.2 se presenta la “Cadena de valor del Sorgo” (Bragachini y col., 2012).

El sorgo es un cereal que ha sido alimento básico importante en otros lugares del mundo como Asia y África a lo largo de muchos siglos. Este cultivo sigue siendo la fuente principal de energía, proteínas, vitaminas y minerales para millones de habitantes de las regiones más pobres del mundo (FAO, 1995). El cultivo del sorgo es frecuentemente establecido en suelos pobres por pequeños agricultores que tienen pocos recursos para controlar la humedad, disponer de fertilizantes, insecticidas y otros insumos que incrementan el rendimiento. Este cultivo presenta una comprobada versatilidad en resistencia, contabilidad y estabilidad de rendimiento bajo condiciones muy adversas, debido a que ha demostrado su adaptabilidad a un rango variado de métodos de cultivo y clima (Alcolea y col., 2005).

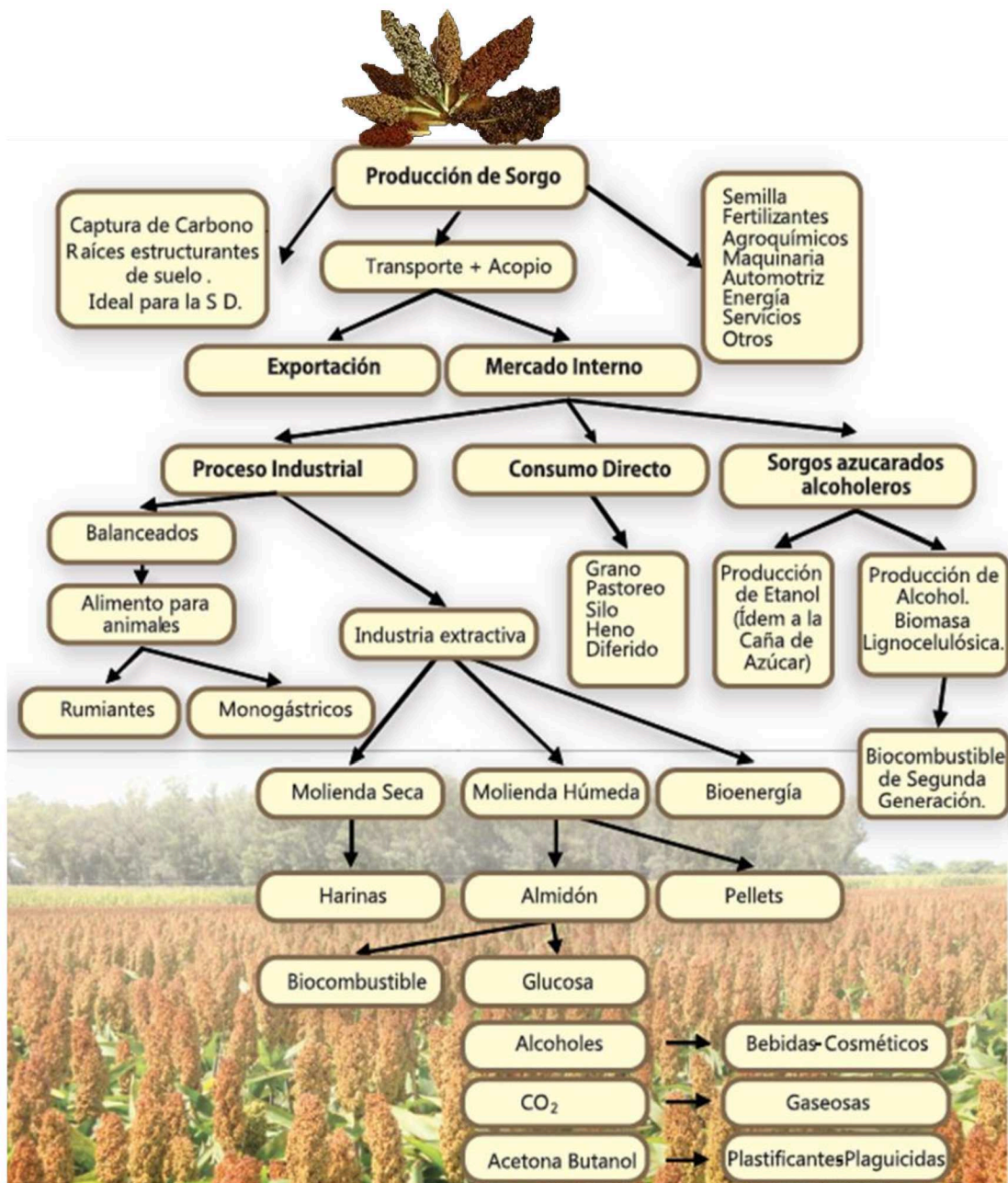
Este cultivo tiene gran importancia a escala mundial, pues está comprobado que puede sustituir a cereales como el trigo y el maíz en la mayoría de sus usos, tanto en la alimentación humana como en la producción de forraje o grano para la cebsa de animales, como así también en la industria (Pérez y col., 2010).

En Argentina, el sorgo no forma parte de los principales cultivos, pero sí le permite tener cierto protagonismo mundial, ya que Argentina está ubicada en el 5° puesto a nivel de producción y el 2° en exportación, después de Estados Unidos. Los principales destinos de las exportaciones son Japón (35%), Chile (21%), Brasil (8%) y Colombia (7%). El consumo interno se mantiene estático y se trabaja arduamente para satisfacer los requisitos del mercado externo (Batista, 2010) especialmente los de Japón, cuya limitante es el porcentaje de taninos presentes. La exigencia es que sea menor a un 0,2% y si no se logra satisfacer esto, las sanciones implican descuentos en el precio.

El sorgo que se considera apto para consumo humano es el que no posee taninos condensados, ya que éstos son compuestos que afectan negativamente el valor nutritivo del sorgo. Como ya se ha mencionado, la ventaja agronómica de la presencia de taninos (al disminuir la preferencia de los pájaros por los granos de sorgo), va acompañada de

desventajas nutricionales, principalmente su capacidad de formar complejos menos digeribles con proteínas, en menor medida a la inhibición de las enzimas digestivas (Butler y col., 1984, Serna-Saldívar y Rooney, 1995, Taylor y col., 2007), y a la reducción de la biodisponibilidad de micronutrientes (Walter, 2004). En las normas del CODEX que rigen para la harina de sorgo, se establece que el contenido de taninos no deberá exceder el 0,3% respecto a la materia seca. En el nuevo estándar de comercialización de sorgo Resolución 554/2011 Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA, 2011), Norma XVIII. Sorgo Granífero 2.2.1: se clasifica al sorgo como bajo tanino o sin taninos condensados, cuando el lote o partida contenga no más de cinco por ciento (5%) de granos con taninos condensados. Entiéndase por granos con taninos condensados, aquellos que son identificados como tales en la “prueba de blanqueo con hipoclorito de sodio (lavandina) con base hidróxido de sodio”.

En la actualidad, el concepto de nutrición ha evolucionado notablemente gracias a la investigación constante en ciertas áreas de interés. Las prioridades ya no se encuentran sólo centradas en las carencias nutricionales sino en la relación entre alimentación y enfermedades crónicas no transmisibles. Los consumidores, conscientes de sus necesidades, buscan en el mercado aquellos productos que contribuyan a su salud y bienestar (Olagnero y col., 2007). Siguiendo esta tendencia, reciben abundante información sobre las propiedades saludables de los alimentos, en especial de aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad. Estos alimentos que promueven la salud han sido denominados Alimentos Funcionales, y son aquellos capaces de aportar sustancias con funciones fisiológicas definidas, brindando beneficios adicionales para la salud de quien los consume. Para que un alimento pueda ser considerado funcional, debe demostrar que posee un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, que mejora el estado de salud y de bienestar, o bien que reduce el riesgo de una enfermedad. Esto significa que estos alimentos deben contener, necesariamente, alguno de los llamados componentes o ingredientes funcionales, entre los cuales pueden mencionarse las vitaminas y la fibra (ANMAT, 2002).



**Figura I.2.2:** Cadena de valor del sorgo (Adaptado de Bragachini y col., 2012).

### I.3. Alimento funcional

Teniendo en cuenta estos lineamientos, la mayoría de los cereales y/o sus constituyentes son utilizados usualmente para formular alimentos funcionales, debido a que promueven varios efectos benéficos, tales como: reducción de los niveles de colesterol en sangre, prevención de algunos tipos de cáncer, acción laxante, disminución de enfermedades coronarias, diabetes y obesidad. Se los utiliza principalmente como sustratos

fermentables (prebióticos) que permiten el desarrollo de microorganismos probióticos (Vitali y col., 2008).

Los cereales y sus derivados constituyen la base de la alimentación humana (Slavin, 2005) y si durante la molienda sus componentes se mantienen en las mismas proporciones que en las que existen en el grano intacto, el producto obtenido se clasifica como “harina de grano entero” (Richardson, 2003). De este modo, cuando estas harinas son utilizadas en la elaboración de alimentos, éstos podrían reconocerse como funcionales, debido a que contienen componentes bioactivos en concentraciones cuantificables, capaces de ejercer un efecto positivo sobre la salud, más allá de su capacidad de nutrir, al ser consumidos como parte de la dieta habitual (Roberfroid, 2000, Roberfroid, 2002).

En este sentido, los granos enteros de sorgo pueden ser utilizados como componentes de alimentos funcionales, debido a su contenido de fibra y compuestos polifenólicos antioxidantes (Awika y col., 2003b). En un estudio donde se evaluaron las características nutricionales de cuatro cereales (cebada, mijo, centeno y sorgo), entre ellas la fibra, el almidón resistente, minerales, fenoles totales y las propiedades antioxidantes, se concluyó que el sorgo y la cebada son una promesa como ingredientes de alimentos saludables (Ragaee y col., 2006). Además, otra valiosa ventaja nutricional de este cereal, es que se puede utilizar como materia prima para el desarrollo de un alimento libre de trigo, avena, cebada o centeno, lo que permitirá integrar a la creciente población celíaca.

#### **I.4. Enfermedad celíaca**

La enfermedad celíaca es una enteropatía autoinmune producida por la intolerancia permanente al gluten de ciertos cereales, mediada por células en individuos genéticamente predispuestos (Catassi y col., 2007, Torresani y Somoza, 2009). El término gluten se utiliza para denominar a proteínas contenidas en el trigo, avena, cebada y centeno (TACC). Específicamente, éstas corresponden a las prolaminas, llamadas gliadinas en el trigo, hordeínas en la cebada, secalinas en el centeno y aveninas en la avena (Shewry y Halford, 2002).

La celiaquía es considerada la enfermedad intestinal crónica más frecuente. A pesar de que aún no hay registro de casos en nuestro país, estudios preliminares indicaron una

prevalencia de aproximadamente 1: 200. Sin embargo, actualmente se calcula que 1 de cada 100 personas es celíaca (Ministerio de Salud, 2015).

La mayoría de las manifestaciones de esta enfermedad son gastrointestinales, e incluyen dolor y distensión abdominal, digestión prolongada y alteración intestinal (diarrea y/o estreñimiento) en asociación con deficiencias de oligoelementos, vitaminas y minerales, siendo esta la razón por la que a menudo se acompaña de anemia, osteoporosis y otras manifestaciones extra-intestinales. Mientras que la diarrea se consideraba un síntoma habitual, éste no es el caso en el adulto, donde hasta el 50% de los pacientes tienen estreñimiento predominante. También es conveniente considerar que hasta el 30% de los pacientes celíacos tienen sobrepeso (Rodrigo Sáez, 2006).

Clínicamente se caracteriza por una lesión variable de la mucosa intestinal, que en muchos casos muestra síndrome de mala absorción, especialmente de triglicéridos de cadena larga, disacáridos, proteínas, hierro, ácido fólico y vitaminas liposolubles (Catassi y col., 2007, Torresani y Somoza, 2009). Algunos estudios han demostrado que la mayoría de estas deficiencias nutricionales desaparecen después de seguir estrictamente una dieta libre de gluten (Bardella y col., 2000, Hallert y col., 2002), pero otros muestran que esta dieta no garantiza una ingesta adecuada nutricional, manifestándose deficiencias principalmente en ácido fólico, niacina vitamina B12 y fibra (Thompson y col., 2005, Saturni y col., 2010). La inadecuada ingesta de fibra probablemente está relacionada con la composición de muchos alimentos libres de gluten, hechos con almidones y/o harinas refinadas (Thompson y col., 2005). Se ha observado que los alimentos sin TACC presentan altos niveles de lípidos, azúcares y sal. Sumando a lo anterior, los sujetos con enfermedad celíaca tienden a compensar las restricciones de una dieta libre de gluten con el consumo de alimentos que contienen altos niveles de grasa, azúcar y calorías (Mariani y col., 1998, Bardella y col., 2000, Hopman y col., 2000). Todos estos componentes tienen un efecto negativo sobre la salud y esto debe ser seriamente considerado debido a la limitada oferta de productos alimenticios destinados a esta población, que induce un alto consumo de productos sin gluten envasados, tales como aperitivos y galletas (Caponio y col., 2008). Por lo tanto, se ha sugerido que, paradójicamente, una dieta estricta libre de gluten puede ser un factor de riesgo nutricional por generar opciones alimentarias incorrectas (Mariani y col., 1998, Hopman y col., 2000). La dieta exenta de gluten no constituye ningún problema desde el punto de vista nutricional, ya que la exclusión del mismo no genera déficit

nutricional alguno, pero supone una complicación en el desarrollo de la vida social y una reducción en la variedad de alimentos que se consumen (Vitoria y Bilbao, 2013).

En cuanto al precio de los alimentos sin TACC, los productos disponibles en el mercado etiquetados sin gluten son significativamente más caros que sus productos análogos con gluten (Lee y col., 2007, Stevens y Rashid, 2008, Singh y Whelan, 2011). Lee y col. (2007) han sugerido que granos alternativos como la quinua podrían representar una alternativa menos costosa con respecto a las opciones sin gluten, y de esta forma también se podría aumentar el cumplimiento de la dieta por reducción de la carga económica. La principal dificultad que encuentran las personas celíacas para adherirse estrictamente al tratamiento es que las harinas de cereales son ampliamente utilizadas en la industria alimentaria y están presentes en numerosos productos alimenticios, limitando sus opciones (Vitoria y Bilbao, 2013).

El sorgo podría utilizarse como materia prima para la elaboración de alimentos sin TACC, por ser un cereal de bajo costo (Zeledón y col., 2007, INTA, 2013), otorgando variedad a la alimentación y además, si se lo utiliza como GE se incorporarían vitaminas, minerales y fibra, necesarios en estos pacientes.

## **I.5. EL PROCESO DE POPEADO**

### **I.5.1. Generalidades**

Los granos de cereales se han utilizado durante siglos para la elaboración de alimentos, tratando de disminuir microorganismos indeseables y mejorar su perfil nutricional a través de la inactivación de algunos antinutrientes. El popeado es una técnica de transformación que no sólo mejora la vida útil, sino que también cocina los granos, les añade sabor y, por tanto, aumenta su aceptabilidad. El popeado implica la explosión del grano, con la consiguiente transformación del cereal, que permite obtener otra variedad de productos, o harinas precocidas para elaborar alimentos (Mishra y col., 2014).

El popeado es un método tradicional muy sencillo, económico y rápido, donde los granos se exponen a altas temperaturas por corto tiempo (HTST), produciendo un

sobrecalentamiento instantáneo dentro de los granos, que cocina al mismo y amplía el endospermo al escapar el vapor de agua con gran fuerza a través de los microporos de su estructura (Nath y col., 2007, Sharma y col., 2014).

El producto popeado más estudiado y tradicional del mercado son las “palomitas de maíz”, las cuales se venden en lugares como cines y estadios deportivos, y se han transformado en una merienda versátil y nutritiva, cada vez más popular (Shimoni y col., 2002, Gökmen, 2004). El aumento del consumo cotidiano se debe a la conveniente utilización del microondas para elaborarlas, como así también a las distintas formas de preparación que ofrecen más sabores, con sal, mantequilla y recubiertas de caramelo. Además, con los cereales popeados se pueden elaborar bocadillos, alimentos especiales y desarrollar alimentos complementarios (Mishra y col., 2014).

El grano de sorgo presenta una composición química similar a la del maíz, por lo que la tecnología de procesamiento para la obtención de productos alimentarios e industriales a base de maíz, como lo es el popeado, es aplicable al sorgo con la finalidad de utilizar eficientemente su potencial como materia prima en la elaboración de diversos productos (FAO, 1995).

### **1.5.2. Factores que afectan el proceso de popeado**

Existen diferentes métodos para hacer estallar los granos. Para producir el popeado, el método convencional es el de calor seco con aire, como ser el lecho fluidizado, pero también es posible obtenerlo en aceite caliente y microondas. Cada uno de estos métodos tiene sus condiciones óptimas y rendimientos (Yenagi y col., 2005).

Aunque una amplia variedad de cereales se utilizan para estallar, sólo unos pocos de ellos popean bien. Esto se debe a que son múltiples los factores que influyen en la capacidad de estallar de los cereales, tales como la variedad, la composición, el contenido de salvado, el grosor del salvado, el contenido de humedad, el tipo y proporción de endospermo córneo, la resistencia del pericarpio, las características físicas de los granos y el método de estallar. Sumado a lo anterior, también influyen las prácticas a las que se han sometido los granos previo a la explosión, ya que los daños en la superficie del mismo afectan al volumen y rendimiento de expansión que puedan alcanzar (Lin y

Anantheswaran, 1988, Ziegler, 2001, Hoke y col., 2005, Joshi y col., 2014, Pawar y col., 2014).

Existen parámetros físicos que permiten estudiar los granos. Los principales son el peso hectolítrico, peso de mil granos, tamaño, forma, dureza y densidad del grano, flotación y relación de molienda (De Dios y col., 1992, Salazar, 2000). Se ha documentado que los granos que contienen una alta proporción de endospermo harinoso presentan una menor densidad aparente (Pedersen y col., 2000). Un mayor peso hectolitro y densidad aparente de los granos de sorgo están relacionados con una mayor dureza (Montiel y col., 2011). A la vez, los granos con una mayor relación de molienda son más duros (ricos en endospermo vítreo) y producen un mayor tamaño de partícula respecto a los granos blandos (Chandrashekar y Kirleis, 1988). Además, el porcentaje de granos que flotan en una solución de densidad conocida es menor cuando poseen altas proporciones de endospermo vítreo (Jambunathan y col., 1992). Con lo cual se espera que mientras más duro es el grano, es decir mayor relación molienda, peso hectolítrico y densidad aparente y menor flotabilidad, mayor será el volumen adquirido del producto popeado (Thorat y col., 1988, Gupta y col., 1995, Gökmen, 2004).

De acuerdo con Murty y col. (1982) la buena expansión de los granos de sorgo se relaciona con granos de tamaño pequeño, espesor de pericarpio medio y endospermo duro. Thorat y col. (1988) reportaron una relación positiva entre la tasa de expansión de los popeados, la dureza y la densidad aparente de las semillas de sorgo. El rendimiento del popeado también tuvo una fuerte correlación positiva con la dureza del grano.

La disminución en el volumen y el tamaño de los granos explotados va más allá del contenido de humedad (H) crítico y se puede explicar por la ruptura del pericarpio a cierta T, cuando la presión dentro del núcleo es baja. Con un aumento en el contenido de H del núcleo, la T de fusión del pericarpio disminuye, por lo tanto, cuando el contenido de agua es alto, la presión en el núcleo en el momento de estallar es menor, por lo que se genera menor expansión y menor volumen final (Shimoni y col., 2002). El pericarpio genera una resistencia mecánica que permite mantener la alta presión en las palomitas, favoreciendo el aumento de volumen al estallar (Hoseney y col., 1983). Además, la T de transición vítrea (T<sub>g</sub>) de los polímeros amorfos puede influir en la acumulación de presión dentro de los granos. Se sabe que el aumento del contenido de H de materiales poliméricos, tales como almidón, proteínas, y polisacáridos no amiláceos, reduce la T<sub>g</sub> (Hoseney, 1994). Es posible



que ante un contenido de H elevada, las regiones amorfas de los gránulos de almidón en el endospermo se transformen del estado vítreo al estado gomoso. Del mismo modo, los polisacáridos no amiláceos en el pericarpio pueden sufrir tal transición y reducir la acumulación de H en el grano. Por otro lado, a menor contenido de H la caída del volumen y el tamaño del popeado pueden ser debido a la falta de presión suficiente para reventar el pericarpio (Gökmen, 2004).

### **I.5.3. Transformaciones del material durante el popeado**

Se sabe que el lecho fluidizado aumenta la transferencia de calor y la superficie de contacto con la masa, permitiendo un calentamiento en forma uniforme. Por ello se lo considera un proceso HTST (Mishra y col., 2014).

El popeado es un proceso en el que se calientan los granos hasta que la H interna se expande y sale a través de la capa exterior (Arkhipov y col., 2005). El pericarpio actúa como un recipiente a presión, manteniendo al vapor de agua sobrecalentado. Cuando éste se rompe, se libera la presión. El vapor sobrecalentado se produce dentro de los granos por calentamiento instantáneo. Esto cocina a los gránulos de almidón y amplía el endospermo mientras escapa con gran fuerza a través de los microporos de la estructura de grano (Hoseney y col., 1983).

Luego de la expansión por el proceso de popeado, a través de microscopía electrónica, se observaron burbujas de aire en el endospermo, con una película de almidón gelatinizado. También se notó que las paredes celulares de las palomitas de maíz fueron completamente destrozadas en fragmentos, algunos de los cuales tenían menos de 1µm de diámetro. El endospermo harinoso fue ligeramente expandido. Esto verifica que la expansión y la gelatinización de gránulos de almidón desempeñan un papel importante en la formación de la espuma del grano reventado (Parker y col., 1999).

### **I.5.4. Métodos de evaluación del material popeado**

El volumen que adquieren los cereales luego del popeado se define por unidad de peso de muestra. Es la característica principal de las palomitas de maíz y el atributo más

importante para el consumidor (Dofing y col., 1990, Ziegler, 2001, Ceylan y Karababa, 2002, Shimoni y col., 2002). Por otra parte, la textura de las palomitas de maíz se correlaciona positivamente con el volumen de expansión (Shimoni y col., 2002).

En el proceso de explosión (“popping”), el volumen es afectado principalmente por el agua contenida en el grano y cuando el contenido de agua es óptimo el volumen es máximo (Shimoni y col., 2002). Este factor es el más crítico, ya que afecta la velocidad de transferencia de calor y la presión que se acumula en los gránulos de almidón (Hoseney y col., 1983). Se ha demostrado que el máximo volumen de expansión se produce con humedades que van de 11,0 a 15,5% (Metzger y col., 1989, Song y col., 1991, Allred-Coyle y col., 2000, Shimoni y col., 2002). Pero es necesario considerar que la H óptima para alcanzar el mayor volumen de expansión depende de la variedad del grano (Haught y col., 1976, Lin y Anantheswaran, 1988). Si el contenido de H está por debajo o por encima del valor óptimo, la expansión será insatisfactoria (Gökmen, 2004). Metzger y col. (1989) reportaron que al contenido óptimo de H, el aire caliente produce un mayor volumen de popeado de palomitas de maíz que el aceite.

El rendimiento del popeado es una característica imprescindible a considerar, que relaciona los granos que explotaron con los que no lo hicieron (Sreerama y col., 2008). La correlación de las características intrínsecas con el rendimiento final como medida de calidad puede proporcionar una predicción simple y fiable (Ohnson y Fox, 1991). La evaluación de los mecanismos genéticos y ambientales que influyen en las características fenotípicas y ayudan a predecir el rendimiento, es una parte esencial del fitomejoramiento (Stuber y col., 1992). Las características físicas y químicas de las palomitas de maíz que influyen en el rendimiento, también son consecuencia de las prácticas previas utilizadas (Ziegler, 2001). El rendimiento de los expandidos es una característica de calidad final y se ha transformado en el foco principal de los productores y los programas de mejoramiento de palomitas de maíz (Dofing y col., 1991). El acondicionamiento a 14% de H en comparación con bajas H (8%), permitió obtener los mayores rendimientos, considerándose la H óptima (Sweley y col., 2012). En un trabajo realizado en sorgo, no se encontró correlación entre el volumen específico y rendimiento (Viraktamath y col., 1972).

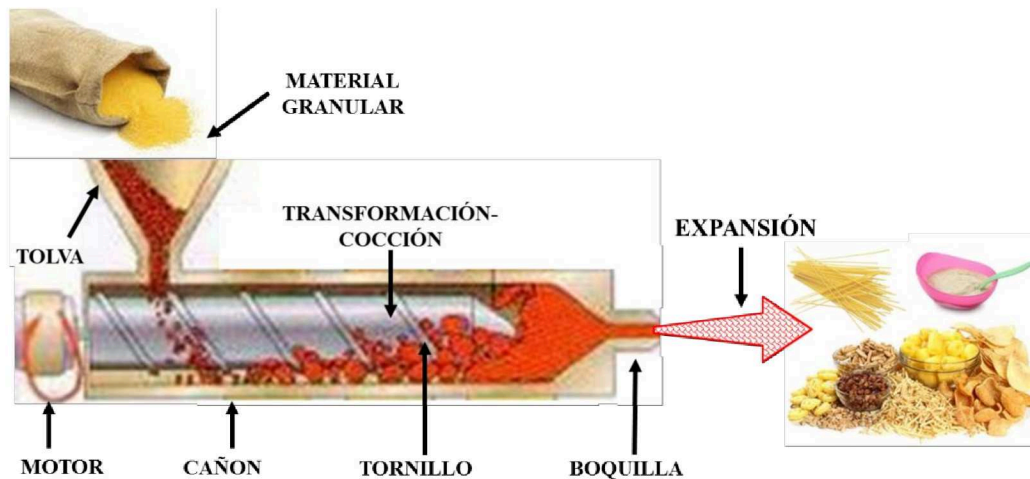
## **I.6. EL PROCESO DE EXTRUSIÓN**

### **I.6.1. Generalidades**

La palabra extrusión proviene del latín "extrudere" que significa forzar un material a través de un orificio. La tecnología de extrusión tuvo su origen en la industria de los plásticos, pero ha ganado popularidad en la industria de alimentos debido a las ventajas que ofrece, tales como su mayor versatilidad y flexibilidad de operación, permitiendo obtener una gran diversidad de productos en forma continua. Posibilita el procesamiento de diversas formulaciones, bajo costo de procesamiento, mínimo deterioro de nutrientes en el proceso, eficiente utilización de la energía, ausencia de efluentes, inactivación de enzimas y factores antinutricionales (González y col., 2002a).

La extrusión de alimentos es un proceso en el que un material es forzado a fluir, bajo diferentes condiciones de mezclado, calentamiento y cizallamiento, a través de una boquilla de una dada geometría, para dar forma o expandir los ingredientes. Puede ser considerado como un reactor continuo en el que se desarrolla un proceso HTST (alta temperatura-corto tiempo) que transforma una variedad de ingredientes en productos intermedios o terminados como por ejemplo: cereales para desayuno, snacks (aperitivos salados y dulces), alimentos para bebés, sopas instantáneas, rebozadores y coberturas, proteínas vegetales texturizadas, sustitutos de carne, almidones modificados, productos de confitería, pastas (fideos), bebidas en polvo, galletitas, productos dietéticos, granolas, cucuruchos, etc. (González y col., 2002a) (Figura I.4.1).

La extrusión, además se caracteriza por ser una técnica eficiente y con múltiples ventajas en la cocción de cereales, por ejemplo: inactivación térmica de inhibidores y factores que alteran la digestibilidad o el gusto, interacción entre proteínas y demás ingredientes, producción de un alimento sanitariamente adecuado, alta estabilidad del almacenaje, posibilidad de dar formas y textura diferentes, agregar diversos sabores, colores. El objetivo general de la extrusión de alimentos puede ser variado: lograr la cocción, pasteurización, expansión, reducción de humedad, homogeneización y/o reestructuración (González y col., 2002a)



**Figura I.4.1:** Esquema general de una máquina extrusora (Adaptado de Vargas y col., 2008).

Los extrusores pueden clasificarse en tres categorías principales: extrusores de pistón, de rodillos y de tornillo. Los extrusores de pistón, que son los más sencillos en diseño, se emplean principalmente para dar forma, comúnmente en la producción de dulces, por ejemplo para depositar el relleno central de los chocolates. Los extrusores de rodillos que también se emplean para dar forma, consisten en dos rodillos que giran en sentidos opuestos a velocidad similar o diferencial y tienen superficies lisas o perfiladas. Los extrusores de tornillos pertenecen a la tercera categoría y emplean un tornillo sencillo, tornillos gemelos (tween screw o doble tornillo) rotando dentro de un cañón estacionario para empujar el material hacia adelante y a través de un orificio especialmente diseñado llamado boquilla (Harper, 1992).

Hay muchos tipos y variedades de extrusores de alimentos, pero todos tienen en común ciertos elementos, como el/los tornillos que giran dentro de un cilindro, por medio de un motor eléctrico, cuya potencia depende de la capacidad de producción y/o del diámetro del tornillo.

Los ingredientes relativamente secos (con una humedad entre 15 a 25 %) son alimentados al extrusor y la fricción entre el producto y el tornillo transportador incrementa rápidamente la temperatura del producto a 140-170°C durante el veloz tránsito (de 15 a 90 segundos) a través del cilindro. Para la descarga final del extrusor, el cilindro está equipado con una boquilla restrictiva (que causa el aumento de presión) que forma el producto en su interior. La alta presión dentro del extrusor previene la ebullición del agua

durante el proceso y cuando el material cocido es forzado a través de la boquilla, esta presión es liberada y el agua líquida pasa a estado de vapor de manera explosiva, provocando la expansión de la masa extrudida, con su correspondiente pérdida de humedad y el descenso de la temperatura (Harper, 1992).

La extrusión combina varias operaciones unitarias: mezclado, amasado, cocción, formado, enfriado y/o cortado, y la combinación de estas operaciones es posible gracias a la cantidad de variables, tales como velocidad de alimentación, humedad, velocidad del tornillo, temperaturas y la configuración de la boquilla (González y col., 2002a).

### **I.6.2. Factores que afectan el proceso de extrusión**

El grado de cocción (GC) se incrementa al aumentar la temperatura y la relación de compresión del tornillo y al disminuir tanto la humedad como el diámetro de la boquilla. Un aumento de velocidad de rotación (rpm) se traduce en un menor tiempo de residencia (TR) y por lo tanto en un menor GC, pero simultáneamente es mayor el gradiente de velocidad y por lo tanto es mayor la intensidad de los esfuerzos de corte producidos. Si la magnitud del efecto del TR es menor que la del efecto de fricción, el GC aumentará con el aumento de rpm, lo que ocurre en la mayoría de los casos. Sólo para condiciones de bajo GC (alta humedad, diámetros de boquilla altos y baja relación de compresión), el aumento de rpm produce una disminución del GC.

Otro aspecto a destacar es que la temperatura es considerada una variable independiente sólo en el caso de la extrusión con control de temperatura desde el exterior. Para el caso de extrusores autógenos, la misma debe considerarse una respuesta, ya que es la temperatura de equilibrio entre el calor disipado a través de la superficie y el calor generado por fricción (González y col., 2002a).

Las características de la masa que fluye dentro del extrusor y sus propiedades finales dependen de su composición: humedad, materia grasa, fibra, almidón, proteína, sales, emulsionantes y del diseño particular que provoca mayor o menor interacción partícula-partícula.

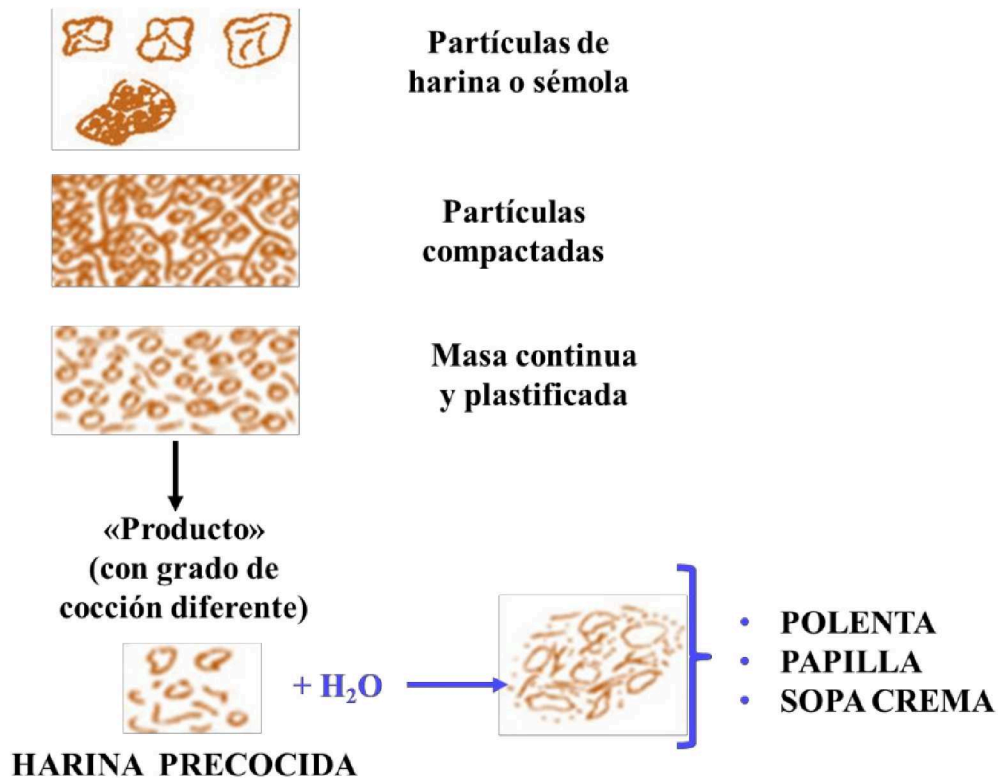
Definidas las condiciones de extrusión (relación de compresión del tornillo, velocidad de rotación, diámetro de la boquilla y temperatura a controlar (tanto en la zona del cilindro como de la boquilla) y el material a extrudir (tamaño de partículas, humedad,

etc.), la operación comienza alimentando material con una humedad suficiente para evitar una excesiva presión inicial. Luego se introduce el material en estudio manteniendo siempre llena la zona de alimentación del tornillo. La toma de muestra se realiza una vez que se alcanza el estado estacionario, es decir cuando el caudal de salida ( $Q_s$ ), la presión y el torque (medido sobre el eje del motor), se mantienen constantes. El  $Q_s$  se refiere a la humedad de alimentación ( $Q_a$ ), habiendo sido previamente determinado el caudal másico de sólido seco ( $Q_{ss}$ ) (González y col., 2002a).

### **I.6.3. Transformaciones del material durante la extrusión**

Los productos a base de cereales representan un volumen importante de los expandidos e inflados. Algunos ejemplos de estos alimentos son los “snacks”, los cereales instantáneos, las pastas, etc. (Enríquez, 2004). Los materiales que se someten al proceso de extrusión sufren transformaciones sucesivas durante el proceso (Figura I.4.2). Es importante destacar que la transformación del flujo sólido en flujo viscoso es necesaria para que se produzcan los cambios estructurales y consecuentemente la cocción del almidón. De lo contrario, la operación se reduce al transporte del material y al pasaje a través de la boquilla, es decir, el extrusor actúa como una pelleteadora a tornillo. Las condiciones de temperatura, presión y esfuerzos de corte a que se somete el material que se extrude pueden producir cambios en su composición química, llevando a una modificación estructural del almidón y de las proteínas (Mitchell y Areas, 1992).

En el proceso de extrusión de alimentos, el almidón es el componente que juega el papel más importante, ya que los cambios que sufre el almidón afectan la expansión y textura final del producto extrudido (Lai y Kokini, 1991). Las modificaciones en la estructura del almidón, tales como fusión, gelatinización, fragmentación y dextrinación, son afectados por diferentes factores como la relación agua/almidón, temperatura, gradientes de velocidad aplicados, tamaño de partícula, la relación amilosa/amilopectina, presencia de otros ingredientes (azúcar, sal, proteínas y lípidos, entre otros) (Kokini y col., 1992).



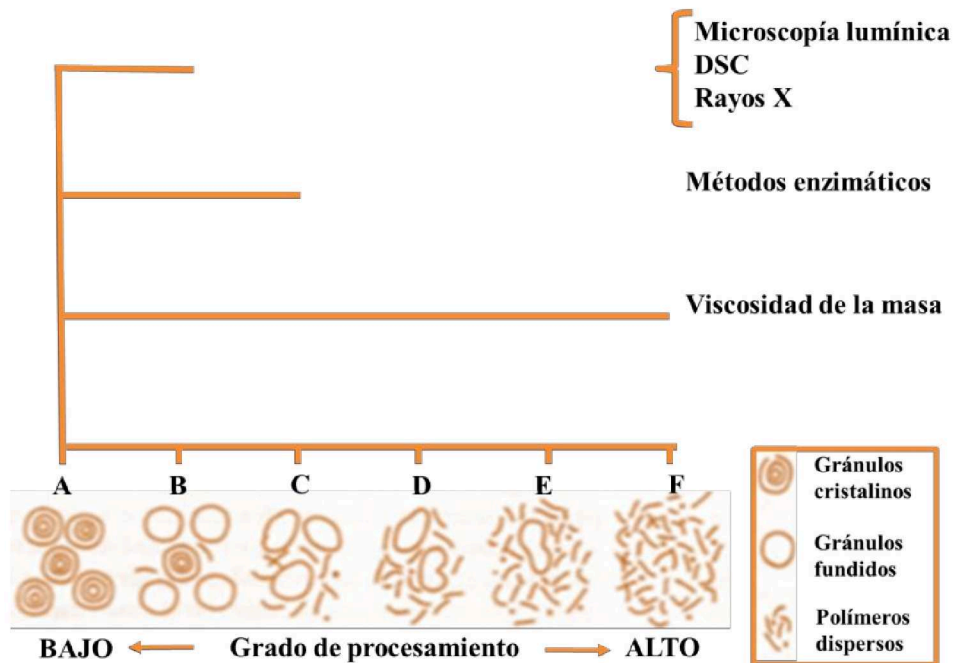
**Figura I.4.2:** Esquema de transformaciones de harinas por extrusión.

El almidón es insoluble en agua fría, pero cuando se calienta con agua, la absorbe, se hincha y se dispersa, este proceso se llama gelatinización. Se lo puede clasificar como una cocción hidrotérmica. En el caso de la cocción por extrusión, el proceso es termomecánico. El GC estará relacionado no sólo con la susceptibilidad a la hidrólisis por las amilasas, sino también al grado de ruptura del gránulo de almidón. Las características reológicas de la dispersión estarán determinadas por la proporción de sólidos solubles y restos de gránulos hinchados, por lo que se puede decir que el concepto de “GC” resulta ser más amplio que el utilizado en nutrición. Por esto, en productos de cereales extrudidos se puede considerar como indicadores válidos del GC, el índice de solubilidad, el índice de hidratación y las curvas de viscosidad (González y col. 2002a).

La transformación del almidón es la base de la producción de cereales precocidos por extrusión, que permite la expansión y la formación de una nueva estructura, contribuyendo a la estabilidad del producto. Los cambios producidos en los materiales amiláceos durante la extrusión han sido extensamente discutidos y la complejidad de las transformaciones producidas puede ser analizada por diferentes métodos, de acuerdo a la severidad del tratamiento aplicado (Figura I.4.3). Los distintos tipos de productos a base de



cereales precocidos por extrusión se pueden agrupar en productos expandidos, utilizados para elaborar “snacks”, y harinas precocidas para preparar dispersiones (polenta, papillas y sopas cremas) (González y col., 1986 y 1987a, Kokini y col., 1992, Robutti y col., 2002).



**Figura I.4.3:** Diagrama de las formas físicas del almidón y los métodos de evaluación.

Durante el proceso de extrusión, las proteínas se desnaturalizan y disminuye su solubilidad debido a la agregación. Algunos enlaces se rompen por el aumento de la temperatura y de la fricción, formando nuevas estructuras. Al enfriarse se forman enlaces no covalentes y puentes disulfuro y si el contenido de humedad es lo suficientemente bajo, las zonas amorfas se transforman en cristalinas (Pérez-Navarrete y col., 2006). Las proteínas son generalmente las más sensibles al calor y el cizallamiento, además de que pueden reaccionar con diversos componentes de los alimentos o aditivos. Estas modificaciones físico-químicas hacen que aumente su digestibilidad, ya que se produce un despliegue y/o agregación estructural cuando son sometidas a calor húmedo o cizallamiento. Esto a menudo conduce a la insolubilización y a la inactivación, cuando las moléculas nativas poseen una actividad biológica (Cheftel, 1986, Camire y col., 1990). Dentro de los cambios químicos, la extrusión produce la disminución de la lisina disponible por la reacción de Maillard cuando se extruden cereales, dependiendo de las condiciones de temperatura y cizallamiento (Camire y col., 1990).



En el caso de los lípidos, cuando están libres (no formando complejos con otros componentes) actúan como lubricantes, reduciendo la conversión de energía mecánica en el extrusor, así como la expansión. Por esta razón, es importante controlar este componente, ya que una pequeña variación del contenido de lípidos puede afectar drásticamente el producto. La grasa también puede debilitar la estructura celular, causando fusión y porosidad (Harper, 1989, Enríquez, 2004). Los lípidos se ven afectados en su valor nutricional durante la extrusión ya que pueden ocurrir fenómenos de oxidación, hidrogenación, isomerización o polimerización durante el proceso (Camire y col., 1990).

Respecto a otros carbohidratos, por lo general los azúcares actúan como lubricantes y disminuyen la expansión (Enríquez, 2004).

La FD también sufre cambios. La extrusión produce la modificación en el tamaño de partícula, en la solubilidad y cambios en la estructura química, lo cual genera cambios en la degradación bacteriana en el intestino y en las propiedades fisiológicas (Cheftel, 1986). En primer lugar, los cambios del almidón y la generación de formas resistentes al ataque enzimático, que in vivo no podrán ser digeridos y son medidos como FD. En segundo lugar, la degradación de la FD a fracciones de bajo peso molecular podría disminuir su contenido y así reducir sus beneficios. En tercer lugar, la degradación de macromoléculas de fibra, al aumentar su solubilidad puede cambiar sus efectos fisiológicos (Pérez-Navarrete y col., 2006).

Asimismo, la extrusión-cocción generalmente provoca la inactivación completa de enzimas (Linko y col., 1981). Esto contribuye a la estabilidad de los alimentos extrudidos, y puede ayudar a retardar la oxidación de los ácidos grasos insaturados. Como así también, puede reducir el contenido de AF y mejorar la biodisponibilidad de algunos minerales y la digestibilidad proteica (Llopart y col., 2013).

#### **I.6.4. Métodos de evaluación del material extrudido**

Para evaluar un producto extrudido se pueden analizar características y propiedades tales como: la expansión, el consumo específico de energía mecánica, el volumen específico, la susceptibilidad enzimática y la evaluación sensorial de la dureza (González y col. 2002a).

Una de las propiedades más importantes de los productos extrudidos es la textura, la cual estará muy relacionada a la expansión. La expansión del producto ocurre en las direcciones longitudinal y radial, pero se ha demostrado que la expansión radial es la más simple de determinar y refleja la expansión global. El volumen específico surge de relacionar el diámetro, la longitud y el peso de los productos de extrusión (González y col., 2002a).

Para los productos expandidos, el consumo específico de energía mecánica (CEEM) es un buen indicador del GC, ya que representa la energía mecánica entregada al material. A mayor CEEM, mayor será la intensidad de las transformaciones del almidón. Sin embargo, a medida que es mayor la destrucción de la estructura cristalina y granular, aumenta el GC, la expansión crece hasta un valor máximo, a partir del cual ésta disminuye, como consecuencia de la disminución de la elasticidad del “melt”. La temperatura también se relaciona directamente con el GC, y por ende la expansión mostrará un máximo con la temperatura. En cuanto a la dureza sensorial, disminuye con el aumento de la temperatura, mientras que aumenta con el aumento de la humedad por lo que se relaciona en forma inversa con el GC. Por el contrario el GC se relaciona en forma directa con la susceptibilidad enzimática (González y col., 2002a).

#### **I.6.5. Métodos de evaluación de las harinas precocidas**

Para la evaluación de las harinas precocidas se estudian las características y propiedades de la solubilidad en agua, la absorción en agua y la respuesta amilográfica. De todas estas respuestas, la solubilidad es la que permite interpretar con mayor claridad los cambios producidos y está inversamente relacionada con la absorción de agua (González y col., 1986). Para utilizar la respuesta amilográfica, es necesario tener en cuenta toda la curva. No obstante, la consistencia final (retrogradación) puede considerarse un buen indicador del GC.

La viscosidad de las dispersiones está influenciada por las propiedades hidrodinámicas de sus componentes, por ejemplo, el tamaño y la forma de las partículas. Éstas a su vez son afectadas por el pH, fuerza iónica y los tratamientos durante el procesamiento, que alteran la conformación, la estructura, el grado de agregación, la hidratación y el hinchamiento (Pérez y col., 2008).

## II. OBJETIVOS

## **II. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los efectos de dos procesos de expansión: la extrusión y el popeado en las propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas integrales precocidas de sorgo de distinta variedad, a fin de estudiar la factibilidad de incorporar al sorgo en la formulación de alimentos aptos para celíacos.

### **II.1. Objetivos Específicos**

1. Caracterizar la materia prima: muestras de sorgos rojos y blancos de distintas variedades a través de la composición y parámetros físicos.
2. Estudiar los efectos de las condiciones de extrusión en las características fisicoquímicas y nutricionales de productos expandidos.
3. Evaluar el efecto de la composición y parámetros físicos en las propiedades de los productos obtenidos por popeado.
4. Evaluar el efecto del descascarado en la composición y las propiedades de productos expandidos por extrusión de muestras selectas.
5. Seleccionar muestras cocidas por ambos procesos con buenas características fisicoquímicas, aptas para el desarrollo de alimentos y estudiar sus propiedades nutricionales por el uso de técnicas in vitro (composición centesimal, cuantificación de lisina disponible, digestibilidad, disponibilidad de Fe, Zn y Ca).
6. Seleccionar muestras cocidas por ambos procesos con buenas características fisicoquímicas para realizar estudios del efecto de grano entero sobre la función intestinal, los metabolismos óseo y mineral (biodisponibilidad de Ca) y el estrés oxidativo in vivo utilizando animales de laboratorio.

## **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **III.1. MATERIAS PRIMAS**

Se evaluaron 28 híbridos de sorgo, 14 de ellos blancos (SB) y 14 rojos (SR). Algunos fueron donados por el Programa de Investigación de Sorgo Pannar S.R.L. y otros eran de fuentes comerciales. Estas muestras fueron numeradas del 1 al 14, manteniéndose en confidencialidad el híbrido correspondiente.

##### **III.1.1. Método para clasificar sorgos según el contenido de taninos condensados**

Para determinar granos con taninos condensados se utilizó la “Prueba del blanqueo con cloro” (Chloro bleach test con base álcali) (SENASA, 2011).

Para ello, se debe disolver 5 g de hidróxido de sodio en 100 mL de solución de hipoclorito de sodio al 3,5%. Se colocan 100 granos de sorgo entero en un vaso de precipitado y se agrega la solución de blanqueo hasta cubrir los granos de sorgo. Se tapa con papel de aluminio y se deja en contacto a temperatura ambiente (20 - 30°C) por 20 min. Se agita el contenido del vaso cada 5 min aproximadamente. Luego, se vacía el contenido del vaso en un colador, descartando la solución de blanqueo. Se enjuagan los granos de sorgo con agua corriente, se vuelcan los granos sobre una toalla de papel y se seca por encima con otra toalla. Los granos sin tanino son los que se han blanqueado por completo o están marrones en alguna parte de la superficie. Se efectúa el conteo de granos oscurecidos que se identifican con presencia de taninos condensados y se determina su porcentaje en la muestra, en relación con la cantidad de granos enteros totales de la misma. Se considera que los granos no contienen taninos condensados cuando la presencia de granos oscurecidos es menor del 5%.

##### **III.1.2. Caracterización química de los granos**

###### **III.1.2.1. Determinación de la composición centesimal de la materia prima**

La composición centesimal se determinó de acuerdo con los métodos de la American Association of Cereal Chemists (A.O.A.C., 1995). Se determinó: humedad, extracto etéreo,

proteínas (el factor para la conversión de nitrógeno a proteína utilizado fue 6,25), cenizas y fibra dietaria total. Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado.

#### **III.1.2.2. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P)**

Para determinar la concentración de minerales se pesó una cantidad apropiada de muestra y se llevó a mufla (Dalvo modelo HT No 2403, Argentina) a 550°C durante 4 h. Las cenizas fueron levantadas con 10 mL de HCl 1,2 mol/L. Los contenidos de Na y K se determinaron por fotometría de llama y los de Fe, Zn, Ca, Cu y Mg por espectrofotometría de absorción atómica. Para Ca y Mg la dilución se efectuó empleando una solución de cloruro de lantano 0,5 g/100 mL para eliminar interferencias. La medición se realizó utilizando un equipo Perkin Elmer IL 551, Instrumentation Laboratory (Norwood, Massachusetts, EE.UU).

El contenido de P se determinó utilizando una técnica colorimétrica que utiliza el ácido fosfomolibdico (A.O.A.C., 1993).

#### **III.1.2.3. Contenido de Polifenoles Totales (PFT), Libres y Ligados (PF Lib y PF Lig)**

Los polifenoles se extrajeron según Qiu y col. (2010) con modificaciones. Se realizaron dos extracciones con metanol al 80%, se recolectaron los extractos y sobre esta fracción se determinó el contenido de polifenoles libres (PF Lib) por la técnica de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). Para los polifenoles ligados (PF Lig), se tomó el residuo proveniente de las extracciones anteriores y se realizó una hidrólisis alcalina con NaOH 2 mol/L a temperatura ambiente, con el objetivo de liberar los polifenoles enlazados. Luego se realizaron 3 extracciones con hexano para eliminar los lípidos, se extrajeron los polifenoles liberados con acetato de etilo, se evaporó hasta sequedad el solvente y se re-disolvieron los PF Lig en metanol al 50% para luego determinarlos por la técnica de Folin-Ciocalteu, usando una curva patrón de ácido gálico (AG) en un rango de concentración de 20 – 500 g/mL. Los resultados se expresaron como AG g/100g de muestra seca.

#### **III.1.2.4. Determinación del contenido de Ácido Fítico (AF)**

La extracción del ácido fítico (AF) de las muestras se realizó de acuerdo a la técnica de la A.O.A.C. (1995). El AF se extrajo con una solución al 2,4% (V/V) de HCl durante 3

horas. A una alícuota del sobrenadante se le agregó igual volumen de una solución de Na<sub>2</sub>EDTA 0,11 mol/L en NaOH 0,75 mol/L, se enrasó a 25 mL y se pasó a través de una columna de intercambio aniónico (Resina AG 1-X4 de intercambio iónico, Cl<sup>-</sup>, Bio-Rad®, USA). El fósforo libre se eluyó con una solución de NaCl 0,1 mol/L y posteriormente el AF, con una solución de NaCl 0,7 mol/L. Luego de una mineralización por vía seca (punto III.1.2.2) de ambas fracciones, se determinó fósforo mediante el método colorimétrico de A.O.A.C. 931.01 (A.O.A.C., 1993) que utiliza la reacción del fósforo libre con molibdato de amonio en medio ácido.

### **III.1.3. Caracterización física de los granos de sorgo**

#### **III.1.3.1. Peso hectólitro (PH)**

Para determinar el peso hectolitro se empleó una balanza de peso hectolitro tipo Schlopper de cuarto litro, y al valor de peso obtenido se multiplicó por el factor 0,4 para expresar los resultados en kg/hL (Maxon y col., 1971).

#### **III.1.3.2. Relación de molienda (RM)**

Se molieron 50 g de muestra en un molino Stein. Luego se tamizaron durante 1 min sobre tamices de 1 y 0,5 mm. El material que quedó en el tamiz de 1 mm fue considerado fracción gruesa (G) y el que atravesó el tamiz de 0,5 mm y quedó en el ciego fue la fracción fina (F). La relación de molienda fue calculada como: G/ F (De Dios y col., 1992).

#### **III.1.3.3. Porcentaje de flotación (%F)**

Se determinó el porcentaje de granos que flotan en solución de tetracloruro de carbono (CL<sub>4</sub>C) de densidad conocida (1,28 g/cm<sup>3</sup>). Los datos se expresaron como porcentajes de granos que flotan, utilizando una muestra de 100 semillas y por triplicado (Lepes y col., 1976).

#### **III.1.3.4. Densidad aparente (DA)**

Se determinó según Chandrashekar y Kirleis, (1998) y De Dios y col. (1992) por el desplazamiento de volumen en una probeta que contenía 40 cm<sup>3</sup> de xileno (volumen inicial) a la que se agregaron 100 semillas previamente pesadas y se calculó usando la ecuación 1.

$$DA (\text{g/cm}^3) = \text{Masa de semillas} / (\text{Volumen final} - \text{Volumen inicial}) \quad (1)$$



## III.2. PROCESO DE POPEADO

### III.2.1. Materia prima

Para realizar el proceso de popeado se utilizaron 28 híbridos de sorgo, 14 de ellos blancos (SB) y 14 rojos (SR).

### III.2.2. Condiciones de popeado

Para el estudio del proceso de popeado se utilizó un equipo de lecho fluidizado VP Model Dryer (Bench Scale Equipment Co., Inc., Dayton, Ohio).

**Ensayo 1.** Para definir la temperatura (T) de dicho proceso se realizaron ensayos con una variedad de SB y una variedad de SR a 230, 250 y 270°C y dos humedades (H): 12,5 y 15,5%. Considerando: el volumen adquirido por los expandidos el atributo más importante de los popeados y la capacidad del equipo de mantener una T estable, se definió la T para realizar los ensayos de popeado en 250°C.

**Ensayo 2.** Para definir la H se trabajó a 250°C y se ensayaron los siguientes valores de H: 12, 14, 16, 18 y 20%.

El tiempo de popeado se definió como aquel necesario para que los granos expandan, sin que se quemen los que no expandieron.

### III.2.3. Evaluación de los productos popeados

#### III.2.3.1. Volumen Aparente

El peso de los granos popeados fue medido utilizando una balanza (Adventure Ohaus, EEUU., +/- 0,01g) y el volumen se midió utilizando una probeta graduada de 500 mL. El volumen aparente (VA) de los granos de sorgo popeados fue calculado según la ecuación 2:

$$VA \text{ (cm}^3\text{/g)} = \text{Volumen explotado (cm}^3\text{)} / \text{Peso explotado (b.s.) (g)} \quad (2)$$

### III.2.3.2. Rendimiento

El rendimiento (R) de los granos de sorgo popeados fue calculado utilizando la ecuación 3:

$$R (\%) = \text{Peso explotado (b.s.) (g)} \times 100 / \text{Peso inicial de los granos a popear (b.s.) (g)} \quad (3)$$

### III.2.3.3. Aptitud de popeado (AP)

Se calculó un indicador al que se llamó Aptitud de Popeado (AP), para poder estimar la capacidad de explosión de híbridos de sorgo. Este indicador integra la información brindada por el PH, VA y R (ecuación 4):

$$AP = PH * VA * R / 10000 \quad (4)$$

Donde, PH: peso hectolítrico (kg/hL), VA: volumen aparente (cm<sup>3</sup>/g granos explotados), R: rendimiento.

## III.3. PROCESO DE EXTRUSIÓN

### III.3.1. Materia prima

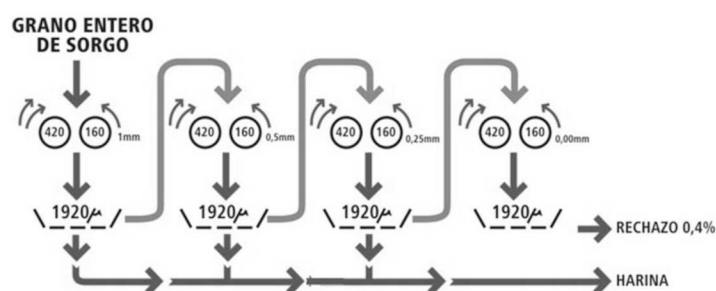
Para realizar las experiencias de extrusión se utilizaron muestras de los híbridos SB5 y SR14, definidas por la cantidad disponible en función de las necesidades de los ensayos a realizar. Cabe destacar que la muestra utilizada de SR14 (en todos los estudios descritos en los puntos III.3.2 al 5) correspondió a una cosecha del año anterior a la utilizada para la caracterización fisicoquímica y nutricional.

### III.3.2. Diagrama de Molienda de los granos de sorgo

El diagrama de molienda se muestra en la Figura III.3.1 y se describe a continuación.

Los granos de sorgo integral fueron molidos con un molino de rolos marca Buhler MIAG (BUA AG, Uzwil, Suiza), con rolos estriados medios, cuyo diferencial de velocidad fue de 2,5 y sus velocidades respectivas de 420 y 160 rpm, mientras que la velocidad del cilindro de alimentación fue de 60 rpm. Se utilizó una progresiva reducción del espacio entre rodillos de 1, 0,5 0,25 y 0 mm, sucesivamente. Las harinas obtenidas en cada molienda se

tamizaron a través de una malla de 1920  $\mu\text{m}$  y la fracción retenida fue nuevamente molida con los rolos separados por las distancias mencionadas. Finalmente, se obtuvo un rechazo de 0,4% que se incorporó a la harina integral obtenida con una granulometría menor a 1920  $\mu\text{m}$ . De este modo, se obtuvo una harina integral, que incluyó todos los componentes del grano: endospermo, pericarpio y germen, con granulometría apropiada para la extrusión y sin producción de residuos. Esta harina presentó una humedad de 13,8%.



**Figura III.3.1:** Diagrama de molienda para obtener la materia prima para la extrusión.

### III.3.3. Diseño experimental

La T y la H son los dos factores más relevantes en la extrusión de cereales (González y col., 1987b) y fueron las variables independientes seleccionadas para este estudio. Los niveles extremos seleccionados para estas variables fueron: 14-19 (%), para la humedad y 164-200 ( $^{\circ}\text{C}$ ) para la temperatura. Para analizar los efectos de las variables de extrusión sobre las características fisicoquímicas y texturales del producto expandido, se utilizó la metodología de superficie de respuesta, tomando como variables independientes a la humedad de alimentación (H) (14, 16,5 y 19%) y la temperatura de extrusión (T) (164, 182 y 200 $^{\circ}\text{C}$ ), las que variaron de acuerdo a un diseño experimental de tipo  $3^2$ , con 3 puntos centrales, resultando 11 experiencias con un triplicado del punto central. En la Tabla III.3.1 pueden observarse los niveles de H y T correspondientes al mencionado diseño.

**Tabla III.3.1:** Niveles de Humedad y Temperatura correspondientes al Diseño Experimental.

| TEMPERATURA<br>( $^{\circ}\text{C}$ ) | HUMEDAD<br>(%) |      |      |
|---------------------------------------|----------------|------|------|
|                                       | 14,0           | 16,5 | 19,0 |
| 164                                   | X              | X    | X    |
| 182                                   | X              | XXX  | X    |
| 200                                   | X              | X    | X    |

### III.3.4. Extrusión y evaluación del proceso

En todos los ensayos, las muestras se prepararon y acondicionaron 1 hora antes del proceso de extrusión, llevándolas al nivel de humedad establecido en el diseño experimental. Para esto se utilizó un mezclador planetario Brabender P 600 (Alemania) a una velocidad de rotación de 100 rpm, agregando el contenido de agua necesaria y agitando durante un 1 min.

En la operación de extrusión, se utilizó un extrusor monotornillo Brabender 20 DN, con tornillo de relación de compresión 4:1, boquilla de 3 mm de diámetro y 20 mm de longitud y una velocidad de rotación de 150 rpm. La temperatura seleccionada de acuerdo al diseño se mantuvo mediante calefactores. Se midió la temperatura en el cañón y en la boquilla, se registró el torque ejercido sobre el eje del motor. Se obtuvieron los valores de caudal másico (g/min) y torque en unidades Brabender (UB).

En todos los casos, una parte de cada muestra extrudida se cortó en trozos de aproximadamente 10 cm y se llevó a 6% de humedad en estufa a 50°C. Posteriormente, se guardaron en forma hermética en recipientes de plástico con una actividad de agua apropiada para mantener dicha humedad, para luego realizar el análisis sensorial, la determinación de expansión, volumen específico y resistencia mecánica. El resto de la muestra se separó y molió para ser utilizado en los ensayos de hidratación y características de las dispersiones de harinas precocidas y sus respectivas evaluaciones nutricionales. Para ello, las muestras extrudidas fueron molidas en un molino de martillos Retsch-Muhle (Alemania), con sucesivas mallas de 2, 0,5 y 0,25 mm. Los productos fueron almacenados en bolsas de polietileno hasta su análisis.

#### III.3.4.1. Consumo específico de energía mecánica (CEEM)

Se calculó de acuerdo a González y col. (2002a), a partir del torque que se genera en el tornillo extrusor utilizando la ecuación 5:

$$CEEM = K \times T \times N / Q_s \quad (5)$$

Donde, K: constante=  $61,3 \times 10^{-3} \text{ J g}^{-1}$ , T: torque en Unidades Brabender (lectura de registro del gráfico), N: rpm del tornillo extrusor ( $\text{min}^{-1}$ ) y  $Q_s$ : caudal másico referido a la humedad de alimentación. El  $Q_s$  se determinó pesando la muestra que se extrude en 1 min y refiriéndola a la humedad de alimentación.

### III.3.5. Evaluación de las muestras extrudidas

#### III.3.5.1. Evaluaciones fisicoquímicas de productos extrudidos

Para la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales se utilizaron distintas técnicas según el producto a evaluar (expandidos o harinas precocidas):

##### III.3.5.1.1. Índice de expansión (E)

Se realizó de acuerdo a González y col. (2002a). Los diámetros fueron medidos con un calibre Vernier (sensibilidad 0,02 mm) en 5 zonas distintas del mismo trozo. La expansión se calculó como la relación entre el diámetro medio del producto y el diámetro de la boquilla según la ecuación 6:

$$E = D/db \quad (6)$$

Donde D: es el diámetro promedio del material extrudido y db: es el diámetro de la boquilla del extrusor.

##### III.3.5.1.2. Volumen específico (VE)

Se midió de acuerdo a González y col. (2002a), secando trozos de aproximadamente 10 cm de largo a 105°C hasta pesada constante, y se calculó en relación al diámetro, longitud y peso (ecuación 7):

$$VE \text{ (g/cm}^3\text{)} = (\pi \times d^2 \times 10) / (4 \times P_s) \quad (7)$$

Dónde, d: diámetro del expandido y Ps: Peso seco de la muestra.

##### III.3.5.1.3. Evaluación de la dureza sensorial (DS)

La evaluación sensorial de la dureza se realizó con la participación de un panel entrenado (Pérez y col., 2008), considerando una escala de puntos del 1 (la muestra más blanda) al 9 (la muestra más dura) y otorgando la puntuación a cada muestra por consenso de los jueces, motivo por el cual no se realizó análisis de varianza.

### **III.3.5.2. Evaluaciones fisicoquímicas de las harinas precocidas**

#### **III.3.5.2.1. Solubilidad en agua (S)**

Se utilizó la técnica de Anderson y col. (1969) modificado por González y col. (2002a), la cual consiste en dispersar 2,5 g de muestra en 50 mL de agua destilada en un tubo de ensayo con agitación intermitente durante 30 min y luego centrifugar a 2000xg. En la fase sobrenadante se determinaron los sólidos dispersos, evaporando en estufa a 105°C. La solubilidad se expresó como el porcentaje de los sólidos dispersados respecto a 100 g de harina en base seca.

#### **III.3.5.2.2. Absorción de agua (AA)**

Se utilizó un equipo de Bauman, según la técnica originalmente propuesta por Torgersen y Toledo (1977) y adaptada por González y col. (1995). Este método consiste en medir la captación libre de agua producida por la muestra, en función del tiempo. Para lo cual, sobre un papel de filtro tarado se colocan 50 mg de la muestra molida y uniformemente distribuida. El papel con la muestra se apoya cuidadosamente en un embudo Butchner, el cual se encuentra conectado a nivel con una pipeta con agua destilada en posición horizontal que permite ir midiendo el agua absorbida.

#### **III.3.5.2.3. Respuesta Amilográfica**

Se utilizó un Amilógrafo de Brabender (Duisburg-Alemania) con un cabezal de 250 gcm, de acuerdo al procedimiento descrito por González y col. (1987b). La dispersión se realizó al 10% de sólidos en base seca. Antes de iniciar el calentamiento, se mantuvo la suspensión en agitación a máxima velocidad durante 5 min, para asegurar hidratación completa de las partículas. Luego la temperatura se elevó desde 30°C hasta 95°C, manteniéndose por 20 min, y se enfrió hasta 50°C. Tanto el calentamiento como el enfriamiento, se realizaron a razón de 1,5°C por minuto. El valor de la consistencia en cada punto se expresó en Unidades Brabender (UB). Para harinas sin cocción, se determinó la temperatura de empaste, la temperatura y la viscosidad del pico amilográfico, la viscosidad al final de la cocción y al final del enfriamiento (retrogradación) y para harinas precocidas, además de lo ya mencionado se determinó la viscosidad inicial. La respuesta amilográfica se evaluó determinando:

- ✓ Ci: consistencia inicial a 30°C
- ✓ C95i: consistencia inicial a 95°C

- ✓ C95f: consistencia final a 95°C
- ✓ RG: retrogradación

#### **III.3.5.2.4. Determinación de Almidón Gelatinizado**

Para la determinación de Almidón Gelatinizado (%) se utilizó la técnica de Holm y col. (1986), y luego se utilizó un kit de Glucosa oxidasa/peroxidase (Wiener Lab, Rosario, Argentina) para la determinación colorimétrica de glucosa, y su concentración fue medida a 505 nm utilizando un espectrofotómetro Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, USA).

#### **III.3.5.2.5. Observación microscópica**

Las muestras molidas fueron observadas microscópicamente utilizando un microscopio Leitz (Alemania) con luz polarizada para determinar la presencia de gránulos de almidón que conservan la estructura nativa (gránulos con la “cruz de malta”).

#### **III.3.5.3. Evaluaciones nutricionales de los extrudidos**

##### **III.3.5.3.1. Determinación del contenido de ácido fítico (AF)**

Se empleó el método A.O.A.C. (1993) según lo detallado en el Punto III.1.2.4. Además se calculó la Pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF), acorde a la ecuación 8:

$$\text{Pérdida de AF} = (\text{AF}_{\text{muestra nativa}} - \text{AF}_{\text{muestra extrudida}}) \times 100 / \text{AF}_{\text{muestra nativa}} \quad (8)$$

##### **III.3.5.3.2. Determinación del contenido de polifenoles (PF) libres**

Se realizaron dos extracciones con metanol al 80%, se recolectaron los extractos y sobre esta fracción se determinó el contenido de polifenoles libres (PF Lib) por la técnica de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999) de acuerdo a lo detallado en el Punto III.1.2.3 y usando una curva patrón de ácido gálico en un rango de concentración de 20 – 500 g/mL. Los resultados se expresaron como ácido gálico (AG) g/100g de muestra seca.

##### **III.3.5.3.3. Determinación de la capacidad antioxidante (CAO)**

Para estimar la capacidad antioxidante (CAO) se utilizó el método de inhibición del radical catión ABTS<sup>+</sup>·propuesto por Cian y col. (2011). En una primera etapa, se generó el radical catión ABTS<sup>+</sup>·, haciendo reaccionar 10 mL de una solución 2 mmol/L de ABTS (2,2'-

azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Sigma-A1888) con 40  $\mu\text{L}$  de persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) 70 mmol/L. Luego se dejó reposar a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16-17 horas. Posteriormente, se realizó una dilución del reactivo con PBS 0,01 mol/L pH 7,4 de tal manera que la absorbancia fuese de  $0,800 \pm 0,030$  y se llevó a cabo la reacción entre el ABTS<sup>+</sup> y el agente reductor, el cual puede ser la muestra o el estándar. Al reducirse, el radical catión de color azul-verdoso (ABTS<sup>+</sup>) se decolora. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 734 nm, empleando para ello un lector de placas (Biochrom Asys UVM340 Microplate Reader, Cambridge, UK). Para estimar la Capacidad Antioxidante Equivalente al Trolox (TEAC) se utilizó como estándar al Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, Sigma Aldrich, 97%), construyéndose una curva de Inhibición vs. Concentración de Trolox (mM), en el rango de 0-3,5 mM. Para las determinaciones se utilizaron 10  $\mu\text{L}$  de muestra en 190  $\mu\text{L}$  de ABTS. Los valores fueron registrados a los 6 minutos de iniciada la reacción redox. Los ensayos fueron realizados por triplicado.

### **III.3.6. Determinación de compuestos fenólicos (ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico). Optimización de un método de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) con detección ultravioleta**

El análisis de compuestos fenólicos se lleva a cabo generalmente por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) con columnas de fase reversa C18 y gradientes binarios de solvente (Tarola y col., 2012). La fase móvil consiste habitualmente de una solución acuosa ácida (de ácido fórmico, acético, o trifluoroacético) y un solvente orgánico (acetonitrilo (ACN) o metanol) (Lopes da Silva y col., 2007, Aaby y col., 2007, Tulipani y col., 2008).

La detección de los compuestos fenólicos se hace generalmente en el ultravioleta (UV) (Romanová y col., 2000), por arreglo de diodos (DAD) (Lopes da Silva y col., 2007, Hernanz y col., 2007, Giné-Bordonaba y col., 2011), o por espectrometría de masas (MS) (Aaby y col., 2007, Chen y Zuo, 2007). Los detectores MS proveen información acerca de la masa molecular y los patrones de fragmentación del analito, y se han usado para identificar una amplia variedad de compuestos fenólicos, sin la necesidad de contar con los correspondientes estándares fenólicos (Määttä-Riihinen y col., 2004, Aaby y col., 2007). Sin embargo, los detectores DAD han demostrado ser una excelente herramienta en la determinación de compuestos fenólicos, si



se considera su menor costo y la mayor posibilidad de ser adquirido por un laboratorio analítico, comparado con la detección MS (Molnár-Perl y Füzfai, 2005, Tarola y col., 2012).

### III.3.6.1. Aparatos y Software

Se utilizó un equipo de cromatografía líquida Analytical HPLC-DAD Perkin-Elmer® model Flexar®, equipado con cuatro bombas, inyector manual Rheodyne® con un loop de 20  $\mu\text{L}$ , desgasificador, un detector de arreglos de fotodiodo, equipado con Hypersil Oro® C18 (thermo® Scientific EE.UU.), columna ( $250 \times 4,6 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ). Los datos cromatográficos se procesaron con el programa Chromera® PDA software.

### III.3.6.2. Condiciones cromatográficas

Las separaciones se llevaron a cabo en un columna de fase reversa Supelcosil LC-ABZ  $150 \times 4,6 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ , unida a un guardacolumna Alltech C18  $5 \mu\text{m}$ . Para equilibrar la columna se requirieron 10 min antes de cada inyección. El flujo fue de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ , y los análisis fueron realizados a una temperatura de  $24,5^\circ\text{C}$ . El detector se ajustó a 254 y 395 nm para realizar la detección simultánea de los diferentes grupos de compuestos fenólicos. La identificación de los picos se realizó comparando los tiempos de retención y las características espectrales aportadas por el detector DAD, con compuestos fenólicos estándares. Se realizaron ensayos para definir la fase móvil: Solvente A y Solvente B (Tabla III.3.2) que permitiera separar los estándares. Basado en el trabajo realizado por Chiremba y col. (2012) se realizaron modificaciones hasta que se consiguió separar y medir correctamente los 4 fenoles evaluados: ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico.

**Tabla III.3.2:** Ensayos de condiciones cromatográficas.

| Ensayos  | SOLVENTES   | Relación Solvente | Tiempos (minutos) |
|----------|---|-------------------|-------------------|
| Ensayo 1 | Solvente A: Ácido acético 0,1% en agua<br>Solvente B: Ácido acético 0,1% en metanol | 4-18 %            | 0,00-18,00        |
|          |   | 18-30 %           | 18,00-35,00       |
|          |   | 30-42 %           | 35,00-58,00       |
|          |   | 42-60 %           | 58,00-70,00       |
|          |   | 60-100 %          | 70,00-75,00       |
|          |   | 100 %             | 75,00-85,00       |
| Ensayo 2 | Solvente A: Ácido acético 0,1% en agua<br>Solvente B: Ácido acético 0,1% en metanol | 28-40 %           | 0,00-25,00        |
|          |   | 40 % isocrático   | 25,00-45,00       |
| Ensayo 3 | Solvente A: Ácido acético 0,2% en agua<br>Solvente B: ACN                           | 16 % isocrático   | 0,00-30,00        |
| Ensayo 4 | Solvente A: Ácido acético 1% en agua<br>Solvente B: ACN                             | 16 % isocrático   | 0,00-30,00        |

### **III.3.6.3. Preparación de las soluciones madres**

Se preparó una solución estándar para cada ácido fenólico (ácido caféico, cumárico, ferúlico y sinápico) 0,1 mg/mL en metanol 80%. Las soluciones madres se protegieron de la luz y se almacenaron a 4°C hasta su uso. Los patrones se filtraron a través de una membrana PVDF (0,22 µm) antes de su análisis en HPLC.

### **III.3.6.4. Preparación de las muestras**

Los extractos obtenidos en el Punto III.4.8 se almacenaron a -80°C hasta su análisis. Las determinaciones se realizaron sobre alícuotas de los extractos con y sin hidrólisis ácida. La hidrólisis ácida se realizó de acuerdo a Tarola y col. (2012). Tiene como objetivo liberar los compuestos fenólicos conjugados o condensados y se realizó agregando 1 mL de HCl 12 mol/L sobre 2 mL de muestra, se homogeneizó, y se dejó por 50 min en estufa a 90°C. Luego de la hidrólisis, los extractos se enfriaron, se filtraron a través de una membrana PVDF (0,22 µm) y estuvieron listos para ser inyectados en el sistema de HPLC.

### **III.3.7.Extrusión de harinas refinadas**

Para realizar este estudio se utilizaron los mismos híbridos que para extrusión del grano entero: SB5 y SR14. Una parte de las muestras fue descascarada por abrasión utilizando un equipo marca Galicet (Entre Ríos, Argentina). Este proceso se realizó de manera de obtener harinas descascaradas acorde a los requisitos del CAA: Artículo 663bis - (Res 4276, 28.12.79) donde se admite hasta 0,65 g de cenizas en 100 g de harina.

Las harinas refinadas e integrales de SB y SR fueron extrudidas a 160°C-14%H para proceder a comparar sus respuestas respecto a: CEEM, E, VE, S, AA y observación al microscopio. Además, se realizaron las siguientes determinaciones a las muestras descascaradas y descascaradas extrudidas: composición centesimal, almidón total y gelatinizado, contenido mineral, digestibilidad proteica, polifenoles totales, libres y ligados, ácido fítico y capacidad antioxidante. Estas determinaciones se describen a continuación.

### **III.4. EVALUACIONES NUTRICIONALES DE HARINAS SELECTAS PRECOCIDAS POR POPEADO Y EXTRUSIÓN**

Para realizar las evaluaciones nutricionales se seleccionaron muestras de sorgo blanco popeado (SBP) y sorgo rojo popeado (SRP), acorde al VA obtenido luego de la explosión (atributo más importante para el consumidor).

Para seleccionar las muestras extrudidas a analizar de los expandidos de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y sorgo rojo integral extrudido (SRE), se tuvieron en cuenta las características fisicoquímicas y texturales apropiadas de un producto tipo snack.

#### **III.4.1. Determinación de la composición centesimal**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.1.2.1.

#### **III.4.2. Determinación de Almidón Total**

La determinación de Almidón Total (%) se realizó por la técnica de Tovar y col. (1990). Se utilizó un kit de Glucosa oxidasa/peroxidase (Wiener Lab, Rosario, Argentina) para la determinación colorimétrica de glucosa, y su concentración fue medida a 505 nm utilizando un espectrofotómetro Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, USA).

#### **III.4.3. Determinación de Almidón Gelatinizado**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.3.5.2.4.

#### **III.4.4. Determinación del contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Na, K, Cu, Mg, P)**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.1.2.2.

#### **III.4.5. Bioaccesibilidad de minerales**

La bioaccesibilidad de Fe (DFe), Zn (DZn) y Ca (DCa) se evaluó utilizando la técnica de dializabilidad de acuerdo a lo descrito por Drago y col. (2005). La muestra se preparó al 10% (P/P). Se llevó a pH 2,0 con HCl (4,5 mol/L), se agregaron 0,8 mL de una solución de pepsina 16 g/100 mL en HCl (0,1 mol/L) y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Para incrementar gradualmente el pH, se agregó una bolsita de diálisis de 24 cm de longitud con un diámetro de poro de 6 a 8 kDa (Spectra/Pore), conteniendo una solución de buffer PIPES

(piperazine-N, N'-bis [2-ethanesulfonic acid]), cuyo pH se calculó de manera que el pH del sistema alcanzase un valor final de  $6,5 \pm 0,2$ , luego de la doble digestión. Luego de 50 min se agregaron 6,25 mL de una solución de bilis – pancreatina (2,5 g/100 mL de bilis y 0,4 g/100 mL de pancreatina en  $\text{NaHCO}_3$  0,1 mol/L) y nuevamente se incubó durante 2 horas a  $37^\circ\text{C}$ . Al finalizar la digestión, se retiraron las bolsitas, se enjuagaron con agua destilada y el dializado se trasvasó y pesó. Posteriormente, se midió el contenido de Fe, Zn y Ca por espectroscopia de absorción atómica. Tanto las enzimas como el buffer PIPES fueron adquiridos a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU).

La bioaccesibilidad de cada mineral se calculó como la cantidad del mineral dializado expresada como porcentaje del contenido del mineral total en la muestra (ecuación 9):

$$\text{DM (\%)} = [(\text{mg MD}) / (\text{mg MM})] \times 100 \quad (9)$$

Dónde, DM (%): Porcentaje del mineral dializado, mg MD: mg del mineral dializado y mg MM: mg del mineral total en la muestra.

#### III.4.6. Digestibilidad proteica (DPR)

La digestibilidad proteica se midió siguiendo el método de Rudlof y Lönnerdal (1992). La muestra se preparó al 2,5 g/100 mL. Se llevó a pH 4,5 con HCl 1 mol/L, y se añadieron 11 mg de pepsina de modo tal que la relación enzima/sustrato fue de 1/20. La cantidad adicionada de enzima estuvo en función del contenido proteico de la muestra. La dispersión obtenida se agitó a  $37^\circ\text{C}$  durante 30 min. Luego, se aumentó el pH con  $\text{NaHCO}_3$  0,5 mol/L, hasta llegar a pH 7,0. Posteriormente, se añadieron 2,5 mL de una solución de pancreatina 0,4 g/ 100 mL de  $\text{NaHCO}_3$  0,1 mol/L, y se incubó durante 1 hora a  $37^\circ\text{C}$ . Las muestras digeridas se colocaron inmediatamente en agua hirviendo durante 4 min para inactivar las enzimas. Las enzimas empleadas fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EEUU).

La digestibilidad proteica (DPR) se definió como el aumento del NNP al finalizar la digestión enzimática en relación con el nitrógeno total (NT) medido por semimicro-Kjeldahl (A.O.A.C., 1995) (ecuación 10).

$$\text{DPR (\%)} = 100 \times \Delta \text{NNP} / (\text{NT} - \text{NNP}) \quad (10)$$

Donde, DPR (%): Digestibilidad proteica, NNP: Nitrógeno no proteico, NT: Nitrógeno total.

#### **III.4.7. Determinación del contenido de Lisina disponible (LD)**

Se utilizó el método de Carpenter modificado por Booth (1971) que se basa en la reacción de los  $\epsilon$ -aminos con 2-4 dinitro-fluor-benceno, previa a la hidrólisis proteica. A una cantidad de muestra que contiene 2,4 mg de N, se le añadió 0,32 ml de  $\text{NaHCO}_3$  8 g/100 mL y 0,492 mL de una solución de 2-4 dinitro-fluoro-benceno (0,3 mL en 12 mL de etanol). La mezcla se agitó durante 2 h en baño a temperatura ambiente. El exceso de disolvente se evaporó dejándolo 24 h sin tapa. Luego se le añadieron 8 mL de HCl 8 mol/L, y la mezcla se autoclavó 1 h a 1 atm. El contenido fue filtrado y se tomaron 2 mL de hidrolizado para dos tubos (A y B). El contenido del tubo B se extrajo con 5 mL de éter sulfúrico, el éter residual se evaporó en un baño de agua a 80°C, y se le agregó 1 gota de fenolftaleína e NaOH 12 g/100 mL hasta coloración rosa. A continuación, se adicionaron 2 mL de buffer carbonato (19,5 g  $\text{NaHCO}_3$  + 1 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en 250 mL de agua) y cinco gotas de metil-cloroformiato. Luego se añadieron 0,75 mL de HCl concentrado. La solución se extrajo cuatro veces con 5 ml de éter sulfúrico, y se transfirió el contenido a un matraz de 10 mL. El tubo A se extrajo 3 veces con éter etílico, luego se colocó en baño a 80°C, se enfrió y se llevó a 10 mL con agua destilada. Se leyó la absorbancia a 435 nm utilizando un espectrofotómetro (Thermospectronic Génesis 10uV, Madison, WI, EE.UU.). La curva de calibración fue realizada con un patrón de EDNP-Lis-CIH Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) en el rango de 5 – 40 mg/L.

#### **III.4.8. Contenido de Polifenoles Totales (PFT), Libres y Ligados (PF Lib y PF Lig)**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.1.2.3.

#### **III.4.9. Determinación del contenido de Ácido Fítico (AF)**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.1.2.4.

#### **III.4.10. Determinación de la capacidad antioxidante (CAO)**

Se procedió según lo descrito en el Punto III.3.5.3.3.

### III.5. EVALUACIONES NUTRICIONALES CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

#### III.5.1. Modelo de experimentación

##### III.5.1.1. Dietas

Las dietas a base de grano entero fueron elaboradas con las harinas precocidas de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y sorgo rojo integral extrudido (SRE) obtenidas en los Puntos III.3.4 y evaluadas en el III.4. Teniendo en cuenta la composición centesimal y el contenido de fibra de cada una de las muestras a evaluar, se elaboraron las dietas agregando la cantidad de SBE y SRE necesaria para alcanzar una concentración de fibra del 5%.

Se utilizó como dieta control (C) la dieta AIN 93 (American Institute of Nutrition) para un modelo de ratas en crecimiento (Reeves y col., 1993).

En la Tabla III.5.1 se muestra la composición de las 3 dietas utilizadas.

**Tabla III.5.1:** Composición de la dieta control (C), dieta con sorgo blanco integral extrudido (SBE) y sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Ingredientes (g/kg diet)                | C      | SBE    | SRE    |
|---|--------|--------|--------|
| Caseína (g/Kg dieta)                    | 187,99 | 126,52 | 120,50 |
| Mix Mineral (AIN-93M-MX) (g/Kg dieta)   | 32,90  | 31,96  | 31,96  |
| Mix Vitamínico (AIN-93-VX) (g/Kg dieta) | 9,40   | 9,40   | 9,40   |
| L-Cistina (g/Kg dieta)                  | 2,82   | 2,82   | 2,82   |
| Vitamina A (mL)                         | 0,94   | 0,94   | 0,94   |
| Aceite de Soja (g/Kg dieta)             | 64,86  | 59,69  | 60,72  |
| Colina bitartrato (mL)                  | 66,74  | 66,74  | 66,74  |
| Celulosa (g/Kg dieta)                   | 47,00  | 0,00   | 0,00   |
| Harina extrudida de SB                  | 0,00   | 519,88 | 0,00   |
| Harina extrudida de SR                  | 0,00   | 0,00   | 540,18 |
| Dextrina (g/Kg dieta)                   | 587,37 | 182,07 | 166,74 |

##### III.5.1.2. Animales

Se utilizaron 24 ratas macho de la cepa Wistar (n total=32) (peso 52,4±5,5 g) del bioterio de la Cátedra de Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA). Los animales fueron destetados a los 21 días de vida, se pesaron y se distribuyeron al azar en 3

grupos de 8 ratas cada uno (n=8 por grupo). Durante toda la experiencia, se mantuvieron alojados en forma individual en jaulas de acero inoxidable bajo condiciones controladas de temperatura ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y humedad ( $60 \pm 10\%$ ), con un ciclo de 12 horas de luz-oscuridad.

Durante 60 días (Tf) se alimentaron con la dieta C, SBE y SRE, con libre acceso al alimento y agua desionizada durante toda la experiencia. Los animales fueron pesados cada 15 días y se evaluaron los consumos de cada dieta cada dos o tres días. Se calcularon la ganancia de peso corporal (GP) a los 60 días de dieta como la diferencia entre el peso final del lote y el peso inicial y la eficiencia, como la relación entre la ganancia de peso y la ingesta total.

Días previos al final de la experiencia, los animales fueron anestesiados con inyección intraperitoneal de 0,1 mg/100 g de peso corporal de clorhidrato de ketamina + 0,1 mg/100 g de maleato acepromazina, a fin de realizar las densitometrías que se describen a continuación. Luego los animales fueron devueltos a sus jaulas, hasta el final de la experiencia.

Al tiempo final de la experiencia (60 días) los animales fueron anestesiados nuevamente bajo las mismas condiciones descritas. Se realizó una incisión abdominal, se extrajo sangre de la aorta abdominal y se centrifugó a 3000 xg durante 20 min a  $4^\circ\text{C}$  para separar el suero. Las muestras de suero obtenidas fueron conservadas a  $-80^\circ\text{C}$  hasta ser examinadas.

Se extrajeron los hígados de los animales, se pesaron y se dividieron en porciones de lóbulos los cuales fueron prensados entre placas de aluminio enfriadas con nieve carbónica, se conservaron a  $-80^\circ\text{C}$  para los posteriores análisis.

Se removió el ciego, se pesó (balanza Mettler Toledo, Argentina) y posteriormente se midió el pH del contenido cecal (IQ Scientific Instruments). Se colectó el contenido cecal en tubos falcon de 15 mL registrando su peso. Posteriormente, se hizo una dilución 1/4 con buffer PBS 0,01 mol/L (pH 7,3), se agitó en vortex y se centrifugó a 3000 xg durante 20 min. En estas muestras se analizaron enzimas cecales. A una alícuota del sobrenadante obtenido se adicionaron 4  $\mu\text{L}$  de inhibidor de proteasas (Sigma P8340) para el posterior análisis de sIgA. Estas muestras de contenido cecal diluido fueron almacenadas en freezer a  $-80^\circ\text{C}$  para su posterior análisis.

Se cortaron los extremos proximal y distal del colon, se conservaron en formol y fueron colocados en tacos de parafina para realizar estudios de inmunohistoquímica.

Se extrajeron los fémures derechos para su análisis, como se describe más adelante.

### **III.5.2. Determinaciones sobre el ciego y contenido cecal**

#### **III.5.2.1. Contenido de polifenoles (PF)**

Se utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999) usando una curva patrón de ácido gálico (AG) en un rango de concentración de 20 – 500 g/mL. Los resultados se expresaron en relación al contenido cecal (CC): mg AG/ g CC.

#### **III.5.2.2. Poder reductor en contenido cecal, plasma e hígado**

El poder reductor fue evaluado según el protocolo propuesto por Ahmadi y col. (2007), con algunas modificaciones. A 0,1 mL de cada extracto, se le adicionó 0,1 mL de buffer fosfato pH 6,6 (0,2 mol/L) y 0,1 mL de ferricianuro de potasio (1 g/100 mL). La mezcla obtenida fue incubada a 50°C durante 20 min. Posteriormente, se adicionaron 0,1 mL de ácido tricloroacético (10 g/100 mL). Luego a 0,1 mL se les adicionó 0,1 mL de agua destilada y 20 µL de cloruro férrico (0,1 g/100 mL). Por último, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 10 min y se leyó la absorbancia a 700 nm. Como blanco de reacción se utilizaron 0,1 mL de agua destilada en lugar de extracto. El poder reductor se expresó como un aumento de absorbancia a 700 nm. Se utilizó como estándar una solución de ácido ascórbico de 100 ppm. El poder reductor medido en el contenido cecal se expresó como mg AA/g CC, en hígado como mg AA/g proteína y en plasma como mg AA/g proteína.

#### **III.5.2.3. Determinación de sIgA**

El contenido de sIgA secretoria en el contenido cecal se determinó mediante el ensayo de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, del inglés) (BD, Biosciences). Se tomó un placa multi-pocillos y se adicionaron 100 µL de anticuerpo de captura de ratón Balb/c anti-IgA de rata (BD Biosciences, 553913), diluido 1/125 con buffer carbonato-bicarbonato pH 9,6. Luego se incubó a 37°C durante 1 h y posteriormente se dejó reposar overnight a 4°C. Se lavó 3 veces la placa con buffer de lavado (PBS 0,01 mol/L pH 7,3, 0,05% Tween 20) y luego se bloqueó con 200 µL de buffer de bloqueo (PBS 0,01 mol/L pH 7,3, 1% albumina sérica bovina), a temperatura ambiente durante 1 h. Luego, se lavó 3 veces con buffer de lavado y se incubó durante 2 h a temperatura ambiente con 100 µL de estándar (0 - 10 µg/L de sIgA κ de rata, BD Biosciences, 553945) o muestra diluida oportunamente con buffer de bloqueo (1/100 – 1/5000). La placa bloqueada se lavó 3 veces con buffer de lavado y se adicionó el



anticuerpo biotinilado de ratón Balb/c anti-IgA de rata diluido 1/125 con buffer de bloqueo (BD Biosciences, 553912). Se incubó durante 1 h y posteriormente se lavó 6 veces con buffer de lavado. Luego se adicionaron 100  $\mu$ L del anticuerpo Streptavidin-Horseradish Peroxidase diluido 1/1000 con buffer de bloqueo (BD Biosciences, 554066) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 min. Posteriormente, se agregaron 100  $\mu$ L de una mezcla reactiva (6 mL A + 6 mL B, BD Biosciences 555214) y se incubó durante 30 min en oscuridad a temperatura ambiente. La reacción de color fue detenida con el agregado de 50  $\mu$ L de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mol/L y la absorbancia se registró a 450 nm con un lector de placas ASYS UVM 340. Los resultados se expresaron en  $\mu$ g/g CC.

#### III.5.2.4. Determinación de enzimas cecales

Se determinaron las actividades de las enzimas cecales  **$\beta$ -Glucosidasa** y  **$\beta$ -Glucuronidasa** mediante la técnica de Gudiel-Urbano y Goñi (2002) con modificaciones. La misma se basa en la determinación colorimétrica del p-nitrofenol, liberado por acción catalítica de estas enzimas a partir de la utilización del sustrato p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido y del p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucuronido, para la  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa, respectivamente. La reacción consistió en la incubación de una alícuota de 35  $\mu$ l del contenido cecal y 23  $\mu$ l de buffer fosfato 0,1 mol/L (pH 7), con 12  $\mu$ l de una solución 5 mmol/L del sustrato (p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido y p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucuronido, según corresponda), a 37°C durante 10 min (en oscuridad). La reacción se detuvo mediante el agregado de 180  $\mu$ l de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,25 mol/L y se leyó la placa a 400 nm en lector de placas (ASYS UVM 340). Se calculó la actividad de la enzima mediante el uso de una curva de calibrado con p-nitrofenol como estándar y se expresó el resultado en  $\mu$ mol p-nitrofenol/g CC /h.

Para la determinación de **Mucinasas**, se incuban 90  $\mu$ L del homogeneizado del contenido cecal durante 2 min a 30°C y se le añadió 10  $\mu$ L mucina gástrica porcina Tipo III 0,5% (P/P) (Sigma M1778), se incubó nuevamente 25 min a 30°C, y luego se lo colocó en agua hirviendo para detener la acción enzimática (Shiau y Chang, 1983). La liberación de azúcares reductores se midió por el método de Nelson-Somogyi (Nelson, 1944).

#### III.5.2.5. Estudios inmunohistoquímicos

Las muestras de colon distal y proximal en tacos de parafina fueron cortadas con un micrótopo y montadas sobre portaobjetos. Antes de la inmunotinción, las secciones fueron

desparafinadas, rehidratadas, y después se trataron en peróxido de hidrógeno 3 g/100 mL en metanol para inhibir la actividad de la peroxidasa. Luego se hirvieron en un horno microondas en tampón de citrato de sodio 0,01 mol/L (pH 6,0) durante 20 min. Para evitar la tinción de fondo, el suero de bloqueo fue derivado de las mismas especies en las que el anticuerpo secundario había sido planteado. Después de eso, las secciones se incubaron con los siguientes anticuerpos primarios durante la noche a 4°C: antígeno de ratón monoclonal anti-proliferación nuclear de células (anti-PCNA, PC-10) (1:50, Lab Vision Corporation, Bionova Científica SL, Madrid, España), policlonal de conejo anti-COX 2 (1:200) (sc-7951), policlonal de conejo anti-NOS2 (sc-651), policlonal de conejo anti-Cu, ZnSOD (1:200), anti-MnSOD (1:200), anti-CAT (1: 200), anti-GPx-1 (1:200), anti-GR (1:200), anti-NrF2 (1:200), anti-NFκβ (1:200) (Santa Cruz Biotecnología. Quimigen, Madrid, España). Después de lavar con PBS, las secciones se cubrieron durante 30 min a temperatura ambiente con anticuerpos secundarios biotinilados de cabra anti-ratón o cabra anti-conejo (1:400) como (Santa Cruz Biotechnology. Quimigen, Madrid, España). La tinción inmunoquímica se realizó durante 30 min usando peroxidasa de rábano (HRP) conjugado con estreptavidina-biotina (Sigma Aldrich, Madrid, España) y se visualizó mediante incubación con 3, 3'-diaminobencidina (DAB) (Sigma Aldrich, Madrid, España) durante 10 min a temperatura ambiente. Las secciones se contratiñeron con hematoxilina de Harris, se deshidrataron, y se montaron. El color marrón indica inmunotinción proteína específica y el color azul claro indica tinción hematoxilina nuclear.

Para la cuantificación del índice porcentual de PCNA (LI, label index), al menos 20 criptas perpendiculares bien orientadas fueron examinadas en cada animal con microscopía de luz a 400x de aumento. El LI se calculó como el número de núcleos positivos x 100 / número total de células/ altura de la columna de la cripta. La cuantificación de los núcleos positivos para NrF2 y NF-κB se llevaron a cabo en al menos 30 sección transversales de criptas y se calcularon como el número de núcleos positivos x 100 / número total de células por cripta.

La intensidad de la tinción de la expresión de COX-2, iNOS, SOD, CAT, GR y GPx epiteliales fueron evaluados de acuerdo con un sistema de puntuación de inmunohistoquímica semicuantitativa de 0-4 de la siguiente manera: 0, ninguno, 1, equívoca, 2, bajo, 3, moderado, 4 o más, intenso. Se realizó una evaluación adicional en la que las células teñidas se atribuyeron ya sea a los compartimentos basal, medio o luminal de las criptas.

Estos estudios fueron realizados en los laboratorios de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid por la Dra. Elvira López Muñoz.

### III.5.2.6. Determinación de apoptosis de colonocitos

Las células apoptóticas en las secciones del colon se detectaron utilizando el procedimiento de TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling). Las secciones de tejido intestinal después de la desparafinización y rehidratación se permeabilizaron con proteinasa K (20 µg/mL) durante 15 min a 37°C. A continuación, las secciones se inactivaron de la actividad de la peroxidasa endógena utilizando peróxido de hidrógeno 3 g/100 mL durante 10 min. Después de lavar intensamente con PBS, las secciones se incubaron con el buffer de equilibración durante 10 min y luego se añadió la mezcla de reacción de la deoxynucleotidyl transferasa terminal a las secciones, excepto al control negativo, y se incubaron a 37°C durante 1 h. La reacción se detuvo mediante la inmersión de las secciones en tampón de citrato de sodio en solución salina durante 15 min. Los nucleótidos biotinilados incorporados fueron detectados por estreptavidina-HRP (1:500) durante 30 min a temperatura ambiente, y después de repetidos lavados, las secciones fueron incubadas con DAB hasta el desarrollo de color (5-10 min.). Las secciones fueron montadas luego de la deshidratación y contratinción con verde de metilo.

El índice (%) de marcado TUNEL se calculó como el número de células apoptóticas x 100 / número total de células/ altura de la columna de la cripta. Para la cuantificación del índice de % TUNEL se examinaron y contaron, para cada animal, al menos 50 criptas perpendiculares bien orientadas en un aumento de 400x. Estos estudios se realizaron con un microscopio Leica DM LB2 y cámara digital Leica DFC 320 (Leica, Madrid, España).

Estos estudios fueron realizados en los laboratorios de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid por la Dra. Elvira López Muñoz.

### III.5.3. Determinaciones relacionadas con el perfil lipídico

Se determinaron el contenido de triglicéridos y colesterol en suero e hígado utilizando kits enzimáticos: TG Color y Colestat enzimático de Wiener Lab (Rosario, Argentina), respectivamente.

Para **suero**, se tomaron 10 µl y se analizó el contenido de triglicéridos o colesterol mediante el uso del kit correspondiente.

Para la determinación de triglicéridos y colesterol en **hígado** previamente se realizó una extracción del tejido por el método de Folch (1957). Para ello, se pesaron 0,25 g del tejido y se agregaron 5 mL de la mezcla Cloroformo: Metanol (2:1), se extrajo durante 1 min a

10000-15000 rpm con homogeneizador (PRO250-Homogenizer, PRO SCIENTIFIC, USA). Luego se centrifugó durante 30 min a 3000 xg en centrífuga de mesa (Rolco, Argentina). Para el análisis de triglicéridos, se tomó una alícuota de 10  $\mu$ l del sobrenadante que fue analizada con el correspondiente del kit. Para el análisis de colesterol, se tomó una alícuota de 100  $\mu$ l del sobrenadante, se evaporó, se reconstituyó con 10  $\mu$ l de agua destilada y se analizó utilizando el kit correspondiente.

Los resultados de triglicéridos se expresaron en g/L de suero y  $\mu$ mol/g tejido hepático y para colesterol en g/L de suero y mg/g tejido hepático.

### **III.5.4. Determinaciones relacionadas con el estrés oxidativo**

#### **III.5.4.1. Determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico**

Se analizó en suero e hígado la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico y se expresó como malondialdehído (MDA) basándose en los métodos de Buege y Aust (1978) y Yagi (1976), con modificaciones.

Para el análisis en hígado, se pesaron 0,5 g y se agregaron 5 mL de buffer fosfato 30 mM (pH 7,4). Se homogeneizó utilizando un homogeneizador (PRO250-Homogenizer, PRO SCIENTIFIC, USA) durante 1 min a 10000-15000 rpm, en baño de hielo. Luego, el homogenato se centrifugó a 8000 xg utilizando una centrífuga eppendorf (Hermle Z160M, Alemania). Se tomó un alícuota de 900  $\mu$ l del sobrenadante, se agregaron 10  $\mu$ l de una solución de butilhidroxitolueno de 4 g/100mL (BHT) y 900  $\mu$ l de una solución de TCA de 20 g/100mL. Se agitó con vortex y se centrifugó durante 5 min en tubos eppendorf. Del sobrenadante se tomó una alícuota de 900  $\mu$ l a la que se agregaron 900  $\mu$ l de una solución de ácido tiobarbitúrico 0,7 g/100mL (TBA). Se incubó 1 h en baño termostático a ebullición, luego se enfrió en hielo y se midió la formación de las sustancias reactivas al TBA a 535 nm en espectrofotómetro Milton Roy Genesys 5 (Ivyland, EEUU).

En el caso de la determinación del contenido MDA en el suero, se procedió siguiendo la misma técnica y utilizando 900  $\mu$ L de suero.

El contenido de MDA se calculó utilizando la absortividad molar (156 mmol/L.cm<sup>-1</sup>). El resultado se expresó como nmol/100 g proteína.

### III.5.4.2. Determinación de Catalasa (CAT)

Se determinó la actividad de la enzima Catalasa por el método de Aebi (1984). Se preparó un homogenato del hígado en baño de hielo, pesando 0,5 g del tejido, agregando 5 mL de buffer fosfato 50 mmol/L (pH 7-7,4), y utilizando un homogeneizador (PRO250-Homogenizer, PRO SCIENTIFIC, USA) a 10000-15000 rpm durante 1 min. Se centrifugó durante 5 min a 8000 xg en centrífuga eppendorf (Hermle Z160M, Alemania) y se tomó una alícuota del sobrenadante que fue diluida 1/400 con buffer fosfato. En una cubeta de cuarzo se agregaron 2 mL de la dilución de la muestra y 1 mL de una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 mmol/L, se agitó rápidamente invirtiendo, y se midió durante 1 min la disminución de la absorbancia a 240 nm en espectro Milton Roy Genesys 5 (Ivylnd, EEUU) debida a la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub>. Se construyó la curva de la absorbancia vs. tiempo (segundos) en escala logarítmica (log 10) y se calculó la actividad de la Catalasa teniendo en cuenta la pendiente de la recta y la absortividad molar del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,0394 mmol/L.cm<sup>-1</sup>). Los resultados de la actividad se expresaron en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  proteína.

### III.5.4.3. Determinación de la actividad de Glutación reductasa (GR)

Se analizó la actividad de la enzima Glutación reductasa en hígado siguiendo la técnica de Horn (1982), con modificaciones.

Para ello, se preparó un homogenato del hígado en baño de hielo. Se pesaron 0,5 g de hígado, se agregaron 5 mL de buffer fosfato 30 mM (pH 7,4) con EDTA 1 mmol/L y DTT 4 mmol/L y se homogeneizó (PRO250-Homogenizer, PRO SCIENTIFIC, USA) durante 1 min a 10000-15000 rpm. Se centrifugó durante 5 min a 10000 xg en centrífuga eppendorf (Hermle Z160M, Alemania). Posteriormente, en una placa multi-pocillos, se colocaron 100  $\mu\text{L}$  de buffer (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mmol/L y EDTA 3,4 mmol/L, pH 7,6) al que se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de GSSG 30 mmol/L, una alícuota de 20  $\mu\text{L}$  de una dilución previa de la muestra (1/10) y 50  $\mu\text{L}$  de NADPH 0,08 mmol/L. Se midió la reducción del GSSG a GSH por acción de la enzima Glutation Reductasa (GR) durante 5 min, cada 30 s, a 340 nm en lector de placas (ASYS UVM 340). El cálculo de la actividad enzimática se realizó utilizando la pendiente de la curva, la absortividad molar del NADPH (3,732 nmol/mL para un volumen final de 190  $\mu\text{L}$  de reacción en placa de 0,6 cm) y el contenido de proteínas del homogenato. Los resultados se expresaron en nmol NADPH/min/mg proteínas.

#### III.5.4.4. Determinación de la actividad de Glutathion Peroxidasa (GPx)

Se analizó la actividad de la enzima Glutathion Peroxidasa (GPx) en hígado mediante la técnica de Paglia y Valentine (1967) con modificaciones.

El ensayo se realizó sobre el mismo homogenato de la determinación de la enzima glutathion reductasa previamente descrita. Se tomó un alícuota de una dilución de la muestra (1/100), se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de buffer ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,0828 mol/L/ EDTA 8,3 mmol/L, pH 7), luego 20  $\mu\text{L}$  de NADPH 2,8 mmol/L, 10  $\mu\text{L}$  de glutathion reductasa (451 U/mL, diluida 1/25 previamente) (Sigma Aldrich, St.Louis, MO, EEUU), 10  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaN}_3$  75 mmol/L y por último 20  $\mu\text{L}$  de GSH 0,05 mol/L. Posteriormente, se dejó equilibrar a 20°C durante 5 min a 340 nm y la reacción se comenzó con el agregado de 20  $\mu\text{L}$  del sustrato  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,7 mmol/L. Se leyó la absorbancia durante 5 min a 340nm, cada 30 s. El cálculo de la actividad enzimática se realizó utilizando la pendiente de la curva, la absortividad molar del NADPH (4,354 nmol/mL para placa con un volumen final de 200  $\mu\text{L}$  de reacción) y el contenido de proteínas del homogenato. Los resultados se expresaron en nmol NADPH/min/mg proteínas.

#### III.5.4.5. Determinación de los contenidos de GSH y GSSG

Los contenidos de GSH y GSSG en hígados fueron analizados utilizando la técnica fluorométrica de Hissin y Hilf (1976), con modificaciones.

Se preparó un homogenato en baño de hielo. Para ello, se pesaron 0,25 g de hígado y se agregaron 3,75 mL de buffer fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,1 mol/L/EDTA 5 mmol/L, pH 8) y 1 mL de una solución de 25 g/100 mL de  $\text{HPO}_3$ . Se homogeneizó durante 1 min en baño de hielo a una velocidad de 10000-15000 rpm. Se centrifugó durante 10 min a 10000 xg y se utilizó el sobrenadante para determinar GSH y GSSG como se describe a continuación.

Para GSH se colocó en eppendorf una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  del sobrenadante, se agregaron 1,8 mL del buffer fosfato y 100  $\mu\text{L}$  del o-ftalaldehído 1 mg/mL (preparada en el momento). Se dejó reaccionar durante 15 min a temperatura ambiente y se leyó la fluorescencia en cubeta de cuarzo a las longitudes de onda 350 nm (excitación) y 420 nm (emisión).

Para GSSG se colocaron en eppendorf una alícuota de 0,1 mL del sobrenadante, se agregaron 0,04 mL de N-etilmaleimida (NEM) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) que bloquea el GSH de la muestra, y se incubó durante 20 min. Luego se agregaron 0,86 mL de NaOH 0,1 N, se agitó, y se tomaron 200 o 400  $\mu\text{L}$ , dependiendo de la muestra, para hacer reaccionar con 1,7 o 1,5 mL de NaOH 0,1 mol/L y la solución de o-ftalaldehído de 1 mg/mL.

Se incubó a temperatura ambiente durante 15 min y se midió la fluorescencia bajo las mismas condiciones que GSH.

Para el cálculo de la concentración de GSH y GSSG en ( $\mu\text{g/g}$  tejido) se realizó una curva de calibración con los estándares de GSH y GSSG (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA). Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g/g}$  tejido.

### **III.5.5. Determinación del contenido de proteínas**

La determinación del contenido de proteínas tanto del suero como de los homogenatos utilizados en cada ensayo fue realizada por la técnica de Lowry y col. (1951).

### **III.5.6. Determinaciones relacionadas al metabolismo óseo y mineral**

#### **III.5.6.1. Absorción aparente de Ca**

La concentración de Ca de la dieta, las heces y los huesos se determinó utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer Corp., 1971). Se añadió cloruro de lantano (6,5 g/L en la solución final) para evitar interferencias. La concentración de P se midió de acuerdo con el método de Gomori (1942).

La ingesta de alimentos y las heces registradas durante los últimos tres días de la experiencia se utilizaron para calcular la absorción aparente de Ca (% Abs. ap. Ca) (ecuación 11):

$$\% \text{ Abs. ap. Ca} = [(ICa - FCa) / ICa] \times 100 \quad (11)$$

Donde, ICa: Ingesta de Ca, FCa: Ca excretado en las heces.

#### **III.5.6.2. Contenido y densidad mineral ósea**

Se realizaron densitometrías de los animales siguiendo la técnica de Zeni y col. (2002). Se utilizó un escáner total corporal por absorciometría dual de rayos X (DXA) provisto de un software diseñado específicamente para pequeños animales (DPX Alpha Small Animal Software, Lunar Radiación Corp. Madison WI). Todas las ratas fueron escaneadas utilizando el mismo procedimiento de digitalización. La precisión se evaluó mediante la medición de una rata cinco veces con el reposicionamiento entre las exploraciones del mismo

día y en días diferentes. El coeficiente de variación (CV) fue 0,9% para la DMO (densidad mineral ósea) del esqueleto total y 3,0% para CMO (contenido mineral óseo). El análisis de las distintas sub-áreas se llevó a cabo sobre la imagen del animal en la pantalla, usando un retorno de la inversión para cada segmento. El CV DMO fue 2,2% para el fémur. Para reducir al mínimo las variaciones del observador todos los análisis se llevaron a cabo por el mismo técnico.

### **III.5.6.3. Volumen óseo**

La tibia derecha se escindió para el análisis bioquímico. Luego se reseco y se fijó por inmersión en formalina tamponada durante 48 h. Luego se descalcificaron en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (10 g/100 mL, pH 7) durante 25 días y se embebieron en parafina. Una sección de 8 a 10 mm del hueso subcondral orientada longitudinalmente, se obtuvo a nivel del tercio medio, incluyendo la sustancia esponjosa primaria y secundaria. Se tiñeron con hematoxilina-eosina, y por microphotographed (AXIOSKOP, Carl Zeiss) se determinó el volumen óseo (VO%) en la zona central del hueso metafisario que aparece en la imagen digitalizada (Parfitt y col., 1987).

### **III.5.6.4. Estudio de la composición ósea en el Fémur Derecho**

Los fémures se limpiaron de tejido blando adherente, se secaron a 100°C durante 72 h, y se extrajo la grasa por inmersión durante 15 días en una mezcla cloroformo: metanol (3:1), el cual se renovó cada tres días. Por último, los huesos se secaron durante 48 h a 100°C, fueron pesados y se realizó la determinación de cenizas a 700°C hasta color blanco y cristalino. A partir de entonces, se disolvieron en HCl y se diluyeron para el análisis de Ca y P. Los contenidos de Ca y P fueron calculados como el contenido total y el porcentaje contenido en el tejido seco libre de grasa. Además, se calculó la relación Ca/P para el fémur.

## **III.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS**

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el Software Statgraphics Plus 5.1.

### **Réplicas**

Todos los análisis fisicoquímicos se realizaron al menos por duplicado, con la excepción de algunos ensayos donde el número de réplicas fue mayor.



### **Test de normalidad**

Para definir si las variables estudiadas pertenecían a una población normal, se realizó un test de normalidad integrado por: Chi-Cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para Asimetría y Z para Curtosis. El criterio utilizado para definir la normalidad de una población fue que el valor p sea superior o igual a 0,05 en 2 o más de estas pruebas.

### **Comparación de resultados**

Se realizó el test de ANOVA para determinar diferencias significativas entre muestras ( $p < 0,05$ ) y test de LSD (Least Significant Difference) para comparación de a pares al 95% de confianza. También se utilizó ANOVA Multifactor para determinar interacción de variables.

Las poblaciones no normales se analizaron con el test de Kruskal–Wallis al 95% de confianza.

Los datos obtenidos de la tinción inmunohistoquímica semicuantitativa se analizaron comparativamente mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Las comparaciones múltiples se realizaron a través de la descomposición de la interacción mediante la aplicación de la prueba de Tukey. El nivel de significación se fijó en 5% ( $p < 0,05$ ) en todas las pruebas. Los resultados se expresaron como medias con sus errores estándar. Estos análisis estadísticos se realizaron con el Software Statgraphics Plus 5.1.

### **Análisis de componentes principales (PCA)**

Se realizó análisis de componentes principales (PCA) para color, proteínas, relación de molienda, peso hectolítrico, índice de flotación, densidad aparente, volumen aparente y rendimiento (R) a 250°C - 18% H. Se asignó un valor de 1 al SB y de 2 al SR. El propósito del análisis es obtener combinaciones de las variables que expliquen la mayoría de la variabilidad en los datos. El PCA construye una transformación lineal que escoge un nuevo sistema de coordenadas para el conjunto original de datos, en el cual la varianza de mayor tamaño es capturada en el primer eje (Primer Componente Principal), la segunda varianza más grande es el segundo eje, y así sucesivamente. Para construir esta transformación lineal debe construirse primero la matriz de coeficientes de correlación. La transformación que lleva de las antiguas coordenadas a la nueva base es precisamente la transformación lineal necesaria para reducir la dimensionalidad de datos.

### **Diseños experimentales**

Se utilizaron diseños experimentales de superficie de respuesta de tipo factorial según lo descrito en el punto III.3.3.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

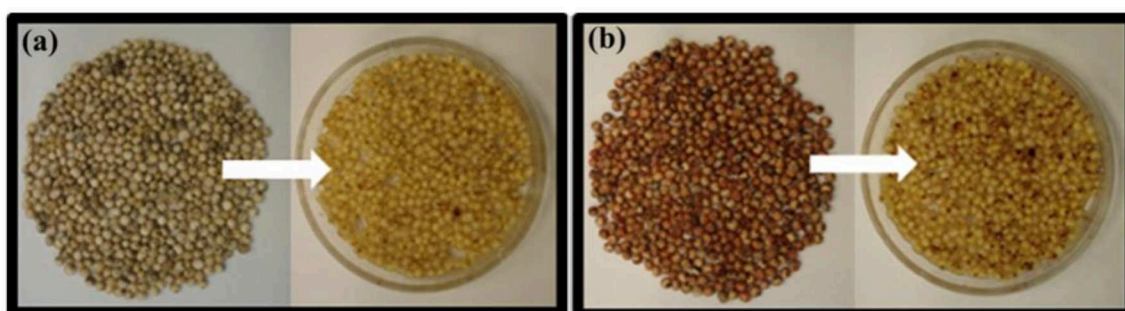
## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### IV.1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS HÍBRIDOS DE SORGO

#### IV.1.1. Características químicas de los sorgos

##### IV.1.1.1. Clasificación de los sorgos según contenido de taninos

El análisis de la presencia de taninos, de acuerdo al nuevo estándar de comercialización de sorgo (Resolución 554/2011 Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria), permitió clasificar a todas las muestra de sorgo utilizada para este estudio, como baja en tanino o sin taninos condensados, ya que más del 95% de los granos tomaron una coloración blanca cremosa luego del tratamiento de blanqueo (Figuras IV.1.1).



**Figura IV.1.1:** Sorgo blanco nativo y posterior al blanqueo (a). Sorgo rojo nativo y posterior al blanqueo (b).

##### IV.1.1.2. Composición química de los sorgos

Se evaluaron las características químicas de 28 híbridos de sorgos, 14 de ellos blancos (SB) y 14 rojos (SR). Los resultados obtenidos de la composición de los híbridos de sorgo analizados se presentan en la Tabla IV.1.1, incluyendo proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), polifenoles totales (PFT), polifenoles libres (PF Lib), polifenoles ligados (PF Lig) y ácido fítico (AF). Además, se evaluó el contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P) para cada uno de los híbridos y los resultados se presentan en la Tabla IV.1.2. Todos los resultados se expresaron en base seca y la humedad de los granos varió de 11,0 a 15,8%.

Los valores de **PR**, **EE**, **CZ**, **minerales** y **PF** se hallaron dentro de los rangos

publicados en la bibliografía (FAO, 1995, Dicko y col., 2006, Ragaee y col., 2006). La composición química y el valor nutricional del sorgo pueden ser afectados por factores tales como el genotipo, el clima, tipo de suelo y fertilización (Ebadi y col., 2005). Para ambos tipos de sorgo, el contenido de PF Lig fue mayor que el de PF Lib, ya que en sorgos, los ácidos fenólicos se presentan en su mayoría en forma ligada (Awadelkareem y col., 2009).

Para realizar los análisis estadísticos de cada componente químico es necesario saber si se trata de poblaciones con distribución normal. En la Tabla IV.1.1 se presentan los resultados de varios test ejecutados para definir si los resultados siguen una distribución normal. El test Chi-Cuadrado divide el rango en 15 clases igualmente probables y compara el número de observaciones en cada clase con el número esperado. El test de Shapiro-Wilks se basa en la comparación de los cuantiles de la distribución normal ajustada con los cuantiles de los datos. El test de Asimetría Estandarizada busca la falta de simetría en los datos. El test de Curtosis Estandarizada busca si la forma distribucional es más plana o más puntiaguda que la distribución normal.

**Tabla IV.1.1:** Valores de p para Chi-cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para asimetría y Z para Curtosis para proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), PFT (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig) y ácido fítico (AF) y minerales (Fe: Hierro, Zn: Zinc, Ca: Calcio, Cu: Cobre, K: Potasio, Mg: Magnesio, Na: Sodio y P: Fósforo).

| Determinación | Chi-Cuadrado  | W de Shapiro-Wilks | Z para Asimetría | Z para Curtosis |
|---------------|---------------|--------------------|------------------|-----------------|
| PR            | 0,2493        | 0,2411             | 0,3370           | 0,8050          |
| EE            | 0,6597        | 0,8222             | 0,8144           | 0,2836          |
| CZ            | 0,1496        | 0,5259             | 0,6155           | 0,7753          |
| PFT           | <b>0,0020</b> | <b>0,0037</b>      | 0,0659           | 0,1663          |
| PF Lib        | <b>0,0009</b> | <b>0,0002</b>      | 0,2532           | <b>0,0432</b>   |
| PF Lig        | <b>0,0463</b> | <b>0,0039</b>      | 0,0513           | 0,0850          |
| AF            | 0,9010        | 0,3205             | 0,1974           | 0,1923          |
| Fe            | 0,2493        | 0,1625             | 0,6135           | 0,0774          |
| Zn            | 0,9807        | 0,9086             | 0,9358           | 0,5139          |
| Ca            | <b>0,0174</b> | 0,0650             | 0,2413           | 0,8960          |
| Cu            | <b>0,0337</b> | 0,2167             | 0,5683           | 0,2299          |
| K             | 0,6597        | 0,8878             | 0,9989           | 0,3953          |
| Mg            | 0,8331        | 0,8646             | 0,9124           | 0,9342          |
| Na            | 0,7508        | 0,9281             | 0,6468           | 0,4516          |
| P             | 0,1496        | 0,0912             | 0,6870           | 0,0213          |

Dado que el valor  $p$  para este test de normalidad (Chi-Cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para Asimetría y Z para Curtosis), es superior o igual a 0,05 en 2 o más de ellos, para PR, EE, CZ, AF, Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P se acepta que proceden de una distribución normal con un nivel de confianza de al menos el 95%. Para estas determinaciones se realizó un análisis de ANOVA para evaluar si existe diferencia entre las muestras que proceden de SB y SR (Tabla IV.1.2).

**Tabla IV.1.2:** Resultados de ANOVA para proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), ácido fítico (AF), Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P, evaluando el efecto del color.

| <b>Determinación</b> | <b>p*</b>     |
|----------------------|---------------|
| <b>PR</b>            | 0,1734        |
| <b>EE</b>            | 0,8166        |
| <b>CZ</b>            | 0,1196        |
| <b>AF</b>            | <b>0,0004</b> |
| <b>Fe</b>            | <b>0,0003</b> |
| <b>Zn</b>            | <b>0,0281</b> |
| <b>Ca</b>            | 0,4992        |
| <b>Cu</b>            | <b>0,0215</b> |
| <b>K</b>             | 0,5140        |
| <b>Mg</b>            | 0,4620        |
| <b>Na</b>            | <b>0,0023</b> |
| <b>P</b>             | <b>0,0021</b> |

\*diferencias significativas  $p < 0,05$

En el análisis de ANOVA se observa que para PR, EE, CZ, Ca, K y Mg no existe diferencia estadísticamente significativa entre las determinaciones químicas de sorgos de distinto color ( $p > 0,05$ ) (Tabla IV.1.2) y los valores medios correspondientes se presentan en la Tablas IV.1.3 y Tabla IV.1.4. Por el contrario, los contenidos de AF, Fe, Zn, Cu, Na y P difieren significativamente entre los SB y los SR (Tabla IV.1.2) y las medias correspondientes a cada población, acorde al color, se presentan en la Tablas IV.1.3 y Tabla IV.1.4. Se observó que tales valores fueron mayores en SB para Fe, Zn y Na, y en SR para AF, Cu y P.

**Tabla IV.1.3:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE) y cenizas (CZ), polifenoles totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig) y ácido fítico (AF) de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| HIBRIDOS                          | PR<br>(g/ 100 g) | EE<br>(g/ 100 g) | CZ<br>(g/ 100 g) | PFT<br>(mg AG/ 100 g)             | PF Lib<br>(mg AG/ 100g)         | PF Lig<br>(mg AG/ 100g)           | AF<br>(mg/100 g)                   |
|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| SB1                               | 11,9             | 3,1              | 1,7              | 689,1                             | 110,6                           | 578,4                             | 928,1                              |
| SB2                               | 11,1             | 3,1              | 1,8              | 664,9                             | 112,7                           | 552,2                             | 918,1                              |
| SB3                               | 9,9              | 3,3              | 1,5              | 674,4                             | 106,6                           | 567,7                             | 869,1                              |
| SB4                               | 11,4             | 3,0              | 1,6              | 697,6                             | 103,0                           | 594,5                             | 877,0                              |
| SB5                               | 11,1             | 3,0              | 1,5              | 669,9                             | 101,8                           | 567,2                             | 850,9                              |
| SB6                               | 10,7             | 3,0              | 1,3              | 676,2                             | 112,7                           | 563,5                             | 881,9                              |
| SB7                               | 9,8              | 3,1              | 1,5              | 517,4                             | 108,7                           | 408,7                             | 960,2                              |
| SB8                               | 10,4             | 2,9              | 1,2              | 949,7                             | 171,2                           | 778,5                             | 1017,4                             |
| SB9                               | 9,8              | 2,7              | 1,2              | 595,5                             | 118,6                           | 476,9                             | 739,7                              |
| SB10                              | 10,7             | 3,4              | 1,3              | 665,6                             | 101,3                           | 564,2                             | 953,9                              |
| SB11                              | 8,5              | 2,8              | 1,2              | 1051,8                            | 157,4                           | 894,4                             | 1008,4                             |
| SB12                              | 9,1              | 3,0              | 1,2              | 991,5                             | 179,8                           | 811,7                             | 829,1                              |
| SB13                              | 9,5              | 3,1              | 1,5              | 954,2                             | 180,6                           | 773,6                             | 843,3                              |
| SB14                              | 10,9             | 2,8              | 1,2              | 627,9                             | 112,4                           | 515,5                             | 968,3                              |
| <b>Promedio ± DE*<sup>#</sup></b> |                  |                  |                  | <b>675,3 ± 166,9<sup>a#</sup></b> | <b>112,6 ± 50,8<sup>#</sup></b> | <b>567,5 ± 221,4<sup>a#</sup></b> | <b>903,24 ± 76,40<sup>a*</sup></b> |
| SR1                               | 10,7             | 3,0              | 1,8              | 1131,9                            | 189,5                           | 942,4                             | 934,9                              |
| SR2                               | 10,1             | 2,8              | 1,5              | 739,1                             | 131,5                           | 607,6                             | 1050,3                             |
| SR3                               | 11,8             | 3,0              | 1,2              | 1303,1                            | 198,6                           | 1104,5                            | 1255,8                             |
| SR4                               | 11,0             | 3,0              | 1,1              | 1018,8                            | 150,9                           | 867,8                             | 1096,6                             |
| SR5                               | 9,9              | 2,9              | 1,5              | 704,7                             | 107,8                           | 596,9                             | 1086,4                             |
| SR6                               | 11,2             | 3,1              | 1,6              | 740,7                             | 120,7                           | 620,0                             | 985,8                              |
| SR7                               | 10,7             | 3,0              | 1,6              | 1605,6                            | 201,3                           | 1404,4                            | 1049,3                             |
| SR8                               | 9,9              | 2,9              | 1,5              | 990,8                             | 134,7                           | 856,1                             | 988,5                              |

RESULTADOS Y DISCUSION

|                                   |                   |                  |                  |                                   |                                  |                                   |                                      |
|-----------------------------------|-------------------|------------------|------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|
| <b>SR9</b>                        | 11,5              | 3,2              | 1,4              | 776,5                             | 127,8                            | 648,7                             | 1063,4                               |
| <b>SR10</b>                       | 11,2              | 2,9              | 1,5              | 701,4                             | 105,0                            | 596,4                             | 1134,6                               |
| <b>SR11</b>                       | 11,4              | 3,2              | 1,5              | 820,4                             | 107,8                            | 712,6                             | 1095,4                               |
| <b>SR12</b>                       | 9,1               | 3,0              | 2,0              | 829,7                             | 123,1                            | 706,6                             | 927,4                                |
| <b>SR13</b>                       | 11,1              | 3,0              | 1,5              | 1421,3                            | 197,2                            | 1224,2                            | 1337,0                               |
| <b>SR14</b>                       | 11,0              | 3,0              | 1,7              | 1073,2                            | 195,7                            | 877,5                             | 876,4                                |
| <b>Promedio ± DE*<sup>#</sup></b> |                   |                  |                  | <b>910,2 ± 288,3<sup>b#</sup></b> | <b>133,1 ± 75,0<sup>b#</sup></b> | <b>784,4 ± 322,5<sup>b#</sup></b> | <b>1062,99 ± 124,52<sup>b*</sup></b> |
| <b>Media ± DE</b>                 | <b>10,5 ± 0,9</b> | <b>3,0 ± 0,1</b> | <b>1,5 ± 0,2</b> |                                   |                                  |                                   |                                      |

En cada análisis se calculó el CV y fue menor a 5%. Los resultados se expresaron en base seca.

\*Media ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

<sup>#</sup>Mediana ± IR. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

**Tabla IV.1.4:** Contenido de minerales totales (Fe: Hierro, Zn: Zinc, Ca: Calcio, Cu: Cobre, K: Potasio, Mg: Magnesio, Na: Sodio y P: Fósforo) en mg/kg (ppm) en base seca, de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| <b>HIBRIDOS</b> | <b>Fe (ppm)</b> | <b>Zn (ppm)</b> | <b>Ca (ppm)</b> | <b>Cu (ppm)</b> | <b>K (ppm)</b>   | <b>Mg (ppm)</b> | <b>Na (ppm)</b> | <b>P (ppm)</b>   |
|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| <b>SB1</b>      | 30,41 ± 0,01    | 15,38 ± 0,31    | 117,33 ± 0,08   | 2,83 ± 0,00     | 4115,18 ± 9,79   | 1548,65 ± 16,39 | 179,75 ± 0,91   | 3396,54 ± 125,26 |
| <b>SB2</b>      | 22,42 ± 0,12    | 17,72 ± 0,11    | 110,56 ± 0,09   | 3,48 ± 0,00     | 4240,92 ± 6,24   | 2090,65 ± 14,98 | 189,71 ± 0,92   | 3995,13 ± 99,68  |
| <b>SB3</b>      | 25,86 ± 0,23    | 16,40 ± 0,21    | 110,03 ± 0,01   | 2,92 ± 0,01     | 3894,73 ± 3,13   | 1887,66 ± 14,47 | 165,96 ± 0,64   | 3788,85 ± 174,94 |
| <b>SB4</b>      | 26,91 ± 0,07    | 16,69 ± 0,14    | 115,06 ± 0,06   | 3,36 ± 0,01     | 4254,08 ± 1,59   | 1548,65 ± 16,39 | 179,75 ± 0,91   | 3385,52 ± 124,86 |
| <b>SB5</b>      | 24,71 ± 0,06    | 14,41 ± 0,34    | 130,90 ± 1,43   | 2,95 ± 0,01     | 4098,95 ± 295,70 | 2079,72 ± 0,81  | 159,29 ± 2,37   | 2849,25 ± 86,88  |
| <b>SB6</b>      | 29,03 ± 0,33    | 11,23 ± 0,02    | 146,62 ± 1,90   | 3,32 ± 0,10     | 2935,71 ± 25,02  | 1874,28 ± 17,28 | 250,97 ± 1,35   | 2945,95 ± 94,87  |
| <b>SB7</b>      | 25,37 ± 1,84    | 19,10 ± 1,52    | 106,69 ± 0,73   | 2,58 ± 0,01     | 3707,92 ± 33,28  | 2057,52 ± 68,87 | 189,97 ± 2,40   | 3148,56 ± 61,66  |
| <b>SB8</b>      | 28,67 ± 0,80    | 20,31 ± 0,00    | 145,91 ± 8,36   | 4,85 ± 0,10     | 3531,55 ± 6,63   | 2037,1 ± 57,68  | 180,00 ± 1,49   | 3433,40 ± 136,11 |
| <b>SB9</b>      | 32,26 ± 0,32    | 17,01 ± 0,62    | 139,90 ± 3,02   | 2,37 ± 0,06     | 4352,87 ± 27,55  | 1815,25 ± 35,80 | 232,96 ± 9,14   | 3153,15 ± 78,33  |
| <b>SB10</b>     | 27,57 ± 0,53    | 22,65 ± 1,56    | 132,34 ± 0,90   | 3,09 ± 0,16     | 4137,17 ± 55,38  | 2321,00 ± 47,55 | 299,39 ± 19,73  | 3526,01 ± 145,56 |

RESULTADOS Y DISCUSION

|                   |                                 |                                 |                       |                                |                         |                         |                                   |                                     |
|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| <b>SB11</b>       | 29,63 ± 0,84                    | 20,43 ± 0,64                    | 131,65 ± 1,90         | 4,16 ± 0,08                    | 4091,15 ± 34,75         | 1925,40 ± 14,38         | 214,71 ± 0,61                     | 3177,18 ± 43,52                     |
| <b>SB12</b>       | 23,99 ± 1,91                    | 18,63 ± 0,09                    | 159,80 ± 0,86         | 2,26 ± 0,01                    | 3611,92 ± 43,18         | 1777,67 ± 116,70        | 220,59 ± 1,58                     | 2904,59 ± 78,24                     |
| <b>SB13</b>       | 26,28 ± 0,86                    | 17,93 ± 0,67                    | 111,46 ± 0,95         | 2,70 ± 0,06                    | 3739,03 ± 177,76        | 1954,93 ± 18,22         | 241,15 ± 11,27                    | 3032,78 ± 43,13                     |
| <b>SB14</b>       | 30,52 ± 0,29                    | 17,27 ± 0,12                    | 95,02 ± 3,86          | 2,84 ± 0,17                    | 3378,91 ± 253,79        | 1803,74 ± 43,27         | 270,63 ± 11,56                    | 3183,60 ± 62,82                     |
| <b>Media ± DE</b> | <b>27,40 ± 2,82<sup>b</sup></b> | <b>18,30 ± 2,43<sup>b</sup></b> |                       | <b>3,12 ± 0,70<sup>a</sup></b> |                         |                         | <b>212,49 ± 42,01<sup>b</sup></b> | <b>3280,04 ± 331,84<sup>a</sup></b> |
| <b>SR1</b>        | 21,99 ± 0,11                    | 15,17 ± 0,24                    | 112,31 ± 5,59         | 4,61 ± 0,02                    | 4053,79 ± 7,11          | 1849,59 ± 27,97         | 171,68 ± 0,33                     | 2979,58 ± 33,04                     |
| <b>SR2</b>        | 21,7 ± 0,04                     | 15,92 ± 0,39                    | 107,76 ± 0,27         | 4,00 ± 0,00                    | 3546,12 ± 49,83         | 1793,59 ± 26,55         | 201,75 ± 0,85                     | 3492,98 ± 57,14                     |
| <b>SR3</b>        | 19,78 ± 0,10                    | 12,51 ± 0,20                    | 121,94 ± 0,06         | 2,83 ± 0,01                    | 3002,94 ± 3,22          | 1626,81 ± 23,85         | 189,89 ± 0,30                     | 4267,12 ± 119,97                    |
| <b>SR4</b>        | 22,24 ± 0,19                    | 14,54 ± 0,17                    | 109,83 ± 0,19         | 4,72 ± 0,01                    | 4563,91 ± 31,79         | 2179,43 ± 39,85         | 140,61 ± 0,38                     | 3922,23 ± 158,43                    |
| <b>SR5</b>        | 26,87 ± 0,05                    | 15,87 ± 0,37                    | 135,57 ± 0,06         | 4,02 ± 0,01                    | 3252,27 ± 8,20          | 1964,97 ± 85,32         | 176,15 ± 2,14                     | 4203,58 ± 66,03                     |
| <b>SR6</b>        | 21,19 ± 0,02                    | 18,60 ± 0,57                    | 126,77 ± 0,03         | 3,92 ± 0,02                    | 3889,69 ± 5,70          | 2028,75 ± 30,40         | 194,42 ± 1,07                     | 4051,67 ± 92,53                     |
| <b>SR7</b>        | 27,04 ± 0,09                    | 18,37 ± 0,81                    | 132,77 ± 0,15         | 2,79 ± 0,02                    | 3846,89 ± 8,87          | 1688,36 ± 6,31          | 219,83 ± 1,04                     | 3361,52 ± 101,83                    |
| <b>SR8</b>        | 20,91 ± 0,02                    | 16,57 ± 0,53                    | 116,17 ± 0,18         | 2,85 ± 0,01                    | 4226,10 ± 13,77         | 2390,17 ± 1,15          | 127,38 ± 1,59                     | 4171,41 ± 193,50                    |
| <b>SR9</b>        | 23,01 ± 0,01                    | 19,80 ± 0,59                    | 111,38 ± 0,22         | 4,20 ± 0,02                    | 5093,48 ± 8,75          | 2388,72 ± 2,64          | 133,56 ± 0,21                     | 4148,30 ± 125,50                    |
| <b>SR10</b>       | 22,07 ± 0,01                    | 18,04 ± 0,48                    | 110,69 ± 0,17         | 3,92 ± 0,02                    | 3968,18 ± 7,30          | 2116,82 ± 72,45         | 182,03 ± 3,22                     | 4377,38 ± 16,96                     |
| <b>SR11</b>       | 21,95 ± 0,16                    | 16,64 ± 0,20                    | 113,52 ± 0,14         | 3,95 ± 0,01                    | 4419,92 ± 10,81         | 2184,93 ± 5,90          | 87,54 ± 0,07                      | 3842,24 ± 83,06                     |
| <b>SR12</b>       | 23,86 ± 0,14                    | 17,51 ± 0,95                    | 117,41 ± 0,05         | 3,24 ± 0,01                    | 3750,08 ± 4,08          | 1812,92 ± 15,35         | 175,22 ± 2,67                     | 3564,66 ± 82,08                     |
| <b>SR13</b>       | 21,45 ± 0,06                    | 11,68 ± 0,38                    | 122,37 ± 0,26         | 3,83 ± 0,01                    | 4326,11 ± 6,96          | 1990,54 ± 62,25         | 115,73 ± 2,05                     | 3762,98 ± 113,19                    |
| <b>SR14</b>       | 28,83 ± 1,87                    | 16,01 ± 0,25                    | 156,25 ± 2,95         | 3,42 ± 0,03                    | 3708,00 ± 248,04        | 1856,74 ± 62,28         | 151,42 ± 12,12                    | 2991,40 ± 112,93                    |
| <b>Media ± DE</b> | <b>23,06 ± 2,65<sup>a</sup></b> | <b>16,23 ± 2,27<sup>a</sup></b> |                       | <b>3,73 ± 0,62<sup>b</sup></b> |                         |                         | <b>161,94 ± 37,09<sup>a</sup></b> | <b>3795,50 ± 457,73<sup>b</sup></b> |
| <b>Media ± DE</b> |                                 |                                 | <b>123,14 ± 15,98</b> |                                | <b>3915,18 ± 471,96</b> | <b>1938,44 ± 208,82</b> |                                   |                                     |

En cada análisis se calculó el CV y fue menor a 5%. Media ± DE.  
 Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p < 0,05).



En el caso de PFT, PF Lib y PF Lig, al no proceder de una población con distribución normal (Tabla IV.1.1) se realizó el test de Kruskal-Wallis para evaluar el efecto del color (Tabla IV.1.5).

**Tabla IV.1.5:** Valores p para el test de Kruskal-Wallis para (PFT), PF Libres (PF Lib) y PF Ligados (PF Lig) según color.

| <b>Determinación</b> | <b>p</b>      |
|----------------------|---------------|
| <b>PFT</b>           | <b>0,0021</b> |
| <b>PF Lib</b>        | <b>0,0481</b> |
| <b>PF Lig</b>        | <b>0,0021</b> |

En los tres casos existió diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0% entre los SB y los SR, siendo mayor el contenido de PFT, Lib y Lig en SR (Tabla IV.1.3).

En cereales, los fenoles se presentan en forma soluble e insoluble o ligada. En el primer grupo están los fenoles libres, glucosilados y esterificados que se ubican en mayor cantidad en las capas periféricas de los granos (pericarpio, testa y células de aleurona), mientras que su concentración es menor en el endospermo (Yu y col., 2001). Respecto al contenido de PF Lib, se observó que los SR presentaron mayor contenido que los SB. Waniska y col. (1989) también reportaron un mayor contenido de ácidos fenólicos libres en ciertos sorgos con testa pigmentada en comparación con los que no la tienen pigmentada. Se observó que para ambos tipos de sorgos el contenido de PF Lig fue mayor que el de PF Lib (Tabla IV.1.3). En sorgos y otro cereales, Awadelkareem y col. (2009), Hahn y col. (1983) y Adom y Liu (2002) informaron que los ácidos fenólicos existen en su mayoría en forma ligada.

#### **IV.1.2. Características físicas de los sorgos**

En la Tabla IV.1.6 se presentan los resultados de las características físicas de los híbridos de sorgos analizados, mostrándose la media para poblaciones normales y la mediana para poblaciones no normales, de acuerdo a los resultados de los test ejecutados para definir si las determinaciones realizadas siguen una distribución normal (Tabla IV.1.7). Dado que el valor p para este test de normalidad (que incluye Chi-Cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para Asimetría y Z para Curtosis) fue superior o igual a 0,05 en 2 o más de ellos, para RM y DA se aceptó que estas resultados proceden de una distribución normal con un nivel de confianza del

95%. En el caso de PH y %F, se hallaron valores de p inferiores a 0,05, por lo cual se rechaza que proceden de una distribución normal.

**Tabla IV.1.6:** Características físicas. Relación de molienda (RM), Peso Hectolítico (PH), Porcentaje de Flotación (%F) y Densidad Aparente (DA) de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Híbrido             | RM               | PH (kg/hL)                    | %F                 | DA(g/mL)         |
|---------------------|------------------|-------------------------------|--------------------|------------------|
| SB1                 | 6,2              | 81,2                          | 8,0                | 1,5              |
| SB2                 | 3,7              | 80,7                          | 13,0               | 1,4              |
| SB3                 | 5,0              | 80,8                          | 2,0                | 1,4              |
| SB4                 | 4,3              | 80,3                          | 5,0                | 1,7              |
| SB5                 | 4,7              | 81,1                          | 7,0                | 1,3              |
| SB6                 | 4,0              | 78,7                          | 1,0                | 1,3              |
| SB7                 | 3,2              | 73,0                          | 16,0               | 1,2              |
| SB8                 | 2,9              | 78,9                          | 10,0               | 1,2              |
| SB9                 | 2,4              | 78,7                          | 19,0               | 1,1              |
| SB10                | 3,2              | 80,0                          | 7,0                | 1,2              |
| SB11                | 1,7              | 73,2                          | 58,0               | 1,1              |
| SB12                | 1,8              | 73,3                          | 59,0               | 1,0              |
| SB13                | 4,2              | 71,8                          | 4,0                | 1,1              |
| <b>Mediana ± DE</b> |                  | <b>78,9 ± 3,6<sup>a</sup></b> |                    |                  |
| SR1                 | 4,2              | 81,6                          | 4,0                | 1,3              |
| SR2                 | 3,4              | 79,4                          | 10,0               | 1,3              |
| SR3                 | 5,3              | 81,9                          | 0,0                | 1,5              |
| SR4                 | 4,5              | 81,3                          | 0,0                | 1,6              |
| SR5                 | 5,2              | 82,0                          | 4,0                | 1,5              |
| SR6                 | 5,4              | 80,3                          | 9,0                | 1,4              |
| SR7                 | 4,0              | 81,0                          | 3,0                | 1,4              |
| SR8                 | 3,8              | 80,3                          | 8,0                | 1,3              |
| SR9                 | 4,2              | 80,4                          | 10,0               | 1,3              |
| SR10                | 3,9              | 80,9                          | 6,0                | 1,3              |
| SR11                | 4,0              | 80,3                          | 8,0                | 1,4              |
| SR12                | 2,8              | 80,2                          | 13,0               | 1,4              |
| SR13                | 4,0              | 80,5                          | 8,0                | 1,4              |
| SR14                | 6,0              | 81,0                          | 5,0                | 1,3              |
| <b>Mediana ± DE</b> |                  | <b>80,7 ± 0,7<sup>b</sup></b> |                    |                  |
| <b>Media ± DE</b>   | <b>4,0 ± 1,1</b> |                               | <b>11,0 ± 14,4</b> | <b>1,3 ± 0,2</b> |
| <b>Rango</b>        | <b>1,7-6,2</b>   | <b>71,8-82,0</b>              | <b>0,0-59</b>      | <b>1,0-1,7</b>   |

En cada análisis se calculó el CV y fue menor a 5%. Media ± DE. Mediana ± DE. Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

**Tabla IV.1.7:** Valores de p para Chi-cuadrado, W de Shapiro-Wilks, Z para asimetría y Z para Curtosis para RM, PH, %F y DA.

| <b>Determinaciones</b> | <b>Chi-Cuadrado</b> | <b>W de Shapiro-Wilks</b> | <b>Z para Asimetría</b> | <b>Z para Curtosis</b> |
|------------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------|
| <b>RM</b>              | 0,8225              | 0,7611                    | 0,8507                  | 0,8357                 |
| <b>PH</b>              | <b>0,0001</b>       | <b>0,0000</b>             | <b>0,0163</b>           | 0,0679                 |
| <b>%F</b>              | <b>0,0001</b>       | <b>0,0000</b>             | <b>0,0011</b>           | <b>0,0002</b>          |
| <b>DA</b>              | 0,7363              | 0,8454                    | 0,7684                  | 0,3882                 |

Para RM y DA se realizó un ANOVA (Tabla IV.1.8) que mostró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los SB y los SR ( $p > 0,05$ ).

**Tabla IV.1.8:** Resultados de ANOVA para RM y DA evaluando el efecto del color.

| <b>Determinaciones</b> | <b>p</b> |
|------------------------|----------|
| <b>RM</b>              | 0,1152   |
| <b>DA</b>              | 0,0583   |

\*diferencias significativas  $p < 0,05$

En el caso del PH y %F al no proceder de una distribución normal, se realizó el test de Kruskal-Wallis para evaluar el efecto del color (Tabla IV.1.9), observándose que en el caso del PH existió diferencia estadísticamente significativa entre las medianas a un nivel de confianza del 95,0% entre los SB y SR, siendo mayor en SR (Tabla IV.1.6). Para %F no hubo diferencias significativas por el color de los sorgos ( $p > 0,05$ ).

**Tabla IV.1.9:** Valores de p para el test de Kruskal-Wallis PH y %F evaluando el efecto del color.

| <b>Determinaciones</b> | <b>p</b>      |
|------------------------|---------------|
| <b>PH</b>              | <b>0,0107</b> |
| <b>%F</b>              | 0,1969        |

Por otra parte, la RM mostró un promedio de 4,0 con valores entre 1,7 y 6,2, que son superiores a los obtenidos por Montiel y col. (2011), quienes analizaron 14 híbridos de sorgo y encontraron un promedio de 2,0 y un rango de 1,4 - 3,2. Los granos con una mayor RM son más duros (ricos en endospermo vítreo) y producen un mayor tamaño de partícula respecto a los granos más blandos (Chandrashekar y Kirleis, 1988).

Los valores obtenidos para DA (media:  $1,33 \pm 0,15$  g/mL, rango: 1,01 - 1,72 g/mL) fueron similares a los hallados por Montiel (media:  $1,31 \pm 0,16$  g/mL, rango: 1,10 a 1,64 g/mL).

Respecto al PH, los valores observados para SB y SR variaron en un rango de 71,84 a 82,00 kg/hL (Tabla IV.1.6), similares a los publicados por Montiel (media:  $78,40 \pm 2,07$  kg/hL, rango: 74,00- 80,08 kg/hL).

Otro de los estimadores de la dureza de los granos es la flotabilidad (Eyherabide y col., 1996, Jambunathan y col., 1992), donde se mide el porcentaje de granos que flotan en una solución de densidad conocida. Los valores observados para %F variaron entre 0 y 59 %, mientras que Montiel y col. (2011) reportaron un rango de 12 - 47%, y Jambunathan y col. (1992), entre 40 y 100%. El porcentaje de granos de sorgo que flotan es menor cuando poseen altas proporciones de endospermo vítreo (Jambunathan y col., 1992), es decir que a menor flotación, más duros son los granos (Robutti, 1995).

#### IV.1.3. Conclusiones Parciales

- Los 28 híbridos de sorgo analizados se clasificaron como bajos en taninos o sin taninos condensados, con lo cual son aptos para consumo humano.
- Los sorgos analizados presentaron una composición similar a la informada en otras investigaciones respecto a PR, EE, CZ, PFT, PF Lib, PF Lig, AF y minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P).
- Se observó que PR, EE, CZ, AF, Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P presentaron distribución normal. Además, el contenido de Fe, Zn, Na, AF, Cu, y P presentaron diferencias estadísticamente significativas acorde a si procedían de SB o SR, siendo los 3 primeros mayores en SB.
- No presentaron distribución normal: PFT, PF Lib y PF Lig y además presentaron diferencias si provenían de SB o SR. Al analizar sus medianas, todas fueron mayores para los SR, ya que los sorgos con testa pigmentada poseen más PF. Los contenidos de PF Lig fueron, en todos los casos, mayores a PF Lib.
- Los valores hallados de RM, DA, PH y %F estuvieron dentro de los rangos informados en la bibliografía.
- Respecto a las propiedades físicas, sólo presentaron distribución normal RM y DA, y no difirieron con el color de los híbridos. El PH y %F no presentaron una distribución normal y el primero presentó diferencia acorde al color del híbrido, siendo mayor en SR.

- Si bien mayores valores de RM, PH y DA y menores de %F se relacionan con mayor dureza de los granos, en base a estos parámetros no se ha podido establecer una relación clara indicadora de la dureza de los híbridos analizados.

## IV.2. ESTUDIO DEL PROCESO DE POPEADO DE SORGOS

### IV.2.1. Elección de las condiciones del proceso de popeado

Como fue descrito en el Punto III.2.2, en una variedad de SB y una variedad de SR se ensayaron las siguientes condiciones de proceso: temperaturas de popeado: 230, 250, 270°C y humedad: 12,5 y 15,5% (Ensayo 1). Considerando el volumen adquirido por los expandidos, atributo más importante de los popeados (Dofing y col., 1990, Ziegler, 2001, Ceylan y Karababa, 2002, Shimoni y col., 2002), y la capacidad del equipo de mantener una T estable, se fijó la T para realizar los ensayos en 250°C. Luego se ensayaron las siguientes humedades 12, 14, 16, 18 y 20%, trabajando a 250°C (Ensayo 2) (Tabla IV.2.1).

A partir de los resultados del Ensayo 2 y con el criterio de elección del mayor volumen adquirido por los expandidos, las condiciones definidas a utilizar para el popeado de los 28 híbridos de sorgo en lecho fluidizado fueron: H de los granos: 14 y 18% y temperatura de popeado: 250°C, tiempo: 1 min.

**Tabla IV.2.1:** Ensayos para la elección de las condiciones de popeado.

| ENSAYOS  | TEMPERATURA<br>(°C) | HUMEDAD<br>(%) | SB<br>VA (cm <sup>3</sup> /g) | SR<br>VA (cm <sup>3</sup> /g) |
|----------|---------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Ensayo 1 | 230                 | 12,5           | 5,9                           | 6,8                           |
|          |                     | 15,5           | 6,9                           | 8,8                           |
|          | 250                 | 12,5           | 6,2                           | 6,4                           |
|          |                     | 15,5           | 7,0                           | 9,4                           |
|          | 270                 | 12,5           | 5,7                           | 4,9                           |
|          |                     | 15,5           | 7,0                           | 9,7                           |
| Ensayo 2 | 250                 | 12,0           | 10,2                          | 6,9                           |
|          |                     | 14,0           | 13,3                          | 15,5                          |
|          |                     | 16,0           | 12,6                          | 15,1                          |
|          |                     | 18,0           | 14,4                          | 15,7                          |
|          |                     | 20,0           | 12,1                          | 13,1                          |

### IV.2.2. Popeado de los granos de sorgo

Utilizando las condiciones previamente definidas, se popearon las 28 variedades de

sorgo. Los resultados de VA, R y AP se muestran en la Tabla IV.2.2. Se observó que la muestra SB14 prácticamente no popeó. Por tal motivo, no se incluyeron sus resultados en dicha tabla y además esta muestra se excluyó de los análisis realizados más adelante.

**Tabla IV.2.2:** Volumen Aparente (VA) y Rendimiento (R) luego del popeado a 250°C - 14% H y a 250°C - 18% H. Aptitud de Popeado (AP) calculada con resultados a 250°C - 14% H y 250°C - 18% H de los híbridos de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Híbrido      | 250°C -14 %H            |                   | AP                 | 250°C -18 %H            |                   | AP                |                  |
|--------------|-------------------------|-------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|              | VA (cm <sup>3</sup> /g) | R (%)             | 250°C - 14% H      | VA (cm <sup>3</sup> /g) | R (%)             | 250°C - 18% H     |                  |
| SB1          | 10,0                    | 63,6              | 5,2                | 19,1                    | 84,7              | 13,1              |                  |
| SB2          | 14,0                    | 70,9              | 8,0                | 16,6                    | 72,6              | 9,7               |                  |
| SB3          | 18,4                    | 86,3              | 12,8               | 16,7                    | 79,0              | 10,7              |                  |
| SB4          | 17,5                    | 81,1              | 11,4               | 15,4                    | 74,5              | 9,2               |                  |
| SB5          | 17,5                    | 81,1              | 11,5               | 14,4                    | 70,0              | 8,2               |                  |
| SB6          | 15,3                    | 87,1              | 10,5               | 12,5                    | 95,3              | 9,4               |                  |
| SB7          | 13,0                    | 84,7              | 8,1                | 13,7                    | 89,3              | 8,9               |                  |
| SB8          | 10,1                    | 86,5              | 6,9                | 11,4                    | 88,1              | 7,9               |                  |
| SB9          | 12,8                    | 85,2              | 8,6                | 13,9                    | 87,5              | 9,6               |                  |
| SB10         | 11,7                    | 87,3              | 8,1                | 12,2                    | 90,2              | 8,8               |                  |
| SB11         | 9,1                     | 68,9              | 4,6                | 10,3                    | 80,3              | 6,0               |                  |
| SB12         | 9,1                     | 67,3              | 4,5                | 11,2                    | 81,5              | 6,7               |                  |
| SB13         | 16,9                    | 86,0              | 10,4               | 17,8                    | 85,7              | 11,0              |                  |
| SR1          | 17,4                    | 86,2              | 12,2               | 14,9                    | 63,2              | 7,7               |                  |
| SR2          | 15,7                    | 77,2              | 9,6                | 13,4                    | 72,0              | 7,7               |                  |
| SR3          | 14,5                    | 75,5              | 9,0                | 18,0                    | 73,2              | 10,8              |                  |
| SR4          | 15,8                    | 73,8              | 9,5                | 13,6                    | 71,1              | 7,8               |                  |
| SR5          | 18,9                    | 84,5              | 13,1               | 16,0                    | 77,0              | 10,1              |                  |
| SR6          | 6,3                     | 47,1              | 2,4                | 17,7                    | 77,3              | 11,0              |                  |
| SR7          | 20,8                    | 78,7              | 13,2               | 13,2                    | 68,6              | 7,3               |                  |
| SR8          | 5,9                     | 23,7              | 1,1                | 13,5                    | 70,0              | 7,6               |                  |
| SR9          | 16,1                    | 79,5              | 10,3               | 14,1                    | 71,0              | 8,1               |                  |
| SR10         | 17,7                    | 77,6              | 11,1               | 16,3                    | 70,5              | 9,3               |                  |
| SR11         | 15,6                    | 68,9              | 8,6                | 13,4                    | 64,1              | 6,9               |                  |
| SR12         | 15,1                    | 76,6              | 9,3                | 13,4                    | 62,2              | 6,7               |                  |
| SR13         | 15,5                    | 79,5              | 9,9                | 15,2                    | 71,4              | 8,7               |                  |
| SR14         | 15,5                    | 54,3              | 6,8                | 18,7                    | 78,2              | 11,8              |                  |
| <b>Media</b> | <b>±</b>                | <b>14,3 ± 3,8</b> | <b>74,8 ± 14,3</b> | <b>8,8 ± 3,1</b>        | <b>14,7 ± 2,3</b> | <b>76,6 ± 8,8</b> | <b>8,9 ± 1,7</b> |
| <b>Rango</b> |                         | <b>5,9-20,8</b>   | <b>23,7-87,3</b>   | <b>1,1-13,2</b>         | <b>10,3-19,1</b>  | <b>62,2-95,3</b>  | <b>6,0-13,1</b>  |

Para poder realizar los análisis estadísticos, es necesario saber si estas variables tienen distribución normal. En la Tabla IV.2.3 se presentan los resultados de los test de normalidad realizados a VA, R y AP a 250°C - 14 % H y 250°C - 18 % H.

**Tabla IV.2.3:** Valores de p para las pruebas de normalidad para Volumen Aparente (VA), Rendimiento (R) y Aptitud de Popeado (AP) a 250°C - 18% H y 250°C - 14% H.

| Determinaciones  | Chi-Cuadrado | W de Shapiro-Wilks | Z para Asimetría | Z para Curtosis |
|------------------|--------------|--------------------|------------------|-----------------|
| VA               | 0,3721       | 0,5701             | 0,7428           | 0,4038          |
| R                | 0,1825       | 0,3575             | 0,5451           | 0,4469          |
| AP 250°C - 14% H | 0,0584       | 0,0628             | 0,1845           | 0,5011          |
| AP 250°C - 18% H | 0,6424       | 0,6454             | 0,3983           | 0,9219          |

Dado que los valores de p para las pruebas de normalidad fueron superiores o iguales a 0,05 en 2 o más de ellos, se aceptó que las variables VA, R y AP en ambas condiciones de popeado siguen una distribución normal.

Para evaluar si existe diferencia por el color de los granos, se realizó ANOVA (Tabla IV.2.4) con los resultados de popeado a 250°C - 18 % H y 250°C - 14 % H.

**Tabla IV.2.4:** Resultados de ANOVA para VA, R y AP a 250°C - 18% H y 250°C - 14% H evaluando el efecto del color.

| Determinación | Valor de p*   |               |
|---------------|---------------|---------------|
|               | 250°C - 14% H | 250°C - 18% H |
| VA            | 0,2961        | 0,3585        |
| R             | 0,1482        | <b>0,0000</b> |
| AP            | 0,7561        | 0,4705        |

\*diferencias significativas  $p < 0,05$

Se observó que en el popeado a 250°C - 14 % H no hubo efecto del color ( $p > 0,05$ ) para VA, R y AP. Sin embargo, sino se consideran en el análisis las muestras SR6 y SR8, el VA resulta mayor para SR que SB en estas condiciones. Cuando el popeado se realizó a 250°C - 18 % H, el VA y la AP no presentaron diferencias estadísticamente significativas por



color. Por el contrario, el R fue superior para SB (SB: 83,0% vs. SR: 70,7 %) en estas condiciones de popeado.

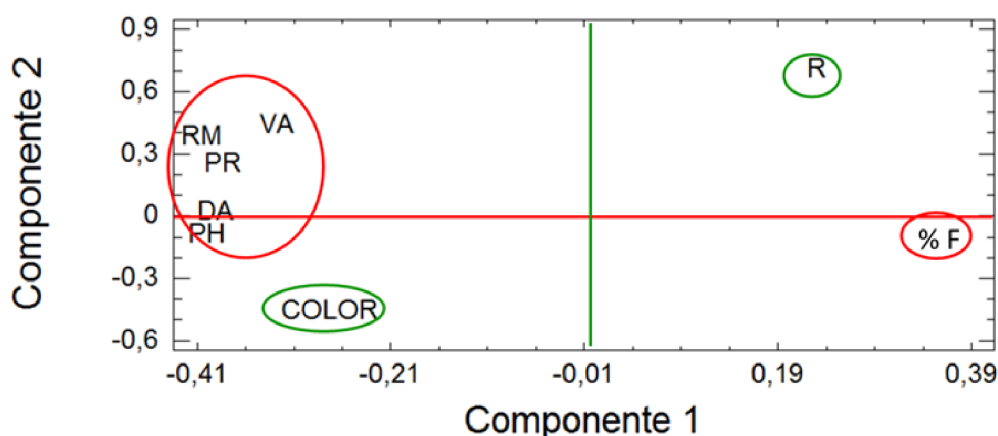
El popeado resultó en valores de VA que variaron de 5,9 a 20,8 mL/g y de 10,3 a 19,1 mL/g, y de R variaron de 23,7 a 87,3 % y de 62,2 y 95,3%, para las condiciones de 250°C-14 %H y 250°C-18 %H, respectivamente. Estos valores fueron en general superiores a los informados por Viraktamath y col. (1972) que evaluaron la calidad de 14 sorgos popeados y observaron que el volumen varió de 7,0 a 11,4 mL/g y el R, de 21,0 a 74,6 %. Se podría decir que en el caso de los híbridos de SB la condición para obtener el mejor popeado es a 250°C - 18% H y en el caso de los SR, existe una tendencia que indica que a 250°C - 14% H se obtendrían mayores VA.

**IV.2.2.1. Relación entre los parámetros fisicoquímicos y la aptitud para el popeado de los granos de sorgo**

Con el fin de estudiar la relación entre las propiedades fisicoquímicas de los granos y la capacidad de explotar (medida con el VA y el R), se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con los resultados obtenidos a 250°C - 18 % H, por ser la condición que mejor se relacionó (Tabla IV.2.5 y Figura IV.2.1).

**Tabla IV.2.5:** Pesos de las componentes en el PCA para color, proteínas (PR), relación de molienda (RM), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), volumen aparente (VA) y rendimiento (R) a 250°C - 18% H.

|       | Componentes | Componentes |
|-------|-------------|-------------|
|       | 1           | 2           |
|       | -----       | -----       |
| COLOR | -0,271662   | -0,530868   |
| VA    | -0,326726   | 0,366165    |
| R     | 0,230639    | 0,633637    |
| PR    | -0,382654   | 0,1786      |
| RM    | -0,40513    | 0,308179    |
| PH    | -0,399493   | -0,160499   |
| %F    | 0,378691    | -0,164781   |
| DA    | -0,390768   | -0,0531114  |



**Figura IV.2.1:** Gráfica de Componentes principales de propiedades fisicoquímicas y características de expandidos de híbridos de sorgo popeados a 250°C - 18% H. Proteínas (PR), relación de molienda (RM), peso hectolítrico (PH), índice de flotación (%F), densidad aparente (DA), color, volumen aparente (VA) y rendimiento (R).

A través del PCA se determinó que con 2 componentes se puede explicar el 75% de los casos. En la Tabla IV.2.17 se observa que las propiedades RM, PH, DA, PR y VA están representadas por la primera componente con relación indirecta y %F con relación directa, manifestando su interacción opuesta con las características antes mencionadas. Hallgren y Murty, (1983) obtuvieron resultados similares para sorgo. Se espera que mientras más duro es el grano, es decir mayor RM, PH y DA y menor %F, mayor será el VA del producto popeado. Observaciones similares fueron reportadas para sorgo (Thorat y col., 1988, Bressani y Tuna, 1992, Gupta y col., 1995), maíz (Hoseney y col., 1983) y arroz (Murugesan y Bhattacharya, 1991). Esto se debe a que el volumen que adquieren los granos explotados, además del contenido de agua óptimo, depende de la ruptura del pericarpio a cierta temperatura, cuando la presión dentro del grano es suficientemente elevada (Shimoni y col., 2002). El pericarpio genera una resistencia mecánica que permite mantener la alta presión en los granos, favoreciendo el aumento de volumen al estallar (Hoseney y col., 1983). Además, las PR y RM están bien representadas y en forma indirecta por esta componente, es decir que al aumentar el contenido de PR, más duros serán los granos y mejor VA alcanzarán al explotar, tal como fue observado para maíz (Soylu y Tekkanat, 2007).

En el caso de la segunda componente, se observa que representa en forma directa al R y en forma inversa al color, indicando que SB obtuvo los mayores R. No se observó relación entre el R y el VA. De igual forma, Viraktamath y col. (1972) en sorgos y Dofing y col. (1990) en maíz, no encontraron correlación entre el R y el volumen de los popeados.

Como se mencionó anteriormente, se definió el parámetro AP con la finalidad de

utilizarlo para predecir la aptitud de explosión de granos de sorgo y se estudió su relación con las otras evaluaciones realizadas, a través de regresión múltiple. Se encontró que utilizando determinaciones simples como RM y color se obtiene un  $R^2$  de 0,71 (Tabla IV.2.6). Es decir que partiendo de una muestra desconocida de sorgo, a través de la determinación de RM y teniendo en cuenta el color (asignando valor 1 a SB y valor 2 a SR) es posible predecir el indicador AP que tendrán el 71% de los casos, acorde a la siguiente ecuación 12:

$$AP = 5,70029 - 1,41194 * COLOR + 1,34105 * RM \quad (12)$$

**Tabla IV.2.6:** Análisis de Regresión Múltiple entre AP y RM y color para sorgo.

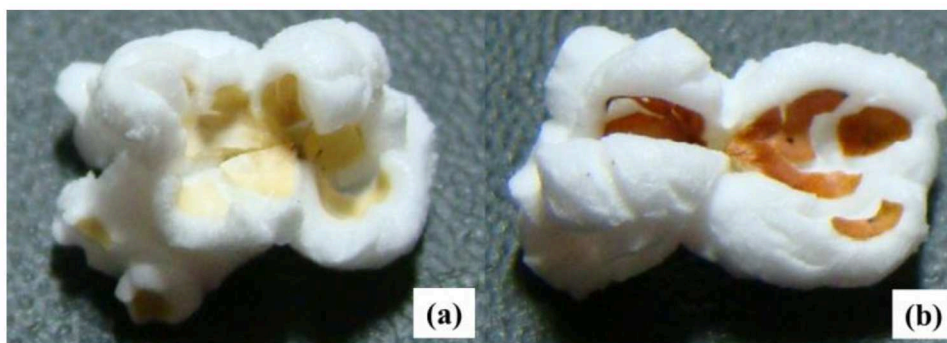
| -----                           |                   |                |
|---------------------------------|-------------------|----------------|
| Variable dependiente: AP        |                   |                |
| -----                           |                   |                |
| Parámetro                       | Estimación        | Error estándar |
| -----                           |                   |                |
| CONSTANTE                       | 5,70029           | 0,786          |
| COLOR                           | -1,41194          | 0,388          |
| RM                              | 1,34105           | 0,175          |
| -----                           |                   |                |
| Análisis de Variancia           |                   |                |
| -----                           |                   |                |
| Fuente                          | Suma de cuadrados | GL Cua         |
| -----                           |                   |                |
| Modelo                          | 55,2545           | 2              |
| Residuo                         | 22,1108           | 24             |
| -----                           |                   |                |
| Total (Corr.)                   | 77,3654           | 26             |
| -----                           |                   |                |
| R-cuadrado = 71,4202 porcentaje |                   |                |

Considerando que una buena aptitud para popear podría estar indicada por un VA de 14 cm<sup>3</sup>/g y un R de 80%, y teniendo en cuenta un PH promedio de 80 kg/hL, el valor de AP sería igual o mayor a 9. Es decir, dado una muestra de sorgo, midiendo su RM, considerando su color y utilizando la ecuación 12, en el 71% de los casos correlacionará con la AP, y si ésta es mayor o igual a 9, ese híbrido tendría buena capacidad para popear.

### IV.2.3. Evaluación nutricional de muestras selectas de harinas de granos popeados

Para todos los híbridos no se obtuvieron buenos rendimientos de popeado. A su vez, se considera que el volumen que adquieren los granos popeados (“palomitas”) es el atributo más importante para el consumidor (Dofing y col., 1990, Ziegler, 2001, Ceylan y Karababa, 2002, Shimoni y col., 2002), por lo que el VA y el indicador AP fueron las características que se tuvieron en cuenta para seleccionar las muestras popeadas a evaluar desde el punto de vista

nutricional. Las muestras elegidas fueron, en el caso del SB el híbrido SB1 popeado a 250°C - 18% H y para SR el híbrido SR7 popeado 250°C - 14% H (Figura IV.2.2).



**Figura IV.2.2:** Fotografías de Sorgo Blanco popeado a 250°C - 18% H (a) y Sorgo Rojo popeado a 250°C - 14% H (b).

En la Tabla IV.2.7 y IV.2.8 se muestran los resultados del análisis de las harinas nativas y cocidas por popeado. Con el fin de evaluar si hubo efecto por el color o el proceso y su interacción, se realizó un ANOVA Multifactor (Tabla IV.2.9).

Del análisis de la composición centesimal (Tablas IV.2.7 y IV.2.9), se observó que el contenido de **PR** presentó diferencias significativas por el color, siendo mayor para el SB. El contenido de **FDT** fue disminuido por el popeado. El mismo comportamiento se observó para el contenido de **CZ**, que además fue afectado por el color (siendo mayor para el SB) y por la interacción de ambos. Las CZ se redujeron significativamente luego del popeado, 11 y 16% para SBP y SRP, respectivamente. Esto puede atribuirse a la pérdida de cáscara durante la explosión, que reduce también al contenido de FDT en un 25 y 26 % para SBP y SRP, respectivamente. El contenido de EE no fue afectado ni por el color ni por el proceso. Similares tendencias fueron observadas en sorgos popeados por Sharma y col. (2014), donde el proceso de popeado no afectó el contenido de proteína y grasa, pero produjo una reducción en el contenido cenizas.

**Tabla IV.2.7:** Composición centesimal de muestras selectas: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales: Hierro (Fe), Zinc (Zn), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na), Fósforo (P), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib) y PF Ligados (PF Lig) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y popeadas\* de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

| Componentes                | SB                            | SBP                           | SR                            | SRP                           | p*            |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------|
| <b>PR (g/100g)</b>         | 11,89 ± 0,01 <sup>b</sup>     | 11,94 ± 0,06 <sup>b</sup>     | 10,69 ± 0,02 <sup>a</sup>     | 10,71 ± 0,05 <sup>a</sup>     | <b>0,0000</b> |
| <b>EE (g/100g)</b>         | 3,08 ± 0,10                   | 3,03 ± 0,02                   | 3,03 ± 0,09                   | 2,93 ± 0,04                   | 0,5430        |
| <b>FDT (g/100g)</b>        | 8,69 ± 0,49 <sup>b</sup>      | 6,49 ± 0,46 <sup>a</sup>      | 8,37 ± 0,49 <sup>b</sup>      | 6,19 ± 0,27 <sup>a</sup>      | <b>0,0098</b> |
| <b>CZ (g/100g)</b>         | 1,70 ± 0,01 <sup>d</sup>      | 1,53 ± 0,03 <sup>b</sup>      | 1,59 ± 0,01 <sup>c</sup>      | 1,34 ± 0,00 <sup>a</sup>      | <b>0,0002</b> |
| <b>Fe (ppm)</b>            | 30,61 ± 0,24 <sup>c</sup>     | 27,61 ± 0,39 <sup>b</sup>     | 27,57 ± 0,59 <sup>b</sup>     | 24,41 ± 2,18 <sup>a</sup>     | <b>0,0000</b> |
| <b>Zn (ppm)</b>            | 15,33 ± 0,27 <sup>a</sup>     | 13,20 ± 0,75 <sup>a</sup>     | 19,04 ± 0,90 <sup>b</sup>     | 14,55 ± 0,68 <sup>a</sup>     | <b>0,0000</b> |
| <b>Ca (ppm)</b>            | 117,14 ± 0,28 <sup>b</sup>    | 110,54 ± 0,80 <sup>a</sup>    | 133,74 ± 1,39 <sup>d</sup>    | 125,93 ± 4,06 <sup>c</sup>    | <b>0,0000</b> |
| <b>Cu (ppm)</b>            | 2,89 ± 0,06 <sup>b</sup>      | 2,67 ± 0,06 <sup>a</sup>      | 2,85 ± 0,07 <sup>b</sup>      | 2,58 ± 0,11 <sup>a</sup>      | <b>0,0000</b> |
| <b>K (ppm)</b>             | 4181,04 ± 90,47 <sup>d</sup>  | 3859,00 ± 53,73 <sup>c</sup>  | 3758,67 ± 100,67 <sup>b</sup> | 3210,07 ± 63,91 <sup>a</sup>  | <b>0,0000</b> |
| <b>Mg (ppm)</b>            | 1583,57 ± 39,69 <sup>b</sup>  | 1479,40 ± 97,60 <sup>a</sup>  | 1704,59 ± 18,22 <sup>c</sup>  | 1513,58 ± 35,51 <sup>ab</sup> | <b>0,0000</b> |
| <b>Na (ppm)</b>            | 184,36 ± 3,74 <sup>b</sup>    | 159,87 ± 1,53 <sup>a</sup>    | 226,42 ± 13,21 <sup>d</sup>   | 206,13 ± 8,43 <sup>c</sup>    | <b>0,0000</b> |
| <b>P (ppm)</b>             | 3396,54 ± 125,26 <sup>b</sup> | 3179,47 ± 152,27 <sup>a</sup> | 3361,52 ± 101,83 <sup>b</sup> | 3048,65 ± 80,80 <sup>a</sup>  | <b>0,0057</b> |
| <b>AF (mg/100g)</b>        | 928,05 ± 35,19 <sup>b</sup>   | 687,95 ± 16,65 <sup>a</sup>   | 1049,34 ± 38,85 <sup>c</sup>  | 682,40 ± 32,76 <sup>a</sup>   | <b>0,0005</b> |
| <b>PF Lib (mg AG/100g)</b> | 110,64 ± 8,63 <sup>b</sup>    | 60,30 ± 6,38 <sup>a</sup>     | 201,26 ± 3,19 <sup>c</sup>    | 72,52 ± 2,44 <sup>a</sup>     | <b>0,0001</b> |
| <b>PF Lig (mg AG/100g)</b> | 578,44 ± 14,70 <sup>b</sup>   | 459,46 ± 10,55 <sup>a</sup>   | 1404,38 ± 17,07 <sup>d</sup>  | 797,88 ± 2,13 <sup>c</sup>    | <b>0,0000</b> |

Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas entre muestras (p < 0,05), \*SBP: 250°C – 18% H y SRP: 250°C – 14% H.

**Tabla IV.2.8:** Propiedades nutricionales de muestras selectas: bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y popeadas\* de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

| Propiedad Nutricional    | SB                        | SBP                       | SR                        | SRP                       | p*            |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| <b>DFe (%)</b>           | 2,69 ± 0,16 <sup>a</sup>  | 3,50 ± 0,28 <sup>b</sup>  | 2,59 ± 0,19 <sup>a</sup>  | 4,17 ± 0,23 <sup>c</sup>  | <b>0,0055</b> |
| <b>DZn (%)</b>           | 5,27 ± 0,47 <sup>c</sup>  | 2,74 ± 0,15 <sup>a</sup>  | 3,69 ± 0,13 <sup>b</sup>  | 2,65 ± 0,44 <sup>a</sup>  | <b>0,0044</b> |
| <b>DCa (%)</b>           | 64,07 ± 5,85              | 67,06 ± 6,02              | 70,90 ± 6,23              | 65,28 ± 5,98              | 0,9903        |
| <b>DPR (%)</b>           | 90,21 ± 1,10 <sup>b</sup> | 97,20 ± 3,95 <sup>c</sup> | 79,83 ± 0,89 <sup>a</sup> | 87,08 ± 2,31 <sup>b</sup> | <b>0,0056</b> |
| <b>LD (mg/ g PR)</b>     | 4,68 ± 0,20 <sup>c</sup>  | 3,55 ± 0,04 <sup>a</sup>  | 4,88 ± 0,18 <sup>c</sup>  | 4,09 ± 0,21 <sup>b</sup>  | <b>0,0051</b> |
| <b>CAO (µmol TEAC/g)</b> | 39,42 ± 1,17 <sup>b</sup> | 30,24 ± 1,81 <sup>a</sup> | 55,65 ± 0,94 <sup>c</sup> | 32,70 ± 0,70 <sup>a</sup> | <b>0,0001</b> |

Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas entre muestras (p < 0,05),

\*SBP: 250°C – 18% H y SRP: 250°C – 14% H.

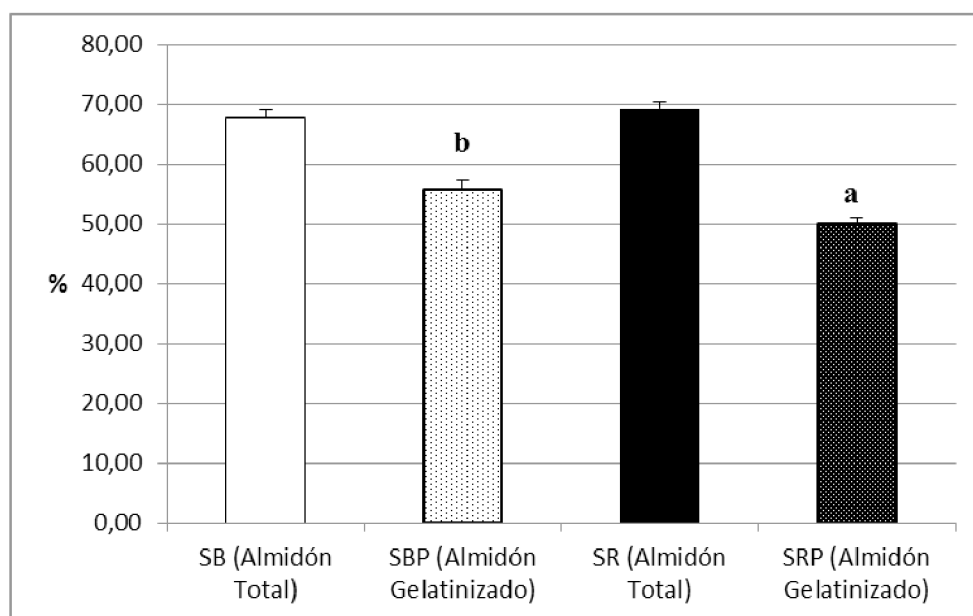
**Tabla IV.2.9:** Resultados de ANOVA Multifactor para los efectos del proceso, el color y su interacción en la composición centesimal (proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig)) y propiedades nutricionales (biodisponibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO)) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y popeadas\* selectas de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

| Determinación | PROCESO       | COLOR         | INTERACCION   |
|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>PR</b>     | 0,2674        | <b>0,0000</b> | 0,5626        |
| <b>EE</b>     | 0,5195        | 0,2312        | 1,0000        |
| <b>FDT</b>    | <b>0,0021</b> | 0,3778        | 0,9819        |
| <b>CZ</b>     | <b>0,0001</b> | <b>0,0005</b> | <b>0,0432</b> |
| <b>Fe</b>     | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | 0,8676        |
| <b>Zn</b>     | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> |
| <b>Ca</b>     | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | 0,5437        |
| <b>Cu</b>     | <b>0,0000</b> | 0,0747        | 0,4890        |
| <b>K</b>      | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0028</b> |
| <b>Mg</b>     | <b>0,0000</b> | <b>0,0054</b> | 0,0923        |
| <b>Na</b>     | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | 0,5325        |
| <b>P</b>      | <b>0,0008</b> | 0,8625        | 0,7232        |
| <b>AF</b>     | <b>0,0001</b> | <b>0,0405</b> | <b>0,0311</b> |
| <b>PF Lib</b> | <b>0,0001</b> | <b>0,0005</b> | <b>0,0013</b> |
| <b>PF Lig</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> |
| <b>PFT</b>    | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> |
| <b>DFe</b>    | <b>0,0015</b> | 0,1399        | 0,0683        |
| <b>DZn</b>    | <b>0,0017</b> | <b>0,0265</b> | <b>0,0346</b> |
| <b>DCa</b>    | 0,9401        | 0,8832        | 0,8029        |
| <b>DPR</b>    | <b>0,0081</b> | <b>0,0026</b> | 0,8248        |
| <b>LD</b>     | <b>0,0015</b> | <b>0,0395</b> | 0,2393        |
| <b>CAO</b>    | <b>0,0001</b> | <b>0,0004</b> | <b>0,0014</b> |

\*diferencias significativas p < 0,05, \*SBP: 250°C – 18% H y SRP: 250°C – 14% H.

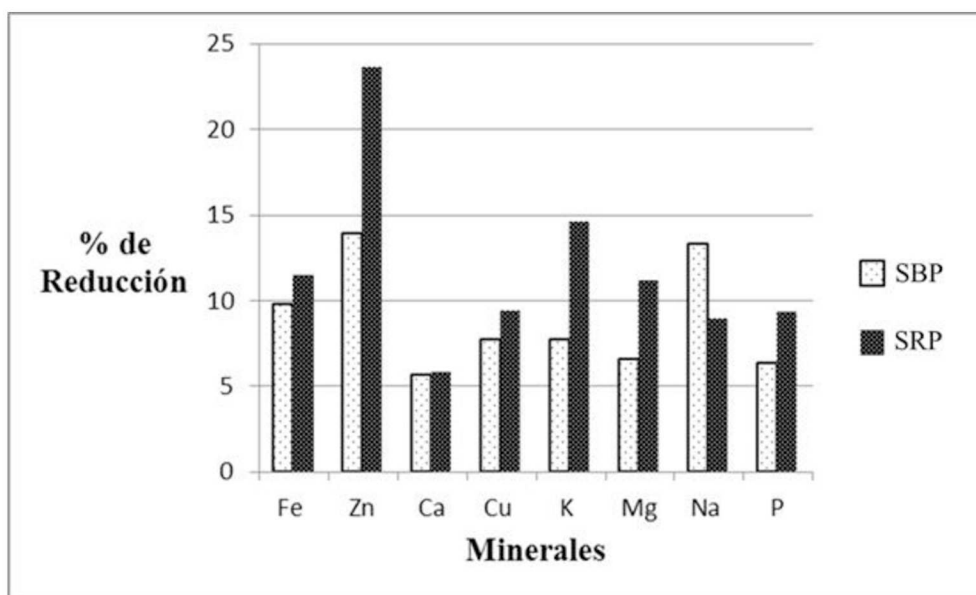


Las muestras nativas de sorgo presentaron  $67,84 \pm 1,12$  g/100g de **almidón total** para SB y  $69,20 \pm 1,24$  g/100g para SR, sin ser esta diferencia significativa ( $p: 0,1545$ ). Sus muestras popeadas presentaron porcentajes de cocción de 82 y 72 % respectivamente, correspondiendo a valores de almidón gelatinizados de  $55,76 \pm 1,58$  g/100g para SBP y  $49,94 \pm 1,02$  g/100g para SRP, siendo esta diferencia significativa estadísticamente ( $p: 0,0008$ ), con lo cual tendría un mayor GC el SBP (Figura IV.2.3). La gelatinización y la expansión de gránulos de almidón desempeñan un papel importante en la formación de la espuma del grano reventado (Parker y col., 1999). Nyman y col. (1987) manifestaron que el popeado mejora la digestibilidad del almidón, ya que implica la gelatinización del mismo y la degradación de la FD.



**Figura IV.2.3:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco nativo (SB) y sorgo rojo nativo (SR) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco popeado (SBP) y sorgo rojo popeado (SRP).

Respecto al contenido de **minerales**, las dos muestras presentaron una reducción luego del proceso de popeado. Además, los minerales difirieron según el color del sorgo, excepto el Cu y el P, y sólo hubo interacción proceso x color para el Zn y el K (Tablas IV.2.7 y IV.2.9). En el revestimiento del grano de sorgo se encuentra una gran proporción de sus minerales (Rao y Deosthale, 1980), por lo que es esperable que la pérdida de la cáscara se manifieste en una reducción significativa en el contenido de minerales luego del popeado. En la Figura IV.2.4 se presentan las reducciones porcentuales para cada mineral luego del popeado, las cuales variaron entre 6 y 24 %.



**Figura IV.2.4:** Porcentaje de reducción de minerales luego del popeado. Hierro (Fe), Zinc (Zn), Calcio (Ca), Cobre (Cu), Potasio (K), Magnesio (Mg), Sodio (Na) y Fósforo (P).

El contenido de **AF** fue afectado por el proceso, el color y la interacción de ambos. La reducción de **AF** producida por el popeado fue de un 26% para SBP y 35% para SRP. Partiendo de muestras con diferente contenido y siendo mayor para el SR, luego del popeado no se observó diferencia entre las muestras. Del mismo modo, Saravanabavan y col. (2013) observaron que el contenido de **AF** fue mayor en SR y que luego del popeado se redujo 20-25%. Otras investigaciones también mostraron que el proceso de popeado puede reducir el contenido de **AF** (Sreerama y col., 2008).

La **DFe** sólo fue afectada por el proceso, aumentando significativamente luego del popeado: 30 y 61% para SBP y SRP, respectivamente. La **DZn** fue mayor para el SB y se redujo significativamente luego del popeado (48 y 28% para SBP y SRP, respectivamente), existiendo interacción entre los efectos. Hemalatha y col. (2007) reportaron valores similares de bioaccesibilidad de Zn:  $5,51 \pm 0,32\%$  y de Fe:  $4,13 \pm 0,3\%$  en sorgo. La **DCa** no fue afectada significativamente por ninguno de los parámetros estudiados (Tablas IV.2.8 y IV.2.9).

Por otra parte, las relaciones molares de **AF/minerales** se pueden utilizar para predecir la biodisponibilidad de minerales de dietas o alimentos. La relación molar **AF/Fe**  $> 1$  se considera como indicativo de baja biodisponibilidad de Fe (Ma y col., 2005). Otros estudios mostraron que relaciones molares **AF/Zn** por encima de 10-15 inhiben progresivamente la absorción de Zn y se asocia con un estado subóptimo de Zn en ratas alimentadas con dietas a



base de albúmina de huevo con agregado de AF añadido (0 a 7,43 g/kg) o Zn (18-144 mg/kg) (Yuwei y col., 2013). Asimismo, en un estudio llevado a cabo en hombres jóvenes confinados a una unidad metabólica, se concluyó que una relación molar AF/Zn de la dieta superior a 15 conducía a una disminución en la absorción de Zn, acompañada de un aumento de Zn fecal y urinario (Turnlund y col., 1984). Respecto al Ca, una relación molar AF/Ca > 0,24 perjudica su biodisponibilidad. Además, cuando las dietas son altas tanto en fitatos como en Ca, la relación molar AFxCa/Zn es más útil para evaluar la biodisponibilidad del Zn que la relación molar AF/Zn. Esto se debe a que ambos componentes de la dieta ejercen un efecto inhibitorio sinérgico sobre la absorción de Zn. De esta manera, una razón molar AFxCa/Zn superior a 200 afectaría la absorción del Zn (Ma y col., 2005). En la Tabla IV.2.10 se presentan las razones molares entre AF, Fe, Zn y Ca.

**Tabla IV.2.10:** Razones molares AF/Fe, AF/Zn, AF/Ca y AFxCa/Zn, de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y popeadas\* de sorgo blanco (SBP) y rojo (SRP).

| Relación molar | SB     | SBP    | SR     | SRP    |
|----------------|--------|--------|--------|--------|
| AF/Fe          | 25,66  | 21,09  | 32,21  | 23,66  |
| AF/Zn          | 59,98  | 51,63  | 54,60  | 46,47  |
| AF/Ca          | 4,81   | 3,78   | 4,76   | 3,29   |
| AFxCa/Zn       | 175,31 | 142,41 | 182,20 | 146,00 |

\*250°C – 18% H

En las muestras analizadas, las relaciones molares AF/Fe resultaron mayores al nivel crítico, indicando que la biodisponibilidad del Fe del sorgo se verá afectada por el contenido de AF, lo que se pone de manifiesto con los bajos valores de bioaccesibilidad encontrados (< 5%). Se observó una reducción de dicha relación posterior al popeado, lo que se reflejó en un aumento de la DFe. Esto también fue observado Radhakrishnan y Sivaprasad (1980), quienes además manifestaron que la biodisponibilidad del Fe en sorgo fue más afectada por el AF que por el contenido de proantocianidinas de los granos.

Todas las muestras estudiadas presentaron relaciones molares AF/Zn por encima de 15, lo que afectaría la biodisponibilidad de este mineral, confirmado con los bajos valores de DZn encontrados. Esto también fue reportado por Stuart y col. (1987). Este índice se redujo luego del popeado, lo cual no se manifestó en la DZn. Asimismo, la razón molar AFxCa/Zn no se encontró por encima de 200, lo que indicaría que no hay un efecto inhibitorio sinérgico de dichos compuestos sobre la absorción del Zn. Drago y col. (2005) y González y col. (2013) reportaron la disminución de la bioaccesibilidad de Zn luego de otros procesos de cocción,

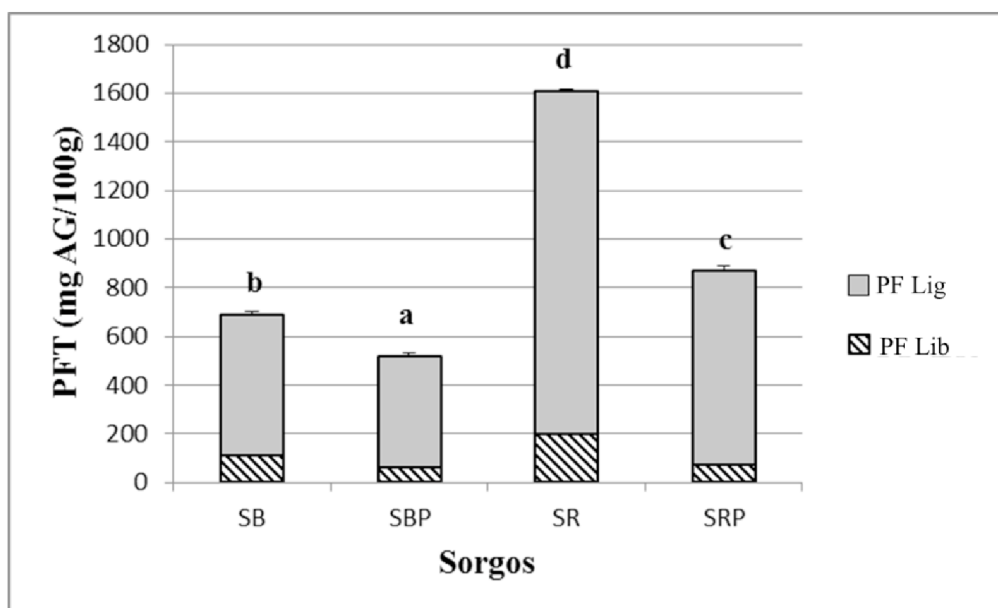
tales como cocción en agua (para legumbres) o extrusión.

De forma similar, los resultados de la relación AF/Ca son superiores al nivel crítico, aunque la bioaccesibilidad del Ca fue elevada (> 60%). Sin embargo, el bajo contenido de este mineral hace que sea poco significativo su aporte a los requerimientos dietarios.

En el caso de la **DPR** se observaron efectos significativos del proceso y el color. Luego del popeado aumentó un 8% para el SBP y 9% para el SRP, en relación a sus muestras nativas (Tablas IV.2.8 y IV.2.9). Otros investigadores observaron una mejora de la DPR por popeado, que fue atribuida a que el estallido produce la fragmentación de las paredes celulares del endospermo vítreo y esto mejoraría la accesibilidad de las enzimas a las proteínas (Duodu y col., 2001, Awadelkareem y col., 2009). Es sabido que el AF tiene un efecto negativo en el metabolismo proteico, y esto se ha atribuido más que a la formación de un complejo fitato-proteína a la capacidad de inhibir enzimas digestivas (Deshpande y Damodaran, 1989, Martínez Domínguez y col., 2002), por lo que la disminución del contenido de AF por popeado podría haber contribuido al incremento de la digestibilidad de proteínas. Además, se observó una correlación inversa entre la DPR y el contenido de AF ( $R^2$ : 0,81 para SB y  $R^2$ : 0,99 para SR).

El contenido inicial de **LD** no difirió entre las muestras nativas, pero luego del popeado disminuyó, siendo mayor para el SRP. Tanto el color como el proceso tuvieron un efecto significativo, aunque no hubo interacción de ambos (Tablas IV.2.8 y IV.2.9). El popeado produjo una disminución de LD de 24% y 16% para SB y SR, respectivamente, lo que es de esperar debido a que la alta temperatura de popeado favorece la reacción de Maillard, tal como se observó para maíz popeado (Gupta y col., 1986). Además, el SB presentó mayor contenido de proteínas y mayor GC del almidón que el SR, lo que puede haber favorecido la mayor disponibilidad de sustratos para dicha reacción.

El contenido de **PF** fue afectado significativamente por el proceso, el color y la interacción de ambos. Además, los PF Lib y PF Lig fueron diferentes entre las muestras de SB y SR, y se redujeron significativamente luego del popeado, quedando el contenido de PF Lib similar en ambos tipos de sorgos (Figura IV.2.5). La reducción de los PFT fue de 25% y 46% para el SBP y SRP, respectivamente. Este comportamiento también fue observado en frijoles popeados (Sreerama y col., 2008).



**Figura IV.2.5:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en sorgo blanco (SB), sorgo rojo (SR), sorgo blanco popeado (SBP) y sorgo rojo popeado (SRP).

Respecto a la CAO, también fue afectada por el proceso, el color y la interacción entre ellos. La CAO expresada como TEAC para las muestras nativas estuvo en los rangos de valores observados por otros investigadores (Dicko y col., 2006, Ragaee y col., 2006), siendo mayor en SR. Luego del proceso de popeado, se observó una reducción de la CAO de 23% para el SBP y 41% para SRP, llegando a un valor semejante de CAO. De forma similar, el popeado de amaranto redujo un 35% la CAO expresada como el contenido de tocoferoles (mg/g) (Ogrodowska y col., 2014). Los PF son cuantitativamente los principales antioxidantes de la dieta y poseen mayor CAO in vitro que las vitaminas y los carotenoides (Gardner y col., 2000, Manach y col., 2004). Es esperable que el descenso del contenido de PF lib se refleje en forma directa como una reducción de la CAO, ya que los granos de sorgo muestran actividades antioxidantes altamente relacionadas con su contenido de compuestos fenólicos (Dicko y col., 2005).

El popeado produjo reducciones en los contenidos de PFT y AF y en la CAO. Este efecto puede deberse no sólo a las condiciones del proceso (humedad y temperatura), sino también a la pérdida de una parte de la cáscara al explotar el grano. Sin embargo, en comparación con las frutas y verduras, cuya CAO oscila entre 6-37 y 4,5-14  $\mu\text{mol TEAC/g}$  muestra, respectivamente (Miller y col., 2000), las harinas integrales de sorgo precocidas por popeado poseen una elevada CAO.

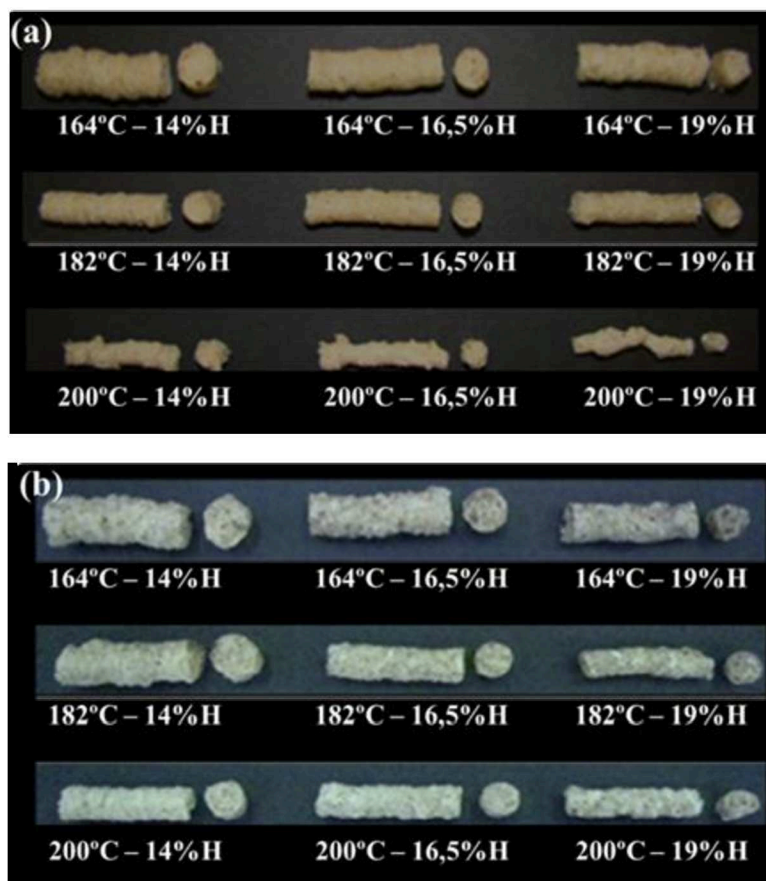
#### IV.2.4. Conclusiones parciales

- De los 28 híbridos analizados, sólo una muestra no popeó (SB14), observándose diferente aptitud para el popeado. Teniendo en cuenta los mayores VA y R, los SB popearon mejor a 250°C - 18% H y los SR, sin considerar las muestras SR6 y SR8, a 250°C - 14% H.
- El VA, R y AP presentaron distribución normal, y solo el R de popeado a 250°C - 18 % H presentó diferencia acorde al color de los híbridos, siendo mayor para los SB.
- Se observó que mientras más duro fue el grano (mayor RM, PH, DA y contenido proteico, y menor %F) mayor fue el VA del popeado y que el R se relacionó en forma inversa con el color (mayor rendimiento en sorgos blancos), evaluados a 250°C y 18% H.
- Se definió el parámetro AP que relaciona el PH, el VA y el R de los híbridos y pondera la aptitud de híbridos de sorgo para popear. Determinando la RM y considerando el color de los granos es posible predecir la AP en el 71% de los casos. Si el valor AP obtenido aplicando la ecuación  $AP = 5,70029 - 1,41194 * COLOR + 1,34105 * RM$  es mayor o igual a 9, la muestra sería apropiada para popear.
- Las muestras de sorgo seleccionadas por su aptitud para el popeado fueron el híbrido SB1 popeado a 250°C - 18% H y el híbrido SR7 popeado 250°C - 14% H.
- El proceso de popeado no afectó significativamente los contenidos de PR y EE, pero las CZ y la FDT se redujeron. El contenido de almidón gelatinizado fue mayor en SBP, por lo que fue la muestra con mayor GC.
- Todos los minerales se redujeron por el popeado. La DFe aumentó luego del popeado, la DZn se redujo y la DCa no varió.
- La DPR aumentó 8 y 9 %, lo que podría atribuirse a la disminución del contenido de AF por popeado. La LD disminuyó 24 % y 16 %, para SBP y SRP respectivamente.
- Se redujo el contenido de PF, tanto libres como ligados, de AF y la CAO. Sin embargo, las harinas precocidas integrales obtenidas por popeado pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

### IV.3. ESTUDIO DEL PROCESO DE EXTRUSION DE SORGOS INTEGRALES

#### IV.3.1. Efectos de las variables de extrusión sobre las características físicas y texturales de los productos expandidos de sorgos integrales

Para realizar las experiencias de extrusión se trabajó con los híbridos SB5 y SR14, por la cantidad disponible necesaria para los ensayos. En la Figura IV.3.1 se muestran los productos de SB y SR expandidos obtenidos por extrusión. Se pueden apreciar las distintas características, observando que el material alcanzó diferentes estados: desde muy expandidos hasta otros más compactos, según fueron los niveles de H y T del proceso.



**Figura IV.3.1.** Fotografía de los productos de Sorgo Blanco (a) y Sorgo Rojo (b) integral extrudidos.

Los valores obtenidos en las evaluaciones físicas y sensoriales realizadas para las distintas condiciones de extrusión de acuerdo al diseño experimental se muestran en la Tabla IV.3.1.

En la Tabla IV.3.2 se presentan los resultados del ANOVA para las mismas evaluaciones. En todos los casos, teniendo en cuenta que la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0,05$ ), el modelo se consideró adecuado para describir los efectos de las variables (T y H) sobre las respuestas estudiadas, tanto para SB como para SR.

**Tabla IV.3.1:** Valores obtenidos para el consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE) y dureza sensorial (DS) en las distintas condiciones de extrusión de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral.

| Variables |      | SB     |      |                      |    | SR      |      |                      |    |
|-----------|------|--------|------|----------------------|----|---------|------|----------------------|----|
| T         | H    | CEEM   | E    | VE                   | DS | CEEM    | E    | VE                   | DS |
| (°C)      | (%)  | (J/g)  |      | (cm <sup>3</sup> /g) |    | (J/g)   |      | (cm <sup>3</sup> /g) |    |
|           | 14,0 | 895,09 | 3,06 | 7,25                 | 5  | 1006,98 | 3,36 | 8,25                 | 6  |
| 164       | 16,5 | 817,14 | 2,64 | 6,51                 | 7  | 987,55  | 3,17 | 6,12                 | 8  |
|           | 19,0 | 785,23 | 2,35 | 5,72                 | 8  | 965,69  | 2,83 | 4,77                 | 9  |
|           | 14,0 | 881,47 | 2,56 | 9,35                 | 5  | 951,75  | 3,33 | 9,84                 | 4  |
|           | 16,5 | 810,74 | 2,48 | 8,01                 | 3  | 888,04  | 2,93 | 7,49                 | 6  |
| 182       | 16,5 | 737,96 | 2,65 | 8,74                 | 4  | 934,74  | 3,15 | 7,63                 | 5  |
|           | 16,5 | 799,09 | 2,53 | 8,79                 | 3  | 955,93  | 3,11 | 7,37                 | 5  |
|           | 19,0 | 715,14 | 2,24 | 7,32                 | 8  | 837,23  | 2,65 | 5,99                 | 7  |
|           | 14,0 | 720,00 | 1,79 | 9,47                 | 2  | 939,29  | 2,86 | 10,41                | 1  |
| 200       | 16,5 | 616,96 | 1,72 | 8,76                 | 2  | 835,63  | 2,75 | 9,34                 | 3  |
|           | 19,0 | 590,00 | 1,81 | 8,63                 | 1  | 760,98  | 2,29 | 6,26                 | 5  |

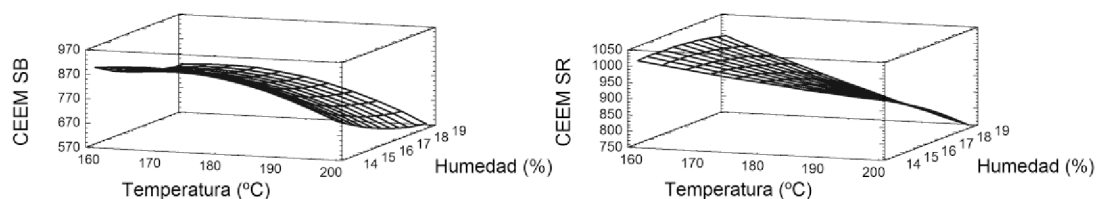
**Tabla IV.3.2:** Resultados de ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE) y evaluación sensorial de dureza (DS) en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) integral.

| Fuente                 | SB            |               |               |               | SR            |               |               |               |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | p*            |               |               |               | p*            |               |               |               |
|                        | CEEM          | E             | VE            | DS            | CEEM          | E             | VE            | DS            |
| <b>T</b>               | <b>0,0270</b> | <b>0,0061</b> | <b>0,0204</b> | <b>0,0088</b> | <b>0,0379</b> | <b>0,0366</b> | <b>0,0035</b> | <b>0,0101</b> |
| <b>H</b>               | 0,0513        | <b>0,0421</b> | 0,0543        | 0,0715        | 0,0591        | <b>0,0250</b> | <b>0,0013</b> | <b>0,0194</b> |
| <b>TxT</b>             | 0,1431        | <b>0,0435</b> | 0,1211        | 0,1701        | 0,8227        | 0,2183        | 0,2674        | 0,8979        |
| <b>TxH</b>             | 0,8208        | 0,0528        | 0,5122        | 0,0742        | 0,1873        | 0,8802        | 0,1827        | 0,4778        |
| <b>HxH</b>             | 0,4395        | 0,5941        | 0,9620        | 0,0763        | 0,6498        | 0,3054        | 0,8322        | 0,8979        |
| <b>Falta de ajuste</b> | <b>0,8871</b> | <b>0,4388</b> | <b>0,6824</b> | <b>0,0938</b> | <b>0,8379</b> | <b>0,8523</b> | <b>0,0812</b> | <b>0,8414</b> |
| <b>R<sup>2</sup></b>   | 0,9577        | 0,9732        | 0,9510        | 0,8267        | 0,9398        | 0,9624        | 0,9672        | 0,9813        |

\*diferencias significativas  $p < 0,05$

#### IV.3.1.1. Consumo Específico de Energía Mecánica (CEEM)

En la Figura IV.3.2 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre el CEEM de los expandidos de sorgos integrales.

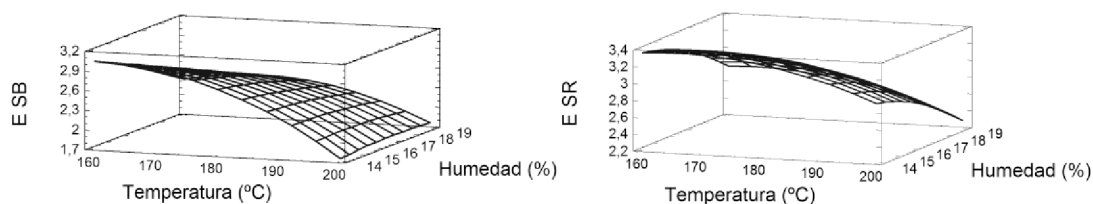


**Figura IV.3.2.** Superficies respuesta para el Consumo Específico de Energía Mecánica (CEEM) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.

Los resultados indicaron que el término significativo fue la T, aunque el efecto de H no fue despreciable, observándose la misma tendencia para ambos sorgos. El CEEM disminuyó tanto con el aumento de la T como de la H, lo cual es coherente con lo observado en otros trabajos (González y col., 2002a). Esto está relacionado con la fricción interna del material durante la extrusión, la cual disminuye con el aumento tanto de la H como de la T. El rango de T utilizado fue suficientemente amplio para mostrar efectos sobre la fricción, es decir a T más altas disminuyó el grado de fricción. El hecho de que al más bajo nivel de T evaluado, el efecto de la H pareciera no afectar al CEEM podría atribuirse a que, a diferencia de lo que ocurre con sémolas de maíz descascarado y degerminado, la presencia de germen y pericarpio en las muestras de sorgo atenuarían la reducción de fricción que provocaría un aumento de H. Por otra parte, el SR presentó mayores valores de CEEM que el SB, indicando mayor GC.

#### IV.3.1.2. Índice de Expansión (E)

En la Figura IV.3.3 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la E de los sorgos integrales.



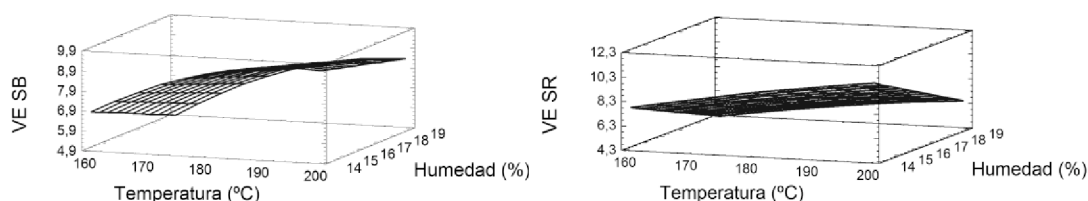
**Figura IV.3.3:** Superficies respuesta para la Expansión (E) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.



El ANOVA mostró que los términos lineales de las dos variables (T y H) fueron significativos. La pequeña curvatura que se observa en el caso del SB puede atribuirse a la significación de los términos cuadráticos TxT y TxH (este último no es despreciable). La E disminuyó con el aumento tanto de la T como de la H, de acuerdo a lo observado en otros trabajos (González y col., 2002a, Pérez y col., 2008). Para ambos tipos de sorgo, la mayor E se obtuvo a 164°C y 14%, correspondiendo el valor más elevado al SR. Esto se puede explicar teniendo en cuenta que a los menores valores de H y de T, la componente elástica del fluido o “melt”, es mayor que para los valores más elevados de esas variables y por lo tanto mayor es la E.

#### IV.3.1.3. Volumen Específico (VE)

En la Figura IV.3.4 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre el VE de los expandidos de sorgos integrales.



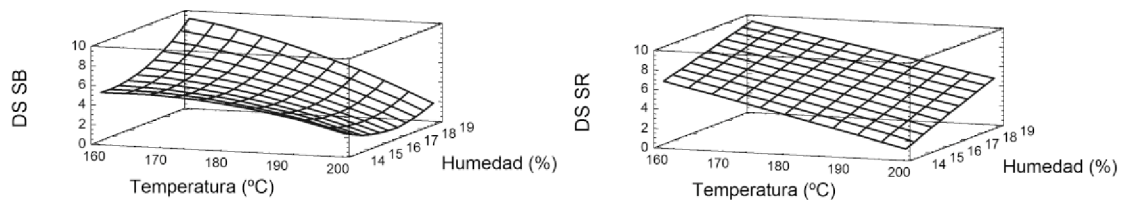
**Figura IV.3.4:** Superficies respuesta para el Volumen Especifico (VE) de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad de extrusión.

El ANOVA mostró que los términos lineales de las dos variables fueron los más significativos para ambos tipos de sorgo (la H no fue despreciable para el SB). La tendencia observada fue similar a la de sémola de maíz degerminado (González y col., 2002a), donde el VE aumenta con la T y disminuye con el aumento de la H. A bajas H, los mayores valores de VE fueron obtenidos para el SR.

#### IV.3.1.4. Evaluación de la Dureza Sensorial (DS)

En la Figura IV.3.5 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la DS de los expandidos de sorgos integrales.





**Figura IV.3.5:** Superficies respuesta para la Dureza Sensorial de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura (T) y humedad (H) extrudidos.

En relación a la evaluación sensorial de la dureza, el ANOVA mostró que sólo el efecto de la T en su término lineal fue significativo para SB y en el caso del SR lo fueron T y H. Para el SR se pudo observar que las dos variables estudiadas tuvieron efectos opuestos, es decir, la DS aumentó con el aumento de H (relación directa), mientras que disminuyó con el aumento de T (relación inversa). Esto último también se observó para SB. Para ambos tipos de sorgo, la muestra de mayor dureza fue la obtenida a 164°C - 19% H y la más blanda, la obtenida a 200°C - 19% H para el caso de SB y a 200°C - 14% H para el SR.

Los resultados de la evaluación de las propiedades fisicoquímicas de las muestras extrudidas indican que, coincidiendo con lo observado en otros trabajos (Pérez y col., 2008, González, y col., 2003), la DS se relaciona de manera inversa con el GC, es decir la muestra de mayor dureza es la de menor GC: 164°C - 19% H y por su parte, la más blanda es la obtenida a 200°C y 14% H, de mayor GC. Cabe destacar que el SR produjo los mayores valores de CEEM y de E, con lo cual se podría decir que sus expandidos tuvieron mayor GC.

También se observó que el VE correlacionó inversamente con la DS ( $R^2$ : 0,6819). Por otra parte, para la extrusión de sémola de maíz, González y col. (2002a) reportaron que el CEEM es un buen indicador del grado GC, existiendo una relación directa entre ambos. Además, para mezclas de sémola de maíz y soja se observó una relación inversa entre la DS y el CEEM, ya que a mayor GC la muestra es más expandida, posee mayor VE y por lo tanto es menos dura (Lassa, 2008). Sin embargo, estas relaciones no fueron observadas en la extrusión de harinas integrales de sorgo.

### IV.3.2. Efecto de las condiciones del proceso de extrusión en las propiedades de hidratación de harinas integrales extrudidas de sorgos

Antes de analizar el efecto de las variables (T y H) sobre las propiedades de hidratación, es importante recordar lo siguiente: la cocción por extrusión es un proceso termomecánico, por lo cual tanto la temperatura como las fuerzas cortantes son los factores relevantes que afectan al GC alcanzado. La T mínima necesaria para que se produzca la gelatinización o fusión de los cristalitas del almidón está en relación inversa a la H. El proceso de extrusión no es un proceso “tipo pistón”, es decir que el transporte de las partículas dentro del extrusor se caracteriza por su distribución de tiempos de residencia, la cual presenta una dispersión suficientemente grande como para que el material extrudido, aunque visualmente sea homogéneo, no lo sea desde el punto de vista del GC (el cual se define como el grado de destrucción de la estructura granular del almidón) (González y col., 2002a). Así, en todo producto extrudido es posible encontrar partículas con distinto GC, como gránulos sin cocción (con la cruz de malta), gránulos cocidos (sin la cruz de malta), parcialmente destruidos y gránulos cocidos y totalmente destruidos (Haller, 2008). En resumen, en una muestra extrudida es posible encontrar una mezcla compuesta de almidón nativo, gelatinizado o fundido y fragmentado (Lai y Kokini, 1991, Kokini y col., 1992, Politz y col., 1994).

En la Tabla IV.3.3 se presentan los resultados de las propiedades de hidratación: solubilidad (S) y absorción de agua (AA) de las harinas extrudidas de sorgos integrales blancos y rojos y en la Tabla IV.3.4, el ANOVA realizado para las mismas determinaciones. Teniendo en cuenta que en todos los casos la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0,05$ ), el modelo se consideró adecuado para describir los efectos de las variables sobre la S y la AA.

**Tabla IV.3.3:** Solubilidad en agua (S) y absorción de agua (AA) de las harinas integrales precocidas en las distintas condiciones de extrusión para sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Variables |          | SB              |              | SR              |              |
|-----------|----------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|
| T<br>(°C) | H<br>(%) | S<br>(g/100 mL) | AA<br>(mL/g) | S<br>(g/100 mL) | AA<br>(mL/g) |
|           | 14,0     | 31,24           | 6,42         | 53,74           | 4,90         |
| 164       | 16,5     | 30,42           | 6,73         | 50,61           | 4,73         |
|           | 19,0     | 25,39           | 6,84         | 42,71           | 4,35         |
| 182       | 14,0     | 39,66           | 6,58         | 54,59           | 4,97         |
|           | 16,5     | 35,00           | 6,84         | 53,18           | 4,94         |

|     |      |       |      |       |      |
|-----|------|-------|------|-------|------|
|     | 16,5 | 33,50 | 6,73 | 51,28 | 5,07 |
|     | 16,5 | 33,00 | 6,90 | 51,32 | 5,03 |
|     | 19,0 | 27,08 | 6,97 | 46,85 | 4,59 |
|     | 14,0 | 41,00 | 6,86 | 54,68 | 5,20 |
| 200 | 16,5 | 37,00 | 7,50 | 53,34 | 5,10 |
|     | 19,0 | 30,00 | 8,66 | 52,57 | 4,98 |

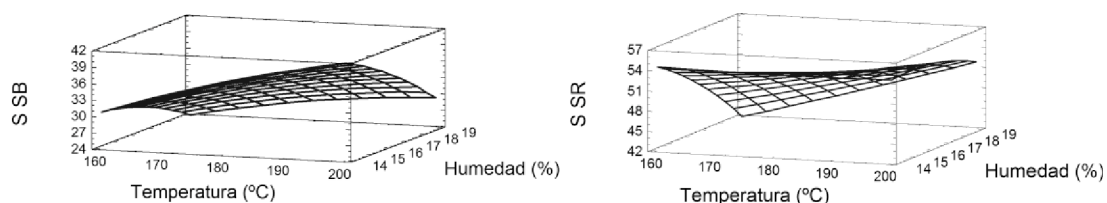
**Tabla IV.3.4:** Resultados de ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para Solubilidad en agua (S) y Absorción de Agua (AA) de harinas integrales precocidas en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Fuente          | SB            |               | SR            |               |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                 | p*            |               | p*            |               |
|                 | S             | AA            | S             | AA            |
| T               | <b>0,0145</b> | <b>0,0048</b> | <b>0,0365</b> | <b>0,0221</b> |
| H               | <b>0,0074</b> | <b>0,0065</b> | <b>0,0158</b> | <b>0,0112</b> |
| TxT             | 0,3329        | <b>0,0220</b> | 0,8656        | <b>0,4014</b> |
| TxH             | 0,1318        | <b>0,0153</b> | 0,0545        | 0,0539        |
| HxH             | 0,2160        | 0,7568        | 0,2411        | 0,1622        |
| Falta de ajuste | <b>0,3324</b> | <b>0,0910</b> | <b>0,5953</b> | <b>0,1892</b> |
| R <sup>2</sup>  | 0,9618        | 0,9356        | 0,9604        | 0,9094        |

\*diferencias significativas  $p < 0,05$

#### IV.3.2.1. Solubilidad en Agua (S)

En la Figura IV.3.6 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la S de las harinas precocidas de sorgo integral.



**Figura IV.3.6:** Superficies respuesta para la Solubilidad en Agua (S) de las harinas integrales extrudidas de SR y SB integral en función de la temperatura y la humedad del proceso de extrusión.

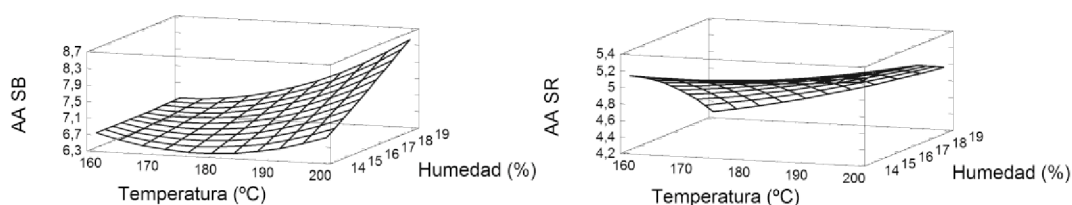
En el ANOVA se observa que sólo los términos lineales de T y H fueron significativos en ambos sorgos. La Figura IV.3.6 muestra que la S tuvo una relación inversa con la H,

semejante a lo reportado por Martínez y Pau (1992), quienes realizaron la extrusión de sorgo integral a tres diferentes contenidos de humedad (12, 15 y 18%). El aumento de la H produce una disminución importante en la S, lo que fue más notable a baja T. Por otra parte, la S aumentó al aumentar T. Esto indicaría que a baja H, la fricción producida es suficiente para generar la cocción de los gránulos de almidón independientemente de la T (en el rango evaluado), mientras que a alta H, el efecto térmico se hace evidente, y el GC aumenta con T. Esto sugiere que a baja H, predomina el efecto de fricción, mientras que a alta H, es el efecto térmico el predominante. Estos resultados son coherentes con aquellos obtenidos trabajando con sémolas provenientes de granos desgerminados y descascarados de maíz (González y col., 2002a).

La S es buen indicador del GC y se relaciona directamente con el mismo (González y col., 2002a). En este estudio, S resultó ser mayor para el SR, indicando nuevamente que obtuvo mayor GC que el SB.

#### IV.3.2.2. Absorción de Agua (AA)

En la Figura IV.3.7 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la AA de las harinas de sorgo integral.



**Figura IV.3.7:** Superficies respuesta para la Absorción de Agua (AA) de las harinas integrales extrudidas de SR y SB integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

El ANOVA de los resultados obtenidos para la AA muestra que los términos lineales de H y de T, y los cuadráticos TxT y TxH (éste último no es despreciable para SB) fueron significativos para ambos tipos de sorgo. En la Figura IV.3.7 se observa que la AA de las harinas precocidas de SB presentó una relación directa con ambos parámetros. En cambio, el SR mostró una relación directa con la T e inversa con la H. En el caso del SR, el efecto de H fue mayor a baja T, mientras que el efecto de T fue mayor a alta H. Para el SB, el efecto de H fue mayor a alta T, mientras que el efecto de T también fue mayor a alta H, siendo los valores obtenidos de AA para el SB mayores que para SR.

La AA no es un buen indicador del GC, ya que esta propiedad depende de la proporción de almidón cocido, pero con bajo grado de destrucción granular (gránulos que han perdido su estructura cristalina, pero con morfología granular). Además para el caso de harinas de maíz y arroz provenientes de endospermo puro (sin pericarpio ni germen), es sabido que cuando el GC no es elevado, la AA se relaciona directamente con la S, pero a partir de un cierto valor de GC, un incremento del mismo se traduce en una disminución de AA (González y col., 2002a). Sin embargo, para SR se observó una correlación directa entre S y AA ( $R^2$ : 0,8), esta discrepancia con los otros parámetros indicadores del GC antes mencionados, podría atribuirse a la presencia de pericarpio y germen.

#### IV.3.2.3. Respuesta Amilográfica

En la Tabla IV.3.5 se presentan los resultados de la respuesta amilográfica y susceptibilidad enzimática de las harinas precocidas obtenidas en las condiciones de extrusión más extremas, es decir las que permitieron obtener harinas de menor (164°C-19%H) y mayor (200°C - 14% H) GC y de aquellas obtenidas en las condiciones de extrusión seleccionadas por ser las más apropiadas para la elaboración de un producto de sorgo integral expandido (182°C - 14% H).

**Tabla IV.3.5:** Consistencia inicial (Ci), Consistencia inicial a 95°C (C95i), Consistencia final a 95°C (C95f), Retrogradación (RG) y Gelatinización (%G) de harinas integrales precocidas en ciertas condiciones de extrusión, de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Variables  |           | SB    |         |         |       |      | SR    |         |         |       |      |
|------------|-----------|-------|---------|---------|-------|------|-------|---------|---------|-------|------|
| T (°C)     | H (%)     | Ci UB | C95i UB | C95f UB | RG UB | %G % | Ci UB | C95i UB | C95f UB | RG UB | %G % |
| <b>164</b> | <b>19</b> | 320   | 105     | 100     | 205   | 65   | 410   | 240     | 210     | 340   | 82   |
| <b>182</b> | <b>14</b> | 260   | 100     | 85      | 100   | 68   | 340   | 120     | 90      | 110   | 90   |
| <b>200</b> | <b>14</b> | 210   | 120     | 100     | 260   | 70   | 380   | 160     | 110     | 210   | 94   |

El SB mostró menor consistencia en todo el amilograma que el SR. González y col. (2004) observaron en harinas de maíz precocidas en similares condiciones de extrusión, que aquellas provenientes de granos más duros presentaban menor consistencia amilográfica en todos los rangos del ensayo. Esta observación se relaciona con la AA y la S: el SB tuvo mayor AA porque al tener menor GC, presentaba menor proporción de granulos destruidos, generando mayor AA y menor S que el SR. Las harinas precocidas de SR, al tener mayor GC tienen mayor interacción con el agua, mostrando mayor viscosidad y por ende mayor

consistencia inicial y en el resto del ensayo. Estos resultados son indicativos de que las muestras presentaron gran heterogeneidad en lo referente al estado en que se encuentran los granulos de almidón (granulos sin cocción con cruz de malta, granulos cocidos parcialmente destruidos y granulos cocidos totalmente destruidos).

#### **IV.3.2.4. Gelatinización (%G)**

Como se ha mencionado anteriormente, el SR alcanzó mayores GC, y esto se verifica al observar que el SB posee menores valores de G% (Tabla IV.3.5). Teniendo en cuenta que %G, es una medida del porcentaje de gránulos que han perdido la cristalinidad, es razonable pensar que la T sea el factor más importante, ya que a medida que T aumenta, se asegura la fusión de los cristalitos, siendo el efecto de T más evidente a mayor H.

#### **IV.3.2.5. Observación microscópica**

De la observación microscópica correspondiente a cada una de las muestras, surgió que prácticamente todas las muestras presentaron, al menos en muy baja cantidad, gránulos de almidón con la cruz de malta.

Para el caso del SR, la muestra obtenida a 164°C y 19 %H tuvo la mayor proporción de gránulos con la cruz de malta, mientras que la obtenida a 200°C y 14%H, la menor cantidad. Estos resultados de evaluación microscópica se corresponden con los resultados ya analizados, los cuales indicaban que la muestra obtenida en la primera condición de extrusión es la de menor GC y la segunda, la de mayor GC. En el caso del SB, se observó que todas las muestras presentaron gránulos con cruz de malta en una proporción pareja y que aproximadamente representaba un 25 % de la muestra.

#### **IV.3.2.6. Relación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales con el grado de cocción (GC)**

Cuando las condiciones de extrusión corresponden a bajos GC, un aumento de T o una disminución de H producirán un aumento de los gránulos cocidos (sin la cruz de malta), parcialmente destruidos y totalmente destruidos, y habrá menos gránulos sin cocción. A medida que las condiciones se hacen más severas, los gránulos nativos desaparecen y aumenta la proporción de gránulos destruidos (lo cual se verificó con la observación al microscopio y el %G). Estos últimos poseen menor capacidad de AA que los gránulos cocidos sin destruir.

Por lo tanto, la AA crece a medida que aumenta el GC hasta alcanzar un máximo y luego, todo aumento del GC producirá una disminución de la AA. Ese máximo depende de varios factores (entre otros, del valor de cada una de las variables de extrusión como el diámetro de boquilla, relación de compresión, rpm del tornillo, etc.). En el SR, tanto los valores de S como los de VE de las muestras extrudidas corresponderían a altos GC, por lo tanto se debería esperar una relación inversa entre S y AA, lo cual no fue observado. Esta discrepancia con la tendencia normalmente presente cuando se trabaja con sémola proveniente de granos desgerminados y descascarados, podría atribuirse al efecto de la extrusión sobre la fibra. Los resultados obtenidos por Pérez-Navarrete y col. (2006) muestran que la extrusión-cocción produce un aumento de la FS, que podría provocar un aumento de la AA.

Es sabido que la S y el VE son buenos indicadores del GC (González y col., 2002a) y que ambas propiedades se relacionan directamente con éste, es decir a medida que el GC aumenta, tanto S como VE aumentan. Es posible inferir que el SR alcanzó un mayor GC que el SB, con predominio de gránulos totalmente destruidos, con menor capacidad de AA, mientras que en el SB predominarían los gránulos cocidos sin destruir y que dan como resultados mayor AA y menores valores de CEEM.

Considerando el análisis de todas las características fisicoquímicas y la dureza sensorial de los diferentes productos extrudidos, se concluyó que las muestras que se obtuvieron a 164°C poseían buena expansión pero eran duras sensorialmente, mientras que las producidas a 200°C tenían baja expansión y resultaban pegajosas en la evaluación sensorial. Entre los extrudidos obtenidos a 182°C se observó que la muestra procesada a 14%H poseía la mayor E y fue apropiada sensorialmente para elaborar un producto expandido, siendo la E del SR 23% mayor a la del SB. De igual manera, Acosta-Sánchez (2003) encontró que a 14% de humedad se producía la mejor calidad de sorgo extrudido, en un extrusor monotornillo a 100°C.

#### **IV.3.3. Efecto de las condiciones de extrusión en propiedades nutricionales de las harinas integrales extrudidas de sorgo**

En la Tabla IV.3.6 se presentan los resultados obtenidos para Pérdida de AF, PF y CAO correspondientes a las muestras de SB y SR integral extrudidos en las diferentes condiciones de proceso y en la Tabla IV.3.7 se muestran los resultados del ANOVA para estas respuestas. Teniendo en cuenta que la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0,05$ ), el modelo se consideró adecuado para describir los efectos de las variables sobre las respuestas estudiadas.

**Tabla IV.3.6:** Contenido de ácido fítico (AF) y Pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF), polifenoles (PF) y capacidad antioxidante (CAO) de las muestras de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) integral extrudidos.

| VARIABLES |          | SB                |                  |                    |                         | SR                |                  |                    |                         |
|-----------|----------|-------------------|------------------|--------------------|-------------------------|-------------------|------------------|--------------------|-------------------------|
| T<br>(°C) | H<br>(%) | AF<br>mg/<br>100g | Pérdida<br>de AF | PF<br>(mg<br>AG/g) | CAO<br>(µmol<br>TEAC/g) | AF<br>mg/<br>100g | Pérdida<br>de AF | PF<br>(mg<br>AG/g) | CAO<br>(µmol<br>TEAC/g) |
| 164       | 14,0     | 557,90            | 34,43            | 0,87               | 34,61                   | 1044,99           | 42,99            | 1,28               | 47,37                   |
|           | 16,5     | 624,74            | 26,58            | 1,04               | 37,51                   | 1081,42           | 41,00            | 1,31               | 46,05                   |
|           | 19,0     | 651,44            | 23,44            | 0,89               | 33,43                   | 1103,05           | 39,82            | 1,18               | 41,97                   |
| 182       | 14,0     | 547,04            | 35,71            | 1,01               | 39,05                   | 1021,39           | 44,28            | 1,26               | 48,91                   |
|           | 16,5     | 575,69            | 32,34            | 0,81               | 38,73                   | 1037,06           | 43,42            | 1,24               | 47,33                   |
|           | 16,5     | 612,73            | 27,99            | 0,76               | 33,18                   | 1032,94           | 43,65            | 1,20               | 47,88                   |
|           | 16,5     | 606,00            | 28,78            | 0,84               | 36,86                   | 1041,18           | 43,20            | 1,23               | 49,78                   |
|           | 19,0     | 585,26            | 31,22            | 0,73               | 30,57                   | 1102,28           | 39,87            | 1,25               | 43,13                   |
| 200       | 14,0     | 467,44            | 45,06            | 0,84               | 35,16                   | 911,95            | 50,25            | 1,40               | 44,16                   |
|           | 16,5     | 555,97            | 34,66            | 0,85               | 32,90                   | 964,06            | 47,41            | 1,29               | 45,15                   |
|           | 19,0     | 549,87            | 35,38            | 0,63               | 29,02                   | 1015,93           | 44,58            | 1,20               | 37,87                   |

**Tabla IV.3.7:** Resultados del ANOVA correspondientes a cada uno de los términos del modelo de segundo orden para pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF), Polifenoles (PF) y Capacidad Antioxidante (CAO) en las distintas condiciones de temperatura (T) y humedad (H) de extrusión de sorgo blanco (SB) y rojo (SR).

| Fuente          | SB            |               |               | SR            |               |               |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                 | p*            |               |               | p*            |               |               |
|                 | Pérdida de AF | PF            | CAO           | Pérdida de AF | PF            | CAO           |
| T               | <b>0,0326</b> | <b>0,0400</b> | 0,3454        | <b>0,0025</b> | 0,1429        | 0,1210        |
| H               | <b>0,0473</b> | <b>0,0416</b> | 0,1498        | <b>0,0048</b> | <b>0,0260</b> | <b>0,0310</b> |
| TxT             | 0,5562        | 0,3102        | 0,5070        | <b>0,0193</b> | 0,0863        | 0,0668        |
| TxH             | 0,8040        | 0,1045        | 0,4724        | 0,0804        | 0,1383        | 0,7622        |
| HxH             | 0,1174        | 0,2494        | 0,4135        | 0,1991        | 0,8181        | 0,0876        |
| Falta de ajuste | <b>0,5582</b> | <b>0,1152</b> | <b>0,7509</b> | <b>0,2641</b> | <b>0,0990</b> | <b>0,7024</b> |
| R <sup>2</sup>  | 0,9242        | 0,6931        | 0,7471        | 0,9849        | 0,6635        | 0,9506        |

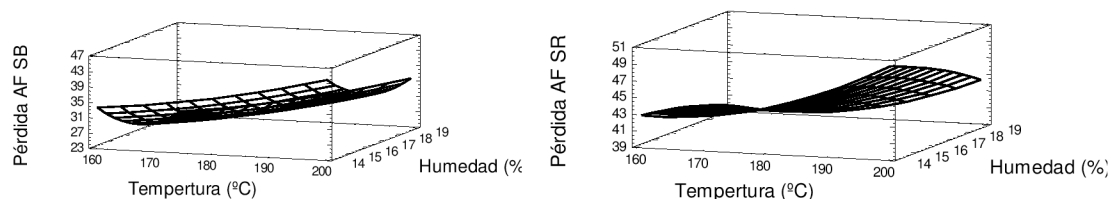
\*diferencias significativas p < 0,05



#### IV.3.3.1. Contenido de ácido fítico (AF) y Pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF)

El contenido inicial de fósforo correspondiente a fitatos en los granos enteros de SB fue de  $0,24 \pm 0,00$  g/100 g y para el SR fue  $0,25 \pm 0,01$  g/100 g. Los valores informados en la bibliografía para sorgo integral son muy diversos, desde 0,17 g/100 g (Ojeda y col., 2010) hasta 0,77 g/100 g (Smith y Frederiksen, 2000). Estos contenidos de fósforo de fitatos corresponden a contenidos de AF de 850,88 mg/100g en SB nativo y de 1833,06 mg/100g para el SR nativo. En las muestras extrudidas, el AF varió de 467,44 a 651,44 mg/100g para SB y de 911,95 a 1103,05 mg/100 g para SR, correspondiendo a pérdidas de 23 a 45% y 40 a 50%, para SB y SR, respectivamente.

En la Figura IV.3.8 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la Pérdida de AF de las harinas de sorgo integral.



**Figura IV.3.8:** Superficies respuesta para la pérdida de ácido fítico (Pérdida de AF) de las harinas extrudidas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

El ANOVA (Tabla IV.3.7) mostró que los términos lineales de las dos variables (T y H) fueron significativos, como así también el término TxT para el SR. Como se observa en la Figura IV.3.8, para ambos tipos de sorgo la pérdida de AF aumentó al aumentar T y disminuyó al aumentar H. Además, las muestras con menor contenido de AF fueron las obtenidas a  $200^{\circ}\text{C}$  - 14% H y las de mayor AF fueron las obtenidas a  $164^{\circ}\text{C}$  - 19% H, las cuales corresponden a los productos con mayor y menor GC, respectivamente.

De acuerdo a lo observado en otros trabajos, las reducciones en el contenido de fitatos de tostadas obtenidas por extrusión de harina de trigo variaron entre 13% y 25% (Le Francois, 1988). En otro trabajo realizado con centeno integral, la extrusión a  $170^{\circ}\text{C}$  produjo una reducción de fitatos del 23% (Fretzdorff y Weipert, 1986). Cuando la materia prima fue harina de frijol, y se utilizó un extrusor mono tornillo a  $150^{\circ}\text{C}$  y 20% de H, los resultados

indicaron que la extrusión disminuyó significativamente el contenido de AF de 17 y 25% (Batista y col., 2010). A su vez, Antón y col. (2009) en mezclas de frijol-maíz extrudidas en un extrusor doble tornillo, a 160°C y 22% H, reportó reducciones de AF entre 50% y 100% en comparación con los crudos.

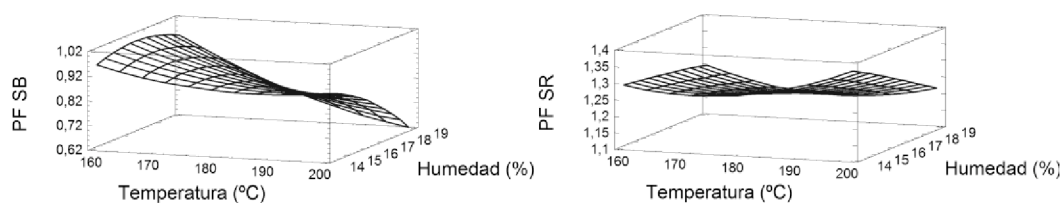
#### IV.3.3.2. Contenido de polifenoles (PF)

La concentración de PF fue de 1,42 mg AG/ g para harina nativa de SB y varió en un rango de 0,63 a 1,04 mg AG/ g para las extrudidas, fue de 2,01 mg AG/ g para la muestra de SR integral y en sus extrudidas varió de 1,18 a 1,40 mg AG/ g (Tabla IV.3.6).

Ojeda y col. (2010) realizaron un estudio con la finalidad de evaluar el contenido de taninos, fósforo correspondiente a fítico y actividad de fitasas en granos de diferentes híbridos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L) Moench). Se analizaron 12 muestras de híbridos representativas y se determinó que la cantidad de Fenoles Totales, expresada como % de Equivalentes de Ácido Tánico (% Eat), varió entre 0,55 y 1,29 (% Eat). Otros trabajos determinaron que la cantidad de PF en sorgo, expresado como porcentaje de ácido gálico (AG), fue de  $2,34 \pm 0,03$  g AG/100g a través del método Folin y utilizando para extraer los compuestos fenólicos una fase líquida compuesta por metanol-agua (50:50) (Padilla y col., 2008) y de 0,41 g AG/100g (Ragae y col., 2006). Esto indica que los resultados pueden ser muy variables dependiendo de los métodos de extracción y determinación utilizados, además de la variedad de sorgo analizado.

Del ANOVA (Tabla IV.3.7) se desprende que para el SB fueron significativos los términos lineales de T y H y para el SR lo fue la H.

En la Figura IV.3.9 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre el contenido de PF de los expandidos de sorgo integral.



**Figura IV.3.9:** Superficies respuesta para el contenido de polifenoles (PF) de las harinas extrudidas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura y humedad del proceso de extrusión.

Para SB se observó que al aumentar la T y la H de extrusión los PF extraídos disminuyeron y lo mismo se vió para SR en relación a la H. Awika y col. (2003a) también observaron que el contenido de fenoles de sorgo disminuyó por efecto de la extrusión.

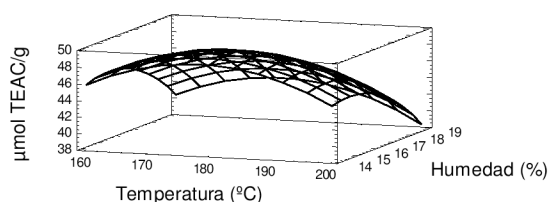
En el caso del SB, la reducción de PF causada por la extrusión varió entre un 27 y 56 % correspondiendo a las condiciones de 164°C -16,5 %H y 200°C - 19 %H, respectivamente. En el caso del SR, la reducción varió entre 30 - 41 %, correspondiendo a las condiciones de 200°C -14 %H y 164°C - 19 %H, respectivamente, manifestando el efecto significativo de la H y no así de la T.

Turner (2004) llevó a cabo una extrusión de sorgo con un extrusor mono-tornillo marca Maddox MX-3001 a 300 rpm, 149°C y 14 % de H, observando una reducción de PF del 38,6 al 46%. Ngwenya (2009) comparó las pérdidas de fenoles en granos de sorgo con bajo contenido de taninos por los procesos de fermentación y extrusión, y encontró que la mayor disminución fue en el último proceso, siendo la misma de un 33%.

#### IV.3.3.3. Capacidad antioxidante (CAO)

Para SB, los valores de CAO expresados como TEAC fueron de 49,35  $\mu\text{mol TEAC/g}$  y para las muestras extrudidas varió entre 29,85 y 49,05  $\mu\text{mol TEAC/g}$ . Para el caso del SR, fue de 55,86  $\mu\text{mol TEAC/g}$  y las muestras extrudidas variaron entre 37,87 y 49,78  $\mu\text{mol TEAC/g}$  muestra. Awika y col. (2003a) compararon distintos métodos de determinación de la CAO sobre muestras de sorgo (*Sorghum bicolor*) y sus productos extrudidos y concluyeron que los métodos ORAC y DPPH no ofrecían ventajas en términos de la predicción de la CAO, en comparación con el ABTS, que dió resultados más rápidos y consistentes, los cuales fueron para SB y su extrudido: 6 y 7  $\mu\text{mol TE/g}$ , medido a los 30 min.

En la Figura IV.3.10 se muestran las superficies respuesta de los efectos de la T y la H de extrusión sobre la capacidad CAO de los expandidos de sorgo integral.



**Figura IV.3.10:** Superficies respuesta para la capacidad antioxidante de las harinas extrudidas de sorgo rojo (SR) integral en función de la temperatura (T) y humedad (H) del proceso de extrusión.

El ANOVA mostró que no hubo efectos significativos de la H y la T en ninguno de sus términos, en el caso de la CAO de extrudidos de SB, pero sí un efecto significativo de la H para el SR, generando una reducción de la CAO a medida que ésta aumentó. Expresado en porcentaje, la reducción de la CAO causada por la extrusión varió entre 21 y 41% para el SB (correspondiendo a las condiciones de 182°C-14 %H y 200°C-19 %H, respectivamente), y entre 11 y 32% para el SR (correspondiendo a las condiciones de 182°C-16,5 %H y 200°C-19 %H, respectivamente). Estos valores son semejantes a los reportados por Awika y col. (2003a) quienes trabajando con un extrusor mono-tornillo y utilizando la misma técnica para medir la actividad antioxidante, encontraron una retención de la capacidad antioxidante en sorgo extrudido de 70 al 100%. Sin embargo Ngwenya (2009), trabajando con un extrusor doble-tornillo y también utilizando el ensayo de ABTS, observó una reducción de 83 al 87%. Con respecto al efecto de la H sobre la CAO, este investigador observó igual tendencia que en la presente investigación, es decir que el aumento de la H de extrusión produjo mayores pérdidas de dicha actividad.

Padilla y col. (2008) determinaron la CAO en nueces, variedades de semillas y sorgo, utilizando el método de decoloración del  $\beta$ -caroteno, y obteniendo un valor de 73,96 % para este último, frente a un 89,64 % de semilla de cacao. Mientras que Ragaee y col. (2006), en un estudio sobre la CAO y composición nutricional de cereales seleccionados para uso alimentario, encontraron que la CAO medida a los 3 min con la técnica del ABTS fue de  $51,7 \pm 0,57 \mu\text{mol TEAC/g}$  en el caso del sorgo.

Turner (2004) realizó una extrusión de sorgo y sorgo con agregado de salvado con un extrusor mono-tornillo (Maddox MX-3001) a 300 rpm, 149 °C y 14 % de H y observó que la CAO varió entre 17,1 y 41,3  $\mu\text{mol TEAC/g}$  medido con el método DPPH. Por otra parte, Awika y col. (2003b), trabajaron con granos de sorgo con alto contenido de tanino extrudidos con un extrusor mono-tornillo (Maddox Metal Works, Inc., Dallas, TX, modelo MX-3001), a una velocidad de 300 rpm, diámetro de boquilla 6,125 mm, y 12% H de la muestra y observó una mayor CAO luego de la extrusión de sorgo descascarado (18 mmol TEAC / g), en comparación con el grano sin extrudir (7 mmol TEAC / g). Esto se puede deber al aumento de la extractabilidad de los fenoles, como también a los productos preliminares de la reacción de Maillard que generan compuestos con actividad antioxidante. Ngwenya (2009) observó que el contenido de fenoles totales y taninos en el sorgo y productos elaborados de sorgo (papillas y extrudidos) estaban altamente correlacionados con la CAO ( $R^2$ : 0,96 y 0,94, respectivamente).

Los extrusores mono-tornillo son adecuados para elaborar productos de alta expansión, generando gran fricción. En determinadas condiciones de T y H se puede producir la despolimerización de los taninos condensados y su conversión a oligómeros de bajo peso molecular, facilitando la interacción con otras moléculas, como las prolaminas  $\gamma$ -Kafirinas, lo que explicaría la reducción significativa de la actividad antioxidante en el sorgo cocido (Emmambux y Taylor, 2003). Considerando esta situación, se puede inferir que la proteína desnaturizada por la cocción, expone estructuras que promueven las interacciones proteína-taninos. En forma contradictoria, Riedl y Hagerman (2001) manifestaron que el complejo proteína-tanino mantiene su actividad antioxidante, por lo que tendrían potencial para actuar como atrapadores de radicales libres en el tracto GI. Estudios in vitro han demostrado que la flora microbiana colónica puede producir la degradación de los polímeros de taninos (Déprez y col., 2000), por lo que incluso es posible que los complejos proteína-taninos puedan disociarse en el tracto GI, liberando a los taninos.

#### **IV.3.4. Evaluación nutricional de muestras selectas de extrudidos de sorgo integral**

Las condiciones de proceso más adecuadas para obtener productos expandidos de sorgo integral, considerando las características deseadas tanto fisicoquímicas como sensoriales, fueron de 182°C - 14% H. Estas muestras fueron evaluadas en cuanto a propiedades nutricionales, cuyos resultados se presentan en la Tabla IV.3.8 y IV.3.9. Los resultados del ANOVA para las mismas muestras se hallan en la Tabla IV.3.10.

Del análisis de la composición centesimal se observa que no hubo diferencias por el color y la extrusión en el contenido de PR, EE y FDT. El contenido de CZ no fue afectado por la extrusión, pero fue diferente acorde al color del sorgo, siendo mayor en el SR (Tabla IV.3.8 y Tabla IV.3.10).

**Tabla IV.3.8:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), ácido fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF libres (PF Lib) y PF ligados (PF Lig) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y extrudidas\* selectas de sorgo blanco (SBE) y rojo (SRE).

| Componentes                | SB                            | SBE                           | SR                            | SRE                            | p             |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------|
| <b>PR (g/100g)</b>         | 11,09 ± 0,23 <sup>a</sup>     | 11,02 ± 0,02 <sup>a</sup>     | 11,36 ± 0,15 <sup>a</sup>     | 11,22 ± 0,10 <sup>a</sup>      | 0,2610        |
| <b>EE (g/100g)</b>         | 2,82 ± 0,14 <sup>bc</sup>     | 2,67 ± 0,10 <sup>a</sup>      | 2,72 ± 0,05 <sup>c</sup>      | 2,72 ± 0,02 <sup>ab</sup>      | 0,4703        |
| <b>FDT (g/100g)</b>        | 8,00 ± 0,48 <sup>a</sup>      | 9,04 ± 0,89 <sup>a</sup>      | 8,01 ± 0,74 <sup>a</sup>      | 8,70 ± 0,45 <sup>a</sup>       | 0,4137        |
| <b>CZ (g/100g)</b>         | 1,48 ± 0,01 <sup>a</sup>      | 1,45 ± 0,07 <sup>a</sup>      | 1,68 ± 0,09 <sup>b</sup>      | 1,59 ± 0,05 <sup>ab</sup>      | 0,1108        |
| <b>Fe (mg/kg)</b>          | 24,11 ± 0,66 <sup>a</sup>     | 28,97 ± 1,53 <sup>c</sup>     | 28,83 ± 1,87 <sup>b</sup>     | 31,54 ± 0,53 <sup>c</sup>      | 0,0627        |
| <b>Zn (mg/kg)</b>          | 14,38 ± 0,43 <sup>a</sup>     | 14,73 ± 0,02 <sup>a</sup>     | 16,01 ± 0,25 <sup>b</sup>     | 15,88 ± 0,32 <sup>b</sup>      | <b>0,0000</b> |
| <b>Ca (mg/kg)</b>          | 128,24 ± 3,10 <sup>a</sup>    | 128,89 ± 1,13 <sup>a</sup>    | 156,25 ± 2,95 <sup>b</sup>    | 156,00 ± 4,86 <sup>b</sup>     | <b>0,0000</b> |
| <b>Cu (mg/kg)</b>          | 2,96 ± 0,01 <sup>a</sup>      | 2,94 ± 0,02 <sup>a</sup>      | 3,42 ± 0,03 <sup>b</sup>      | 3,41 ± 0,01 <sup>b</sup>       | <b>0,0000</b> |
| <b>K (mg/kg)</b>           | 4098,95 ± 295,70 <sup>a</sup> | 3747,81 ± 27,12 <sup>ab</sup> | 3708,00 ± 248,04 <sup>a</sup> | 3795,80 ± 259,23 <sup>ab</sup> | 0,0691        |
| <b>Mg (mg/kg)</b>          | 2079,72 ± 0,81 <sup>b</sup>   | 2077,19 ± 26,06 <sup>b</sup>  | 1856,74 ± 62,28 <sup>a</sup>  | 1826,32 ± 27,02 <sup>a</sup>   | <b>0,0000</b> |
| <b>Na (mg/kg)</b>          | 159,29 ± 2,37 <sup>b</sup>    | 161,02 ± 12,97 <sup>ab</sup>  | 151,42 ± 12,12 <sup>ab</sup>  | 146,08 ± 0,60 <sup>a</sup>     | 0,0861        |
| <b>P (mg/kg)</b>           | 2849,25 ± 86,88 <sup>a</sup>  | 2811,51 ± 208,60 <sup>a</sup> | 2991,40 ± 112,93 <sup>a</sup> | 2905,50 ± 48,43 <sup>a</sup>   | 0,3966        |
| <b>AF (mg/100g)</b>        | 850,88 ± 6,64 <sup>b</sup>    | 547,04 ± 26,96 <sup>a</sup>   | 876,36 ± 44,24 <sup>b</sup>   | 603,36 ± 55,59 <sup>a</sup>    | <b>0,0020</b> |
| <b>PF Lib (mg AG/100g)</b> | 101,76 ± 2,09 <sup>b</sup>    | 75,89 ± 3,03 <sup>a</sup>     | 195,70 ± 6,97 <sup>d</sup>    | 116,31 ± 4,69 <sup>c</sup>     | <b>0,0000</b> |
| <b>PF Lig (mg AG/100g)</b> | 567,17 ± 16,41 <sup>b</sup>   | 429,48 ± 20,36 <sup>a</sup>   | 877,48 ± 17,66 <sup>c</sup>   | 444,66 ± 19,31 <sup>a</sup>    | <b>0,0000</b> |

Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas (p < 0,05), \*182°C - 14% H

**Tabla IV.3.9:** Propiedades nutricionales de muestras selectas: bioaccesibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO) de harinas nativas de sorgo blanco (SB) y rojo (SR) y extrudidas\* de sorgo blanco (SBE) y rojo (SRE).

| Propiedad Nutricional    | SB                        | SBE                       | SR                        | SRE                       | p             |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| <b>DFe (%)</b>           | 1,03 ± 0,12 <sup>a</sup>  | 4,03 ± 0,24 <sup>c</sup>  | 1,37 ± 0,05 <sup>b</sup>  | 4,27 ± 0,05 <sup>c</sup>  | <b>0,0000</b> |
| <b>DZn (%)</b>           | 5,16 ± 0,29 <sup>c</sup>  | 4,20 ± 0,18 <sup>a</sup>  | 5,42 ± 0,14 <sup>c</sup>  | 4,61 ± 0,16 <sup>b</sup>  | <b>0,0003</b> |
| <b>DCa (%)</b>           | 64,07 ± 5,85 <sup>a</sup> | 67,06 ± 6,02 <sup>a</sup> | 70,90 ± 6,23 <sup>a</sup> | 65,28 ± 5,98 <sup>a</sup> | <b>0,9903</b> |
| <b>DPR (%)</b>           | 85,37 ± 2,03 <sup>a</sup> | 98,47 ± 2,16 <sup>b</sup> | 76,99 ± 3,17 <sup>a</sup> | 96,34 ± 5,17 <sup>b</sup> | <b>0,0091</b> |
| <b>LD (mg/ g PR)</b>     | 4,22 ± 0,23 <sup>b</sup>  | 3,37 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 4,40 ± 0,39 <sup>b</sup>  | 3,04 ± 0,40 <sup>a</sup>  | <b>0,0290</b> |
| <b>CAO (µmol TEAC/g)</b> | 49,35 ± 3,00 <sup>b</sup> | 39,05 ± 1,52 <sup>a</sup> | 55,86 ± 2,71 <sup>c</sup> | 48,91 ± 0,73 <sup>b</sup> | <b>0,0010</b> |

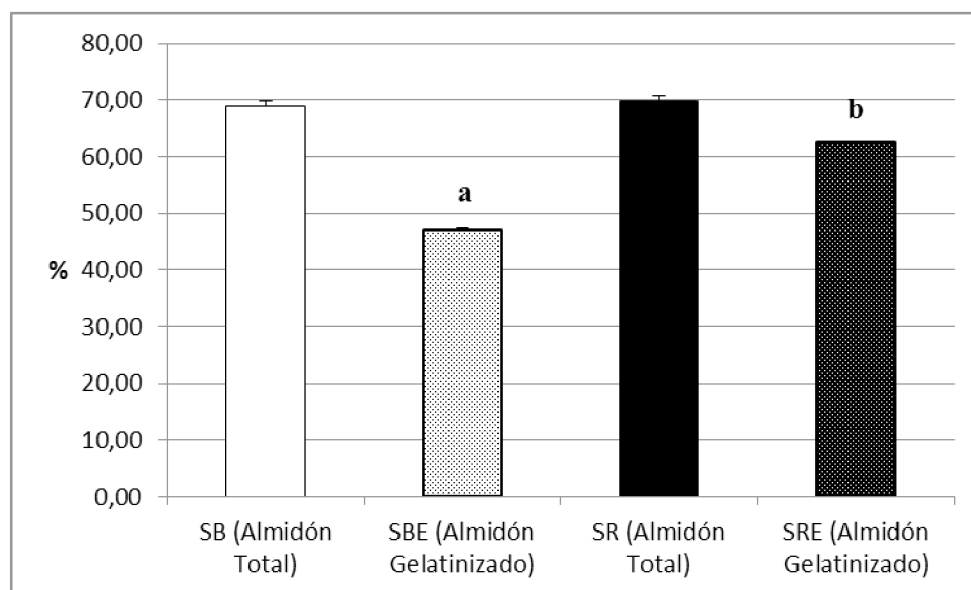
Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas (p < 0,05), \*182°C - 14% H

**Tabla IV.3.10:** Resultados de ANOVA Multifactor para los efectos del proceso, el color y su interacción en la composición centesimal (proteínas (PR), extracto etéreo (EE), Fibra Dietaria Total (FDT), cenizas (CZ), minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P), Ácido Fítico (AF), polifenoles (PF) totales (PFT), PF Libres (PF Lib), PF Ligados (PF Lig)) y propiedades nutricionales (biodisponibilidad de Fe, Zn y Ca (DFe, DZn y DCa), digestibilidad proteica (DPR), lisina disponible (LD) y capacidad antioxidante (CAO)) de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas\* selectas de sorgo blanco (SBE) y rojo (SRE).

| Determinaciones | PROCESO       | COLOR         | INTERACCION   |
|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>PR</b>       | 0,3661        | 0,0944        | 0,7700        |
| <b>EE</b>       | 0,2965        | 0,6846        | 0,2954        |
| <b>FDT</b>      | 0,1403        | 0,7440        | 0,7289        |
| <b>CZ</b>       | 0,2600        | <b>0,0181</b> | 0,5110        |
| <b>Fe</b>       | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | 0,0526        |
| <b>Zn</b>       | 0,4366        | <b>0,0000</b> | 0,1171        |
| <b>Ca</b>       | 0,9064        | <b>0,0000</b> | 0,7906        |
| <b>Cu</b>       | 0,1567        | <b>0,0000</b> | 0,2719        |
| <b>K</b>        | 0,2688        | 0,1548        | 0,0737        |
| <b>Mg</b>       | 0,4223        | <b>0,0000</b> | 0,4953        |
| <b>Na</b>       | 0,0551        | 0,1597        | 0,5289        |
| <b>P</b>        | 0,4338        | 0,1541        | 0,7564        |
| <b>AF</b>       | <b>0,0004</b> | 0,2040        | 0,5981        |
| <b>PF Lib</b>   | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> |
| <b>PF Lig</b>   | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> | <b>0,0000</b> |
| <b>PFT</b>      | <b>0,0000</b> | <b>0,0001</b> | <b>0,0003</b> |
| <b>DFe</b>      | <b>0,0000</b> | <b>0,0138</b> | 0,5769        |
| <b>DZn</b>      | <b>0,0001</b> | <b>0,0217</b> | 0,5328        |
| <b>DCa</b>      | 0,5445        | 0,1341        | 0,7540        |
| <b>DPR</b>      | <b>0,0025</b> | 0,0925        | 0,2601        |
| <b>LD</b>       | <b>0,0070</b> | 0,7559        | 0,3073        |
| <b>CAO</b>      | <b>0,0011</b> | <b>0,0014</b> | 0,2974        |

\*diferencias significativas p < 0,05, \*182°C - 14% H

Las muestras nativas presentaron similar contenido de **almidón total**:  $68,86 \pm 1,01$  g/100g para SB y  $69,87 \pm 0,79$  g/100g para SR ( $p: 0,2442$ ). Las respectivas muestras extrudidas tuvieron valores de almidón gelatinizados de  $47,00 \pm 0,28$  g/100g (SBE) y  $62,72 \pm 0,05$  g/100g (SRE), correspondiendo a porcentajes de gelatinización de 68 y 90%, siendo esta diferencia significativa ( $p: 0,0002$ ) (Figura IV.3.11). Esto también confirma que estas muestras de SRE tuvieron mayor GC que las de SBE.



**Figura IV.3.11:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco nativo (SB) y sorgo rojo nativo (SR) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

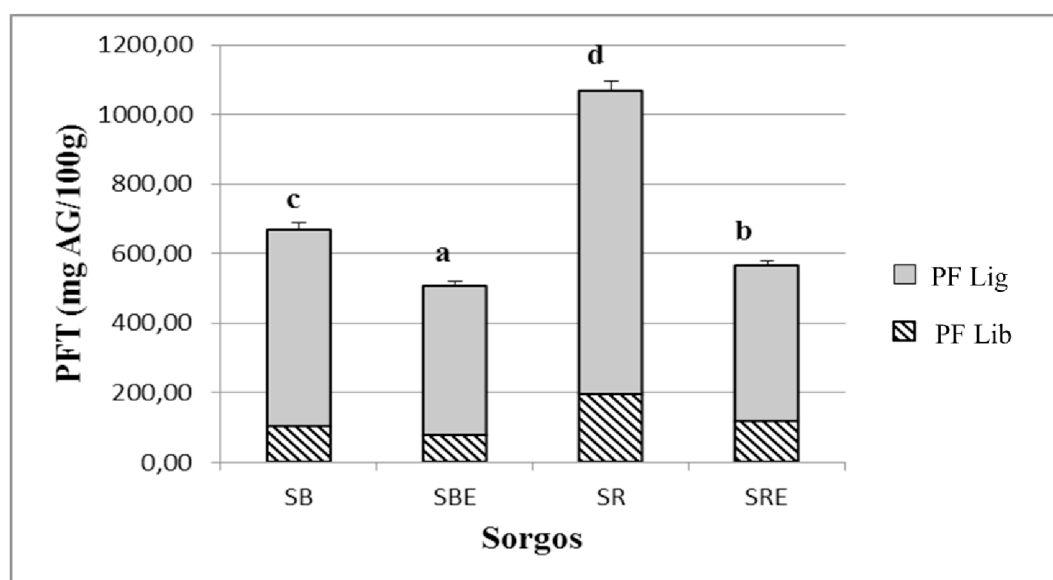
Respecto al contenido de **minerales**, los valores de Zn, Ca, Cu y Mg difirieron según el color del sorgo, siendo mayor los tres primeros en SR y Mg en SB. El contenido de Fe fue mayor en SR y aumentó en ambos sorgos luego de la extrusión (SBE: 17% y SRE: 9%). El incremento en el contenido de Fe luego de la extrusión ha sido observado por otros investigadores (Ummadi y col., 1995, Guy, 2001), y en otros trabajos realizados en el ITA (Llopart y col., 2013, Lassa, 2008), y puede atribuirse al aporte provocado por el desgaste del cañón durante la extrusión. Esto es posible debido a que, para las condiciones de extrusión de un expandido, los niveles de fricción son elevados (valores de CEEM mayores a 500 J/g). Respecto al resto de los minerales y tal como se observó en otros trabajos (Drago y col., 2011), la extrusión no cambió su contenido.

Al analizar las Tablas IV.3.8 y IV.3.10 se observa que el **AF** sólo fue afectado por el proceso y la reducción producida por la extrusión fue de un 36% para SBE y 31% para SRE. El efecto de la extrusión sobre el AF no ha sido claramente dilucidado. Algunos autores



(Mbithi-Mwikya y col., 2000, Mamiro y col., 2001) no observaron ningún cambio, mientras que otros reportaron una disminución en el contenido de AF en los productos extrudidos (Le Francois, 1988, Sandberg y Svanberg, 1991, Llopart y col., 2013, Valencia y col., 2013).

El contenido de **PF** fue afectado significativamente por el proceso, el color y la interacción de ambos (Tablas IV.3.8 y IV.3.10). Además, los PF Lib y PF Lig fueron mayores en las muestras de SR que en SB y ambos se redujeron significativamente luego de la extrusión, quedando el contenido de PF Lib mayor en SR y el de PF Lig similar en ambos tipos de sorgos. Como consecuencia de lo mencionado, el contenido de PFT se redujo 24 % y 47% para el SB y el SR, respectivamente (Figura IV.3.12). Como fue mencionada en el Punto IV.3.3.2 se ha reportado en la bibliografía que la extrusión reduce el contenido de PF (Awika y col., 2003a, Turner, 2004, Ngwenya, 2009).



**Figura IV.3.12:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas selectas de sorgo blanco (SBE) y sorgo rojo (SRE).

La **DFe** fue mayor en el SR, y además para ambos aumentó significativamente luego de la extrusión (SBE: 291% y SRE: 212%) (Tabla IV.3.9). Similar comportamiento fue observado por Watzke (1998) en productos extrudidos. Hazell y Johnson (1987) propusieron que los productos de reacción de procesos de alta temperatura y esfuerzos de corte podrían aumentar la solubilidad del Fe por cambios en su forma química. Además, los fitatos, taninos y PF, que ligan el Fe en complejos insolubles pobremente absorbidos (King y col., 2000, Uauy y col., 2002, Kloots y col., 2004), se reducen durante la extrusión (Llopart y col., 2013), por lo que se puede adjudicar el aumento de la DFe a la disminución de inhibidores. La

hidrólisis de los fitatos ocurre en algunos procesos, tales como el remojo de los granos, la fermentación, la germinación y la extrusión-cocción (Sandberg y Svanberg, 1991). La degradación de fitatos a formas de inositol de menor contenido de fosfato (tetra, tri o difosfatos) generada por la extrusión, depende de las condiciones del proceso utilizado y no sigue un patrón definido (Ummadi y col., 1995).

La **DZn** fue similar en ambos sorgos y se redujo luego de la extrusión, en mayor medida en SB (reducción SBE: 19% y SRE: 15%) (Tabla IV.3.9). Este comportamiento fue observado en SR extrudido (Llopart y col., 2013) y en frijoles extrudidos (Drago y col., 2007a). El efecto negativo de la extrusión en la DZn también fue observado en productos elaborados a base de mezclas maíz/ frijol (Drago y col., 2007b). Las alteraciones químicas inducidas por el calor en componentes de las harinas, tales como fibra, AF y taninos, podrían cambiar sus propiedades quelantes y modificar la disponibilidad de minerales (Alonso y col., 2001).

La **DCa** fue similar en SR y SB y no fue afectada por la extrusión (Tablas IV.3.9 y IV.3.10) (Tabla IV.3.9). Esto también fue observado en mezclas maíz-soja (Drago y col., 2011).

Considerando lo anteriormente explicado respecto a las relaciones molares de AF y minerales, éstas se calcularon para predecir la biodisponibilidad de minerales de las harinas integrales de sorgo (Tabla IV.3.11).

**Tabla IV.3.11:** Razones molares AF/Fe, AF/Zn, AF/Ca y AFxCa/Zn, de las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) y extrudidas\* selectas de sorgo blanco (SBE) y sorgo rojo (SRE).

| Molar Ratio     | SB     | SBE    | SR     | SRE    |
|-----------------|--------|--------|--------|--------|
| <b>AF/Fe</b>    | 29,87  | 15,98  | 25,72  | 16,19  |
| <b>AF/Zn</b>    | 58,62  | 36,79  | 54,23  | 37,63  |
| <b>AF/Ca</b>    | 4,03   | 2,58   | 3,41   | 2,35   |
| <b>AFxCa/Zn</b> | 187,57 | 118,31 | 211,43 | 146,48 |

\*182°C - 14% H

Las relaciones molares AF/Fe resultaron mayores al nivel crítico ( $AF/Fe > 1$ ) en todas las muestras, indicando que la biodisponibilidad del Fe se verá afectada en las harinas de sorgos nativas y extrudidas por el contenido de AF. Si bien se observó una reducción de la relación posterior a la extrusión, lo que se refleja en un aumento de la DFe tal como fue mencionada anteriormente, la bioaccesibilidad continuó siendo baja (<5%). Por otra parte,

relaciones molares AF/Zn por encima de 15 indican que estaría afectada la disponibilidad de este mineral, lo cual se observa para todas las muestras. Cabe destacar que este índice se redujo luego de la extrusión, lo cual no se manifestó en la DZn. Asimismo, la razón molar AFxCa/Zn, sólo se encontró por encima de 200 para la muestra de SR nativo, lo que estaría indicando un efecto inhibitorio sinérgico de dichos compuestos sobre la absorción del Zn. Esto tampoco se reflejó en la ya muy baja bioaccesibilidad del Zn. En relación con el Ca, los índices son superiores al nivel crítico ( $AF/Ca > 0,24$ ), lo que afectaría su biodisponibilidad. Al igual que en popeado, se puede decir que aunque la bioaccesibilidad del Ca fue elevada ( $> 60\%$ ), el bajo contenido de este mineral hace que sea poco significativo su aporte a los requerimientos dietarios.

Tal como se observa en las Tablas IV.3.9 y IV.3.10, sólo existió efecto significativo del proceso sobre la **DPR** para ambos tipos de sorgos, aumentando significativamente luego de la extrusión 15 y 25% para SBE y SRE, respectivamente. Este comportamiento ha sido observado anteriormente en sorgo extrudido (Maclean y col., 1983, Llopart y col., 2013) y en mezclas de maíz y frijol extrudidas (Pérez-Navarrete y col., 2007). Esto confirma que el aumento de la digestibilidad proteica es una de las ventajas que se atribuyen al proceso de cocción por extrusión (Harper, 1981, El-Hady y Habiba, 2003, Drago y col., 2007b). La DPR es un indicador de la calidad de las proteínas, siendo los alimentos de origen animal los que presentan mayor digestibilidad. El mayor contenido de fibra cruda de los alimentos de origen vegetal, haría que la velocidad de tránsito intestinal sea mayor y como consecuencia, se obtendría una menor absorción de nutrientes. Además, la estructura terciaria de las proteínas animales es menos compleja que la de los vegetales, por lo que es más fácilmente digerida por las enzimas gastrointestinales. Otros factores que disminuyen la digestibilidad proteica de los alimentos de origen vegetal son algunos componentes tales como los inhibidores de proteasas, taninos y hemaglutininas. De ahí, la necesidad de emplear tratamientos térmicos para su cocción, que pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos, ya que éstos pueden interaccionar con los carbohidratos que abundan en los alimentos de origen vegetal (Hernández y col., 1984), por la reacción de Maillard.

Las condiciones de H y T que normalmente se aplican en la extrusión favorecen las reacciones de Maillard (reacción de azúcares reductores con los grupos aminos libres), pudiendo tener un efecto negativo sobre la digestibilidad y la disponibilidad de los aminoácidos (Björck y Asp, 1983). La disponibilidad de lisina se puede utilizar como una medida del daño del procesamiento (Walker, 1983). Al respecto, la **LD** sólo fue afectada por

el proceso, siendo reducida en ambos tipos de sorgo y en mayor medida en SR (reducción de LD en SBE: 20 % y SRE: 31 %) (Tablas IV.3.9 y IV.3.10). Resultados similares fueron observados en la extrusión de harinas de SR integral (Llopart y col., 2013). Este valor de pérdida de lisina está dentro del rango informado para otras materias primas. Björck y col. (1984) estudiaron el efecto de la cocción por extrusión sobre el valor nutricional de proteínas de la harina de trigo y harina integral de trigo. Se observó una retención de lisina entre el 63 y el 100%, mientras que la pérdida de otros aminoácidos fue pequeña. La mínima variación observada fue consecuencia del aumento en la velocidad de avance en el extrusor, mientras que la mayor pérdida fue consecuencia del aumento en la velocidad del tornillo. En un trabajo realizado con mezclas de harinas extrudidas de maíz y soja, los resultados de la medición de lisina disponible luego de la extrusión variaron en un rango de reducción de 3%, para las condiciones menos críticas, y de 20,5% para las más severas (Konstance y col., 1998). Una excesiva reacción de Maillard puede provocar pérdidas de lisina hasta aproximadamente un 50%, tal como fue observado por De La Gueriviere y col. (1985) en la extrusión de trigo. En el caso de harina de arroz, la extrusión realizada a 15% de H y 120-150°C redujo el contenido de lisina total en un 11-13% (Eggum y col., 1986). Por otra parte, Pérez-Navarrete y col. (2006) evaluaron los efectos de la extrusión sobre la calidad nutricional de una harina mezcla de maíz y frijol y observaron que la disponibilidad de lisina disminuyó entre un 15 y un 25%.

La **CAO** expresada como TEAC para las muestras SB y SR estuvieron en los rangos de valores observados por otros investigadores (Ragaei y col., 2006, Dicko y col., 2006), existiendo diferencias significativas entre ellas y correspondiendo el mayor valor a SR (Tablas IV.3.9 y IV.3.10). Luego del proceso de extrusión se observó una reducción de la CAO de un 21% para el SBE y 12% para SRE.

Como se mencionó anteriormente, el descenso del contenido de PFT se reflejó en una reducción de la CAO, ya que los granos de sorgo muestran actividades antioxidantes altamente relacionadas con su contenido de compuestos fenólicos (Dicko y col., 2005).

Luego de la extrusión se observaron reducciones en los contenidos de PFT y AF y en la CAO, lo que puede deberse a las condiciones (humedad y temperatura) del proceso. Cabe destacar que en un estudio realizado con harinas integrales de SR precocidas por extrusión a 182°C - 14% H (Llopart y col., 2013), también se produjeron reducciones en los contenidos de PFT y AF y en la CAO. Al igual que en papeado, en comparación con las frutas y verduras cuya CAO está entre 6-37 y 4,5-14  $\mu\text{mol TEAC/g}$ , respectivamente (Miller y col., 2000), las harinas integrales de sorgo extrudidas poseen una elevada CAO.

### **IV.3.5. Determinación de Fenoles por HPLC**

#### **IV.3.5.1. Elección del método a utilizar para la determinación de compuestos fenólicos por HPLC**

Se ensayaron distintos métodos para determinar los ácidos fenólicos: cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico por HPLC (Punto III.3.6). El Ensayo 1, además de ser muy extenso no permitía lograr la separación correcta de los picos del p-cumárico, ferúlico y sinápico. Con el fin de reducir el tiempo de trabajo se realizó el Ensayo 2, en el cual se separó exitosamente el p-cumárico, pero no así el ferúlico y sinápico. Para lograr separar estos últimos, muy similares en su estructura, se llevó a cabo el Ensayo 3 donde se cambió la fase móvil por una más ácida, utilizando ACN, lográndose la separación de los cuatro estándares, aunque los 2 últimos se juntaban en la base. Por ello, se aumentó el % de ácido acético. El pH más bajo en la fase móvil produjo picos más angostos logrando la separación óptima de los estándares.

Finalmente las condiciones seleccionadas fueron las que se describen a continuación. Para la fase móvil se utilizó una solución de 16 % (V/V) de ACN en ácido acético 1% (V/V) en agua, durante 30 min a un flujo de 0,7 mL/min y una temperatura de 24,5°C. La detección fue realizada a una longitud de onda de 320 nm.

#### **IV.3.5.2. Estudio de las condiciones de hidrólisis sobre compuestos fenólicos**

Se observó que luego de la hidrólisis ácida, fue posible detectar mayor número de picos con menor ruido. Por este motivo se decidió trabajar con todas la muestras hidrolizadas.

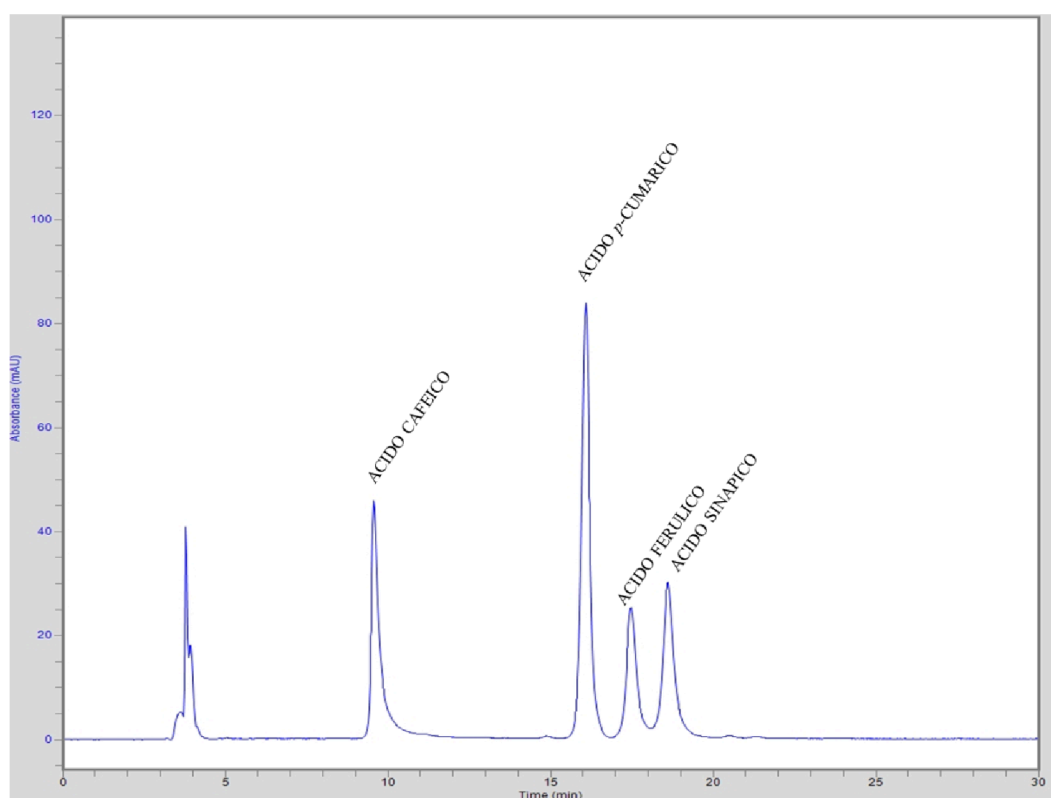
#### **IV.3.5.3. Contenido de los ácidos fenólicos cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico**

El contenido de los ácidos fenólicos: cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico, determinados por HPLC en las condiciones previamente definidas y con hidrólisis ácida se muestran en la Tabla IV.3.12. Además, a modo de ejemplo se presenta en la Figura IV.3.13 un cromatograma correspondiente al extracto de PF Lig de SR.

**Tabla IV.3.12:** Contenido de ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico en extractos de PF libres y ligados de harina de sorgo blanco nativo (SB), sorgo rojo nativo (SR), sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

| Extracto Fenólico | Muestra  | CAFEICO (µg/g)             | p-CUMARICO (µ/g)           | FERULICO (µg/g)            | SINAPICO (µg/g)            |
|-------------------|----------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| PF Libres         | SB       | 76,40 ± 0,89 <sup>c</sup>  | 11,48 ± 0,01 <sup>b</sup>  | 15,69 ± 0,69 <sup>d</sup>  | 29,68 ± 0,59 <sup>c</sup>  |
|                   | SBE      | 46,98 ± 0,29 <sup>a</sup>  | 8,58 ± 0,25 <sup>a</sup>   | 9,12 ± 0,02 <sup>a</sup>   | 20,41 ± 0,84 <sup>a</sup>  |
|                   | SR       | 99,94 ± 7,14 <sup>d</sup>  | 14,36 ± 0,79 <sup>c</sup>  | 11,05 ± 0,10 <sup>c</sup>  | 23,04 ± 0,42 <sup>b</sup>  |
|                   | SRE      | 64,47 ± 3,74 <sup>b</sup>  | 8,45 ± 0,08 <sup>a</sup>   | 9,63 ± 0,02 <sup>b</sup>   | 20,52 ± 0,11 <sup>a</sup>  |
|                   | <b>p</b> | <b>0,0002</b>              | <b>0,0004</b>              | <b>0,0002</b>              | <b>0,0002</b>              |
| PF Ligados        | SB       | 290,70 ± 8,90 <sup>c</sup> | 319,39 ± 4,58 <sup>c</sup> | 177,21 ± 1,65 <sup>c</sup> | 250,10 ± 3,44 <sup>b</sup> |
|                   | SBE      | 253,91 ± 3,76 <sup>a</sup> | 277,21 ± 4,77 <sup>a</sup> | 151,13 ± 1,87 <sup>a</sup> | 236,46 ± 3,84 <sup>a</sup> |
|                   | SR       | 490,06 ± 5,75 <sup>d</sup> | 555,51 ± 4,48 <sup>d</sup> | 294,98 ± 2,09 <sup>d</sup> | 419,43 ± 2,42 <sup>d</sup> |
|                   | SRE      | 275,49 ± 3,66 <sup>b</sup> | 305,30 ± 2,54 <sup>b</sup> | 164,62 ± 0,82 <sup>b</sup> | 307,96 ± 1,48 <sup>c</sup> |
|                   | <b>p</b> | <b>0,0000</b>              | <b>0,0000</b>              | <b>0,0000</b>              | <b>0,0000</b>              |

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas (p < 0,05).



**Figura IV.3.13:** Cromatograma HPLC del extracto de PF ligados de SR. Identificación de los picos para ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico.

Estos compuestos fenólicos son los más abundantes en sorgo (Tomás-Barberán y Espin, 2001, Chiremba y col., 2012), motivo por el cual fueron seleccionados para determinarlos.

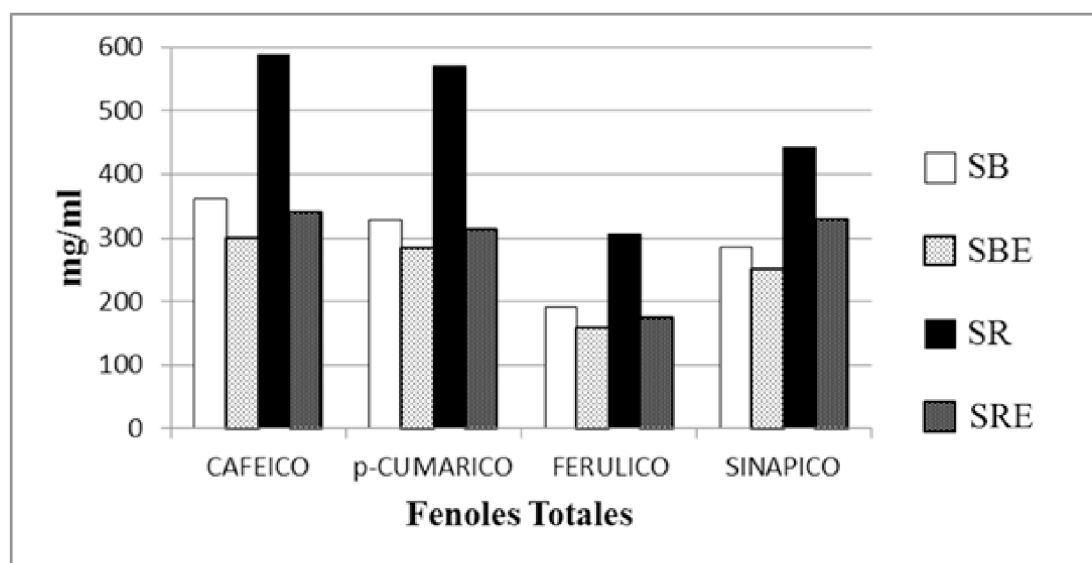
Se observaron diferencias significativas en los contenidos de los 4 ácidos fenólicos entre la variedad blanca y la roja de sorgo (Tabla IV.3.12), correspondiendo los mayores valores al SR, coincidiendo con el hecho de que los sorgos con testa pigmentada roja tienen niveles más altos de compuestos fenólicos (Awika y col., 2003b).

En los extractos de PF lib de los sorgos nativos y extrudidos, el ácido cafeico fue el fenol que se halló en mayor cantidad y en los extractos de PF Lig fue el ácido p-cumárico. En sorgo se ha reportado que el compuesto fenólico predominante es el ácido ferúlico (Chiremba y col., 2012), seguido por p-cumárico (Hahn y col., 1983, Verbruggen y col., 1993) y en la revisión realizada por Tomás-Barberán y Espin (2001), se concluyó que el mayor contenido era de ácido ferúlico, seguido por p-cumárico, sinápico y cafeico. Los menores contenidos de ferúlico determinados pueden deberse a la hidrólisis ácida efectuada para medir los otros compuestos fenólicos. Nuutila y col. (2002), reportaron una retención del 35% en la concentración de ácido ferúlico, luego de una hidrólisis ácida usando 1,2 mol/L de HCl por 2 horas a 80°C. Esto indica que para poder medir ferúlico es necesario ensayar condiciones de hidrólisis más suaves que la empleada, por lo que se realizarán futuros análisis para determinar las condiciones apropiadas de hidrólisis y se medirá el contenido real de ferúlico en estas muestras.

Todos los sorgos contienen compuestos fenólicos, pero su genotipo y el medio ambiente en el que se cultivan influyen en la cantidad presente en cualquier cultivar (Tomás-Barberán y Espin, 2001).

En la investigación realizada por Chiremba y col. (2012), se estudiaron 8 variedades de sorgo y de maíz y se observó que el contenido de ácido ferúlico, en el extracto de PF ligados del salvado de ambos cereales, tenía buena correlación con la dureza de los mismos. El mecanismo por el cual los ácidos fenólicos pueden influir en la dureza de los granos puede estar relacionado con la unión química de los compuestos dentro de las paredes celulares de las plantas. La mayoría de los estudios han demostrado que el ácido ferúlico y sus oligómeros, son los más frecuentes en la formación de uniones con las paredes celulares. Este ácido forma enlaces de tipo éster y éter con el arabinosilano y la lignina (Lam y col., 1992), los cuales se pueden relacionar con la dureza de los granos.

El contenido de los fenoles, tanto en los extractos de PF Lib como en los de PF Lig, se redujo luego de la extrusión (Tabla IV.3.12) y consecuentemente se manifestó en el contenido total de cada uno de los compuestos fenólicos, calculado como la suma del contenido de ambos extractos (Figura IV.3.14).



**Figura IV.3.14:** Contenido total de ácido cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico (ug/g) en Sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR) nativos y extrudidos.

Entre el SBE y SRE, hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en el contenido total de cada uno de los fenoles estudiados. La reducción del contenido de ácido cafeico total fue en SBE: 17% y en SRE: 42%, la de ácido p-cumárico fue en SBE: 14% y SRE: 45% y la de sinápico fue en SBE: 12% y en SRE: 26%. Suponiendo que la hidrólisis ácida afectó proporcionalmente el contenido de ácido ferúlico, la reducción por extrusión fue en SBE: 17% y en SRE: 43%

Aunque el SR sufrió las mayores reducciones luego de la extrusión, el SRE siguió teniendo un contenido más elevado de fenoles.

#### IV.3.6. Extrusión de harinas de sorgo refinadas

##### IV.3.6.1. Efectos de la extrusión sobre las características fisicoquímicas de los productos expandidos de sorgos descascarados

Dos muestras de SB y SR fueron peladas de manera de obtener harinas refinadas acorde a los requisitos del CAA (Artículo 663bis -Res 4276, 28.12.79), que admite hasta 0,65



g de cenizas en 100 g de harina. Las harinas refinadas y sus correspondientes integrales fueron extrudidas a 160°C-14%H para proceder a comparar sus respuestas.

En la Figura IV.3.15 se presentan los granos enteros y descascarados de SB5 y SR14, sus respectivas harinas y expandidos obtenidos por extrusión, y en la Tabla IV.3.13, los resultados obtenidos para CEEM, E, VE, S y AA de los expandidos.

|           | SB       |              | SR       |              |
|-----------|----------|--------------|----------|--------------|
|           | Integral | Descascarado | Integral | Descascarado |
| GRANO     |          |              |          |              |
| HARINA    |          |              |          |              |
| EXTRUDIDO |          |              |          |              |

**Figura IV.3.15:** Granos, harinas y extrudidos de granos enteros y descascarados de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR).

Para el caso del CEEM, el SBE tuvo un valor mayor que el SBDE, y al contrario, el SRE obtuvo un valor menor que el SRDE. Para ambos sorgos, la E y el VE, fue mayor en los expandidos de harinas refinadas. Las características de hidratación analizadas en las harinas extrudidas fueron S y AA. Las harinas precocidas refinadas de ambos sorgos presentaron mayor S que las integrales. En forma opuesta, la AA fue mayor en las integrales (Tabla IV.3.13).

A su vez, el SBDE presentó mayor E, VE, S y menor AA que el SRDE. Estas características se asocian con un mayor GC, como es típico de los productos extrudidos de harinas refinadas, tal como la sémola de maíz (González y col., 2002a).

**Tabla IV.3.13:** Consumo específico de energía mecánica (CEEM), expansión (E), volumen específico (VE), solubilidad (S) y absorción de agua (AA) de harinas de sorgo blanco integral extrudido (SBE), sorgo blanco descascarado extrudido (SBDE), sorgo rojo integral extrudido (SRE) y sorgo rojo descascarado extrudido (SRDE).

| Muestra  | CEEM<br>(J/g)       | E                 | VE<br>(cm <sup>3</sup> /g) | S<br>(g/100g)      | AA<br>(mL/g)      |
|----------|---------------------|-------------------|----------------------------|--------------------|-------------------|
| SBE      | 634,01 <sup>c</sup> | 3,14 <sup>b</sup> | 6,09 <sup>b</sup>          | 17,02 <sup>a</sup> | 7,13 <sup>b</sup> |
| SBDE     | 518,02 <sup>b</sup> | 3,80 <sup>d</sup> | 9,42 <sup>d</sup>          | 29,53 <sup>b</sup> | 5,88 <sup>a</sup> |
| SRE      | 358,62 <sup>a</sup> | 2,59 <sup>a</sup> | 4,76 <sup>a</sup>          | 18,61 <sup>a</sup> | 8,07 <sup>b</sup> |
| SRDE     | 537,51 <sup>b</sup> | 3,48 <sup>c</sup> | 7,23 <sup>c</sup>          | 28,54 <sup>b</sup> | 7,41 <sup>c</sup> |
| <b>p</b> | <b>0,0001</b>       | <b>0,0000</b>     | <b>0,0000</b>              | <b>0,0013</b>      | <b>0,0023</b>     |

Letras distintas en cada columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Al observar al microscopio las harinas extrudidas de SBE y SRE, ambas presentaron cruz de malta. Esto se debe a que el salvado afecta al transporte del material en el extrusor, generando un GC incompleto. Cabe destacar que el SBE presentó mayor proporción de cruz de malta, es decir menor GC que el SRE en la misma condición de procesamiento.

Pérez y col. (2008) trabajando con mezclas de maíces de distinta dureza y realizando reemplazos parciales con harina de soja entera descascarada observaron que la mezcla de sémola de maíz blando-soja extrudida alcanzó mayor GC y mayor E que aquella de maíz duro-soja. Esto implica que la presencia de fibra, aceite y la diferencia de dureza de partículas de la soja y el maíz provocaron una mayor cocción del endospermo más blando respecto del más duro en la extrusión, al contrario de lo que sucede en la extrusión de harinas refinadas (el endospermo más duro alcanza mayor GC). Asimismo, González y col. (2004) reportaron que la presencia de salvado y germen reduce el nivel de fricción, interfiriendo en el proceso de cocción del almidón y amplía la distribución del tiempo de residencia de las partículas dentro del extrusor.

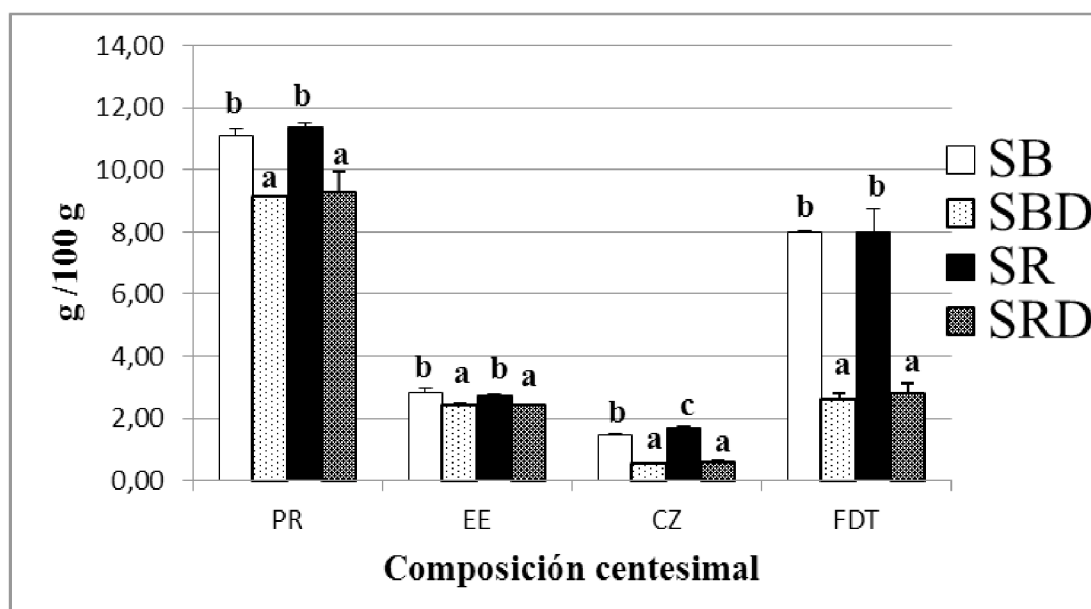
Como se mencionó, el SBDE presentó mayor GC que el SRDE, manifestado en los mayores valores de E y VE. El SB es más duro y al estar descascarado se cocina más, como ocurre con la extrusión de sémola de maíz con diferente dureza (Robutti y col., 1995). Respecto al comportamiento en el extrusor de las harinas descascaradas, la conversión de flujo es de sólido a viscoso, entonces el material más duro se convierte antes, generando menor CEEM. Para el caso de harinas integrales esa conversión es incompleta y se manifiesta en que el material que se cocina más, presenta mayores valores de CEEM.

Teniendo en cuenta los comportamientos de las harinas integrales y descascaradas frente a la cocción por extrusión, es posible afirmar lo mencionado previamente en este capítulo, que el SB es más duro y que sus harinas integrales requieren condiciones más severas de extrusión que el SR para alcanzar similar GC.

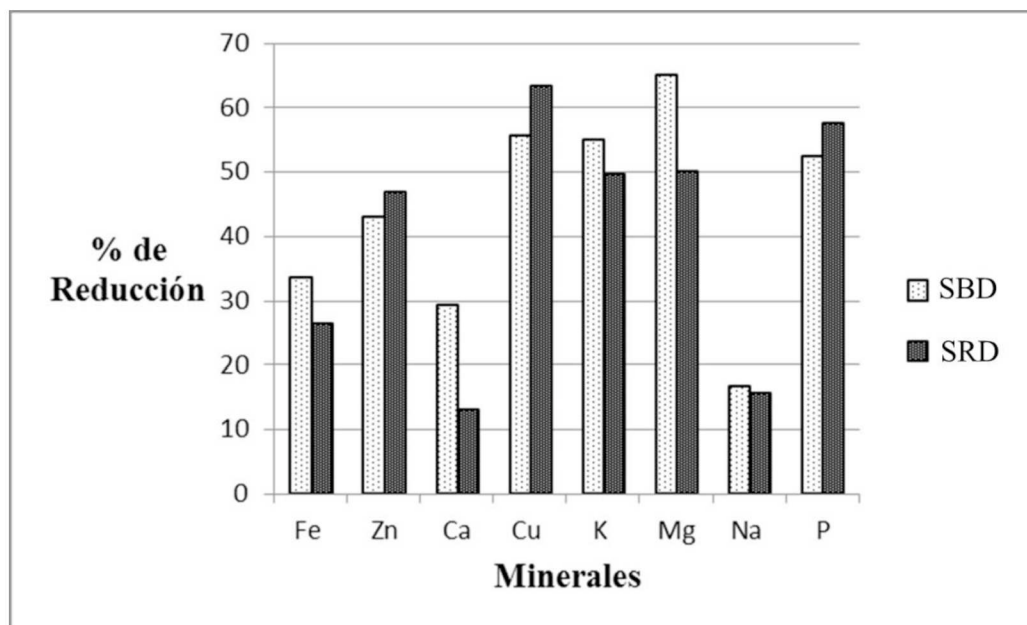
**IV.3.6.2. Evaluación nutricional de las muestras descascaradas y extrudidas**

Se determinó la composición de las muestras descascaradas y se la comparó con las integrales (Figura IV.3.16). Las muestras descascaradas presentaron menores valores de PR (reducción: SBD: 16% y SRD: 17%), de EE (reducción: SBE: 10% y SRE: 12%), de CZ (reducción: SBD: 62% y SRD: 59%) y de FDT (reducción: SBD: 66% y SRD: 65%).

En la Figura IV.3.17 se presenta la reducción producida por el descascarado en el contenido mineral, la cual fue significativa ( $p < 0,05$ ) en todos los casos y variaron entre 13 y 65 %. Rao y col. (1980) reportaron una reducción de minerales en magnitudes similares en 6 híbridos de sorgo descascarados. Shafique y col. (2006) también observaron reducciones significativas para estos nutrientes en sorgo descascarado.



**Figura IV.3.16:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ) y fibra dietaria total (FDT) de las harinas de sorgo integral blanco (SB) y rojo (SR), sorgo descascarado blanco (SBD) y rojo (SRD).

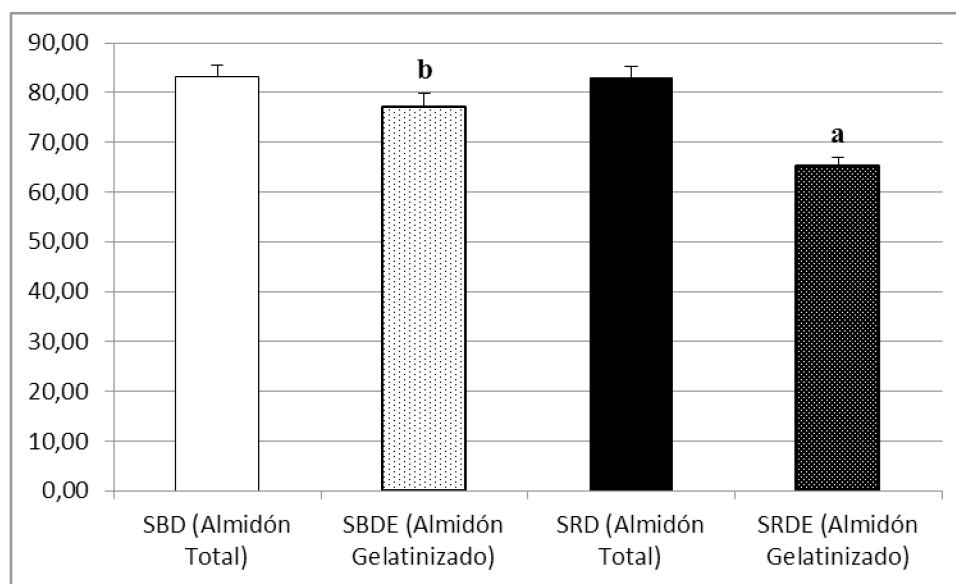


**Figura IV.3.17:** Porcentaje de reducción de minerales: Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P, luego del descascarado.

En la Tabla IV.3.14 se presentan los resultados de la evaluación nutricional de las muestras descascaradas y descascaradas extrudidas de SB y SR. Al igual que se observó en la Punto IV.3.4, no hubo diferencias estadísticamente significativas para los contenidos de PR, EE, CZ y FDT antes y luego de la extrusión.

Las harinas descascaradas presentaron similar contenido de **almidón** total:  $83,33 \pm 2,21$  g/100 g de para SBD y  $82,96 \pm 2,24$  g/100 para SRD (p: 0,8226). Las respectivas muestras extrudidas presentaron un porcentaje de gelatinización de 92 y 78%, correspondiendo a valores de almidón gelatinizados de  $77,06 \pm 2,89$  g/100g y  $65,30 \pm 1,65$  g/100 g, respectivamente, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p: 0,0378) (Figura IV.3.18). Estos resultados también indican que el SBDE tuvo mayor GC.

Respecto al contenido de **minerales**, la extrusión de los sorgos descascarados aumentó el contenido de Fe (incremento: SBDE: 43% y SRDE: 11%), fenómeno observado y explicado en sorgo integral, y no se observó diferencia para el restos de los minerales (Tabla IV.3.14).



**Figura IV.3.18:** Contenido de Almidón Total en sorgo blanco descascarado (SBD) y sorgo rojo descascarado (SRD) y Almidón Gelatinizado en sorgo blanco descascarado extrudido (SBDE) y sorgo rojo descascarado extrudido (SRDE).

La **DPR** aumentó luego del descascarado, un 2% para el SBD y un 12 % para el SRD, respecto a los integrales. Otros investigadores (Ramachandra y col., 1977, Chibber y col., 1980, Hulse y col., 1980) informaron el efecto favorable del descascarado en la digestibilidad proteica in vitro de cereales. Roy (1985) reportó un incremento de 8% en la digestibilidad de sorgo al ser descascarado. Es sabido que la extrusión genera un aumento de la digestibilidad, que en este caso fue de 13 % para SBDE y 12% para SRDE, con lo cual el aumento de la DPR generada por ambos procesos (descascarado y extrusión) fue de 16 y 25 % para SB y SR, respectivamente (Tabla IV.3.14).

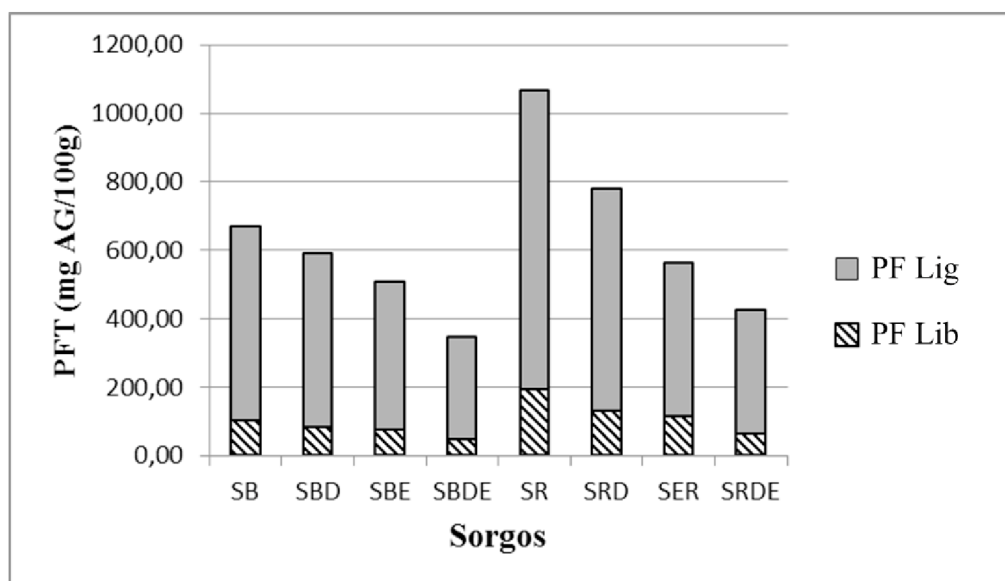
Al analizar el contenido de **AF**, se observó que el descascarado produjo una reducción del 54% en el caso del SBD y del 50% para SRD. Esto también fue observado en sorgo por Shafique y col. (2006). Al extrudir las muestras descascaradas, y como era de esperar acorde a lo observado en el Punto IV.3.4, también se produjo una reducción de AF, siendo el porcentaje de reducción por extrusión de 59% y 46% para SBDE y SRDE, respectivamente.

**Tabla IV.3.14:** Composición centesimal: proteínas (PR), extracto etéreo (EE), fibra dietaria total (FDT), cenizas (CZ), contenido de minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P, digestibilidad proteica (DPR), PF Libres (PF Lib) y ligados (PF Lig), ácido fítico (AF) y capacidad antioxidante (CAO) de harinas de sorgo descascarado blanco (SBD) y rojo (SRD) y sorgo descascarado extrudido blanco (SBDE) y rojo (SRDE).

| Componentes                | SBD                          | SBDE                          | SRD                          | SRDE                        | p             |
|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|---------------|
| <b>PR (g/100g)</b>         | 9,15 ± 0,01                  | 9,05 ± 0,15                   | 9,75 ± 0,63                  | 9,27 ± 0,24                 | 0,6890        |
| <b>EE (g/100g)</b>         | 2,47 ± 0,05                  | 2,49 ± 0,04                   | 2,43 ± 0,06                  | 2,44 ± 0,05                 | 0,5655        |
| <b>FDT (g/100g)</b>        | 2,61 ± 0,18                  | 2,77 ± 0,18                   | 2,83 ± 0,29                  | 2,78 ± 0,13                 | 0,6852        |
| <b>CZ (g/100g)</b>         | 0,57 ± 0,02                  | 0,58 ± 0,01                   | 0,63 ± 0,01                  | 0,61 ± 0,03                 | 0,1390        |
| <b>Fe (ppm)</b>            | 16,37 ± 1,53 <sup>a</sup>    | 23,35 ± 0,14 <sup>c</sup>     | 21,22 ± 1,09 <sup>b</sup>    | 23,59 ± 1,26 <sup>c</sup>   | <b>0,0000</b> |
| <b>Zn (ppm)</b>            | 8,35 ± 0,31 <sup>b</sup>     | 8,66 ± 0,25 <sup>b</sup>      | 7,75 ± 0,23 <sup>a</sup>     | 7,62 ± 0,10 <sup>a</sup>    | <b>0,0000</b> |
| <b>Ca (ppm)</b>            | 92,34 ± 2,14 <sup>a</sup>    | 92,26 ± 8,69 <sup>a</sup>     | 133,35 ± 13,54 <sup>b</sup>  | 135,07 ± 6,90 <sup>b</sup>  | <b>0,0000</b> |
| <b>Cu (ppm)</b>            | 1,31 ± 0,06                  | 1,28 ± 0,06                   | 1,23 ± 0,01                  | 1,27 ± 0,10                 | 0,3146        |
| <b>K (ppm)</b>             | 1842,84 ± 48,00 <sup>a</sup> | 1922,51 ± 145,11 <sup>a</sup> | 1863,75 ± 75,77 <sup>a</sup> | 1882,40 ± 8,84 <sup>a</sup> | 0,4384        |
| <b>Mg (ppm)</b>            | 725,23 ± 19,78 <sup>a</sup>  | 721,76 ± 17,20 <sup>a</sup>   | 925,34 ± 15,09 <sup>b</sup>  | 919,22 ± 15,26 <sup>b</sup> | <b>0,0000</b> |
| <b>Na (ppm)</b>            | 121,82 ± 7,92 <sup>c</sup>   | 120,43 ± 2,17 <sup>bc</sup>   | 112,91 ± 5,07 <sup>ab</sup>  | 110,26 ± 3,91 <sup>a</sup>  | <b>0,0079</b> |
| <b>P (ppm)</b>             | 1245,61 ± 44,85              | 1257,65 ± 12,62               | 1270,15 ± 20,72              | 1254,86 ± 25,30             | 0,6853        |
| <b>DPR (%)</b>             | 87,30 ± 3,70 <sup>a</sup>    | 98,65 ± 1,90 <sup>b</sup>     | 86,24 ± 0,83 <sup>a</sup>    | 96,51 ± 3,09 <sup>b</sup>   | <b>0,0193</b> |
| <b>AF (mg/100g)</b>        | 388,45 ± 7,98 <sup>c</sup>   | 157,56 ± 5,54 <sup>a</sup>    | 439,47 ± 38,64 <sup>c</sup>  | 238,80 ± 10,44 <sup>b</sup> | <b>0,0005</b> |
| <b>PF Lib (mg AG/100g)</b> | 83,76 ± 5,32 <sup>c</sup>    | 46,97 ± 1,46 <sup>a</sup>     | 130,24 ± 4,16 <sup>d</sup>   | 64,74 ± 3,09 <sup>b</sup>   | <b>0,0000</b> |
| <b>PF Lig (mg AG/100g)</b> | 505,61 ± 5,17 <sup>c</sup>   | 298,22 ± 12,27 <sup>a</sup>   | 649,45 ± 7,72 <sup>d</sup>   | 361,12 ± 8,93 <sup>b</sup>  | <b>0,0000</b> |
| <b>CAO (μmol TEAC/g)</b>   | 8,36 ± 0,09 <sup>a</sup>     | 6,23 ± 0,91 <sup>a</sup>      | 13,22 ± 0,22 <sup>b</sup>    | 6,25 ± 1,63 <sup>a</sup>    | <b>0,0049</b> |

Media ± DE. Letras distintas en cada fila indican diferencias significativas (p < 0,05).





**Figura IV.3.19:** Polifenoles Totales (PFT) dados por la suma de Polifenoles Libres (PF Lib) y Polifenoles Ligados (PF Lig) en las harinas nativas de sorgo blanco (SB) y sorgo rojo (SR), harinas descascaradas de sorgo blanco (SBD) y rojo (SRD), harinas de sorgo extrudido blanco (SBE) y rojo (SRE) y harinas de sorgo descascarado extrudido blanco (SBDE) y rojo (SRDE).

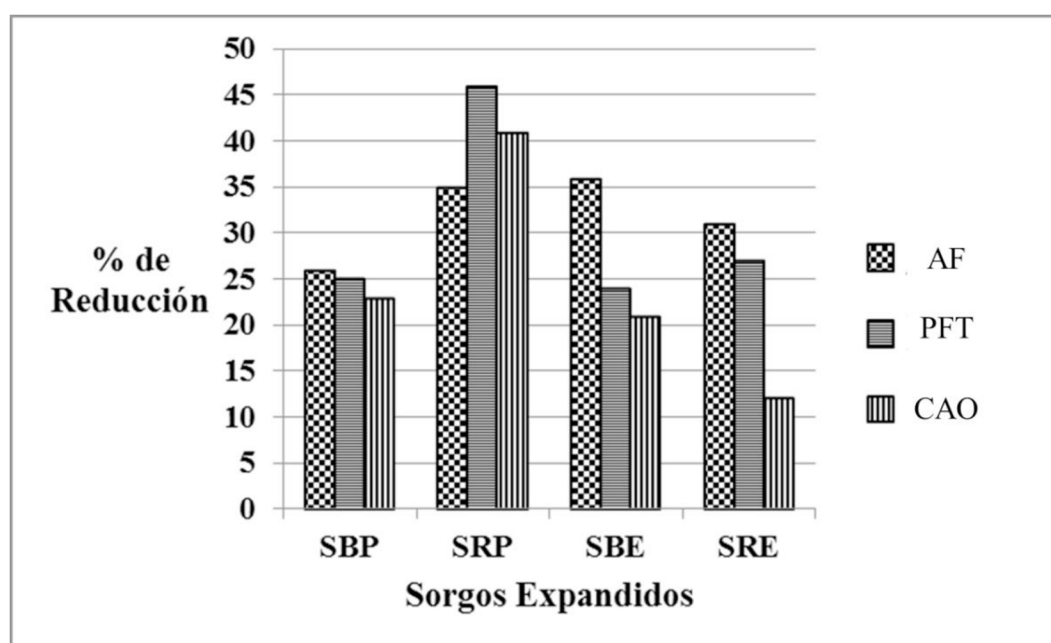
Respecto al contenido de **PF Lib**, el descascarado generó una reducción de 18% en el SBD y de 33% en SRD, y respecto a los **PF Lig** la reducción por descascarado fue para el SBD de 11% y para el SRD 26%, manifestando una disminución del contenido de PFT de 12% para el SBD y 27% para el SRD. El pelado de cereales puede disminuir el contenido de PF, ya que éstos están presentes, en mayor concentración, en sus partes más externas (D'Archivio y col., 2007). La reducción ocasionada en los PFT por la extrusión de las harinas descascaradas fue 41% en el caso del SBDE (589,37 a 345,19 mg AG/100g) y de 45% para el SRDE (779,69 a 425,86 mg AG/100g) (Figura IV.3.19). Mwasaru y col. (1988) observaron una reducción en el contenido de taninos luego del descascarado, como así también Awika y col. (2005) en PF.

Respecto a la **CAO**, el descascarado generó una reducción del 83% en el SBD y del 76% en el SRD. Awika y col. (2005) también reportaron reducción de la actividad antioxidante en sorgos descascarados. Acorde a lo obtenido en la Punto IV.3.4, el proceso de extrusión también generó una reducción de la CAO en los sorgos descascarados, de 26% para el SBDE y de 53% para el SRDE.

### IV.3.7. Comparación de los efectos de los procesos de popeado y de extrusión en las propiedades nutricionales

Se observó que el popeado disminuyó el contenido de CZ, FDT y minerales debido a la pérdida de cáscara durante el proceso, mientras que en la extrusión se observó un aumento en el contenido de Fe por contaminación, adjudicable al desgaste del cañón durante el proceso. En ambos procesos la DFe aumentó para SB y SR, en popeado lo hizo 30 y 61% y en extrusión 291 y 212%. La DZn disminuyó 48 y 28% y 19 y 15 %, para popeado y extrusión, respectivamente para SB y SR.

El porcentaje de almidón gelatinizado en popeado fue mayor para SBP (90%) y en extrusión para SRE (82%). La DPR aumentó en ambos procesos (popeado: 8 y 9% y extrusión: 15 y 25% para SB y SR, respectivamente) y la LD disminuyó en ambos procesos (popeado: 16 y 24% y extrusión: 20 y 31% para SB y SR, respectivamente).



**Figura IV.3.20:** Porcentaje de reducción de ácido fítico (AF), polifenoles totales (PFT) y capacidad antioxidante (CAO) en harinas de sorgo blanco popeado (SBP), sorgo rojo popeado (SRP), sorgo blanco extrudido (SBE) y sorgo rojo extrudido (SRE).

Del análisis de la Figura IV.3.20 se desprende que el popeado de SR redujo más los PF y compuestos antioxidantes, lo cual se puede deber a la mayor T del proceso y a la pérdida de la cáscara mencionada, y que la extrusión de SB manifestó la mayor pérdida de AF.



#### IV.3.8. Conclusiones parciales

- El SR alcanzó un mayor GC en la extrusión que el SB, con mayores valores de CEEM, VE, E, S y G% y con predominio de gránulos totalmente destruidos, generando menor capacidad de AA, y en el SB predominaron los gránulos cocidos sin destruir y que dan como resultados mayor AA y menores valores de CEEM, VE, E, S y G%.
- La muestra de mayor dureza sensorial fue la de menor GC obtenida a 164°C - 19% H, tanto para SB como para SR, y por su parte las más blandas fueron las obtenidas a 200°C - 19% H para el caso de SB y a 200°C - 14% H para el SR, de mayor GC.
- El aumento de la H de extrusión produjo una reducción de la Pérdida de AF, de los PF en ambos sorgos y de la CAO en SR. El aumento de T generó una reducción de AF y del contenido de PF para SB.
- La Pérdida de AF estuvo en un rango de 23 a 45 % y 40 a 50 %, para SB y SR, respectivamente. Para ambos sorgos la muestra con mayor Pérdida de AF fue la obtenida a 200°C - 14% H y la de menor Pérdida de AF fue la obtenida a 164°C - 19% H, las cuales corresponden a la de mayor y menor GC, respectivamente.
- En el caso del SB, la reducción de PF causada por la extrusión varió entre 27 y 56 % y la de CAO, entre 21 y 41 %. En el SR, variaron entre 30 - 41 % y 11 y 32 %, respectivamente.
- Para obtener una harina precocida con buenas propiedades de hidratación, la condición adecuada para extrudir sería a 200°C - 14% H. A partir de esta harina y con ingredientes sin TACC, se podrían preparar mezclas instantáneas de sopas tipo crema y papillas para toda la población incluyendo a los celíacos.
- Para obtener un producto tipo snacks con buenas características fisicoquímicas y sensoriales, la condición de extrusión adecuada sería a 182°C - 14% H. Si el resto de las materias primas utilizadas son sin TACC, sería posible elaborar snacks aptos para celíacos.
- Respecto a las propiedades nutricionales de los expandidos, la DFe aumentó significativamente luego de la extrusión, la de DZn disminuyó y la de DCa no varió. La DPR aumentó luego de la extrusión un 15 y 25 % para SBE y SRE, y la LD se redujo 20 y 31% para SBE y SRE.

- La extrusión produjo una reducción del contenido de PF Lib y PF Lig, AF y CAO. Sin embargo, las harinas precocidas integrales obtenidas por extrusión pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.
- Los extractos libres y ligados de SR presentaron la mayor cantidad de fenoles. En los extractos libres de los sorgos nativos y extrudidos, el ácido cafeico fue el fenol que se halló en mayor cantidad y en los extractos ligados fue el ácido p-cumárico.
- La extrusión disminuyó los compuestos fenólicos en ambos tipos de sorgo. El SR sufrió las mayores reducciones, aunque el SRE siguió teniendo el mayor contenido.
- Teniendo en cuenta los comportamientos de las harinas integrales y descascaradas frente a la cocción por extrusión, es posible afirmar que el SB es más duro y que sus harinas integrales requieren condiciones más severas de extrusión que el SR para alcanzar similar GC.
- El descascarado produjo una reducción significativa de los macro y micronutrientes y la extrusión a las harinas refinadas no afectó significativamente al contenido de ningún macronutriente.
- El contenido de AF, PFT y CAO fue menor en las muestras de sorgos descascarados extrudidos, como consecuencia de las reducciones ocasionadas por ambos procesos.
- El popeado generó reducción de CZ, FDT y minerales, y mayores pérdidas de CAO, mientras que la extrusión aumentó en mayor medida la DFe y la DPR.

#### IV.4. ESTUDIO IN VIVO DE LAS PROPIEDADES NUTRICIONALES DE HARINAS INTEGRALES EXTRUDIDAS DE SORGOS

De acuerdo a los estudios realizados en el Punto IV.3.4, se obtuvieron productos extrudidos de sorgos integrales con los que se elaboraron dietas conteniendo ingredientes de grano entero (SBE y SRE) que fueron evaluadas en animales de experimentación, comparándolas con una dieta control. Cabe destacar que las dietas fueron diseñadas para proveer similares cantidades de lípidos, proteínas, micronutrientes y 5% de fibra, aportada por el ingrediente de grano entero incluido en la formulación.

##### IV.4.1. Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en la ingesta de alimentos y la ganancia de peso

La Tabla IV.4.1 presenta los indicadores del crecimiento evaluados durante la experiencia (60 días).

**Tabla IV.4.1:** Ingesta total, ingesta diaria, ganancia de peso (GP) y eficiencia.

| Dieta    | Ingesta total<br>(g/60 días) | Ingesta diaria<br>(g/ día) | GP<br>(g/60 días)          | Eficiencia<br>(GP/ g dieta) |
|----------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| C        | 1115,62 ± 16,62 <sup>b</sup> | 18,44 ± 0,27 <sup>b</sup>  | 310,69 ± 4,78 <sup>b</sup> | 0,26 ± 0,01 <sup>a</sup>    |
| SBE      | 931,35 ± 31,42 <sup>a</sup>  | 16,99 ± 0,56 <sup>a</sup>  | 279,49 ± 7,30 <sup>a</sup> | 0,29 ± 0,02 <sup>a</sup>    |
| SRE      | 985,71 ± 23,31 <sup>a</sup>  | 15,57 ± 0,44 <sup>a</sup>  | 279,70 ± 6,17 <sup>a</sup> | 0,28 ± 0,01 <sup>a</sup>    |
| <b>P</b> | <b>0,0030</b>                | <b>0,0101</b>              | <b>0,0557</b>              | <b>0,2247</b>               |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ). Dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

En la Tabla IV.4.1 se observa que las **ingestas total y diaria** presentaron diferencias significativas entre los lotes de ratas alimentados con las dietas elaboradas con sorgo (SBE y SRE) y las alimentadas con la dieta C, siendo para la última los valores más elevados. Esto se manifestó en la **GP**, ya que fueron las ratas alimentadas con la dieta C las que presentaron el mayor aumento de peso corporal. Sin embargo, la **eficiencia** no difirió entre la dietas.

En estudios previos realizados con este modelo de ratas en crecimiento (Albarracín y col., 2014), donde se evaluó una dieta con GE de maíz extrudido y una dieta C, y se observó que la ingesta total ( $981,28 \pm 26,10$  y  $1134,44 \pm 24,92$  g/60 días, respectivamente), la ingesta diaria ( $16,49 \pm 0,43$  y  $19,21 \pm 0,042$  g/ días, respectivamente) y la eficiencia ( $0,26 \pm 0,01$  y  $0,27 \pm 0,01$  g PC/ g dieta, respectivamente) tuvieron el mismo comportamiento respecto al C que en el presente trabajo. En otro estudio realizado en ratas adultas de 140 g de peso (Adam y col., 2003), se trabajó con una dieta C, harina de trigo integral y pan integral (con niveles de FDT de 0,0, 9,8 y 10,1%, respectivamente) y se observó que no hubo diferencias de eficiencia entre las dietas, obteniéndose valores semejantes a los presentados en esta tesis (dieta C:  $0,29 \pm 0,03$ , dieta con harina de trigo integral:  $0,31 \pm 0,02$  y dieta con pan integral:  $0,27 \pm 0,02$ ). Coudray y col. (2001) realizaron un estudio en ratas alimentadas con GE de trigo y refinado, y observaron que los consumos fueron menores para estos grupos en comparación con la dieta C. Además, se indicó que los animales alimentados con la dieta C presentaron el mayor crecimiento, seguidos por los alimentados con GE y finalmente por los que consumieron trigo refinado, sin presentar estos últimos ningún signo clínico de deficiencia. Paturi y col. (2012) observaron en ratas Sprague–Dawley alimentadas con dietas con 7% de inulina o fibra de papa, una disminución de un 10% en la ingesta en comparación con la dieta C de celulosa, indicando que la suplementación con FD podría haber promovido la saciedad mediante la disminución significativa en la ingesta de alimentos. Kim y Park (2012), alimentaron ratas adultas diabéticas con dietas con extractos de sorgo y observaron que comieron más y aumentaron menos de peso en relación a las ratas alimentadas con la dieta C. Zduńczyk y col. (2006) trabajaron con ratas machos Wistar que pesaban entre 120-128 g y fueron alimentadas con dietas con PF de pomelo, inulina y la combinación de ambos. Observaron una menor ingesta y ganancia de peso, en relación a la dietas C, cuando las ratas consumieron 10% de inulina con extractos de PF; además no observaron, al igual que en este trabajo, diferencias en la eficiencia de las dietas.

Son múltiples los mecanismos que describen como la fibra influye en la saciación y saciedad (Koh-Banerjee y col., 2004; Slavin, 2007; Wanders y col., 2014). El aumento de la saciedad puede ser producto del mayor tiempo requerido para masticar ciertos alimentos ricos en fibra, lo que promueve el aumento en la secreción de saliva y la producción de ácido gástrico, provocando distensión gástrica. Algunas fibras solubles viscosas se unen al agua, lo que también conllevaría a una distensión del estómago que desencadena señales vagales de saciedad, lo que probablemente contribuye a la saciedad durante las comidas y luego de las

mismas. Además, ciertas fibras pueden retardar el vaciado gástrico y disminuir la tasa de absorción de glucosa en el intestino delgado (Kristensen y Jensen, 2011). Cuando la glucosa se libera lentamente, la respuesta de la insulina también puede estar retardada, y las respuestas de glucosa e insulina post-prandial lentas y constantes, a veces se correlacionan con saciación y saciedad (Slavin, 2013b). Como el alimento se mueve a través del tracto GI superior e inferior, diversas hormonas relacionadas con la saciedad son liberadas y se envían señales al cerebro. Muchas de estas hormonas intestinales (grelina, polipéptido YY, péptidos similares al glucagón) se cree que regulan la saciedad, la ingesta de alimentos, y el balance energético global (Chaudhri y Salem, 2008). En un estudio realizado en humanos se evaluó el efecto de diferentes dosis de suplementos dietéticos con dextrina de trigo, sobre el tiempo de saciedad y se observó el efecto de saciedad a corto plazo de la dextrina de trigo y una consecuente disminución de la ingesta calórica (Guérin-Deremaux y col., 2011). Por lo tanto, el consumo de GE influye en las respuestas fisiológicas como la saciedad y metabolismo de la glucosa, y son muchos los estudios que lo han confirmado y destacan la importancia de preservar la fibra natural, especialmente en cereales (Liljeberg y col., 1992; Granfeldt y col., 1995; Fardet y col., 2006; Nilsson y col., 2008; Fardet, 2010; Ye y col., 2012).

A su vez, existe la posibilidad de que la fibra demore el vaciado gástrico por un freno colónico, que involucraría una retroalimentación por la fermentación en el intestino grueso. Este concepto denominado “ileal break” fue definido como un mecanismo para controlar el tránsito de una comida a través del tracto GI, a fin de optimizar la digestión y la absorción de nutrientes (Maljaars y col., 2008).

Estudios en animales y humanos sugieren que una mayor ingesta de fibra fermentable puede suprimir el apetito y mejorar el control de peso, y se ha demostrado que los principales productos de fermentación de FD en el colon, los AGCC, contribuyen a la homeostasis de la energía a través de efectos sobre múltiples vías metabólicas celulares y mecanismos mediados por receptor (Chambers y col., 2014). Esta producción de AGCC contribuye en un 10% de las necesidades energéticas diarias en la dieta occidental (Blaut, 2014).

Por otra parte, no se debe descartar que así como la extrusión disminuye la lisina disponible, podría existir una menor biodisponibilidad de otro aminoácido que limitaría la utilización de la proteína, generando un efecto de anorexia, disminuyendo la ingesta total y la ganancia de peso (Martín de Portela y col., 2006).

#### IV.4.2. Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido a nivel colónico

##### IV.4.2.1. Estudio del ciego y de las heces

La Tabla IV.4.2 muestra los parámetros medidos relacionados con el ciego de los animales en estudio, como así también de sus heces.

Los resultados indicaron que no hubo cambios en el tamaño del **ciego**, como así tampoco al relacionarse este último con el peso corporal del animal. Albarracín (2014) también observó que una dieta con arroz integral extrudido resultó en similar peso del ciego/100 g PC en relación con la dieta C.

**Tabla IV.4.2:** Peso del ciego vacío, ciego vacío relativo al peso corporal (PC), peso de las heces y agua de las heces de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | Peso del ciego vacío (g) | Ciego vacío / peso corporal (g/100 g PC) | Peso Heces (b.s.) (g)    | % Agua de las heces (%)   |
|----------|--------------------------|--|--------------------------|---------------------------|
| C        | 0,90 ± 0,03 <sup>a</sup> | 0,34 ± 0,02 <sup>a</sup>                 | 3,85 ± 0,13 <sup>b</sup> | 20,51 ± 3,16 <sup>a</sup> |
| SBE      | 1,02 ± 0,08 <sup>a</sup> | 0,30 ± 0,02 <sup>a</sup>                 | 2,39 ± 0,10 <sup>a</sup> | 20,72 ± 1,85 <sup>a</sup> |
| SRE      | 1,01 ± 0,08 <sup>a</sup> | 0,31 ± 0,03 <sup>a</sup>                 | 3,63 ± 0,10 <sup>b</sup> | 16,30 ± 1,39 <sup>a</sup> |
| <b>p</b> | <b>0,7272</b>            | <b>0,7300</b>                            | <b>0,0000</b>            | <b>0,2647</b>             |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

En la Tabla IV.4.2 se observan además los resultados de la excreción de **heces** y el contenido de agua de las mismas. Las ratas alimentadas con SBE excretaron menor cantidad de heces secas que las otras dietas. Cabe mencionar que las ratas alimentadas con SBE comieron menos que las C, con lo que es de esperar esta menor excreción. Respecto al SRE, en capítulos anteriores se verificó que contiene mayor contenido de PF que el SBE, los cuales pueden fermentar en el colon aumentando la masa bacteriana y consecuentemente el volumen de las heces. Además, es posible que los PF del SRE reaccionen con otros componentes dando lugar a complejos menos digeribles que los generados por el SBE. También Albarracín y col. (2014) observaron que el peso de las excretas de las ratas alimentadas con la dieta C fue significativamente mayor que el de las que consumieron dieta de GE de maíz extrudido. En la evaluación del tránsito gastrointestinal realizada por Paturi y col. (2012) donde alimentaron

ratas durante 3 días con celulosa, inulina y fibras proveniente de papa y maíz, se observó que los animales que consumieron la dieta C, tuvieron mayor excreción de heces que aquellos que consumieron dietas de inulina o fibra, adjudicando este hecho a que la celulosa produce una mayor velocidad de tránsito a través del tracto GI. La misma observación fue hecha por Ranhotra y col. (1991), que alimentó ratas con dietas a base de harinas de tipo GE de diferentes cereales (trigo, avena, centeno y cebada), observando que las dietas con mayor contenido de FS (avena y cebada) condujeron a una menor excreción fecal en relación a la dieta con celulosa. Tong y col. (2014) estudiaron el efecto de dietas con arabinoxilanos de salvado de trigo y observaron un aumento en el peso de las heces de hamsters.

Por otra parte, las heces de los animales que consumieron SRE presentaron menor contenido de agua. Probablemente, el mayor contenido de compuestos fenólicos no digeribles de SRE esté relacionado con la menor capacidad de retener agua de las heces. El efecto de los flavonoides de la dieta sobre el transporte intestinal de electrolitos no está bien establecido, datos disponibles señalan a estos compuestos como diarreicos (Cermak y col., 1998; Nguyen y col., 1991) o antidiarreicos (Carlo y col., 1993). En un trabajo realizado en ratas alimentadas con dietas adicionadas con algas marinas, se observó un aumento significativo del contenido de agua en heces en relación al C, adjudicado al mayor aporte de fibra por las algas (Gudiel-Urbano y Goñi 2002).

Es reconocido que la fibra es importante para el efecto laxante normal y esto se debe principalmente a su capacidad de aumentar el peso de las heces. El aumento de peso se debe a la presencia física de la fibra, agua retenida por la fibra, y al aumento de la masa bacteriana de la fermentación. En general, las fibras de cereales son los más eficaces en el aumento de peso de heces. El salvado de trigo se considera el “gold standard” cuando se trata de aumento de volumen fecal, ya que ninguna otra fibra o laxante ha demostrado ser tan eficaz (Lupton, 2012). La inulina, aunque fermenta ampliamente, tiene menor efecto (Slavin y col., 2011).

#### **IV.4.2.2. Características del contenido cecal**

En la Tabla IV.4.3 se presentan los resultados del peso del CC, de la actividad antioxidante, enzimas cecales e sIgA de las ratas alimentadas con dietas C y dietas con SBE y SRE.

**Tabla IV.4.3:** Contenido cecal (CC), pH del contenido cecal, PF Cecales (PF Cecal), Poder Reductor y sIgA en el contenido cecal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | CC<br>(g)                    | pH<br>contenido<br>cecal     | PF Cecal<br>(mg AG/g<br>CC)  | Poder<br>Reductor<br>(mg AA/g CC) | sIgA<br>( $\mu$ g/ g CC)      |
|----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| C        | 2,58 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup> | 7,28 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup> | 0,12 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup> | 121,50 $\pm$ 9,31 <sup>a</sup>    | 11,55 $\pm$ 2,32 <sup>b</sup> |
| SBE      | 1,38 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup> | 6,84 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup> | 0,80 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup> | 130,90 $\pm$ 7,63 <sup>a</sup>    | 1,01 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>  |
| SRE      | 1,76 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup> | 6,56 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup> | 0,76 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup> | 120,88 $\pm$ 3,97 <sup>a</sup>    | 19,52 $\pm$ 2,30 <sup>c</sup> |
| <b>p</b> | <b>0,0004</b>                | <b>0,0051</b>                | <b>0,0000</b>                | <b>0,6094</b>                     | <b>0,0000</b>                 |

Media  $\pm$  SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ).

El CC de los animales alimentados con las dietas de GE de sorgo extrudido fue menor que el de las ratas alimentadas con la dieta C (Tabla IV.4.3), lo cual se puede deber a que estos animales comieron menos y a que en la dieta control la fuente de fibra es celulosa (no fermentable). Zduńczyk y col. (2006) evaluaron el efecto de PF de pomelo y combinaciones con inulina sobre la fermentación cecal en ratas. En el caso de extracto de pomelo, observaron una fuerte correlación entre el peso húmedo de CC y el peso del tejido cecal, lo que indica la ampliación de la pared cecal, en respuesta al aumento de la masa de los contenidos cecales. Sin embargo, no observó el mismo efecto cuando se añadió inulina al extracto de la dieta. En otro trabajo se observó que extractos fenólicos de pomelo aumentaban significativa el CC (Juskiewicz y col., 2002).

Respecto al pH del CC (Tabla IV.4.3), el consumo de dietas con GE de sorgo extrudido lo redujo en relación a la dieta C. Esta dieta contiene celulosa que es resistente a la fermentación, dando lugar a un pH más elevado. También Albarracín y col. (2014) observaron disminución del pH del ciego por fermentación de la fibra del GE de maíz, en relación a la dieta C (C: 6,98  $\pm$  0,06; maíz integral extrudido: 5,93  $\pm$  0,09). En relación a la influencia de la harina de GE de diferentes variedades de trigo (Adam y col., 2001) y del consumo de harina de GE de trigo y pan de GE de trigo (Adam y col., 2003a), los resultados indicaron una disminución significativa del pH del CC (dieta C: 7,19  $\pm$  0,05; dieta con harina de GE de trigo: 6,47  $\pm$  0,08; dieta con pan con harina de GE de trigo: 6,54  $\pm$  0,05). Rowland y Tanaka (1993) alimentaron ratas con flora microbiana humana, con dieta C y con adición de 5% de galactooligosacáridos, lo cual produjo una disminución significativa del pH (de 6,85  $\pm$  0,10 a 6,16  $\pm$  0,11). Paturi y col. (2012) observaron el mismo comportamiento en ratas alimentadas con dietas que contenían 7,5% de celulosa, inulina, fibra de patata o almidón de



maíz durante 3 días. Cabe destacar que Weaver y col. (2010) estudiaron en ratas la fermentación de diferentes tipos de fibras, y reportaron que tanto las FS (inulina, polidextrosa, synergy, FS de maíz, etc.), como la FI (almidón resistente) fueron fermentables, pero que las FS producían mayor cantidad de AGCC, como acetato y butirato que la FI estudiada, e incluso que ambas proporcionaron mayores cantidades de AGCC que la celulosa (dieta C). En un trabajo realizado en humanos que fueron alimentados con dietas con distintas fibras (pululano, almidón resistente, fibra de dextrina soluble, FS de maíz) y placebo (maltodextrina), se observó un descenso del pH cecal en los individuos que fueron alimentados con fibra de dextrina soluble (Stewart y col., 2010). Cuando se estudió el consumo de dietas con alimentos a base de GE de cebada, GE de trigo y trigo refinado, se obtuvo una disminución significativa del pH del CC en los sujetos alimentados con la dieta a base de GE de cebada (Bird y col., 2008). En otra investigación realizada en humanos evaluando el efecto del consumo de harina de GE de centeno y de trigo en comparación con alimentos bajos en fibra, se encontró un pH ligeramente menor en los sujetos alimentados con las dietas de alto contenido de fibra. Se asoció este pH más bajo a la producción de butirato proveniente del consumo de la dieta de GE de centeno (McIntosh y col., 2003). Además, se destacó que el butirato es fuente principal de energía para el mantenimiento de los colonocitos normales y se consideró un agente anti-cancerígeno, debido a su capacidad para inducir la apoptosis de las células del colon mutadas (McIntyre y col., 1993; Csordas, 1996). Sumados a lo anterior, existe basta evidencia científica que en humanos el consumo de fibra de GE disminuye el pH (Bird y col., 2008; Adam y col., 2001; Adam y col., 2003; McIntosh y col., 2003). Un pH bajo reduce la formación de compuestos tóxicos tales como amoníaco, aminos y compuestos fenólicos de la degradación de péptidos y disminuye la actividad de las enzimas bacterianas no deseadas (McNeil, 1984; Topping y Clifton, 2001; Lupton, 2004; Slavin, 2013b).

En el CC de los animales se manifiesta el consumo de **PF** aportado por cada dieta, siendo mayor el contenido de PF en las ratas alimentadas con dietas con GE de sorgo que con la dieta C. Sin embargo, esto no se reflejó en el **poder reductor**, ya que no existió diferencia significativa entre los lotes (Tabla IV.4.3).

Respecto al contenido de **sIgA**, el mayor valor se obtuvo para el lote SRE, seguido del C y por último el SBE (Tabla IV.4.3). Se podría decir que sólo el consumo de GE de SRE produjo (a través del contenido de sIgA) un beneficio en la función inmune de la mucosa, mientras que fue llamativa la disminución de sIgA en el lote que consumió SBE. Una

investigación en la que se alimentó a ratas con dietas sin fibra y con un 15 % de fibra bruta de remolacha azucarera, mostró un aumento significativo de la sIgA en las que consumieron fibra de remolacha azucarera (Nakamura y Sonoyama, 2012).

#### IV.4.2.3. Enzimas cecales

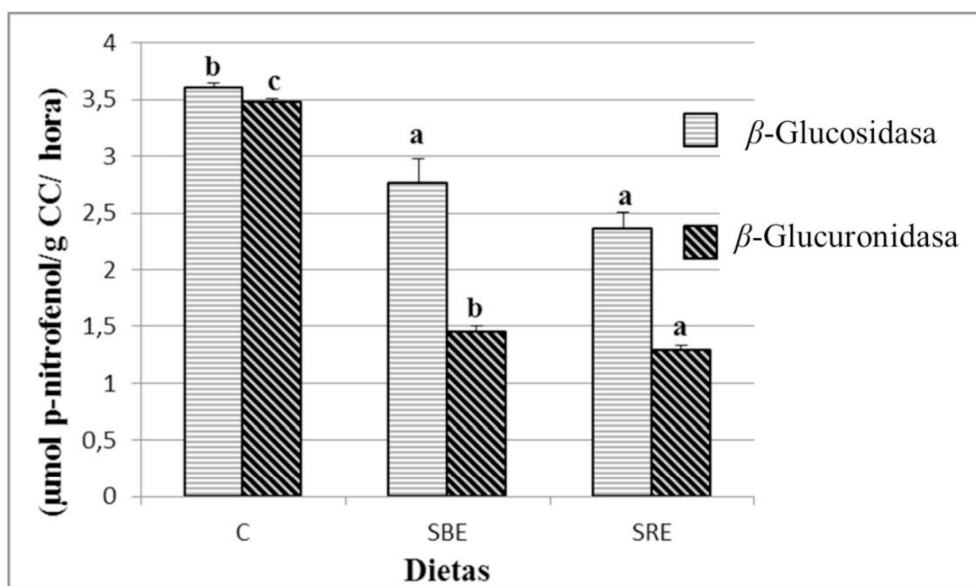
Respecto a la enzima cecal **Mucinas**, no hubo cambios significativos por el consumo de las dietas de GE de sorgo ( $p: 0,7063$ ), siendo los valores hallados para la dieta C:  $100,87 \pm 3,49$ , SBE:  $97,35 \pm 2,63$  y SRE:  $97,00 \pm 2,12$ . Este hecho ya había sido observado en un trabajo realizado por Shiau y Chang (1983), donde se alimentaron ratas con una dieta libre de fibra, con goma guar, pectinas, carrageninas y celulosa en 5 y 15 %, donde la única dieta que redujo significativamente el contenido de Mucinas, en relación a la dieta libre de fibra, fue la que poseía 15% de goma guar ( $30,4 \pm 6,4$  vs  $4,3 \pm 1,1$  nanomol azúcar reductor/min día). Tebib y col. (1996) evaluaron cambios en la actividad de Mucinas en ratas alimentadas con dietas que contenían monómeros y polímeros de taninos de uvas, y no observaron efectos significativos en dicha actividad en el CC respecto al C ( $11,5 \pm 1,2$ ;  $10,3 \pm 1,7$  y  $10,7 \pm 1,9$  mmol/ min/ g heces, respectivamente). Al contrario, Shiau y Ong (1992) observaron que la actividad específica y total de Mucinas fue mayor en ratas alimentadas con dieta C sin fibra y con 15% de agar, intermedia en ratas alimentadas con mezcla de agar y celulosa, y baja en las alimentadas con dieta de celulosa 15% ( $502,27 \pm 20,14$ ;  $511,21 \pm 31,20$ ;  $418,71 \pm 18,53$  y  $342,83 \pm 21,62$  mmol glucosa/min mg N, respectivamente). De los trabajos analizados se desprende que se observó un descenso significativo de la Mucinas en dietas con 15% de fibra.

En la Figura IV.4.1 se presentan los resultados para la enzima  **$\beta$ -Glucosidasa**, que se redujo significativamente en los animales alimentados con dietas de GE de sorgo, en relación a la C ( $p: 0,0407$ ). Asimismo, ratas alimentadas con maíz tuvieron un descenso de la  $\beta$ -Glucosidasa (Nile y Park, 2014). Además, en un estudio donde se alimentaron pavos con GE de trigo molido se observó un descenso de la enzima  $\beta$ -Glucosidasa en relación a una dieta sin GE ( $7,92$  vs  $5,9$  mol/h g) (Zdunczyk y col., 2013). Otros estudios muestran los efectos de diferentes carbohidratos sobre esta enzima. Así, Rowland y Tanaka (1993) observaron que ratas alimentadas con flora microbiana humana, con una dieta con 5% de galactooligosacáridos presentaron un aumento de esta enzima en relación a la dieta C (de  $0,89 \pm 0,37$  a  $2,05 \pm 1,05$  umol/ h/mg proteína). En otro estudio, ratas Wistar machos adultas

fueron alimentadas con dietas que contenían celulosa (2,5, 5 y 10%) y FOS fermentables (2,5, 5 y 10%) y se observó que la dieta con FOS al 10% redujo significativamente la  $\beta$ -Glucosidasa, cuyo valor fue de 0,05 U/g CC (Jurgonski y col., 2008; Bielecka y col., 2002).

También hay estudios que muestran el efecto de compuestos fenólicos. En este sentido, en ratas alimentadas con dietas que contenían monómeros y polímeros de taninos de uvas, no se observó diferencia significativa para  $\beta$ -Glucosidasa cuando se expresó como mmol /min/g heces, pero se encontró una reducción significativa de la enzima respecto al C, al expresarla por el nitrógeno cecal ( $406,0 \pm 51,0$  vs  $280,0 \pm 29,0$  mmol/ min/ g N, respectivamente) (Tebib y col., 1996). Una investigación realizada por Kosmala y col. (2014) analizó los efectos de extractos polifenólicos de fresas con dos métodos de extracción (agua y alcohol) en dietas con fibra de celulosa o FOS, sobre el tracto GI de ratas de 4 semanas de edad. La actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa fue menor en las ratas alimentadas con FOS ( $1,40 \mu\text{mol}/\text{h}/\text{g}$  Heces).

La reducción de la actividad de la  $\beta$ -Glucosidasa en el lumen colónico indicaría una posible protección para el organismo. Es posible entonces que la incorporación de fibra a través de dietas con GE pueda disminuir la activación bacteriana de pro-carcinógenos dietéticos, evitando así la exposición de las células del colon a los mutágenos luminales (Prizont, 1984; Pool-Zobel y col., 2002).



**Figura IV.4.1:** Actividad de  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa en contenido cecal. Media  $\pm$  SEM (n=8). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ). Dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

De manera similar, la  **$\beta$ -Glucuronidasa** se redujo significativamente en los animales alimentados con las dietas con sorgo y aún más con SRE (p: 0,0000) (Figura IV.4.1). Esto también fue reportado en la investigación de Zdunczyk y col. (2013), donde se alimentaron pavos con GE de trigo y se observó un descenso de esta enzima en relación a una dieta sin GE (15,5 vs 8,9 mol/h g).

También hay estudios que reportan el efecto beneficioso de la fibra en la reducción de esta actividad enzimática. Shiau y Chang (1983) observaron que en ratas alimentadas con una dieta libre de fibra, con goma guar, pectinas, carrageninas y celulosa en 5 y 15 %, la actividad específica de esta enzima fue más alta en el grupo sin fibra, y más baja en el caso de dietas con pectina al 15% ( $894 \pm 207$ ,  $112 \pm 32$  mmol p-nitrofenol/ min mg N, respectivamente). Jurgonski y col. (2008) alimentaron ratas Wistar machos adultas con dietas que contenían celulosa (2,5, 5 y 10%) y FOS fermentables (2,5, 5 y 10%) y se obtuvo que FOS al 10% redujeron significativamente la  $\beta$ -Glucuronidasa siendo su contenido de 0,17 U/g CC. Los mismos resultados ya habían sido reportados por Bielecka y col. (2002). Rowland y Tanaka, (1993) observaron que en ratas con flora microbiana humana, la administración de 5% de galactooligosacáridos produjo una reducción significativa de la actividad de  $\beta$ -Glucuronidasa en relación a la dieta C ( $2,53 \pm 0,58$  y  $4,08 \pm 0,56$   $\mu\text{mol/ h/ mg}$  proteína, respectivamente). Múltiples trabajos demuestran que la fibra aportada en forma de FOS, oligoglicanos o inulina reducen la actividad de la  $\beta$ -Glucuronidasa y aumentan simultáneamente la producción de AGCC cecal (Roberfroid, 2005; Zdunczyk y col., 2006; Jurgonski y col., 2008; Kosmala y col., 2014).

También se ha informado el efecto de compuestos fenólicos y su combinación con fibra. De forma similar a la enzima  $\beta$ -Glucosidasa, cuando las ratas fueron alimentadas con dietas que contenían taninos de uvas, se observó una reducción significativa en aquellas alimentadas con monómeros y aún más si eran polímeros ( $101,5 \pm 10,8$ ;  $72,5 \pm 6,0$  y  $62,0 \pm 5,0$  mmol/ min/ g N, respectivamente), no observándose diferencias si los resultados eran expresados en relación a las heces (Tebib y col., 1996). Kosmala y col. (2014) analizaron los efectos de extractos de agua y de alcohol de PF de fresas en dietas con fibra de celulosa o FOS, sobre el tracto GI de ratas de 4 semanas de edad. Ambos extractos redujeron la actividad de  $\beta$ -Glucuronidasa, siendo de mayor efecto los PF extraídos con agua (7,59 vs 9,20  $\mu\text{mol/ h/ g}$ ), aunque la actividad fue menor en las ratas alimentadas con FOS (7,70  $\mu\text{mol/ h/ g}$ ). Además, existió un efecto significativo de la interacción fibra-PF. Zdunczyk y col. (2006)

reportaron que el extracto de flavonoides aplicado como un suplemento dietético disminuyó la actividad cecal de  $\beta$ -Glucosidasa en ratas.

Una disminución en la actividad de la enzima  $\beta$ -Glucuronidasa se considera positivo en términos de protección contra el cáncer debido a que la enzima libera compuestos tóxicos de algunos xenobióticos en el colon (Lhoste y col., 2001; Goñi y col., 2005).

La  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa convierten pre-carcinógenos en carcinógenos, con lo que la disminución de su actividad podría jugar un papel importante en la carcinogénesis del colon (Rowland, 1988; Justil y col., 2010). Sin embargo, teniendo en cuenta lo antes mencionado, se evidencia que estas actividades enzimáticas son afectadas de manera diferente de acuerdo al componente evaluado y a la combinación de los mismos. Asimismo, si bien se observan efectos de las diferentes dietas, la forma de expresión de los resultados complica las comparaciones entre estudios.

#### IV.4.2.4. Actividad proliferativa y apoptosis de la mucosa del colon proximal y distal de ratas

La actividad proliferativa y la apoptosis de la mucosa del colon se evaluaron para estudiar la influencia de los SBE y SRE en el equilibrio entre la proliferación celular y la pérdida de células (Tabla IV.4.4).

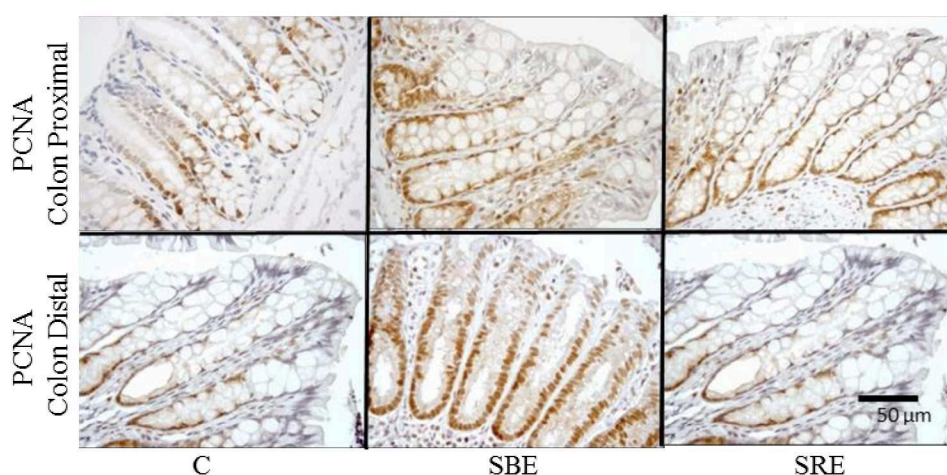
**Tabla IV.4.4:** Profundidad de las criptas (cells/Hemicrypts), antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA) (%) y Apoptosis (TUNEL) (%) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas - Zonas del colon | Profundidad de las criptas (célula/hemicripta) | LI-PCNA (%)                | TUNEL (%)                |
|--------------------------|--|----------------------------|--------------------------|
| C proximal               | 32,17 ± 1,56 <sup>b</sup>                      | 46,07 ± 3,17 <sup>b</sup>  | 0,66 ± 0,12 <sup>a</sup> |
| SBE proximal             | 30,38 ± 0,94 <sup>ab</sup>                     | 58,56 ± 1,69 <sup>c</sup>  | 1,11 ± 0,25 <sup>a</sup> |
| SRE proximal             | 28,19 ± 1,09 <sup>a</sup>                      | 35,69 ± 1,68 <sup>a</sup>  | 0,83 ± 0,08 <sup>a</sup> |
| C distal                 | 35,67 ± 1,44 <sup>c</sup>                      | 40,60 ± 2,29 <sup>ab</sup> | 0,68 ± 0,17 <sup>a</sup> |
| SBE distal               | 35,64 ± 1,05 <sup>c</sup>                      | 71,14 ± 2,65 <sup>d</sup>  | 3,13 ± 0,25 <sup>b</sup> |
| SRE distal               | 33,04 ± 1,00 <sup>bc</sup>                     | 42,40 ± 1,75 <sup>b</sup>  | 0,81 ± 0,12 <sup>a</sup> |
| <b>p</b>                 | <b>0,0005</b>                                  | <b>0,0000</b>              | <b>0,0007</b>            |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

Respecto a la profundidad de las criptas, las porciones distales mostraron en general mayor número de células que las proximales. A su vez, en las porciones distales no hubo diferencias entre los lotes alimentados con diferentes dietas, pero el colon proximal de animales alimentados con SRE presentó menor valor que el C.

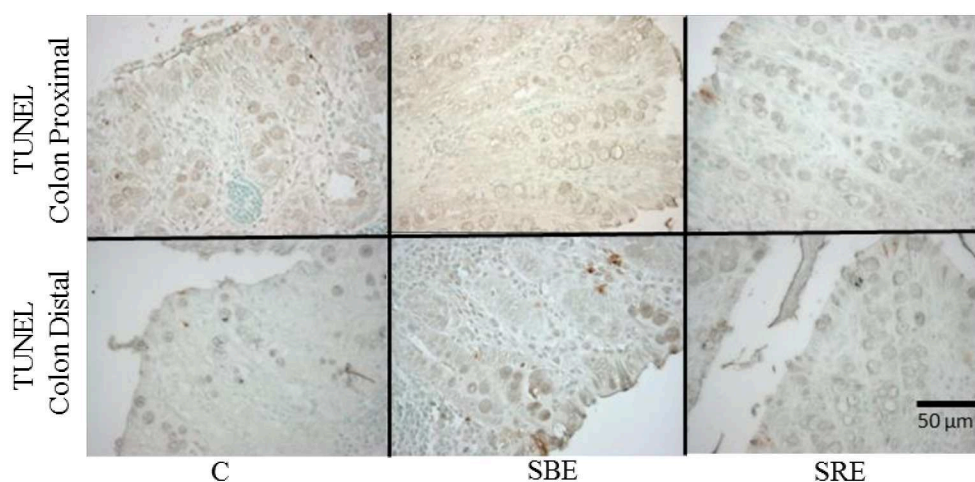
El PCNA se determina a través de una técnica inmunohistoquímica que detecta una proteína que se expresa en las células que están en división. El PCNA funciona como cofactor de la ADN polimerasa delta, tanto en la fase S del ciclo celular como así también en la síntesis de ADN asociado con los mecanismos de reparación en caso de daño. Los núcleos marcados se encuentran normalmente en la mitad inferior de las **criptas**, que es la zona de células en proliferación (Figura IV.4.2). Teniendo en cuenta cada una de las dos zonas del colon evaluadas, los animales que consumieron dieta de SBE presentaron mayores valores de %LI-PCNA en las zonas proximal y distal en relación al C y a SRE y además, SRE proximal fue menor en relación al C. En una investigación realizada en ratas Wistar de 215 g que fueron alimentadas durante 4 semanas con una dieta C y una dieta con fibra antioxidante de uva, para evaluar los efectos de la FD y los PF sobre la mucosa del colon, se observaron valores de PCNA alrededor del 50-60% (rango cercano al de la presente investigación), tanto para el lote C como el lote experimental, sin ser diferentes (López-Oliva y col., 2013).



**Figura IV.4.2:** PCNA en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).



Por otra parte, en los animales las células apoptóticas se encuentran normalmente en la parte superior de las criptas del epitelio del colon. A nivel proximal no hubo diferencias entre los lotes, pero el colon distal de las ratas alimentadas con SBE presentó el mayor número de células apoptóticas, tal como se determina por las células TUNEL positivas en comparación con el resto de los grupos (Tabla IV.4.4 y Figura IV.4.3). En el trabajo realizado con fibra AO de uvas mencionado anteriormente, el % de TUNEL se redujo en respecto al C de 1,5 a 0,8 (López-Oliva y col., 2013).



**Figura IV.4.3:** TUNEL en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

El epitelio de la superficie del colon está en contacto constante con sus contenidos, por lo que los componentes de la dieta que no se absorben en el intestino delgado determinan la composición del contenido colónico y pueden dañar las células epiteliales de la superficie, causando la muerte celular temprana. Esto inicia la proliferación compensatoria para mantener la homeostasis celular en las criptas. La hiperproliferación en criptas del colon se considera como un marcador de riesgo para el cáncer de colon. Sin embargo, el mantenimiento de la homeostasis de células de la cripta no sólo depende de la proliferación celular sino también de la pérdida de células. En el colon, la pérdida de células es debida a la exfoliación y a la apoptosis intraepitelial. La inhibición de la apoptosis se asocia con la supervivencia celular, pero también se asocia con la tumorigénesis.

El SRE indujo una disminución de la proliferación de colonocitos pero no parece afectar significativamente a la muerte celular en la mucosa del colon proximal y distal (Tabla IV.4.4). El aumento de la renovación celular puede incrementar el riesgo de mutaciones y conducir a un mayor riesgo de desarrollar cáncer colorrectal. El SRE podría ser un posible candidato para proteger contra la tumorigénesis colorrectal. El SBE generó una hiperproliferación y aumento de la apoptosis de las células epiteliales del colon distal, generando un equilibrio entre la proliferación y la muerte celular epitelial, para mantener la homeostasis del tejido.

Se han documentado efectos positivos del consumo de sorgo en la prevención del cáncer (Awika y col., 2004). Turner y col. (2006), alimentaron ratas con salvado de sorgo negro (que contiene antocianinas) y sorgo marrón (que contiene taninos) y observaron una reducción de la carcinogénesis de colon en las ratas que consumieron ambos tipos de sorgo al compararlas con la dieta C de celulosa, reportando que ello fue consecuencia de la actividad antioxidante del sorgo que redujo el estrés oxidativo involucrado en el desarrollo del cáncer de colon. Devi y col. (2011), considerando la actividad antiproliferativa de algunas antocianinas en ciertas células neoplásicas, evaluaron la actividad inhibidora del SRE para terapia del cáncer de mama. Los resultados demostraron claramente que las antocianinas del SRE indujeron actividad antiproliferativa significativa en las células de cáncer de mama. Van Rensburg (1981) informó que el consumo de sorgo correlacionó consistentemente con baja incidencia de cáncer de esófago en diversas partes del mundo (África, Rusia, India, China, Irán). Al tratar de explicar este fenómeno, el investigador propuso (con considerable evidencia) que las deficiencias de nutrientes fueron responsables de la alta incidencia de cáncer de esófago, y que el consumo de sorgo y mijo disminuyeron el riesgo de cáncer de esófago. Chen y col. (1993) reportaron resultados similares para este tipo de cáncer. El consumo de otros alimentos como vino, té, carnes, verduras, trigo o maíz no contribuyen de manera significativa a la mortalidad por cáncer de esófago. Gómez-Cordoves y col. (2001) mostraron que los taninos de sorgo tenían actividad anticancerígena contra células de melanoma humano. Es importante comentar que la actividad anti-cancerígena se atribuye al ácido ferúlico, principalmente por su CAO que neutraliza los radicales libres que están implicados en la etiología del cáncer, y por su capacidad de estimular enzimas citoprotectoras (Kawabata y col., 2000; Barone y col., 2009).



#### IV.4.2.5. Actividades de enzimas relacionadas con el estado inflamatorio y antioxidante en colon proximal y distal de ratas

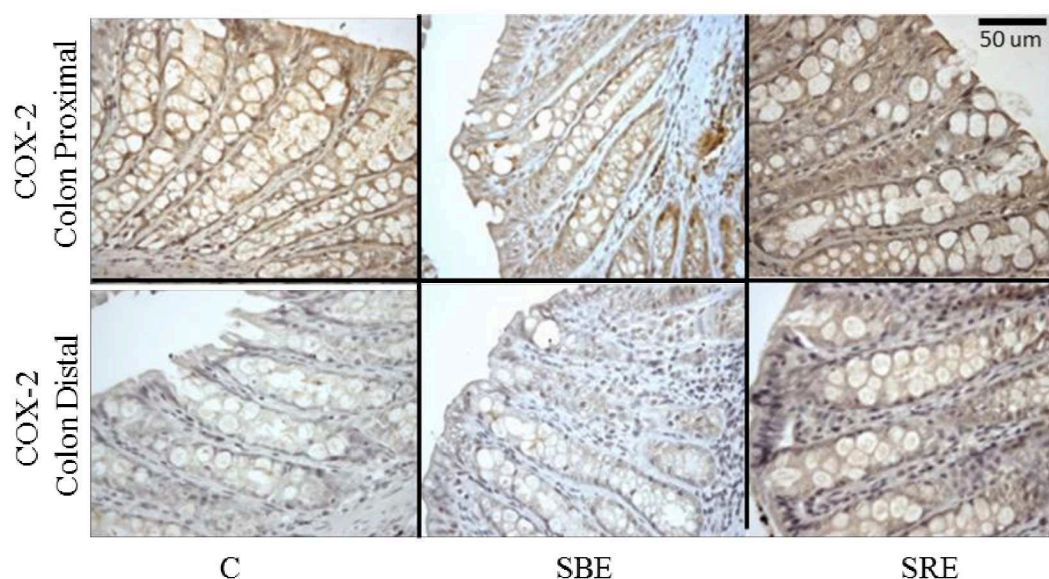
En la Tabla IV.4.5 se presentan los resultados para las enzimas COX-2, iNOS, CuZnSOD, MnSOD y Catalasa (CAT) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta C, SBE y SRE.

**Tabla IV.4.5:** Actividades de enzimas en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas -<br>Zonas del colon | COX-2<br>(PI)            | iNOS<br>(PI)               | CuZnSOD<br>(PI)          | MnSOD<br>(PI)            | CAT<br>(PI)               |
|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <b>C proximal</b>           | 1,14 ± 0,24 <sup>a</sup> | 1,00 ± 0,27 <sup>a</sup>   | 3,38 ± 0,26 <sup>c</sup> | 1,63 ± 0,26 <sup>b</sup> | 3,13 ± 0,30 <sup>b</sup>  |
| <b>SBE proximal</b>         | 1,00 ± 0,27 <sup>a</sup> | 1,63 ± 0,18 <sup>abc</sup> | 1,88 ± 0,23 <sup>b</sup> | 0,13 ± 0,13 <sup>a</sup> | 3,38 ± 0,26 <sup>bc</sup> |
| <b>SRE proximal</b>         | 1,25 ± 0,25 <sup>a</sup> | 2,00 ± 0,33 <sup>c</sup>   | 2,25 ± 0,16 <sup>b</sup> | 2,13 ± 0,44 <sup>b</sup> | 3,50 ± 0,19 <sup>bc</sup> |
| <b>C distal</b>             | 0,88 ± 0,23 <sup>a</sup> | 1,13 ± 0,30 <sup>ab</sup>  | 3,38 ± 0,26 <sup>c</sup> | 1,63 ± 0,32 <sup>b</sup> | 1,88 ± 0,44 <sup>a</sup>  |
| <b>SBE distal</b>           | 0,63 ± 0,26 <sup>a</sup> | 1,88 ± 0,30 <sup>bc</sup>  | 0,75 ± 0,25 <sup>a</sup> | 0,38 ± 0,26 <sup>a</sup> | 3,63 ± 0,18 <sup>bc</sup> |
| <b>SRE distal</b>           | 0,75 ± 0,25 <sup>a</sup> | 1,38 ± 0,38 <sup>abc</sup> | 1,00 ± 0,27 <sup>a</sup> | 2,25 ± 0,31 <sup>b</sup> | 4,13 ± 0,23 <sup>c</sup>  |
| <b>p</b>                    | <b>0,4837</b>            | <b>0,1845</b>              | <b>0,0000</b>            | <b>0,0002</b>            | <b>0,0030</b>             |

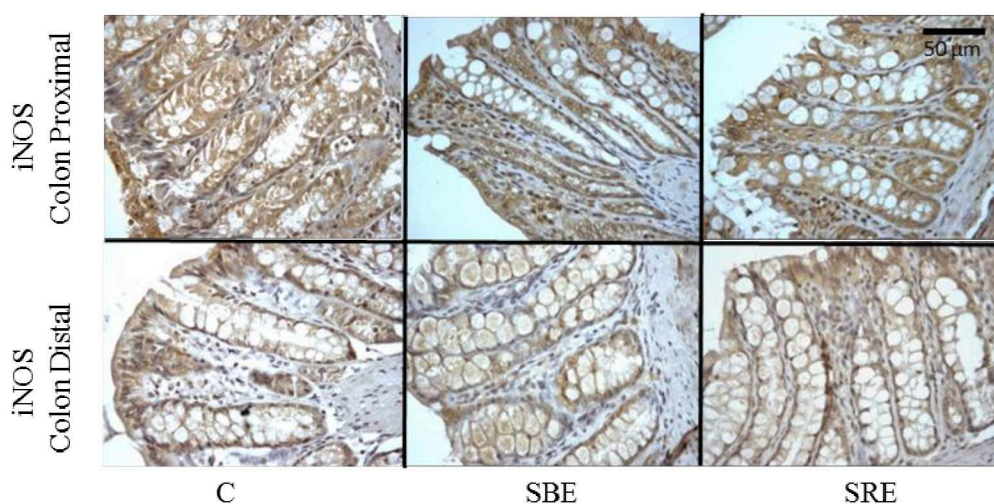
Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ). PI: puntaje de inmunorreactividad.

En la expresión del mediador inflamatorio **COX-2** no hubo diferencias significativas entre las dietas (Tabla IV.4.5). En colon, la enzima COX-2 presentó una inmunotinción muy débil en el citoplasma de las células epiteliales, a lo largo del eje de las criptas colónicas, afectando los compartimentos basales, medios y luminales de las criptas (Tabla IV.4.4). La inmunotinción de COX-2 se observó en el citoplasma, en las regiones peri-nucleares de colonocitos y en el tejido intersticial, con tinción variable en los núcleos. Se observó una tinción adicional, tanto en la lámina muscular propia, en las células endoteliales y del músculo liso vascular, como en los adipocitos. Nie y col. (2007), observaron una reducción en la expresión de COX-2 al utilizar un extracto polifenólico de avena. En otra investigación realizada en ratas se observó que el arroz integral y el salvado de arroz redujeron significativamente la COX-2 en colon (Li y col., 2011).



**Figura IV.4.4:** Inmunotinción de la enzima COX-2 en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

La expresión del mediador inflamatorio **iNOS** presentó diferencias significativas en la dieta con SRE en la zona proximal, siendo mayor al C distal y proximal (Tabla IV.4.5). En la sección del colon proximal, el SRE indujo más tinción inmunopositiva de iNOS según lo indicado por el color marrón. Sin embargo, en la sección de colon distal no se observaron diferencias significativas entre las dietas. Curiosamente, la localización de iNOS fue irregular a lo largo de la superficie del epitelio en las secciones del colon distal (Figura IV.4.5).



**Figura IV.4.5:** Inmunotinción de la enzima iNOS en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

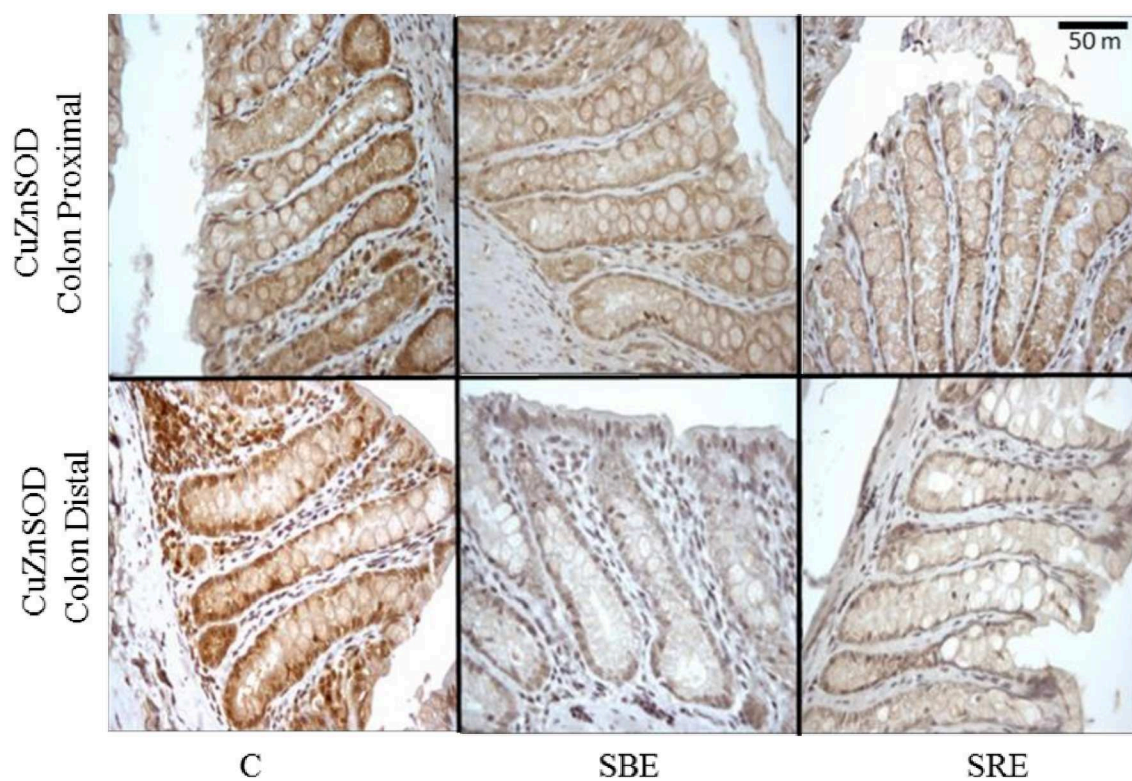
La expresión de iNOS en el epitelio del colon normal es probable que ocurra en respuesta a factores luminales, tales como lipopolisacáridos bacterianos, que son sustancias generadas localmente que inducen iNOS.

En un estudio donde se alimentaron ratas con una dieta de salvado de arroz fermentado, COX-2 e iNOS disminuyeron en la mucosa del colon, lo que llevó a concluir que el salvado de arroz indujo un ambiente anti-inflamatorio que ayudó a proteger contra la tumorigénesis (Phutthaphadoong y col., 2010). Cabe mencionar que se considera que el ácido ferúlico posee propiedades anti-inflamatorias (Fardet, 2010).

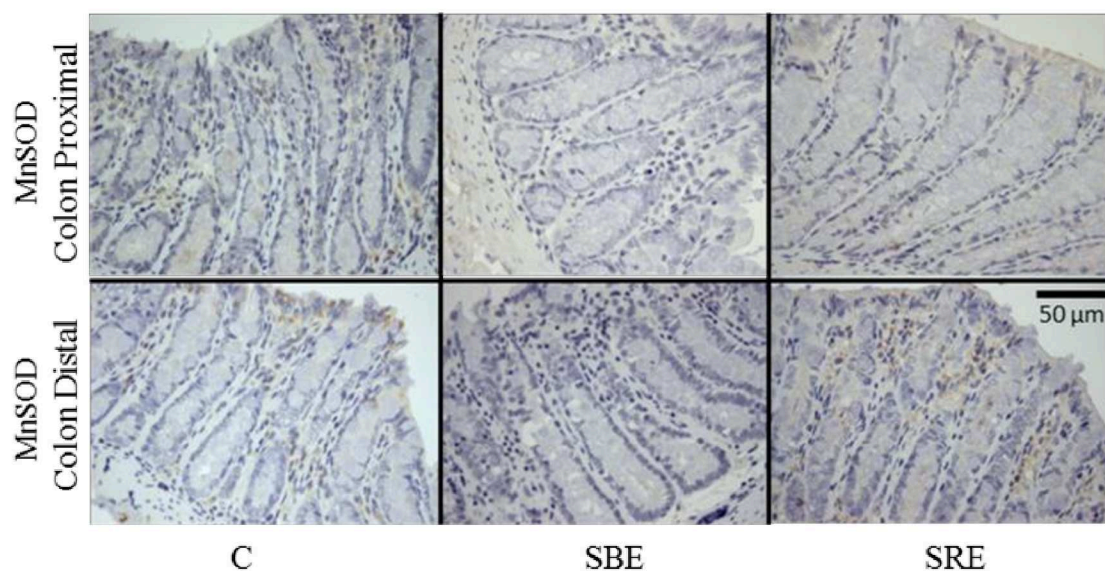
El sistema enzimático antioxidante, que incluye las enzimas GSH-dependientes, es un importante mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo. El sistema antioxidante conformado por la SOD/CAT actúa en altas concentraciones de  $H_2O_2$  y el sistema GPx/GR lo hace a bajas concentraciones (Cisneros Prego, 1995). Se determinó la inmunolocalización de CuZnSOD, MnSOD, CAT, GPx y GR en los extremos proximal y distal de la mucosa del colon.

En secciones transversales de colon del grupo C, la inmunolocalización de la enzima **CuZnSOD** confirmó un alto nivel de expresión basal en ambas zonas (proximales y distales) (Tabla IV.4.5). La inmunotinción mostró una tinción intensa a lo largo del eje de las criptas colónicas en el citoplasma de las células epiteliales, afectando los compartimentos basales, medios y luminales de las criptas y también en los núcleos y citoplasmas de las células intersticiales (Figura IV.4.6). La inmunorreactividad de CuZnSOD disminuyó significativamente para las dietas con sorgo, especialmente en la zona distal. Esto parecería indicar que ambos sorgos inducen una menor capacidad de dismutación de  $O_2^{\cdot-}$  a  $H_2O_2$  en la mucosa del colon, en comparación con las ratas C. Esta enzima cataliza la dismutación de  $O_2^{\cdot-}$  con la consecuente producción de  $H_2O_2$ , y la reducción de su actividad puede resultar de una disminución de la producción de  $O_2^{\cdot-}$ . En forma similar se determinó la inmunolocalización con anticuerpos de la enzima **MnSOD**, y se observó que fue significativamente menor para el SBE proximal y distal, no hallándose diferencia entre las dietas C y SRE (Tabla IV.4.5 y Figura IV.4.7). Esta enzima SOD tiene la misma función que la CuZnSOD (pero difieren en su localización), con lo que se puede decir que la dieta con SBE induce menor dismutación de  $O_2^{\cdot-}$  a  $H_2O_2$  en la mucosa del colon, en comparación con las ratas alimentadas con dietas C y SRE, o que en esta dieta hay una producción disminuida de  $O_2^{\cdot-}$ .



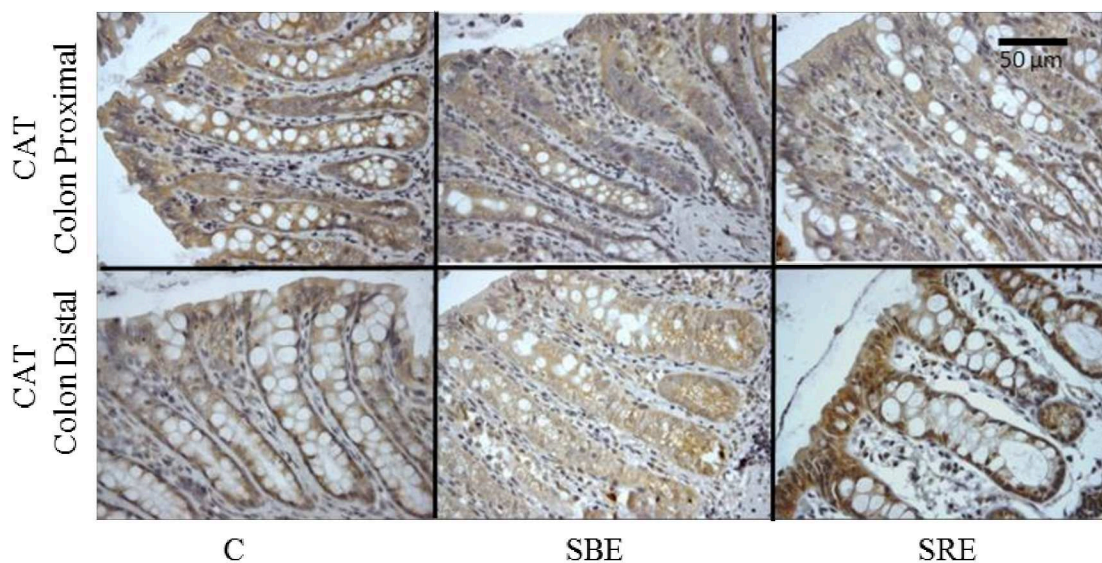


**Figura IV.4.6:** Inmunotinción de la enzima CuZnSOD en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).



**Figura IV.4.7:** Inmunotinción de la enzima MnSOD en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

Todos los lotes tuvieron semejante CAT en colon proximal, pero las dietas de GE de sorgo indujeron mayor contenido de CAT en la zona distal que el C (Tabla IV.4.5). Esto se manifestó principalmente para SRE en la intensa tinción localizada en la parte superior, la zona media e inferior de las criptas (Figura IV.4.8). Esta inducción de la CAT podría ser un importante mecanismo por el que es posible reducir el  $H_2O_2$  en la mucosa colónica.

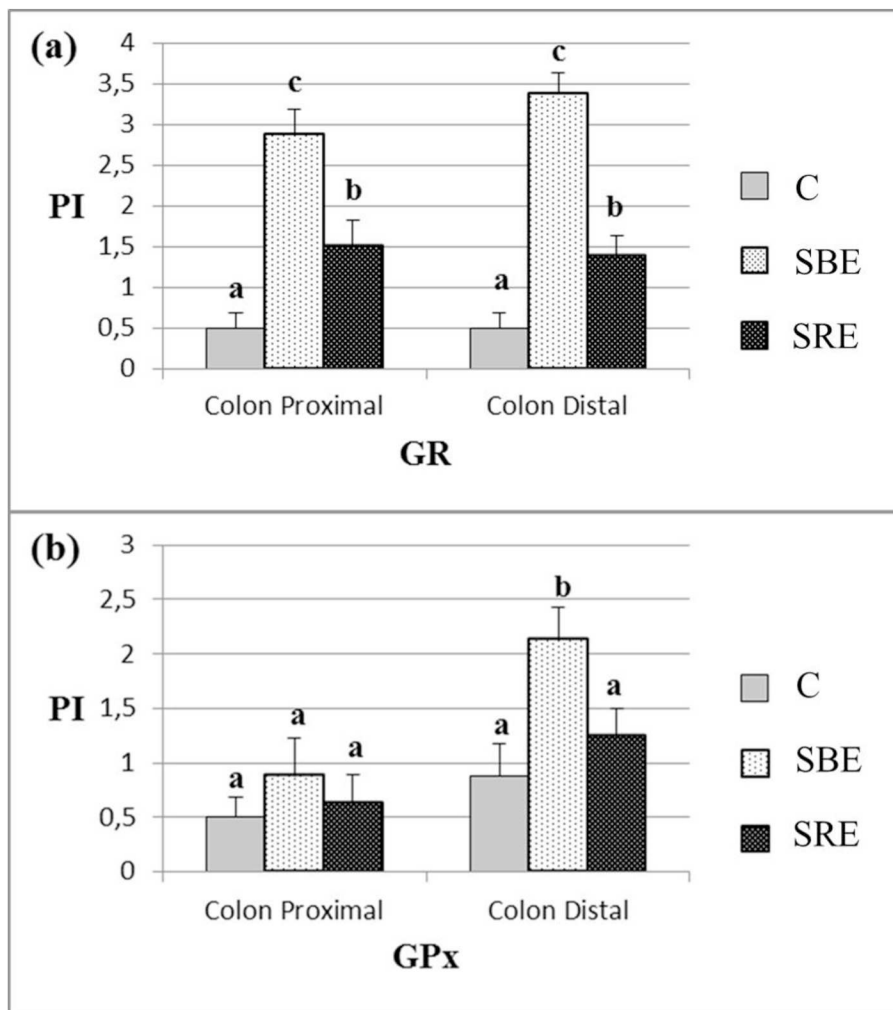


**Figura IV.4.8:** Inmunotinción de la enzima Catalasa (CAT) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

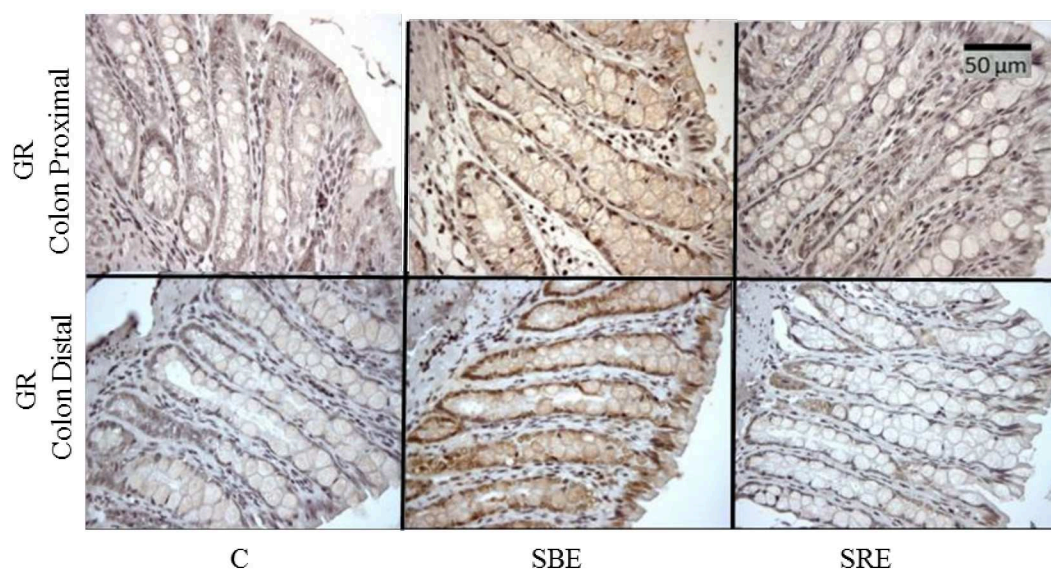
La **GR** fue significativamente mayor en las zonas proximal y distal para ambos sorgos en relación al C y además, en el colon de SBE fue mayor que en el de SRE (Figura IV.4.9a). Esto se observó a lo largo del eje de las criptas del colon en el citoplasma y núcleos de colonocitos, como así también en algunas células intersticiales (Figura IV.4.10). Se podría sugerir que los sorgos mejoran la capacidad de reducción de GSSG a GSH en la mucosa colónica.



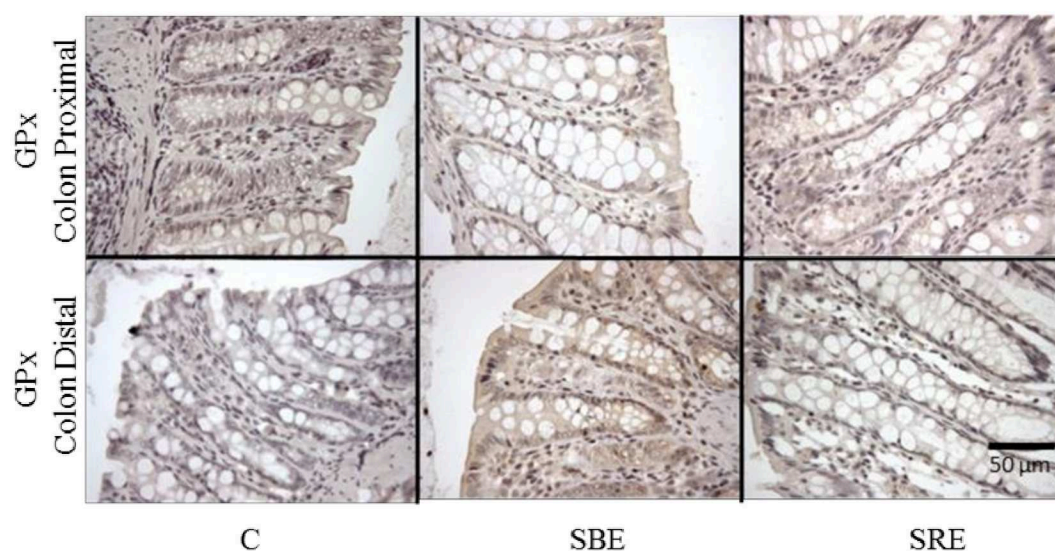
La inmunorreactividad de **GPx** fue muy débil en todos los grupos. La GPx se localizó en el citoplasma de colonocitos a lo largo del eje de las criptas del colon (Figura IV.4.9b). Sólo la mucosa del colon distal de ratas alimentadas con SBE mostró una inmunorreactividad alta o moderada, mientras que el resto de las dietas no presentaron diferencias significativas (Figura IV.4.11).



**Figura IV.4.9:** Enzimas Glutathion Reductasa (GR) y Glutathion Peroxidasa (GPx) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).



**Figura IV.4.10:** Inmunotinción de la enzima Glutathione Reductasa (GR) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).



**Figura IV.4.11:** Inmunotinción de la enzima Glutathione Peroxidasa (GPx) en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

En la Tabla IV.4.6 se muestran los cocientes SOD/CAT y GR/GP. La actividad de cada enzima individual puede ser tan crítico en la defensa antioxidante como el balance de actividades de enzimas que actúan secuencialmente para eliminar las especies reactivas del  $O_2$  (Li y col., 2000).

En relación al C, las ratas alimentadas con SRE presentaron similar actividad de la enzima MnSOD y menor actividad de la CuZnSOD, junto con la CAT elevada sólo en la zona distal. Además, la GPx no se modificó y GR aumentó. Esto indicaría que la producción de  $O_2^-$  se encuentra disminuida o similar al C y que la cantidad que se produce de  $H_2O_2$  sería degradada vía CAT (aumentada a nivel distal). Además, el hecho de que GR esté aumentada implicaría un estado reductor, como puede deducirse de la relación GR/GPx (2 veces mayor que el C en colon proximal y distal) (Tabla IV.4.6).

En el caso de los animales alimentados con dieta SBE, en relación al C se observó que las enzimas SOD estaban disminuidas, que la CAT y la GPx estaban aumentadas en la zona distal y la GR estaba aumentada en ambas zonas, dando lugar a un comportamiento similar a la dieta con SRE en lo referente a la producción del  $O_2^-$  y de  $H_2O_2$ . Además, habría un estado reductor, como puede deducirse de la relación GR/GPx (aproximadamente 3 veces mayor que el C en colon proximal y distal) (Tabla IV.4.6).

**Tabla IV.4.6:** Cocientes CuZnSOD/CAT, MnSOD/CAT y GR/GP en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

|                    | CuZnSOD/CAT | MnSOD/CAT | GR/GPx |
|--------------------|-------------|-----------|--------|
| <b>C proximal</b>  | 1,08        | 0,52      | 1,00   |
| <b>SB proximal</b> | 0,56        | 0,04      | 3,27   |
| <b>SR proximal</b> | 0,64        | 0,61      | 2,38   |
| <b>C distal</b>    | 1,80        | 0,87      | 0,57   |
| <b>SB distal</b>   | 0,21        | 0,10      | 1,59   |
| <b>SR distal</b>   | 0,24        | 0,54      | 1,10   |

Por otra parte, la relación CuZnSOD: CAT y MnSOD: CAT fueron en general más bajas en las dietas con sorgo que en el C, tanto en zona proximal como distal (Tabla IV.4.6), por lo que se podría decir que existe un mejor estado de protección antioxidante. En el trabajo realizado con una dieta con fibra antioxidante de uva, reportaron bajas relaciones SOD:CAT en colon, lo que indica una mejora de la CAO (López-Oliva y col., 2013). Otra investigación donde se alimentaron ratas Wistar con jugo de uva orgánico se observaron también bajas relaciones SOD: CAT en hígados, sugiriendo un mejor estado de protección antioxidante (Dani y col., 2008).



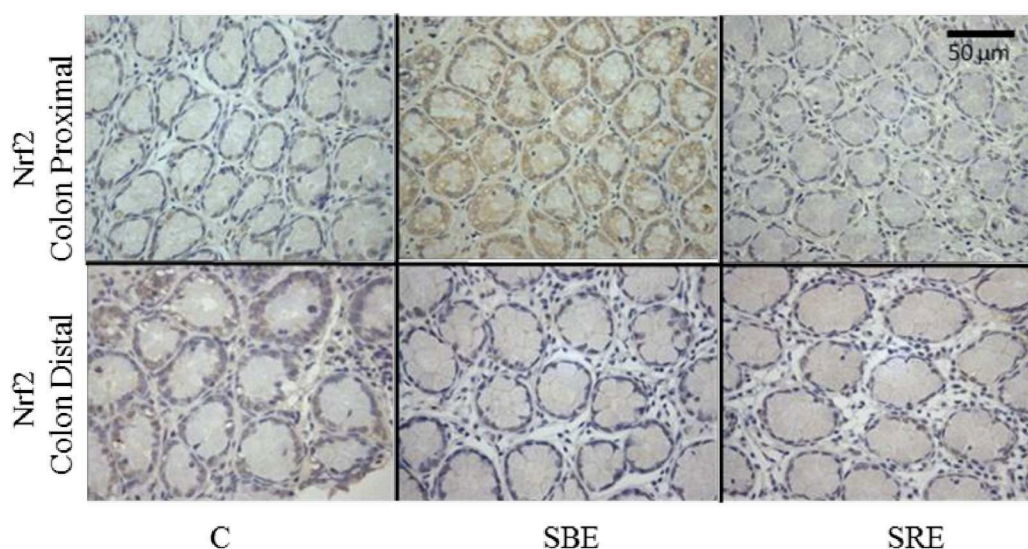
En la Tabla IV.4.7 se presentan los resultados para el factor de transcripción Nrf2 y NF-κB en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta C, con SBE y SRE.

**Tabla IV.4.7:** Factores Nrf2 y NF-κB en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas -<br>Zonas del colon | Nrf2<br>(%)               | NF-κB<br>(%)             |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <b>C proximal</b>           | 9,75 ± 1,93 <sup>a</sup>  | 1,38 ± 0,65 <sup>a</sup> |
| <b>SBE proximal</b>         | 70,75 ± 2,06 <sup>c</sup> | 3,50 ± 2,04 <sup>a</sup> |
| <b>SRE proximal</b>         | 9,38 ± 2,20 <sup>a</sup>  | 2,63 ± 0,68 <sup>a</sup> |
| <b>C distal</b>             | 8,75 ± 2,25 <sup>a</sup>  | 2,13 ± 1,16 <sup>a</sup> |
| <b>SBE distal</b>           | 7,75 ± 1,53 <sup>a</sup>  | 8,38 ± 3,04 <sup>b</sup> |
| <b>SRE distal</b>           | 25,00 ± 2,58 <sup>b</sup> | 0,50 ± 0,27 <sup>a</sup> |
| <b>p</b>                    | <b>0,0000</b>             | <b>0,0852</b>            |

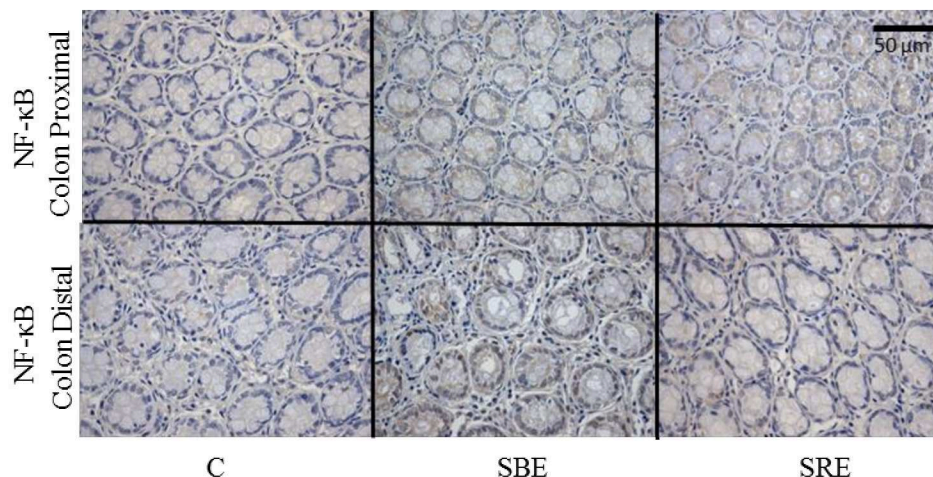
Media ± SEM (n=8). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05). Dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

El factor de transcripción Nrf2 en colon proximal fue mayor para SBE y en colon distal fue mayor para el SRE (Tabla IV.4.7 y Figura IV.4.12). Esto permitiría inferir que con esas dietas y en esas regiones del colon sería mayor la expresión de genes de enzimas detoxificantes.



**Figura IV.4.12:** Inmunotinción del factor Nrf2 en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

El factor NF-κB sólo fue significativamente mayor para el SBE en la región distal (Tabla IV.4.7 y Figura IV.4.13). Esto no sería beneficioso ya que en términos generales la sobreactivación de NF-κB se relaciona con inflamación y cáncer (Echeverri y col., 2008).



**Figura IV.4.13:** Inmunotinción del factor NF-κB en colon proximal y distal de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

#### IV.4.3. Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en el estado oxidativo a nivel hepático

En la Tabla IV.4.8 se presentan los resultados del peso de los hígados de los animales que consumieron las diferentes dietas.

**Tabla IV.4.8:** Peso de los hígados y peso del hígado en relación al peso corporal (PC) de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | Peso del Hígado (g)       | Peso Hígado/100 g PC     |
|----------|---------------------------|--------------------------|
| C        | 13,94 ± 0,29 <sup>b</sup> | 4,42 ± 0,19 <sup>b</sup> |
| SBE      | 10,77 ± 0,30 <sup>a</sup> | 3,21 ± 0,10 <sup>a</sup> |
| SRE      | 12,92 ± 0,50 <sup>b</sup> | 4,16 ± 0,18 <sup>b</sup> |
| <b>p</b> | <b>0,0008</b>             | <b>0,0001</b>            |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

Las ratas alimentadas con SBE presentaron hígados significativamente más pequeños que las demás, incluso al expresarlo por el peso de los animales (Tabla IV.4.8).

En la Tabla IV.4.9 se presentan los resultados de malondialdehído (MDA) y poder reductor en los hígados de las ratas alimentadas con las diferentes dietas.

**Tabla IV.4.9:** Contenido de malondialdehído (MDA) y poder reductor en hígado de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | MDA<br>(nmol/ 100 mg PR)  | Poder Reductor<br>(mg AA/g PR) |
|----------|---------------------------|--------------------------------|
| C        | 19,00 ± 1,82 <sup>a</sup> | 20,88 ± 2,00 <sup>a</sup>      |
| SBE      | 30,88 ± 1,47 <sup>b</sup> | 35,74 ± 2,39 <sup>b</sup>      |
| SRE      | 20,90 ± 3,14 <sup>a</sup> | 42,00 ± 1,13 <sup>c</sup>      |
| <b>p</b> | <b>0,0001</b>             | <b>0,0000</b>                  |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

Con relación al marcador bioquímico de peroxidación lipídica medido a través de las sustancias reactivas al TBA y expresados como MDA, se observó que los animales que consumieron la dieta de SBE presentaron valores mayores, indicando estrés oxidativo aumentado respecto al C. Albarracín y col. (2014) observaron un menor contenido de MDA hepático en ratas alimentadas con una dieta de maíz entero extrudido en relación a una dieta C (22,94 ± 0,66 vs 12,51 ± 0,58 nmol /100 mg proteína). Sing-Chung y col. (2011) observaron en ratas tratadas con 1,2-dimetilhidrazina para inducir carcinogénesis, que el consumo de arroz integral, salvado de arroz o arroz pulido cocido no tuvo efectos significativos en el contenido de sustancias reactivas al TBA (TBARS) en hígado. Asimismo, existen estudios que establecieron que el consumo de diferentes variedades de cereales, particularmente aquellos ricos en antocianinas, tienen efectos sobre algunos marcadores del estrés oxidativo (Xia y col., 2003). La mayor parte de los numerosos estudios en animales que han medido TBARS plasmáticos o tisulares han reportado disminuciones por la administración de té o de PF (Frei y Higdon, 2003). Sin embargo, la utilidad del ensayo TBARS como una medida de la peroxidación de lípidos in vivo es cuestionable debido a su falta de especificidad para MDA en muestras biológicas (Janero, 1990).

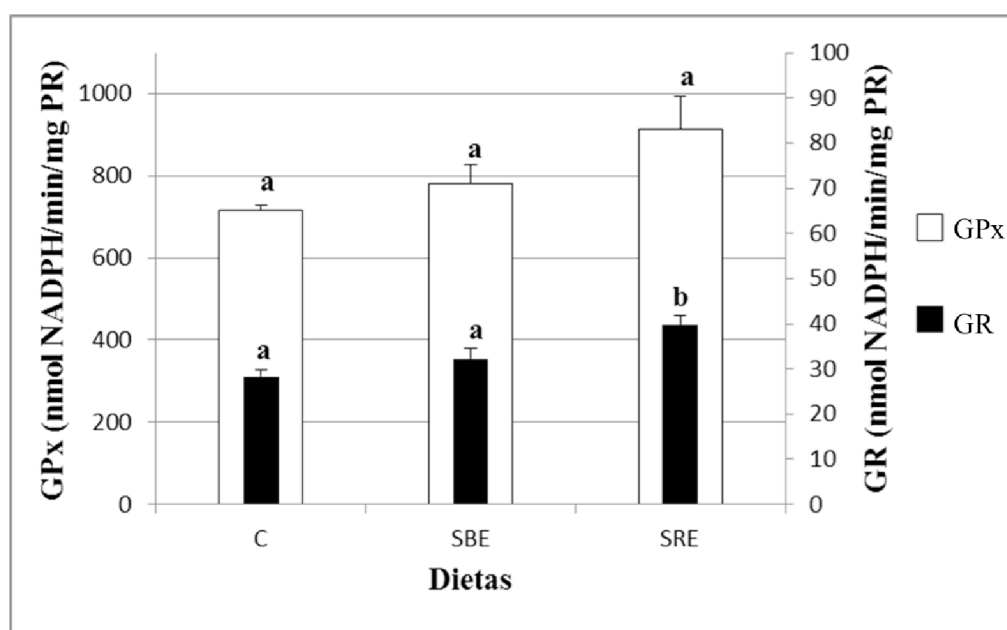
Respecto al **poder reductor**, se observó que fue menor en el C, intermedio para SBE y más elevado para SRE (Tabla IV.4.9). Esto permite inferir una relación entre el contenido de PF de las dietas y la capacidad reductora a nivel hepático.

En la Tabla IV.4.10 se presentan los resultados para la enzima CAT y para GSH, GSSG y la relación entre ellos, en los hígados de ratas alimentadas con las dietas C y experimental.

**Tabla IV.4.10:** Actividad de Catalasa (CAT), glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG) y relación GSH/GSSG en hígado de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | CAT<br>( $\mu\text{mol/s g PR}$ ) | GSH<br>( $\mu\text{g GSH/g T.H.}$ ) | GSSG<br>( $\mu\text{g GSSG/g T.H.}$ ) | GSH/GSSG          |
|----------|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| C        | $8,79 \pm 0,07^a$                 | $131,82 \pm 8,85^a$                 | $1039,14 \pm 59,61^b$                 | $0,14 \pm 0,02^a$ |
| SBE      | $8,86 \pm 0,24^a$                 | $155,79 \pm 21,74^a$                | $548,55 \pm 47,65^a$                  | $0,41 \pm 0,06^b$ |
| SRE      | $8,64 \pm 0,38^a$                 | $170,96 \pm 20,86^a$                | $640,95 \pm 71,55^a$                  | $0,44 \pm 0,06^b$ |
| <b>p</b> | <b>0,8264</b>                     | <b>0,4036</b>                       | <b>0,0008</b>                         | <b>0,0630</b>     |

Media  $\pm$  SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ).



**Figura IV.4.14:** Actividad de las enzimas Glutation Reductasa (GR) y Peroxidasa (GPx) en tejido hepático de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

El hígado es el principal órgano desintoxicante en el cuerpo, y como tal, posee una alta tasa metabólica y se somete a muchos compuestos potencialmente causantes de estrés oxidativo. En consecuencia, el correcto balance del sistema de defensa antioxidante hepático es de gran importancia para el mantenimiento de la salud. El hígado también está implicado en el metabolismo de PF, los que llegan a él a través de la vena porta, después de la absorción



en la mucosa intestinal. Por lo tanto, los potenciales efectos beneficiosos de los PF alimentarios tendrían lugar principalmente en el hígado. Los componentes cruciales del sistema de defensa antioxidante en el cuerpo son enzimas antioxidantes celulares (CAT, SOD, GR y GPx) y glutatión (GSH), que están implicados en la reducción de especies reactivas del oxígeno y peróxidos producidos en el organismo, así como en la desintoxicación de ciertos compuestos de origen exógeno, jugando un papel principal en el mantenimiento de un estado redox equilibrado (Alía y col., 2003).

En relación al contenido de la enzima **CAT** hepática, no se observaron diferencias significativas entre las dietas (Tabla IV.4.10). En la investigación antes mencionada realizada por Sing-Chung y col. (2011) tampoco se observaron efectos significativos sobre **CAT** hepática por el consumo de arroz integral, salvado de arroz o arroz pulido cocido, encontrándose los valores entre 1,08 y 1,52 U/ $\mu$ g prot. Alía y col. (2003) evaluaron los efectos in vivo de una dieta rica en antioxidantes y FD de uvas (semillas y piel) en ratas adultas estresadas y no estresadas, no observando diferencias en el contenido de **CAT** por las dietas ( $9,65 \pm 1,71$  UI/g hígado. (Lin y col. (1998) evaluaron en ratas Wistar machos adultas el efecto antioxidante de una dieta con 2,5% de té verde. Observaron una mejora de la actividad de **CAT** en el hígado respecto al C ( $262,5 \pm 14,6$  vs  $348,2 \pm 34,5$  nmol de  $H_2O_2$  consumida/mg prot. min). Resultados similares ya se habían observado para té verde, adjudicando los resultados a la presencia de PF (Bu-Abbas y col., 1995).

Analizando las diferentes dietas y los marcadores de estrés oxidativo, se observó que los animales que consumieron dietas de GE de sorgo no presentaron diferencias significativas de **CAT**, **GPx**, **GSH**, respecto a la dieta C, pero presentaron menor contenido de **GSSG** y por tanto, mayor relación de **GSH/GSSG**, lo que indicaría un estado reductor. Tampoco hubo diferencias en cuanto a las actividades de **GPx**, pero los animales que consumieron la dieta con **SRE** presentaron mayor nivel de **GR** hepática. Cabe destacar que muchos investigadores proponen que un elevado cociente **GSH/GSSG** puede prevenir los efectos nocivos del agotamiento de **GSH** (Zhang y Forman, 2012; Circu y Aw, 2012). Por lo tanto, la dieta a base de **SRE** ejercería un mayor efecto reductor en el estado redox general, dados por la relación **GSH/GSSG** y la mayor actividad de **GR**. Esto sería coincidente con el mayor poder reductor encontrado en hígado, aunque no se manifestó en un menor contenido de **MDA**, inclusive en la dieta a base de **SBE** el **MDA** fue mayor al C.

Se ha planteado que los PF pueden reducir la formación de especies reactivas y en consecuencia disminuir la actividad antioxidante enzimas (Landete, 2012; Fardet, 2010;

Manach y col., 2005). Al respecto, hay resultados diferentes reportados en la bibliografía. En el estudio realizado por Alía y col. (2003) para evaluar los efectos de una dieta rica en antioxidantes y FD a partir de la semilla y piel de uvas, en ratas adultas estresadas y no estresadas, no hubo diferencias en el contenido de GR, pero sí para GPx, siendo mayor en la dieta con semillas de uva en ratas no estresadas ( $184,87 \pm 13,93$  mU/mg prot). Lin y col. (1998) reportaron que ratas Wistar macho alimentadas con 2,5% del té verde, no presentaron efectos significativos en el GSH hepático respecto al C ( $268,7 \pm 12,6$  y  $224,8 \pm 24,2$  nmol/mg prot, respectivamente). Da Silva y col. (2014) alimentaron ratas Wistar machos adultas con una dieta C y otra con agregado de cáscara maracuyá, con el fin de evaluar el efecto de la fibra y PF presentes en el fruto. Sin embargo, no observaron diferencias en la actividad de las enzimas antioxidantes (GR y GPx) y el contenido de grupos tiol (GSH). Esto fue explicado por el corto período de ingestión de la cáscara, o por la baja dosis de PF evaluadas.

#### IV.4.4. Efecto del consumo de las dietas de grano entero de sorgo extrudido en el estado oxidativo a nivel plasmático.

En la Tabla IV.4.11 se muestran el contenido de MDA y poder reductor plasmático de ratas alimentadas con las distintas dietas.

**Tabla IV.4.11:** Contenido de malondialdehído (MDA) y Poder Reductor en plasma de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | MDA<br>( $\mu\text{mol/ g PR}$ ) | Poder Reductor<br>(mg AA/g PR) |
|----------|----------------------------------|--------------------------------|
| C        | $57,20 \pm 4,19^a$               | $1,42 \pm 0,06^a$              |
| SBE      | $66,74 \pm 1,89^a$               | $1,66 \pm 0,06^b$              |
| SRE      | $66,54 \pm 2,47^a$               | $2,25 \pm 0,06^c$              |
| <b>p</b> | <b>0,1355</b>                    | <b>0,0000</b>                  |

Media  $\pm$  SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras ( $p < 0,05$ ).

No se observaron diferencias significativas en el contenido de **MDA** plasmático de los animales que consumieron las diferentes dietas. De de igual forma, Albarracín y col. (2014) no reportaron diferencias entre el lote alimentado con maíz extrudido o con la dieta C ( $39,20 \pm 3,23$  y  $47,01 \pm 2,66$   $\mu\text{mol/ g prot}$ , respectivamente). También Sing-Chung y col. (2011) encontraron que el consumo de arroz integral, salvado de arroz o arroz pulido no tuvo efectos

significativos en el contenido de sustancias reactivas al TBA (TBARS) en plasma de animales (Ratas F344) tratados con 1,2-dimetilhidrazina para inducir carcinogénesis. Fardet y col. (2007) no encontraron diferencias significativas en el contenido de MDA en plasma de ratas adultas alimentadas con harina de trigo entera y refinada ( $3,9 \pm 0,1$  y  $3,9 \pm 0,1$   $\mu\text{mol/L}$ , respectivamente). La falta de efectos en el MDA plasmático también fue reportado en un estudio realizado sobre mujeres que consumieron suplementos dietéticos de salvado de trigo (Lewis y col., 1996) y en cerdos alimentados con salvado de trigo (Rezar y col., 2003). Rezar y col. (2003) plantearon que los efectos antioxidantes de los cereales integrales pueden observarse más fácilmente en animales en condiciones pro-oxidativas.

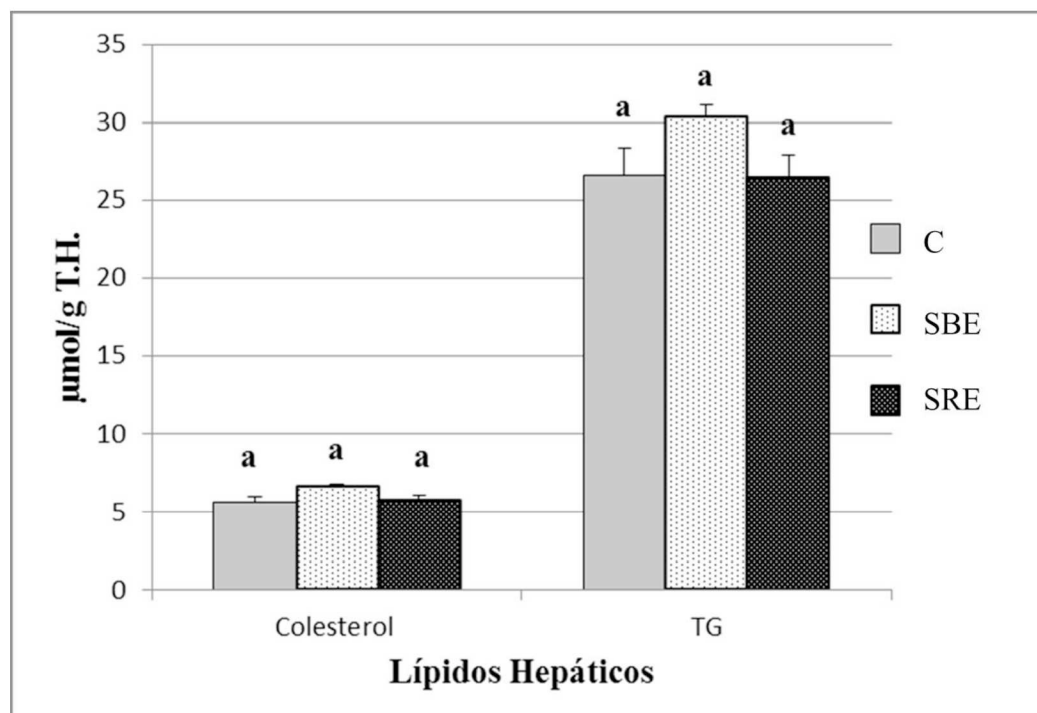
Sin embargo, la mayor parte de los numerosos estudios en animales que han medido TBARS plasmáticos o tisulares han reportado disminuciones significativas con el consumo de té o PF (Frei y Higdon, 2003). Así, Oyarzábal Yera y col. (2010) alimentaron ratas Wistar machos (150-200 g de peso corporal) con policosanol (mezcla de alcoholes alifáticos primarios superiores obtenida de la cera de caña de azúcar) y con el extracto de semillas de uva (ESU). Evaluaron el efecto antioxidante midiendo MDA en plasma, y reportaron una disminución intermedia de las dietas con policosanol y con ESU y mayor con la combinación de ambos, en relación a la dieta C (C:  $76,22 \pm 6,27$ , Policosanol:  $56,51 \pm 4,04$ , ESU:  $52,23 \pm 4,77$ , Policosanol+ESU:  $43,23 \pm 3,60$   $\mu\text{mol/ g prot.}$ ).

Respecto al **poder reductor** en plasma, se observaron diferencias significativas entre todas las dietas, correspondiendo el valor más bajo a las alimentadas con la dieta C, intermedia para las que consumieron SBE y mayor para SRE. Sin embargo, esto no se reflejó en una reducción del MDA plasmático, como se comentó anteriormente.

La dieta a base de SRE presentó mayor poder reductor en hígado y plasma, aunque no se manifestó en un menor contenido de MDA. En los animales que consumieron la dieta a base de SBE, el MDA hepático fue mayor al C, aunque su poder reductor hepático y plasmático fueran mayores. Sería posible que la baja biodisponibilidad de los compuestos fenólicos haga que sus principales efectos se vean a nivel colónico, no observándose efectos a nivel sistémico, que dependerían de la absorción de los PF o sus metabolitos activos. También otros investigadores adjudicaron la falta de efecto antioxidante del GE a su reducida biodisponibilidad (Adom y Liu, 2002).

#### IV.4.5. Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en el perfil lipídico

En las Figuras IV.4.15 y IV.4.16 se presentan los lípidos hepáticos y plasmáticos, de los animales alimentados con las diferentes dietas.



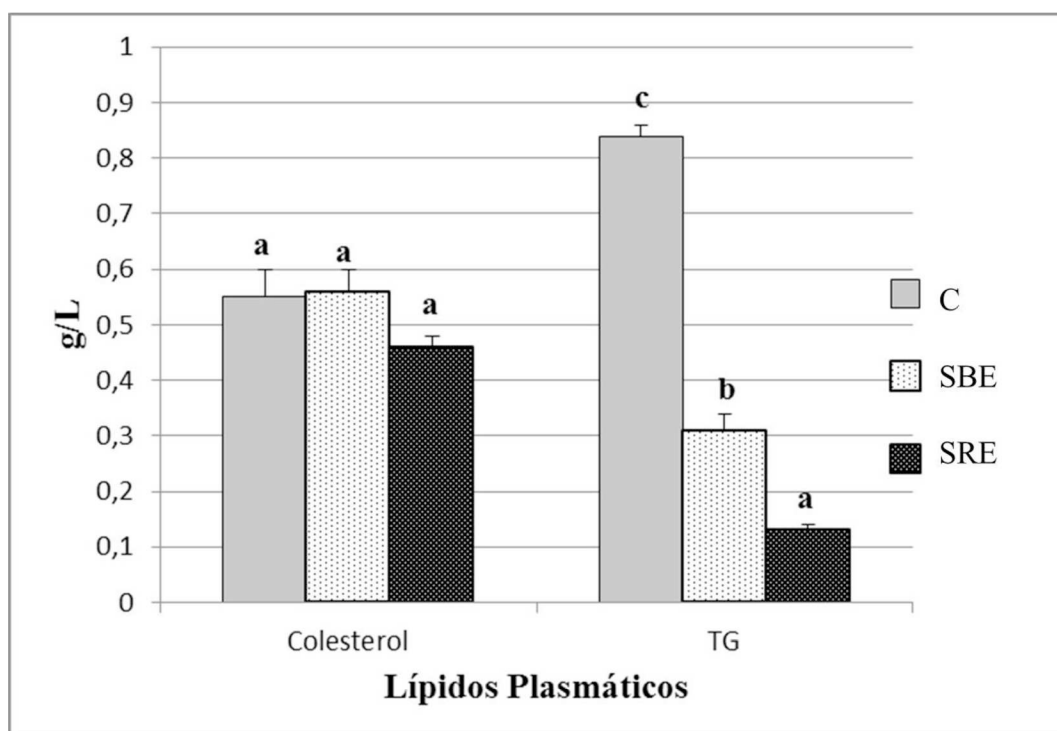
**Figura IV.4.15:** Colesterol y triglicéridos (TG) hepáticos de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

Respecto al contenido de colesterol y TG (Figura IV.4.15) no hubo diferencia significativa entre las ratas alimentadas con sorgo y la dieta C ( $p: 0,1049$  y  $p: 0,2287$ , respectivamente). Similarmente, Fardet y col. (2007) no encontraron diferencias significativas cuando estudiaron dietas a base de harina de trigo entera y refinada en ratas adultas, respecto a colesterol hepático ( $2,82 \pm 0,05$  y  $2,87 \pm 0,09$  mmol/g) y TG ( $13,88 \pm 0,78$  y  $12,16 \pm 0,39$  mmol/g). Tong y col. (2014) evaluaron una alimentación con arabinosilanos de salvado de trigo, glucanos de avena y una dieta C en hámsters hipercolesterolémicos y no se observaron diferencias significativas en los lípidos hepáticos. Sin embargo, Albarracín y col. (2014) observaron que el consumo de maíz entero extrudido no tuvo efectos sobre el colesterol hepático, pero disminuyó significativamente el contenido de TG en relación al C. Adam y col. (2003) estudiaron el consumo de una dieta C y dietas con harina de trigo integral y pan



integral (con niveles de FDT de 0, 9,8 y 10,1%, respectivamente) en ratas adultas de 140 g de peso. Observaron que el colesterol hepático se redujo notablemente en las ratas alimentadas con las respectivas dietas con fibra respecto al C (47,5% y 54%, respectivamente), como así también para TG (32% y 39%, respectivamente).

Respecto a los lípidos presentes en plasma (Figura IV.4.16), los TG fueron diferentes significativamente ( $p: 0,0000$ ) para todas las dietas, siendo mayor el contenido para la C, intermedio para SBE y menor para SRE, pero para colesterol no hubo diferencia entre las dietas ( $p: 0,1850$ ).



**Figura IV.4.16:** Lípidos plasmáticos (colesterol y triglicéridos) de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

Otros estudios muestran efectos variables, según se centren en efectos de fibra o grano entero o de los PF. En el caso de ratas alimentadas con una dieta a base de maíz entero extrudido, Albarracín y col. (2014) no observaron diferencias significativas en los TG plasmáticos entre la dieta C y la de maíz ( $0,75 \pm 0,15$  y  $0,74 \pm 0,08$  g/L). Adam y col. (2003) observaron que los TG plasmáticos y el colesterol se redujeron en una dieta con pan integral en relación a dietas C y dietas con harina de trigo integral (1,18, 1,77 y 1,45 g/L, respectivamente para TG; 0,71, 1,00 y 0,78 g/L, respectivamente para colesterol). Tong y col.

(2014) reportaron, en hámster hipercolesterolémicos alimentados con arabinosilanos de salvado de trigo, glucano de avena y dieta C, que sólo los primeros redujeron el colesterol plasmático total (2,59, 2,52 y 2,85 g/L, respectivamente) y no observaron diferencias para TG (2,57, 3,11 y 3,40 g/L, respectivamente).

En la investigación donde se alimentaron ratas Wistar machos con dieta C y dieta con 2,5% del té verde se observó un descenso significativo de TG de 1,3 a 1,0 g/L y de colesterol de 1,3 a 1,0 g/L (Lin y col., 1998). Estudios previos han mostrado consistentemente que extractos de sorgo disminuyen los niveles de colesterol por la reducción de la síntesis hepática y aumento de la excreción en las heces (He y col., 2007; Kim y col., 2010; Chung y col., 2011), por lo que se sugiere que el extracto de sorgo puede tener componentes bioactivos que ejerzan un efecto beneficioso sobre el perfil lipídico en sangre en seres humanos (Kim y col., 2010;). Cabe mencionar que en la presente investigación se trabajó con el GE de sorgo y no con extractos.

#### **IV.4.6. Efecto del consumo de las dietas de sorgo integral extrudido en la biodisponibilidad del Ca**

##### **IV.4.6.1. Absorción aparente de Ca**

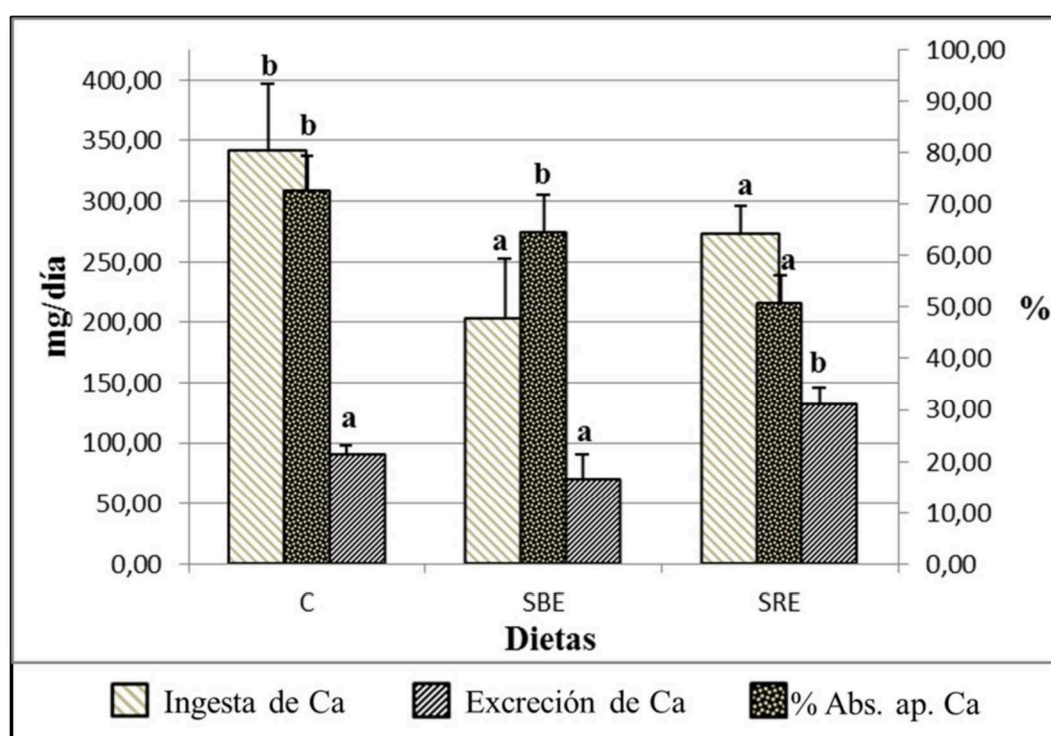
La absorción de Ca depende de la concentración de Ca luminal y además, de la edad del individuo, alcanzando el máximo de absorción al tiempo de destete y luego comienza a disminuir hasta llegar a los valores más bajos en la madurez (Pansu y col., 1983). Por esto, los animales en los que se realizaron los ensayos tenían similar edad y peso, y las dietas fueron suministradas con la misma proporción de Ca.

Se analizó la **ingesta**, la **excreción** y la **absorción aparente de Ca** (Figura IV.4.17). Se observó que la ingesta de Ca fue mayor para la dieta C, dado que estos animales tuvieron mayor ingesta total. Por otro lado, el lote que consumió SRE presentó mayor excreción y menor absorción aparente que el SBE y el C. El hecho de que la tasa de Abs aparente sea similar entre la dieta C y la de SBE y menor para la de SRE, indicaría que el menor pH de las dietas de GE de sorgo extrudido no fue suficiente para favorecer la absorción del Ca frente a los inhibidores, tales como el AF y los PF, mayores en SRE que en SBE.

Albarracín y col. (2014) encontraron que la ingesta y la excreción de Ca fue mayor en la dieta C, en relación a la dieta con GE de maíz extrudido, pero la absorción aparente fue semejantes (C:  $71,10 \pm 1,11$ , GE maíz extrudido:  $75,10 \pm 2,15$ ). Múltiples investigaciones

indican que los polisacáridos y oligosacáridos pueden mejorar el estado óseo a través de su influencia en la absorción y retención mineral. Así, una dieta con FOS puede mejorar la absorción de Ca (Coudray y col., 2003), la inulina-FOS puede aumentar la retención del Ca (Zafar y col., 2004) y la polidextrosa aumentar la absorción aparente (Albarracín y col., 2014).

Sin embargo, en el presente trabajo no se encontró un efecto beneficioso del consumo de GE de sorgo sobre la absorción del Ca, como si se observó en otros trabajos (Coudray y col., 1997; López y col., 2000; López y col., 2001;).



**Figura IV.4.17:** Ingesta Diaria de Ca (Ingesta de Ca), Excreción fecal diaria de Ca (Excreción de Ca) y Absorción Aparente de Ca (% Abs. ap. Ca) en ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo extrudido (SRE).

#### IV.4.6.2. Contenido y densidad mineral

Es importante considerar que las medidas de la absorción pueden evidenciar cambios en el metabolismo del Ca a corto plazo. Por tal motivo, para evaluar una incidencia por un período mayor, se utilizan medidas de Ca en huesos, densidad de los huesos, y/o resultados histológicos que permiten demostrar el impacto de una dieta (Weisstaub y col., 2013) y que miden la utilización del mineral, o sea su biodisponibilidad. Para evaluar la eficacia de los alimentos funcionales, a través de la DMO, el período de intervención tiene que ser mucho

más largo que para el caso de la evaluación de los parámetros del metabolismo Ca (Weaver y col., 2002).

En la Tabla IV.4.12 se presentan los resultados para contenido mineral total y densidad mineral total, y en la Tabla IV.4.13 las densitometrías de distintos huesos de los animales, al tiempo final de la experiencia (Tf=60 días).

**Tabla IV.4.12:** Contenido Mineral Total (CMT y CMT t60), Densidad Mineral Total t60 (DMT t60), de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | CMT<br>(mg)                   | CMT t60<br>(mg/g PC)      | DMT t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) |
|----------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| C        | 4051,75 ± 204,35 <sup>a</sup> | 11,79 ± 0,46 <sup>a</sup> | 259,75 ± 2,09 <sup>a</sup>       |
| SBE      | 4099,25 ± 313,21 <sup>a</sup> | 12,78 ± 0,30 <sup>a</sup> | 265,50 ± 1,27 <sup>a</sup>       |
| SRE      | 3962,38 ± 174,45 <sup>a</sup> | 12,14 ± 0,44 <sup>a</sup> | 262,38 ± 1,80 <sup>a</sup>       |
| <b>p</b> | <b>0,9243</b>                 | <b>0,3153</b>             | <b>0,1473</b>                    |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

**Tabla IV.4.13:** Densidad Mineral de la Columna (C-DM t60), del Fémur (F-DM t60), del Fémur distal (Fd-DM t60), de la Tibia (T-DM t60) y de la Tibia proximal (Tp-DM t60) (mg/cm<sup>2</sup>) de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | C-DM t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) | F-DM t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) | Fd-DM t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) | T-DM t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) | Tp-DM t60<br>(mg/cm <sup>2</sup> ) |
|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| C        | 242,50 ± 4,60 <sup>a</sup>        | 259,25 ± 7,85 <sup>a</sup>        | 252,50 ± 5,44 <sup>a</sup>         | 223,50 ± 2,95 <sup>a</sup>        | 219,50 ± 5,70 <sup>a</sup>         |
| SBE      | 232,00 ± 2,38 <sup>a</sup>        | 272,63 ± 4,66 <sup>a</sup>        | 252,38 ± 3,28 <sup>a</sup>         | 216,13 ± 2,33 <sup>a</sup>        | 218,38 ± 3,95 <sup>a</sup>         |
| SRE      | 241,38 ± 5,81 <sup>a</sup>        | 265,75 ± 7,65 <sup>a</sup>        | 256,86 ± 8,53 <sup>a</sup>         | 221,86 ± 1,64 <sup>a</sup>        | 230,50 ± 4,68 <sup>a</sup>         |
| <b>p</b> | <b>0,2648</b>                     | <b>0,5016</b>                     | <b>0,8659</b>                      | <b>0,1223</b>                     | <b>0,1707</b>                      |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

Se puede observar que el CMT y el CMT en función del peso corporal (CMT t60) no presentaron diferencias significativas entre los lotes (Tabla IV.4.12).

Cuando el CMT se expresa por áreas, se obtiene la denominada densidad mineral ósea (DMO), que es un fuerte biomarcador que indica la tendencia a la fractura porque representa un 70% de la resistencia del hueso, por lo cual se tiende a equiparar la resistencia ósea con la DMO, puesto que la disminución de la misma se asocia fuertemente a la aparición de fracturas (Sosa y col., 2001).

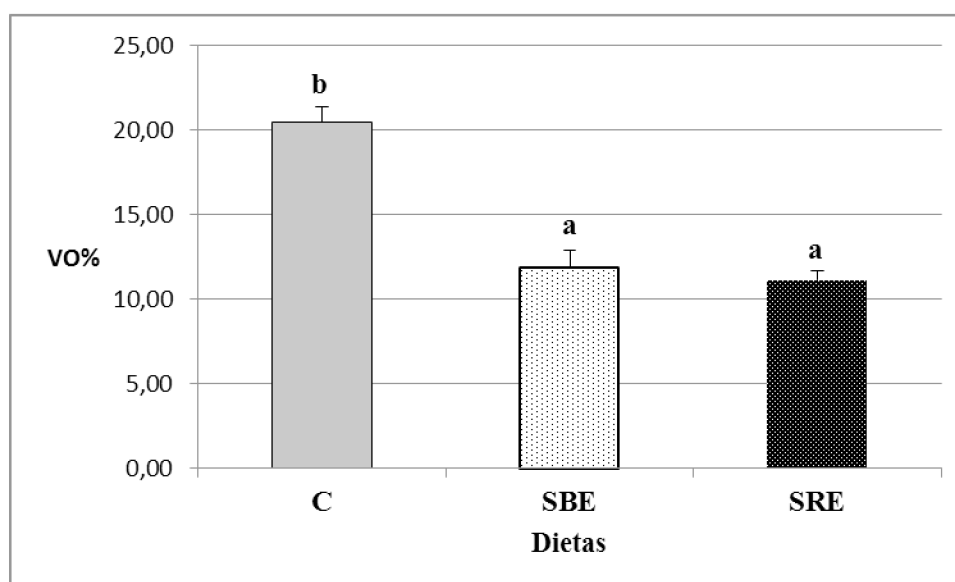
La **DMO** se suele determinar en regiones de interés, como ser la columna (C-DM t60), el fémur (F-DM t60), el fémur distal (Fd-DM t60), la tibia (T-DM t60) y la tibia proximal (Tp-DM t60). Estas zonas son representativas óseas, además de ser lugares de fractura frecuente asociados con osteoporosis (Maestro Fernández y col., 2010; López-Herradón y col., 2014).

Al igual que en CMT, la DMT y la DMO en los distintos huesos en que se midió no presentaron diferencias significativas entre las dietas (Tabla IV.4.13).

En la investigación de Albarracín y col. (2014), se observó un aumento significativo del CMT en ratas alimentadas con un 5% de povidexrosa, seguido por GE de maíz extrudido, en relación a la dieta C ( $17,1 \pm 0,7$ ;  $15,2 \pm 0,5$  y  $11,7 \pm 0,6$ , respectivamente) pero la DM en fémur, columna y tibia fue mayor sólo para los animales con dieta con povidexrosa. Se puede decir que el consumo de GE de sorgo extrudido administrado en las dietas no ejerció un efecto beneficioso sobre el contenido o densidad mineral ósea en relación a los animales C. Cabe destacar que los animales que consumieron sorgo tuvieron menor ingesta de alimento y de Ca que el C, sin embargo los valores de contenido y densidad mineral no fueron diferentes.

#### IV.4.6.3. Estudio del Volumen Óseo en la Tibia Derecha

En la Figura IV.4.18 se presentan los resultados del volumen óseo (VO) medidos en la tibia de los animales alimentados con las diferentes dietas.



**Figura IV.4.18:** Volumen óseo (VO%) en ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo extrudido (SRE).

Los parámetros estáticos de formación ósea muestran el porcentaje de osteoblastos y el grosor del osteoide localizados en el perímetro de las trabéculas óseas. Entre los más importantes se halla la determinación del VO (Velásquez-Forero, 2009). Se observó que los animales alimentados con las dietas de GE de sorgo extrudido presentaron menor VO%, que los alimentados con la dieta C. Cabe recordar que estos animales presentaron menor peso corporal y ganancia de peso que el lote C.

En una investigación en la que se alimentó ratas machos de 42 días de edad hasta los 60 días con una dieta C y una dieta con 5% de FOS, se observó un aumento del VO en el fémur (Takahara y col., 2000).

#### IV.4.6.4. Estudio de la composición ósea en el Fémur Derecho

El hueso del fémur es un tejido óseo representativo del hueso cortical, debido a que está sujeto a remodelación continua, e incluso es un parámetro representativo de la fuerza del hueso, asociado con el riesgo a posibles fracturas (Coudray y col., 2001; Maestro Fernández y col., 2010).

Los resultados de la composición ósea del fémur derecho de las ratas al final de la experiencia (Tf=60 días) se presentan en la Tabla IV.4.14. Del análisis se desprende que el contenido de cenizas fue significativamente menor en los fémures de las ratas alimentadas con la dieta C y el contenido orgánico (CO) fue mayor para el mismo lote, por lo que la relación cenizas/CO de los animales que consumieron las dietas con GE de sorgo fue mayor que en C, lo cual indicaría que en estos animales hay una mayor deposición mineral en la matriz de colágeno del hueso que en el C.

**Tabla IV.4.14:** Composición ósea del fémur derecho: Cenizas, Contenido Orgánico (CO), relación Cenizas/CO, Calcio (Ca), Fósforo (P) y relación Ca/P de ratas alimentadas con dieta control (C), dieta a base de sorgo blanco integral extrudido (SBE) y dieta a base de sorgo rojo integral extrudido (SRE).

| Dietas   | Cenizas<br>(mg/100g)      | CO<br>(mg/100g)           | Cenizas/CO<br>(mg/100g)  | Ca<br>(mg/100g)           | P<br>(mg/100g)            | Ca/P<br>(mg/100g)        |
|----------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| C        | 55,02 ± 0,33 <sup>a</sup> | 44,98 ± 0,33 <sup>b</sup> | 1,01 ± 0,15 <sup>a</sup> | 23,22 ± 0,57 <sup>b</sup> | 12,06 ± 0,31 <sup>c</sup> | 1,93 ± 0,07 <sup>a</sup> |
| SBE      | 59,23 ± 0,19 <sup>b</sup> | 40,77 ± 0,19 <sup>a</sup> | 1,45 ± 0,01 <sup>b</sup> | 21,73 ± 0,76 <sup>b</sup> | 9,06 ± 0,17 <sup>b</sup>  | 2,40 ± 0,06 <sup>b</sup> |
| SRE      | 59,48 ± 0,18 <sup>b</sup> | 40,52 ± 0,18 <sup>a</sup> | 1,47 ± 0,01 <sup>b</sup> | 14,42 ± 0,73 <sup>a</sup> | 7,98 ± 0,27 <sup>a</sup>  | 1,81 ± 0,08 <sup>a</sup> |
| <b>p</b> | <b>0,0000</b>             | <b>0,0000</b>             | <b>0,0000</b>            | <b>0,0000</b>             | <b>0,0000</b>             | <b>0,0000</b>            |

Media ± SEM (n=8). Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas entre las muestras (p < 0,05).

El contenido de Ca y P en fémur fue menor para los animales alimentados con la dieta de SRE en relación a las otras dos dietas. El contenido de P fue intermedio para los animales que consumieron SBE y mayores para la dieta C. Sin embargo, la relación Ca/P en el fémur fue significativamente mayor para los animales alimentados con SBE. El hueso es un tejido formado en una pequeña parte de su volumen por células (2-5%) y en una gran parte por materia no viva (95-98%), constituida aproximadamente en la misma proporción de materia proteica (colágeno) y de materia mineral (principalmente Ca y P) (Heaney y col., 2002). El Ca y el P deben estar disponibles en cantidades suficientes para que la mineralización ósea sea adecuada. La relación Ca/P del hueso en individuos adultos en estado saludable posee un valor aproximado a 2 (Zaichicka y Tzaphlidou, 2002 y 2003). En este estudio, esta relación fue mayor a 2 en las ratas alimentadas con dietas SBE.

Los resultados del estudio de la biodisponibilidad de Ca ponen de manifiesto que si bien la dieta de SRE tuvo menor absorción aparente de Ca y los lotes alimentados con GE de sorgo extrudido presentaron menor ingesta de Ca, esto no impactó de forma negativa en la salud ósea, medidas a través del CMT, la DMT y DM en distintos huesos. Sin embargo, se observaron diferencias con el C en cuanto al contenido de cenizas, materia orgánica y P, lo que implicaría cierto desbalance en el metabolismo de estos minerales. Adicionalmente, el contenido de Ca fue menor en el lote SRE, relacionado con la menor absorción aparente de este mineral.

#### **IV.4.7. Conclusiones parciales**

- La ingesta de los animales alimentados con GE de sorgo extrudido fue menor, probablemente debido al efecto de saciedad de la fibra de GE. Esto estuvo aparejado con menor ganancia de peso de estos animales, aunque la eficiencia de la dieta no presentó diferencias con el C.
- A nivel intestinal, no se observaron cambios en el tamaño del ciego, pero el consumo de alimentos a base de SBE y SRE redujeron el pH cecal, lo cual puede ser atribuido a la fermentación de la fibra de los GE con la consecuente producción de AGCC.
- Respecto al contenido cecal, se observó mayor concentración de PF en los lotes alimentados con GE de sorgo, aunque esto no se reflejó en un aumento del poder



reductor. Además, las actividades de  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa fueron menores que en el C, particularmente en SRE, pero no hubo diferencias en Mucinas por el consumo de estas dietas. La dieta con SBE redujo el contenido de sIgA, mientras que el SRE lo aumentó en relación al C. Todo esto manifiesta el efecto beneficioso a nivel intestinal del consumo de GE de sorgo, siendo más marcado en los animales que consumieron SRE.

- Los estudios inmunohistoquímicos en el colon indican que el SRE indujo una disminución de la proliferación de colonocitos a nivel proximal (menor profundidad de las criptas y LI-PCNA), pero no pareció afectar significativamente a la muerte celular en la mucosa del colon. El SBE generó una hiperproliferación (asociado con mayor riesgo de cáncer) proximal y distal y aumento de la apoptosis de las células epiteliales del colon distal. El SRE podría tener efectos protectores contra la tumorigénesis colorrectal.
- Respecto a la actividad antioxidante en colon, en relación al C, las ratas alimentadas con SRE presentaron similar actividad de la enzima MnSOD y menor actividad de la CuZnSOD, junto con la CAT elevada sólo en la zona distal. Además, la GPx no se modificó y GR aumentó. Esto indicaría que la producción de  $O_2^-$  se encuentra disminuida o similar al C y que la cantidad que se produce de  $H_2O_2$  sería degradada vía CAT (aumentada a nivel distal). Además, el hecho de que GR esté aumentada implicaría un estado reductor, como puede deducirse de la relación GR/GPx, 2 veces mayor que el C en colon proximal y distal.
- En el caso de los animales alimentados con dieta SBE, en relación al C, se observó que las enzimas SOD estaban disminuidas, que la CAT y la GPx estaban aumentadas en la zona distal y la GR estaba aumentada en ambas zonas, dando lugar a un comportamiento similar a la dieta con SRE en lo referente a la producción del  $O_2^-$  y de  $H_2O_2$ . Además, habría un estado reductor, como puede deducirse de la relación GR/GPx (aproximadamente 3 veces mayor que el C en colon proximal y distal).
- El factor de transcripción Nrf2 aumentó en el colon de los animales alimentados con las dietas de GE de sorgo, esto permitiría inferir que con esas dietas y en esas regiones del colon, sería mayor la expresión de genes de enzimas detoxificantes, pero para el SBE el factor NF- $\kappa$ B fue mayor, lo cual en principio no sería beneficioso ya que se relaciona con inflamación, por lo que se necesitarían otros



estudios para investigar esto. En forma general se podría decir que la dieta con SRE manifestó mayores beneficios que con SBE.

- En cuanto a los marcadores de estrés oxidativo a nivel hepático, se observó que los animales que consumieron dietas de GE de sorgo no presentaron diferencias significativas de CAT, GPx, GSH, respecto a la dieta C, pero presentaron menor contenido de GSSG y por tanto, mayor relación de GSH/GSSG, lo que indicaría un estado reductor. Tampoco hubo diferencias en cuanto a las actividades de GPx, pero los animales que consumieron la dieta con SRE presentaron mayor nivel de GR hepática. La dieta a base de SRE ejercería un mayor efecto reductor en el estado redox general, dados por la relación GSH/GSSG y la mayor actividad de GR. Esto sería coincidente con el mayor poder reductor encontrado en hígado, aunque no se manifestó en un menor contenido de MDA, inclusive en la dieta a base de SBE el MDA fue mayor al C.
- A nivel plasmático el poder reductor fue mayor en las ratas alimentadas con GE de sorgo extrudido, sin embargo, esto no se reflejó en una reducción del MDA plasmático, coincidiendo con lo observado en hígado. Sería posible que la baja biodisponibilidad de los compuestos fenólicos haga que sus principales efectos se vean a nivel colónico, no observándose efectos a nivel sistémico, que dependerían de la absorción de los PF o sus metabolitos activos.
- Respecto al contenido de colesterol y TG hepáticos no hubo diferencia significativa entre las ratas alimentadas con sorgo y la dieta C, como tampoco en el colesterol plasmático. Sin embargo, los TG plasmáticos fueron menores en los lotes alimentados con sorgo, particularmente con SRE.
- Si bien la dieta de SRE tuvo menor absorción aparente de Ca y los lotes alimentados con GE de sorgo extrudido presentaron menor ingesta de Ca, esto no impactó de forma negativa en la salud ósea, medidas a través del CMT, la DMT y DM en distintos huesos. Sin embargo, se observaron diferencias con el C en cuanto al contenido de cenizas, materia orgánica y P, lo que implicaría cierto desbalance en el metabolismo de estos minerales. Adicionalmente, el contenido de Ca fue menor en el lote SRE, relacionado con la menor absorción aparente de este mineral.
- En términos generales, se observó que la dieta con SRE fue más beneficiosa que el SBE en los distintos aspectos estudiados. Debido a que una de las principales

diferencias entre los sorgos es el contenido de PF, se podría adjudicar a éstos el efecto beneficioso.

## **V. CONCLUSIONES FINALES**

## V. CONCLUSIONES FINALES

Los 28 híbridos de sorgo analizados se clasificaron como bajos en taninos o sin taninos condensados, con lo cual son aptos para consumo humano. Todos presentaron una composición similar a la informada en otras investigaciones respecto a PR, EE, CZ, PFT, PF Lib, PF Lig, AF y minerales (Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P). De las determinaciones químicas realizadas se observó que presentaron distribución normal: PR, EE, CZ, AF, Fe, Zn, Ca, Cu, K, Mg, Na y P. Hubo diferencias en los contenidos de Fe, Zn, Na, AF, Cu, y P acorde a si procedían de SB o SR, siendo los 3 primeros mayores en SB. Opuestamente, no presentaron distribución normal PFT, PF Lib y PF Lig y además presentaron diferencias acorde a si provenían de SB o SR. Al analizar sus medianas, todas fueron mayores para los SR, lo que es de esperar ya que los sorgos con testa pigmentada poseen más PF. Los contenidos de PF Lig fueron, en todos los casos, mayores a PF Lib.

Respecto a las características físicas, los valores hallados de RM, DA, PH y %F estuvieron en los rangos reportados en la bibliografía y sólo presentaron distribución normal: RM y DA, que no fueron diferentes según el color de los híbridos. El PH y %F no presentaron distribución normal y el primero presentó diferencia acorde al color del híbrido, siendo mayor en SR.

De los 28 híbridos analizados no todos presentaron aptitud para el popeado. El VA, R y AP presentaron distribución normal, y solo el R de popeado a 250°C - 18 % H presentó diferencia acorde al color de los híbridos, siendo mayor para los SB. En la condición de 250°C - 18% H se obtuvieron mayores VA (10-19 cm<sup>3</sup>/g) y R (62 y 95%) de popeado. Mientras más duro fue el grano (mayor RM, PH, DA y contenido proteico, y menor %F), mayor fue el VA del popeado, y el R se relacionó en forma inversa con el color. Se creó el parámetro AP, para poder predecir la aptitud para el popeado de granos de sorgo. A través de la determinación de RM y el color es posible predecir la AP que tendrán el 71% de los casos, y si es mayor o igual a 9, la muestra sería apropiada para popear.

Los productos popeados del híbrido SB1 a 250°C - 18% H y del híbrido SR7 a 250°C - 14% H, permitieron obtener las mejores características para la elaboración de “palomitas de sorgo”, aptas para consumo humano y que permite incluir a la población celiaca. Del análisis de estas muestras se desprende que el proceso de popeado no afectó significativamente PR y EE, pero las CZ y la FDT se redujeron, y el contenido de almidón gelatinizado fue mayor en SBP, por lo que fue la muestra con mayor GC. Todos los minerales se redujeron por el

popelado, además la DFe aumentó luego del popeado y la DZn se redujo y la de DCa no varió. La DPR aumentó 8 y 9 % y la LD disminuyó 24 % y 16%, para SBP y SRP, respectivamente. Se generó una reducción del contenido de PF Lib y PF Lig, AF y CAO, pero las harinas precocidas integrales obtenidas por popeado pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Se realizó la extrusión, con distintas H de muestra (14, 16,5 y 19%) y T de extrusión (164, 182 y 200°C), de los híbridos SB5 y SR14. El SR alcanzó un mayor GC que el SB, con mayores valores de CEEM, VE, E, S y G% y con predominio de gránulos totalmente destruidos, generando menor capacidad de AA, mientras que en el SBE predominaron los gránulos cocidos sin destruir, dando como resultado mayor AA y menores valores de CEEM, VE, E, S y G%. La muestra de mayor dureza sensorial fue la de menor GC obtenida a 164°C - 19% H, tanto para SB como para SR, y por su parte las más blandas fueron las obtenidas a 200°C - 19% H para el caso de SB, y a 200°C - 14% H para el SR, de mayor GC. El aumento de la H de extrusión produjo una reducción significativa de la Pérdida de F, de los PF y de la CAO. El aumento de T generó un aumento en la Pérdida de AF y una disminución en el contenido de PF para SB.

A partir de los extrudidos es posible elaborar distintos tipos de alimentos. Para obtener una harina precocida para preparar mezclas instantáneas de sopas tipo crema y papillas con buenas propiedades de hidratación, la condición adecuada sería a 200°C - 14% H. Si se desea obtener un producto tipo snacks con buenas características fisicoquímicas y sensoriales la condición de extrusión adecuada sería a 182°C - 14% H. Si el resto de las materias primas utilizadas son sin TACC, sería posible elaborar alimentos con sorgo integral extrudido para toda la población, incluyendo a la celiaca.

Se evaluaron las harinas precocidas de las muestras selectas para obtener un expandido tipo snack. Se observó que el proceso de extrusión no afectó significativamente al contenido de ningún macronutriente y que el almidón gelatinizado fue mayor en SRE. El contenido de Fe varió luego del proceso, aumentando en ambos tipos de sorgo y la DFe aumentó significativamente luego de la extrusión, la de DZn disminuyó y la DCa no varió. La DPR aumentó luego de la extrusión (15 y 25 %) y la LD se redujo (20 y 31 %) para SBE y SRE. Se generó una reducción del contenido de PF Lib y PF Lig, AF y CAO, sin embargo, las harinas precocidas integrales obtenidas por extrusión pueden considerarse una fuente importante de antioxidantes.

Se evaluó el contenido de compuestos fenólicos (ácidos cafeico, p-cumárico, ferúlico y sinápico) con hidrólisis ácida previa de los extractos polifenólicos. En los extractos de PF Lib y Lig el SR presentó la mayor cantidad de compuestos fenólicos. En los extractos de PF Lib de los sorgos nativos y extrudidos, el ácido cafeico fue el fenol que se halló en mayor cantidad y en los extractos de PF Lig fue el ácido p-cumárico (exceptuando el ferúlico, que no es conveniente medirlo en hidrólisis ácida). Posterior a la extrusión se redujeron todos los compuestos fenólicos en ambos tipos de sorgo, pero el SRE sufrió las mayores reducciones, aunque siguió teniendo la mayor cantidad.

El descascarado produjo una reducción significativa de los macro y micronutrientes y la extrusión de las muestras de sorgo descascarado permitió confirmar que el SB es más duro y requiere condiciones más severas que el SR para alcanzar similar GC. La extrusión de las muestras descascaradas no afectó significativamente al contenido de ningún macronutriente, al igual que la extrusión de los sorgos integrales. El contenido de AF y PFT y la CAO fueron menores en las muestras de sorgos descascarados extrudidos, como consecuencia de las reducciones ocasionadas por ambos procesos (descascarado y extrusión).

Comparando ambos procesos, se observó que el popeado generó reducción de CZ, FDT y minerales, y mayores pérdidas de CAO, mientras que la extrusión aumentó en mayor medida la DFe y DPR. El sorgo con mayor GC en popeado fue el SBP (90%) y en extrusión fue el SRE (82%).

Fue posible, por ambos procesos tecnológicos de expansión (popeado y extrusión), obtener productos a partir de sorgos integrales aptos para consumo humano y con posibilidades de utilización para elaborar alimentos sin TACC.

Respecto a la evaluación in vivo utilizando un modelo fisiológico de ratas en crecimiento se observó que la ingesta de los animales alimentados con GE de sorgo extrudido fue menor, probablemente debido al efecto de saciedad de la fibra de GE como fue observado en otros estudios. Esto llevó a una menor ganancia de peso de estos animales.

Al estudiar parámetros indicadores de la salud colónica, se observó que el consumo de alimentos a base de SBE y SRE redujo el pH cecal, lo cual puede ser atribuido a la fermentación de la fibra de los GE con la consecuente producción de AGCC. Las actividades de  $\beta$ -Glucosidasa y  $\beta$ -Glucuronidasa fueron menores que en el C, particularmente en SRE. Además, la dieta con SRE aumentó el contenido de sIgA en relación al C. Todo esto manifiesta el efecto beneficioso a nivel intestinal del consumo de GE de sorgo, siendo más marcado en los animales que consumieron SRE. Los estudios inmunohistoquímicos en el

colon indicaron que el SRE indujo una disminución de la proliferación de colonocitos a nivel proximal, pero no pareció afectar a la muerte celular en la mucosa del colon por lo que podría tener efectos protectores contra la tumorigénesis colorrectal. Los resultados con SBE fueron menos claros, en estos aspectos.

Respecto a la actividad antioxidante en colon, las ratas alimentadas con SRE presentaron indicadores de una producción de  $O_2^-$  disminuida o similar al C, sugiriendo que la cantidad que se produce de  $H_2O_2$  sería degradada vía CAT, aumentada a nivel distal. Además, la relación GR/GPx fue 2 veces mayor que el C en colon proximal y distal, indicando un estado reductor. En el caso de los animales alimentados con dieta SBE, se observó un comportamiento similar a la dieta con SRE en lo referente a la producción del  $O_2^-$  y de  $H_2O_2$ . Además, habría un estado reductor, como puede deducirse de la relación GR/GPx, aproximadamente 3 veces mayor que el C en colon proximal y distal. Además, el factor de transcripción Nrf2 aumentó en el colon de los animales alimentados con las dietas de GE de sorgo, esto permitiría inferir que con esas dietas y en esas regiones del colon, sería mayor la expresión de genes de enzimas detoxificantes. En forma general se podría decir que la dieta con SRE manifestó mayores beneficios que con SBE.

En cuanto a los marcadores de estrés oxidativo a nivel hepático, se observó que los animales que consumieron dietas de GE de sorgo no presentaron diferencias significativas de CAT, GPx, GSH, respecto a la dieta C, pero presentaron menor contenido de GSSG y por tanto, mayor relación de GSH/GSSG, lo que indicaría un estado reductor. Tampoco hubo diferencias en cuanto a las actividades de GPx, pero los animales que consumieron la dieta con SRE presentaron mayor nivel de GR hepática. La dieta a base de SRE ejercería un mayor efecto reductor en el estado redox general, dados por la relación GSH/GSSG y la mayor actividad de GR. Esto sería coincidente con el mayor poder reductor encontrado en hígado, aunque no se manifestó en un menor contenido de MDA, inclusive en la dieta a base de SBE el MDA fue mayor al C.

A nivel plasmático el poder reductor fue mayor en las ratas alimentadas con GE de sorgo extrudido, sin embargo, esto no se reflejó en una reducción del MDA plasmático, coincidiendo con lo observado en hígado. Sería posible que la baja biodisponibilidad de los compuestos fenólicos haga que sus principales efectos se vean a nivel colónico, no observándose efectos a nivel sistémico, que dependerían de la absorción de los PF o sus metabolitos activos.

Respecto al perfil lipídico para el contenido de colesterol y TG hepáticos no hubo diferencia significativa entre las ratas alimentadas con sorgo y la dieta C, como tampoco en el colesterol plasmático. Sin embargo, los TG plasmáticos fueron menores en los lotes alimentados con sorgo, particularmente con SRE.

En cuanto a la biodisponibilidad del Ca que tiene en cuenta la absorción y utilización del mineral, si bien la dieta de SRE tuvo menor absorción aparente de Ca y los lotes alimentados con GE de sorgo extrudido presentaron menor ingesta de Ca, esto no impactó de forma negativa en la salud ósea, medidas a través del CMT, la DMT y DM en distintos huesos. Sin embargo, se observaron diferencias con el C en cuanto al contenido de cenizas, materia orgánica y P, lo que implicaría cierto desbalance en el metabolismo de estos minerales. Adicionalmente, el contenido de Ca fue menor en el lote SRE, relacionado con la menor absorción aparente de este mineral. Esto es indicativo de que la biodisponibilidad del Ca sería menor a partir de una dieta con SER.

En términos generales, se observó que la dieta con SRE fue más beneficiosa que el SBE en los distintos aspectos estudiados. Debido a que una de las principales diferencias entre los sorgos es el contenido de PF, se podría adjudicar a éstos el efecto beneficioso o la menor biodisponibilidad del Ca frente al SBE.

**En conclusión, el estudio de las características fisicoquímica y nutricionales permitió por un lado caracterizar cultivares argentinos de sorgo rojo y blanco aptos para el consumo humano. Se definió un indicador de la aptitud para el popeado que será útil en la elección de variedades para obtener “palomitas de sorgo”.**

**Se estudiaron y definieron condiciones de trabajo en tecnologías de expansión como el popeado y la extrusión de granos enteros de sorgo que permitirán obtener alimentos e ingredientes de grano entero aptos para celíacos, con buenas propiedades fisicoquímicas y sensoriales.**

**Los extrudidos manifestaron interesantes propiedades antioxidantes a nivel colónico, principalmente por el consumo de SRE, lo cual se adjudica al mayor contenido de PF.**



## VI. BIBLIOGRAFÍA

**VI. BIBLIOGRAFÍA**

- A.A.C.C. (2006). Approved Methods of the American Association International comments on Part III of the Draft Guidance on Whole Grain Label Statements.
- A.O.A.C. (1993). Method 931-01- Methods of Analysis for Nutrition Labelling. Ed. Sullivan D. M., Carpenter D. E. cap 26, 331-365
- A.O.A.C. (1995). Official Methods of Analysis, (16th ed.), Horowitz, Washigton DC, USA.
- Aaby, K., Ekeberg, D., & Skrede, G. (2007). Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4395-4406.
- Acosta-Sánchez, D. (2003). White food-type sorghum in direct-expansion extrusion applications. Thesis Doctoral, Texas A&M University.
- Adam, A., Levrat-Verny, M. A., Lopez, H. W., Leuillet, M., Demigné, C., & Rémésy, C. (2001). Whole wheat and triticale flours with differing viscosities stimulate cecal fermentations and lower plasma and hepatic lipids in rats. *Journal of Nutrition*, 131(6), 1770-1776.
- Adam, A., Lopez, H. W., Leuillet, M., Demigné, C., & Rémésy, C. (2003). Whole wheat flour exerts cholesterol-lowering in rats in its native form and after use in bread-making. *Food Chemistry*, 80(3), 337-344.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105, 1, 121-126.
- Ahmadi, F., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2007). Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff. in model and food systems. *Food Chemistry*, 105(1), 57-64.
- Albarracín, M. (2014). Desarrollo y evaluación nutricional de alimentos elaborados a base de granos enteros de arroz. Efectos de los procesos de remojo, germinación y extrusión sobre el contenido y disponibilidad de nutrientes. Tesis Doctoral en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Albarracín, M., Weisstaub, A. R., Zuleta, Á., Mandalunis, P., González, R. J., & Drago, S. R. (2014). Effects of extruded whole maize, polydextrose and cellulose as sources of fibre on calcium bioavailability and metabolic parameters of growing Wistar rats. *Food & Function*, 5(4), 804-810.

- Alcolea, A. M. M., Leyva, R. N., García, S. T., Fagundo, D. M., & Leyva, O. (2005). Comportamiento de los índices anatómicos y fisiológicos de tolerancia a la sequía en variedades de sorgo. *Centro Agrícola*, 32(1), 77.
- Alfadda, A. A., & Sallam, R. M. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *BioMed Research International*, 1-14.
- Alía, M., Horcajo, C., Bravo, L., & Goya, L. (2003). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats. *Nutrition Research*, 23(9), 1251-1267.
- Allred-Coyle, A., Ramses, B., Toma, Wendy Reiboldt, & Mani Thakur, T. (2000). Effects of moisture content, hybrid variety, kernel size, and microwave wattage on the expansion volume of microwave popcorn. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(5), 389-394.
- Alonso, R., Rubio, L. A., Muzquiz, M., & Marzo, F. (2001). The effect of extrusion cooking on mineral bioavailability in pea and kidney bean seed meals. *Animal Feed Science and Technology*, 94(1), 1-13.
- Anderson, R., Conway, H., Pfeiffer, V., & Griffin, E. (1969). Gelatinization of corn grits by roll and extrusion-cooking. *Revista Agropecuaria de Tecnología de Alimentos*, 26, 552-564.
- Andersson, A., Tengblad, S., Karlström, B., Kamal-Eldin, A., Landberg, R., Basu, S., Åman, P., & Vessby, B. (2007). Whole-grain foods do not affect insulin sensitivity or markers of lipid peroxidation and inflammation in healthy, moderately overweight subjects. *Journal of Nutrition*, 137(6), 1401-1407.
- ANMAT. 2002. Los alimentos funcionales: ¿Comida que cura? Artículo publicado en "Salud para Todos": N° 110. Argentina. [http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/alimentos\\_funcionales.asp](http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/alimentos_funcionales.asp)
- Antón, A. A., Fulcher, R. G., & Arntfield, S. D. (2009). Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chemistry*, 113(4), 989-996.
- Arkan, M. C., Hevener, A. L., Greten, F. R., Maeda, S., Li, Z. W., Long, J. M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., & Karin, M. (2005). IKK- $\beta$  links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nature Medicine*, 11(2), 191-198.

- Arkhipov, V. I., Heremans, P., Emelianova, E. V., & Baessler, H. (2005). Effect of doping on the density-of-states distribution and carrier hopping in disordered organic semiconductors. *Physical Review*, 71(4), 045214.
- Awadelkareem, A. M., Muralikrishna, G., El Tinay, A. H., & Mustafa, A. I. (2009). Characterization of tannin and study of in vitro protein digestibility and mineral profile of Sudanese and Indian sorghum cultivars. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(4), 469-476.
- Awika, J. M., & Rooney, L. W. (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65(9), 1199-1221.
- Awika, J. M., Dykes, L., Gu, L., Rooney, L. W., & Prior, R. L. (2003b). Processing of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products alters procyanidin oligomer and polymer distribution and content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5516-5521.
- 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. (2003a). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Barberis, N. A., & Sánchez, C. (2013). Informe de cultivo de sorgo: evolución y perspectivas. Un análisis de las estadísticas. *Cartilla Digital Manfredi*, (6).
- Barbosa, K. B. F., Bressan, J., Zulet, M. A., & Martínez, J. A. (2008). Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 31(3), 259-280.
- Bardella, M. T., Fredella, C., Prampolini, L., Molteni, N., Giunta, A. M., & Bianchi, P. A. (2000). Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(4), 937-939.
- Barone, E., Calabrese, V., & Mancuso, C. (2009). Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology*, 10(2), 97-108.
- Bartsch, H., & Nair, J. (2006). Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 391(5), 499-510.

- Batista, J. C. (2010). Buscando aumentar la competitividad del Sorgo Argentino. Nueva norma de Comercialización. IX Congreso Nacional de Maíz y I Simposio Nacional de Sorgo, Rosario.
- Batista, K. A., Prudêncio, S. H., & Fernandes, K. F. (2010). Changes in the Functional Properties and Antinutritional Factors of Extruded Hard-to-Cook Common Beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Journal of Food Science*, 75(3), C286-C290.
- Beattie, R. K., Lee, A. M., Strain, J. J., Fletcher, R. J., & Welch, R. W. (2003). Evaluation of the in vivo antioxidant activity of wheat bran in human subjects. *Proceedings-Nutrition Society of London*, 62, 17A-17A.
- Benzie, I. F., & Wachtel-Galor, S. (2012). Increasing the antioxidant content of food: a personal view on whether this is possible or desirable. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63, 62-70.
- Bielecka, M., Biedrzycka, E., Majkowska, A., Juśkiewicz, J., & Wróblewska, M. (2002). Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. *Food Research International*, 35(2), 139-144.
- Bird, A. R., Vuaran, M. S., King, R. A., Noakes, M., Keogh, J., Morell, M. K., & Topping, D. L. (2008). Wholegrain foods made from a novel high-amylose barley variety (Himalaya 292) improve indices of bowel health in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 99(05), 1032-1040.
- Björck, I., & Asp, N. G. (1983). The effects of extrusion cooking on nutritional value—a literature review. *Journal of Food Engineering*, 2(4), 281-308.
- Björck, I., Asp, N. G., & Dahlqvist, A. (1984). Protein nutritional value of extrusion-cooked wheat flours. *Food Chemistry*, 15(3), 203-214.
- Blaut, M. (2014). Gut microbiota and energy balance: role in obesity. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1-8.
- Booth, V. H. (1971). Problems in the determination of FDNB-available lysine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22(12), 658-666.
- Boren, B., & Waniska, R. D. (1992). Sorghum seed color as an indicator of tannin content. *Journal of Applied Poultry Research*, 1(1), 117-121.
- Bors, W., Michel, C., & Stettmaier, K. (2001). Structure-activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols. *Methods in Enzymology*, 335, 166-180.
- Brady, L. J., Gallaher, D. D., & Busta, F. F. (2000). The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *Journal of Nutrition*, 130(2), 410S-414S.

- Bragachini, M., Casini, C., Saavedra, A., Méndez, J., De Carli, R., Behr, E., Errasquin, L., Ustarroz, F., Bragachini, M., Urrets Zavalía, G., Forquera, E., Alladio, M. (2012). Evolución del Sistema Agropecuario Argentino. Manfredi, Córdoba (AR): Ediciones INTA – PRECOP, 73.
- Bressani, R., & Tuna, E. (1992). Relación entre algunas características físicas de variedades de sorgo (*Sorghum vulgare*) y su capacidad de reventado. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 42(3), 275-82.
- Brouns, F., Theuwissen, E., Adam, A., Bell, M., Berger, A., & Mensink, R. P. (2012). Cholesterol-lowering properties of different pectin types in mildly hypercholesterolemic men and women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(5), 591-599.
- Bu-Abbas, A., Clifford, M. N., Ioannides, C., & Walker, R. (1995). Stimulation of rat hepatic UDP-glucuronosyl transferase activity following treatment with green tea. *Food and Chemical Toxicology*, 33(1), 27-30.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.
- Butler, L. G., Riedl, D. J., Lebryk, D. G., & Blytt, H. J. (1984). Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 916-920.
- C.A.A. (2008). Código Alimentario Argentino. Cap. 17, Artículo 1385 - (Resolución Conjunta SPReI N°95/2008 y SAGPyA N° 358/2008).
- C.A.A. (2008). Código Alimentario Argentino. Cap. 9, Artículo 663bis - (Resolución 4276, 28.12.79).
- Camire, M. E., Camire, A., & Krumhar, K. (1990). Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 29(1), 35-57.
- Campbell, A. K. (2014). *Intracellular Calcium*, 2 Volume Set. John Wiley & Sons.
- Caponio, F., Summo, C., Clodoveo, M. L., & Pasqualone, A. (2008). Evaluation of the nutritional quality of the lipid fraction of gluten-free biscuits. *European Food Research and Technology*, 227(1), 135-139.
- Carlo, G., Izzo, A. A., Maiolino, P., Mascolo, N., Viola, P., Diurno, M. V., & Capasso, F. (1993). Inhibition of Intestinal Motility and Secretion by Flavonoids in Mice and Rats: Structure-activity Relationships. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 45(12), 1054-1059.

- Castelao, J. E., & Gago-Dominguez, M. (2008). Risk factors for cardiovascular disease in women: relationship to lipid peroxidation and oxidative stress. *Medical Hypotheses*, 71(1), 39-44.
- Castro, A., Marrero, L. I., Valdivi , M., Gabel, M., & Steingass, H. (2002). Contenido de factores antinutricionales del grano de sorgo de cuatro variedades cultivadas en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 36(1), 31-35.
- Catassi, C., Kryszak, D., Louis-Jacques, O., Duerksen, D. R., Hill, I., Crowe, S. E., ... & Fasano, A. (2007). Detection of celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. *American Journal of Gastroenterology*, 102(7), 1454-1460.
- Cayuela, M. M. (2010). Estrés oxidativo y mecanismos de defensa antioxidante. En: *Tratado de Nutrición, Tomo I. Bases fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición* (Ed: Gil, A.). 2  Eds. Madrid, España, pp. 457.
- Cermak, R., F llmer, U., & Wolfram, S. (1998). Dietary flavonol quercetin induces chloride secretion in rat colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 275(5), G1166-G1172.
- Ceylan, M., & Karababa, E. (2002). Comparison of sensory properties of popcorn from various types and sizes of kernel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(1), 127-133.
- Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2014). Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proceedings of the Nutrition Society*, 1-9.
- Chan, J. M., Wang, F., & Holly, E. A. (2007). Whole grains and risk of pancreatic cancer in a large population-based case-control study in the San Francisco Bay Area, California. *American Journal of Epidemiology*, 166(10), 1174-1185.
- Chandrashekar, A., & Kirleis, A. W. (1988). Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. *Cereal Chemistry*, 65(6), 457-462.
- Chaudhri, O. B., Field, B. C. T., & Bloom, S. R. (2008). Gastrointestinal satiety signals. *International Journal of Obesity*, 32, S28-S31.
- Cheftel, J. C. (1986). Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food Chemistry*, 20(4), 263-283.
- Chen, H., & Zuo, Y. (2007). Identification of flavonol glycosides in American cranberry fruit. *Food Chemistry*, 101(4), 1357-1364.

- Chessa, A. (2007). La calidad del sorgo como alimento animal. *Agropecuaria*, 1-5.
- Chibber, B. A., Mertz, E. T., & Axtell, J. D. (1980). In vitro digestibility of high-tannin sorghum at different stages of dehulling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(1), 160-161.
- Chiremba, C., Taylor, J. R., Rooney, L. W., & Beta, T. (2012). Phenolic acid content of sorghum and maize cultivars varying in hardness. *Food Chemistry*, 134(1), 81-88.
- Chung, I. M., Kim, E. H., Yeo, M. A., Kim, S. J., Seo, M. C., & Moon, H. I. (2011). Antidiabetic effects of three Korean sorghum phenolic extracts in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Research International*, 44(1), 127-132.
- Chung, J. S., Bachvaroff, T. R., Trant, J., & Place, A. (2012). A second copper zinc superoxide dismutase (CuZnSOD) in the blue crab *Callinectes sapidus*: Cloning and up-regulated expression in the hemocytes after immune challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(1), 16-25.
- Cian, R., Drago, S. & González, R. (2011). Propiedades antioxidantes e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) de fracciones ultrafiltradas de hidrolizados de hemoglobina bovina. *INNOTEC*, 6, 42-46.
- Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2012). Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(10), 1767-1777.
- Cisneros Prego, E. (1995). La glutatión reductasa y su importancia biomédica. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1).
- Cleveland, L. E., Moshfegh, A. J., Albertson, A. M., & Goldman, J. D. (2000). Dietary intake of whole grains. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(3), 331S-338S.
- Clifford, M. N. (2000). Miscellaneous phenols in foods and beverages—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1126-1137.
- CODEX (2012). Documento de debate sobre la presencia de hongos y micotoxinas en el sorgo. Maastricht, Países Bajos: Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del CODEX sobre contaminantes de los alimentos.
- CODEX. (2006). Request for comments on the draft action plan for the implementation of the Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health, 2006/44.CAC CL, 3.
- Collar, C. (2007). Cereales menores: avena, sorgo, mijo. En: *De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. León, A. E., Rosell, C. M., Gómez Pallarés, M., Brites, C., Haros, M., Trigo, M. J., ... & Benedito, C. (Ed: Báez, H:). 1º Eds. Córdoba, Argentina, pp. 195-241.



- Coniglio, R. I., Nellem, J., Gentili, R., Sibechi, N., Agusti, E., & Torres, M. (2009). Síndrome Metabólico en empleados en la Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*, 69(2), 246-252.
- Costabile, A., Klinder, A., Fava, F., Napolitano, A., Fogliano, V., Leonard, C., Gibson, G. L., & Tuohy, K. M. (2008). Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *British Journal of Nutrition*, 99(01), 110-120.
- Coudray, C., Bellanger, J., Castiglia-Delavaud, C., Remesy, C., Vermorel, M., & Rayssiguier, Y. (1997). Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51(6), 375-380.
- Coudray, C., Levrat-Verny, M. A., Tressol, J. C., Feillet-Coudray, C., Horcajada-Molteni, N. M., Demigné, C., ... & Rémésy, C. (2001). Mineral supplementation of white wheat flour is necessary to maintain adequate mineral status and bone characteristics in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 15(2), 131-137.
- Coudray, C., Tressol, J. C., Gueux, E., & Rayssiguier, Y. (2003). Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *European Journal of Nutrition*, 42(2), 91-98.
- Csordas, A. (1996). Butyrate, aspirin and colorectal cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, 5(4), 221-231.
- Cummings, J. H., & Macfarlane, G. T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Bacteriology*, 70(6), 443-459.
- Cummings, J. H., & Macfarlane, G. T. (1997). Collaborative JPEN-Clinical Nutrition Scientific Publications Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 21(6), 357-365.
- Cummings, J. H., & Macfarlane, G. T. (2002). Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S145-S151.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- D'Archivio, M., Filesi, C., Vari, R., Sczzocchio, B., & Masella, R. (2010). Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1321-1342.

- Da Costa, L. A., García-Bailo, B., Badawi, A., & El-Soheby, A. (2011). Genetic determinants of dietary antioxidant status. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 108, 179-200.
- Da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Junior, S. B., Augusto, F., & Junior, M. R. M. (2014). Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel increases colonic production of short-chain fatty acids in Wistar rats. *LWT-Food Science and Technology*, 59(2), 1252-1257.
- Dani, C., Oliboni, L. S., Pasquali, M. A., Oliveira, M. R., Umezu, F. M., Salvador, M., ... & Henriques, J. A. (2008). Intake of purple grape juice as a hepatoprotective agent in Wistar rats. *Journal of Medicinal Food*, 11(1), 127-132.
- De Dios, C. A., Robutti, J. L., & Puig, R. C. (1992). Tipificación de maíces por algunos caracteres de sus granos. Informe Técnico N° 265. Estación Experimental Agropecuaria. INTA, 12.
- De la Gueriviere, J. F., Mercier, C., & Baudet, L. (1985). Incidences de la cuisson-extrusion sur certains paramètres nutritionnels de produits alimentaires notamment céréaliers. *Cahiers de Nutrition et de Dietetique*, 20(3), 201-210.
- Del Río, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14), 1818-1892.
- Dell'Agli, M., Buscialà, A., & Bosisio, E. (2004). Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Research*, 63(4), 593-602.
- Déprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapierre, C., & Scalbert, A. (2000). Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *Journal of Nutrition*, 130(11), 2733-2738.
- Deshpande, S. S., & Damodaran, S. (1989). Structure-Digestibility Relationship of Legume 7S Proteins. *Journal of Food Science*, 54(1), 108-113.
- Devi, P. S., Kumar, M. S., & Das, S. M. (2011). Evaluation of antiproliferative activity of red sorghum bran anthocyanin on a human breast cancer cell line (mcf-7). *International Journal of Breast Cancer*, 2011, 1-6.
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., van Berkel, W. J., & Voragen, A. G. (2005). Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2581-2588.

- Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G., & Van Berkel, W. J. (2006). Review: Phenolic Compounds and Related Enzymes as Determinants of Sorghum for Food Use. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 1, 21-38.
- Dofing, S. M., ĎCroz-Mason, N., & Thomas-Compton, M. A. (1991). Inheritance of Expansion Volume and Yield in Two Popcorn Dent Corn Crosses. *Crop Science*, 31(3), 715-718.
- Dofing, S. M., Thomas-Compton, M. A., & Buck, J. S. (1990). Genotype  $\times$  Popping Method Interaction for Expansion Volume in Popcorn. *Crop Science*, 30(1), 62-65.
- Drago, S. R., González, R. J., Chel-Guerrero, L., & Valencia, M. E. (2007b). Evaluación de la disponibilidad de minerales en harinas de frijol y en mezclas de maíz/frijol extrudidas. *Información Tecnológica*, 18(1), 41-46.
- Drago, S. R., Velasco-González, O. H., Torres, R. L., Gonzalez, R. J., & Valencia, M. E. (2007a). Effect of the extrusion on functional properties and mineral dialyzability from *Phaseolus vulgaris* bean flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(2), 43-48.
- Drago, S., Lassa, M. S., A., Torres, R., De Greef, M., & González, R. (2011). Use of soybean in cereal based food formulation and development of nutritionally improved foods. En: *Soybean and Nutrition / Book 5*, ISBN 978-953-307-536-5., INTECH open access Publishers. University Campus, STeP Ri, Slavka Krautzeka 83/A, 51000 Rijeka, Croatia, 22 paginas. Ed. Hany A. El-Shemy, 3, pp. 45-66.
- Drago, S., Zuleta, A., De Greef, M., Torres, R., González, R., Chel Guerrero, L., & Betancur Ancona, D. (2010). Disponibilidad de minerales de extrudidos elaborados con granos enteros de maíz y/o leguminosa (*Phaseolus vulgaris*). En: *Utilización de recursos naturales tropicales para el desarrollo de alimentos*. Betancur Ancona, D.A., Chel, L.A., & Guerrero, A.F. (Ed: Castellanos Ruelas). Eds. Universidad Autónoma de Yucatán, Publisher, Mérida, pp. 208–223.
- Duodu, K. G., Tang, H., Grant, A., Wellner, N., Belton, P. S., & Taylor, J. R. N. (2001). FTIR and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy of proteins of wet cooked and popped sorghum and maize. *Journal of Cereal Science*, 33(3), 261-269.
- Ďuračková, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research*, 59, 459-469.
- Dykes, L., & Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 44(3), 236-251.

- Earp, C. F., McDonough, C. M., Awika, J., & Rooney, L. W. (2004). Testa development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 303-311.
- Ebadi, M. R., Pourreza, J., Jamalian, J., Edriss, M. A., Samie, A. H., & Mirhadi, S. A. (2005). Amino acid content and availability in low, medium and high tannin sorghum grain for poultry. *International Journal of Poultry Science*, 4(1), 27-31.
- Echeverri, R., Nancy, P., & Mockus, S. (2008). Factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B): signalosoma y su importancia en enfermedades inflamatorias y cáncer. *Revista Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, 56(2), 133-146.
- Eggum, B. O., Juliano, B. O., Ibabao, M. G. B., & Perez, C. M. (1986). Effect of extrusion cooking on nutritional value of rice flour. *Food Chemistry*, 19(3), 235-240.
- El-Hady, E. A., & Habiba, R. A. (2003). Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 36(3), 285-293.
- Emmambux, N. M., & Taylor, J. (2003). Sorghum kafirin interaction with various phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 402-407.
- Enríquez, A. M. (2004). *Extrusión en la industria alimentaria*. La Habana, Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia.
- Eshak, E. S., Iso, H., Date, C., Kikuchi, S., Watanabe, Y., Wada, Y., Wakai, K., & Tamakoshi, A. (2010). Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women. *Journal of Nutrition*, 1-10.
- Eyherabide, G. H., Robutti, J. L., & Borrás, F. S. (1996). Effect of near-infrared transmission-based selection on maize hardness and the composition of zeins. *Cereal Chemistry*, 73(6), 775-778.
- Fagarasan, S., Kawamoto, S., Kanagawa, O., & Suzuki, K. (2009). Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent sIgA synthesis. *Annual Review of Immunology*, 28, 243-273.
- FAO (Food and Agricultural Organization). (1995). *Sorghum and millets*. EIn: The Chief. Human nutrition. 415 FAO Food and Nutrition Series No. 27. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/docrep/t0818e/t0818e00.htm>

- Fardet, A. (2010). New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutrition Research Reviews*, 23(01), 65-134.
- Fardet, A., Canlet, C., Gottardi, G., Lyan, B., Llorach, R., Rémésy, C., Alain, A., Paris A., & Scalbert, A. (2007). Whole-grain and refined wheat flours show distinct metabolic profiles in rats as assessed by a <sup>1</sup>H NMR-based metabonomic approach. *Journal of Nutrition*, 137(4), 923-929.
- Fardet, A., Leenhardt, F., Lioger, D., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2006). Parameters controlling the glycaemic response to breads. *Nutrition Research Reviews*, 19(01), 18-25.
- Fardet, A., Rock, E., & Rémésy, C. (2008). Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo?. *Journal of Cereal Science*, 48(2), 258-276.
- Fardet, L., Petersen, I., & Nazareth, I. (2012). Risk of cardiovascular events in people prescribed glucocorticoids with iatrogenic Cushing's syndrome: cohort study. *BMJ*, 345, 1-13.
- Farmer, A. D., Mohammed, S. D., Dukes, G. E., Scott, S. M., & Hobson, A. R. (2014). Caecal pH is a biomarker of excessive colonic fermentation. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(17), 5000.
- Fenercioglu, A. K., Saler, T., Genc, E., Sabuncu, H., & Altuntas, Y. (2010). The effects of polyphenol-containing antioxidants on oxidative stress and lipid peroxidation in Type 2 diabetes mellitus without complications. *Journal of Endocrinological Investigation*, 33(2), 118-124.
- Ferrante, D., Linetzky, B., Konfino, J., King, A., Virgolini, M., & Laspiur, S. (2011). Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2009: evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal. *Revista Argentina de Salud Pública*, 2(6), 34-41.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497-509.
- Ford, E. S., Mokdad, A. H., Giles, W. H., & Brown, D. W. (2003). The metabolic syndrome and antioxidant concentrations findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes*, 52(9), 2346-2352.

- Frei, B., & Higdon, J. V. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *Journal of Nutrition*, 133(10), 3275S-3284S.
- Fretzdorff, B., & Weipert, D. (1986). Phytic acid and cereals and cereal products. I: Phytic acid and phytase in rye and rye products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 182(4), 287-293.
- Fuhrman, B., & Aviram, M. (2001). Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Current Opinion in Lipidology*, 12(1), 41-48.
- Galili, O., Versari, D., Sattler, K. J., Olson, M. L., Mannheim, D., McConnell, J. P., Chade, L., & Lerman, A. (2007). Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 292(2), H904-H911.
- Gardner, P. T., White, T. A., McPhail, D. B., & Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68(4), 471-474.
- Gil, A. (2010). Composición y calidad nutritiva de los alimentos. En: *Tratado de nutrición*. Tomo II. 2º Eds. Médica Panamericana. Madrid, España.
- Giné-Bordonaba, J. G., Crespo, P., & Terry, L. A. (2011). A new acetonitrile-free mobile phase for HPLC-DAD determination of individual anthocyanins in blackcurrant and strawberry fruits: A comparison and validation study. *Food Chemistry*, 129(3), 1265-1273.
- Gökmen, S. (2004). Effects of moisture content and popping method on popping characteristics of popcorn. *Journal of Food Engineering*, 65(3), 357-362.
- Gómez-Cordoves, C., Bartolome, B., Vieira, W., & Virador, V. M. (2001). Effects of wine phenolics and sorghum tannins on tyrosinase activity and growth of melanoma cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1620-1624.
- Gomori, G. (1942). A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with the photoelectric colorimeter. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 27(955), 1941-42.
- Goñi, I., Jiménez-Escrig, A., Gudiel, M., & Saura-Calixto, F. D. (2005). Artichoke (*Cynara scolymus* L) modifies bacterial enzymatic activities and antioxidant status in rat cecum. *Nutrition Research*, 25(6), 607-615.
- González, R. J., Drago, S. R., Torres, R. L., De Greef, D. M. (2013). Extrusion Cooking of Cereal Based Products. En: *Engineering Aspects of Cereal and Cereal-Based Products*

- Series: Contemporary Food Engineering. Eds. Raquel de Pinho Ferreira Guine, Paula Maria dos Reis Correia. Cap. 12, pp. 269-291.
- González, R. J., De Greef, D. M., Torres, R. L., Borrás, F. S., & Robutti, J. (2004). Effects of endosperm hardness and extrusion temperature on properties of products obtained with grits from two commercial maize cultivars. *LWT-Food Science and Technology*, 37(2), 193-198.
- González, R. J., Greef, D. M. D., Torres, R. L., & Gordo, N. A. (1987a). Efectos de algunas variables de extrusión sobre la harina de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 37(3), 578-92.
- González, R. J., Remondetto, G. E., Coutaz, R., Santiago, L. G., & Bonaldo, A. G. (1995). Efectos de variables del proceso en planta piloto sobre algunas propiedades de aislados proteicos de soja. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 35(1), 77-91.
- González, R. J., Torres, R. L., & De Greef, D. M. (2002a). Extrusión-Cocción de cereales. *Boletín da Sociedade Brasileira de Ciencia e Tecnología de Alimentos (sbCTA)*, 36(2), 83-136.
- González, R. J., Torres, R. L., De Greef, D. M., Tosi, E., & Re, E. (2002b). Effects of popping and extrusion processes on some hydration properties of amaranth. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 19(4), 391-395.
- González, R. J., Torres, R., De Greef, D. M., & Gordo, N. A. (1986). Evaluación de almidón de maíz precocido por extrusión-cocción. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 26(4), 552-564.
- González, R. J., Torres, R., De Greef, D. M., & Gordo, N. A. (1987b). Aplicación del método de la superficie de respuesta al estudio de la extrusión-cocción de sémola de maíz. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 27(2), 251-260.
- Gorbach, S. L., & Goldin, B. R. (1990). The Intestinal Microflora and the Colon Cancer Connection. *Review of Infectious Diseases*, 12(2), S252-S261.
- Granfeldt, Y., Hagander, B., & Björck, I. (1995). Metabolic responses to starch in oat and wheat products. On the importance of food structure, incomplete gelatinization or presence of viscous dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(3), 189-199.
- Groeger, G., Quiney, C., & Cotter, T. G. (2009). Hydrogen peroxide as a cell-survival signaling molecule. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(11), 2655-2671.

- Grotto, D., Maria, L. S., Valentini, J., Paniz, C., Schmitt, G., Garcia, S. C., ... & Farina, M. (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quimica Nova*, 32(1), 169-174.
- Gudiel-Urbano, M., & Goñi, I. (2002). Effect of edible seaweeds (*Undaria pinnatifida* and *Porphyra tenera*) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats. *Nutrition Research*, 22(3), 323-331.
- Guérin-Deremaux, L., Pochat, M., Reifer, C., Wils, D., Cho, S., & Miller, L. E. (2011). The soluble fiber NUTRIOSE induces a dose-dependent beneficial impact on satiety over time in humans. *Nutrition Research*, 31(9), 665-672.
- Guha, M., & Mackman, N. (2001). LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cellular Signalling*, 13(2), 85-94.
- Gupta, A., Srivastava, R., & Srivastava, S. (1995). Effect of storage conditions on popping quality of sorghum. *Journal of Food Science and Technology*, 32(3), 211-212.
- Gupta, H. O., Chatterjee, S. R., & Singh, J. (1986). Effect of popping and boiling on protein quality of maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of Food Science and Technology*, 23(1), 59-60.
- Guy, R. (2001). *Extrusión de los alimentos: tecnologías y aplicaciones*. Eds. Acribia, Zaragoza.
- Hahn, D. H., Faubion, J. M., & Rooney, L. W. (1983). Sorghum phenolic acids, their high performance liquid chromatography separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chemistry*, 60(4), 255-259.
- Hahn, D. H., Rooney, L. W., & Earp, C. F. (1984). Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World*, 29, 776-779.
- Haller, A. D. (2008). *Evaluación de las condiciones de extrusión necesarias para elaborar harina de maíz con características similares a las de una harina nixtamalizada*. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Hallert, C., Grant, C., Grehn, S., Grännö, C., Hultén, S., Midhagen, G., ... & Valdimarsson, T. (2002). Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16(7), 1333-1339.
- Hallgren, L., & Murty, D. S. (1983). A screening test for grain hardness in sorghum employing density grading in sodium nitrate solution. *Journal of Cereal Science*, 1(4), 265-274.



- Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2), 231-255.
- Harnack, L., Walters, S. A. H., & Jacobs, D. R. (2003). Dietary intake and food sources of whole grains among US children and adolescents: data from the 1994-1996 Continuing Survey of Food Intakes by Individuals. *Journal of the American Dietetic Association*, 103(8), 1015-1019.
- Harper J. M. (1989). Food extruders and their applications. En: *Extrusion cooking*. C. Mercier, P. Linko, J.M. Harper. Eds. American Association of Cereal Chemists, St. Paul. Minnesota, Cap. 10, pp. 321-342.
- Harper JM. (1981). *Extrusion Food*. CRC. Press. Boca Ratón, Florida. 127-163.
- Harper, J. M. (1992). A comparative analysis of single and twin-screw extruders. *Food Extrusion Science and Technology*, 139-148.
- Hartley, L., May, M. D., & Rees, K. (2015). Dietary fibre for the primary prevention of cardiovascular disease. *The Cochrane Library*.
- Haight, C. G., Lien, R. M., Hanes, R. E., & Ashman, R. B. (1976). Physical Properties of Popcorn. *TASAE*, 19, 168.
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2008). Shared principles in NF- $\kappa$ B signaling. *Cell*, 132(3), 344-362.
- Hazell, T., & Johnson, I. T. (1987). Effects of food processing and fruit juices on in-vitro estimated iron availability from cereals, vegetables and fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38(1), 73-82.
- He, A., Liu, X., Liu, L., Chang, Y., & Fang, F. (2007). How many signals impinge on GLUT4 activation by insulin? *Cellular Signalling*, 19(1), 1-7.
- Heaney, R. P., Shils, M. E., Olson, J. A., & Ross, A. C. (2002). Características biológicas del hueso en la salud y la enfermedad. *Nutrición en Salud y Enfermedad*. México, Interamericana, 1533-1546.
- Hemalatha, S., Platel, K., & Srinivasan, K. (2007). Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India. *Food Chemistry*, 102(4), 1328-1336.
- Hernández, M., Vega, A., & Sotelo, A. (1984). Determinacion de la digestibilidad proteínica in vitro e in vivo en cereales y leguminosas, crudos y cocidos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 34(3), 513-22.

- Hernanz, D., Recamales, Á. F., Meléndez-Martínez, A. J., González-Miret, M. L., & Heredia, F. J. (2007). Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) grown in two different soilless systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 1846-1852.
- Hervert-Hernández, D., & Goni, I. (2011). Dietary polyphenols and human gut microbiota: a review. *Food Reviews International*, 27(2), 154-169.
- Hicks, J. J., Torres-Ramos, Y. D., & Sierra-Vargas, M. P. (2006). Estrés oxidante, concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 14(4), 223-226.
- Higdon, J. V., & Frei, B. (2003). Obesity and oxidative stress a direct link to CVD? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(3), 365-367.
- Hissin, P. J., & Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74(1), 214-226.
- Hoke, K., Housova, J., & Houska, M. (2005). Optimum conditions of rice puffing. *Czech Journal of Food Science*, 23, 1-11.
- Holm, J., Björck, I., Drews, A., & Asp, N. G. (1986). A rapid method for the analysis of starch. *Starch-Stärke*, 38(7), 224-226.
- Holmes, E., Li, J. V., Athanasiou, T., Ashrafian, H., & Nicholson, J. K. (2011). Understanding the role of gut microbiome–host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends in Microbiology*, 19(7), 349-359.
- Hopman, E. G., le Cessie, S., Von Blomberg, B. M. E., & Mearin, M. L. (2006). Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in The Netherlands. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 43(1), 102-108.
- Horn, H. D. (1982). Glutathione reductase. En: *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer, H.U. Eds. Weinheim, Germany, Verlag Chemie.
- Hoseney, R. C. (1991). *Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales*. Eds. Acribia. S.A, pp. 21, 25, 148, 269-271.
- Hoseney, R. C. (1994). *Principles of cereal science and technology* (No. Ed: 2). American Association of Cereal Chemists (A.A.C.C.).
- Hoseney, R. C., Zeleznak, K., & Abdelrahman, A. (1983). Mechanism of popcorn popping. *Journal of Cereal Science*, 1(1), 43-52.
- Howlett, J. F., Betteridge, V. A., Champ, M., Craig, S. A., Meheust, A., & Jones, J. M. (2010). The definition of dietary fiber—discussions at the Ninth Vahouny Fiber Symposium: building scientific agreement. *Food & Nutrition Research*, 54, 1-5.

- Hulse, J. H., Laing, E. M., & Pearson, O. E. (1980). Sorghum and the millets: their composition and nutritive value. Academic Press, 997.
- INTA. (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). (2013). Investigación de Sorgo Granífero en la EEA Las Breñas. Buenos Aires, Argentina. <http://inta.gob.ar/documentos/trabajo-de-investigacion-de-sorgo-granifero-en-la-eea-las-brenas/>
- Jambunathan, R., Kherdekar, M. S., & Stenhouse, J. W. (1992). Sorghum grain hardness and its relationship to mold susceptibility and mold resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(8), 1403-1408.
- Janero, D. R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(6), 515-540.
- Jensen, M. K., Koh-Banerjee, P., Franz, M., Sampson, L., Grønbaek, M., & Rimm, E. B. (2006). Whole grains, bran, and germ in relation to homocysteine and markers of glycemic control, lipids, and inflammation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(2), 275-283.
- Johansson-Persson, A., Ulmius, M., Cloetens, L., Karhu, T., Herzig, K. H., & Önning, G. (2014). A high intake of dietary fiber influences C-reactive protein and fibrinogen, but not glucose and lipid metabolism, in mildly hypercholesterolemic subjects. *European Journal of Nutrition*, 53(1), 39-48.
- Jones, J. M. (2010). *Dietary Fibre 's Co-Passengers: Is It the Fibre or the Co-Passengers* Wageningen Academic Publishers: Wageningen, The Netherlands, pp. 365-378.
- Jonnalagadda, S. S., Harnack, L., Liu, R. H., McKeown, N., Seal, C., Liu, S., & Fahey, G. C. (2011). Putting the whole grain puzzle together: Health benefits associated with whole grains—summary of American Society for Nutrition 2010 Satellite Symposium. *Journal of Nutrition*, 141(5), 1011S-1022S.
- Joshi, N. D., Mohapatra, D., & Joshi, D. C. (2014). Varietal selection of some indica rice for production of puffed rice. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 299-305.
- Jurgonski, A., Juskiewicz, J., & Zdunczyk, Z. (2008). Comparative effects of different dietary levels of cellulose and fructooligosaccharides on fermentative processes in the caecum of rats. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 17(1), 88.

- Juskiewicz, J., Zdunczyk, Z., Wróblewska, M., Oszmianski, J., & Hernandez, T. (2002). The response of rats to feeding with diets containing grapefruit flavonoid extract. *Food Research International*, 35(2), 201-205.
- Justil, H., Arroyo, J., & Valencia, J. (2010). Extracto etanólico de *Baccharis genistelloides* (carqueja) sobre el cáncer de colon inducido con 1, 2-dimetilhidrazina en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(2), 88-96
- Kaczmarczyk, M. M., Miller, M. J., & Freund, G. G. (2012). The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism*, 61(8), 1058-1066.
- Kawabata, K., Yamamoto, T., Hara, A., Shimizu, M., Yamada, Y., Matsunaga, K., ... & Mori, H. (2000). Modifying effects of ferulic acid on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Cancer Letters*, 157(1), 15-21.
- Khan, S. R. (2012). Is oxidative stress, a link between nephrolithiasis and obesity, hypertension, diabetes, chronic kidney disease, metabolic syndrome? *Urological Research*, 40(2), 95-112.
- Kim, J., & Park, Y. (2012). Anti-diabetic effect of sorghum extract on hepatic gluconeogenesis of King, J. C., Donangelo, C. M., Woodhouse, L. R., Mertz, S. D., Shames, D. M., Viteri, F. E., ... & Welch, R. M. (2000). Measuring iron and zinc bioavailability in humans. *Food & Nutrition Bulletin*, 21(4), 434-439.
- Kim, J., Hyun, T. K., & Kim, M. (2010). Anti-oxidative activities of sorghum, foxtail millet and proso millet extracts. *African Journal of Biotechnology*, 9(18), 2683-2690.
- King, J. C., Donangelo, C. M., Woodhouse, L. R., Mertz, S. D., Shames, D. M., Viteri, F. E., ... & Welch, R. M. (2000). Measuring iron and zinc bioavailability in humans. *Food & Nutrition Bulletin*, 21(4), 434-439.
- Kloots, W., Op den Kamp, D., & Abrahamse, L. (2004). In vitro iron availability from iron-fortified whole-grain wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8132-8136.
- Koh-Banerjee, P., Franz, M., Sampson, L., Liu, S., Jacobs, D. R., Spiegelman, D., Willett, W., & Rimm, E. (2004). Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1237-1245.
- Kokini, J. L., Chang, C. N., & Lai, L. S. (1992). The role of rheological properties on extrudate expansion. *Food Extrusion Science and Technology*, 740, 631-652.

- Konstance, R. P., Onwulata, C. I., Smith, P. W., Lu, D., Tunick, M. H., Strange, E. D., & Holsinger, V. H. (1998). Nutrient-based Corn and Soy Products by Twin-screw Extrusion. *Journal of Food Science*, 63(5), 864-868.
- Kosmala, M., Zduńczyk, Z., Kołodziejczyk, K., Klimczak, E., Juśkiewicz, J., & Zduńczyk, P. (2014). Chemical composition of polyphenols extracted from strawberry pomace and their effect on physiological properties of diets supplemented with different types of dietary fibre in rats. *European Journal of Nutrition*, 53(2), 521-532.
- Kristensen, M., & Jensen, M. G. (2011). Dietary fibres in the regulation of appetite and food intake. Importance of viscosity. *Appetite*, 56(1), 65-70.
- Lai, L. S., & Kokini, J. L. (1991). Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion. (A review). *Biotechnology Progress*, 7(3), 251-266.
- Lam, T. B. T., Iiyama, K., & Stone, B. A. (1992). Cinnamic acid bridges between cell wall polymers in wheat and phalaris internodes. *Phytochemistry*, 31(4), 1179-1183.
- Landete, J. M. (2012). Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(10), 936-948.
- Langkamp-Henken, B., Nieves, C., Culpepper, T., Radford, A., Girard, S. A., Hughes, C., ... & Thielecke, F. (2012). Fecal lactic acid bacteria increased in adolescents randomized to whole-grain but not refined-grain foods, whereas inflammatory cytokine production decreased equally with both interventions. *Journal of Nutrition*, 142(11), 2025-2032.
- Larsson, S. C., Giovannucci, E., Bergkvist, L., & Wolk, A. (2005). Whole grain consumption and risk of colorectal cancer: a population-based cohort of 60 000 women. *British Journal of Cancer*, 92(9), 1803-1807.
- Lassa, M. S. (2008). Evaluación de las Propiedades Físicas y Disponibilidad de Minerales de Expandidos Fortificados, Elaborados en Base a Maíz y Soja. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Lattimer, J. M., & Haub, M. D. (2010). Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2(12), 1266-1289.
- Le Francois, P. (1988). Phytic acid and zinc contents of cereal products: relation to the manufacturing process: 2. Zinc. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1(2), 146-151.

- Lee, A. R., Ng, D. L., Zivin, J., & Green, P. H. R. (2007). Economic burden of a gluten-free diet. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 20(5), 423-430.
- Lepes, I. T., Miotto, R. N., Cedro, A. V. C., & Rüegg, O. E. (1976). Test de flotación con maíces duros argentinos. In Congreso Nacional de Maíz. Pergamino. Buenos Aires. IDIA, 32, 287-291.
- Lewis, S., Bolton, C., & Heaton, K. (1996). Lack of influence of intestinal transit on oxidative status in premenopausal women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50(8), 565-568.
- Lhoste, E. F., Nugon-Baudon, L., Lory, S., Meslin, J. C., & Andrieux, C. (2001). The fermentation of lactulose in rats inoculated with *Clostridium paraputrificum* influences the activities of liver and intestinal xenobiotic-metabolising enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(14), 1397-1404.
- Li, S. C., Chou, T. C., & Shih, C. K. (2011). Effects of brown rice, rice bran, and polished rice on colon carcinogenesis in rats. *Food Research International*, 44(1), 209-216.
- Li, S., Yan, T., Yang, J. Q., Oberley, T. D., & Oberley, L. W. (2000). The role of cellular glutathione peroxidase redox regulation in the suppression of tumor cell growth by manganese superoxide dismutase. *Cancer Research*, 60(14), 3927-3939.
- Liljeberg, H., Granfeldt, Y., & Björck, I. (1992). Metabolic responses to starch in bread containing intact kernels versus milled flour. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46(8), 561-575.
- Lima, G. P. P., Vianello, F., Corrêa, C. R., da Silva Campos, R. A., & Borguini, M. G. (2014). Polyphenols in fruits and vegetables and its effect on human health. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1065-1082.
- Lin, Y. E., & Anantheswaran, R. C. (1988). Studies on popping of popcorn in a microwave oven. *Journal of Food Science*, 53(6), 1746-1749.
- Lin, Y. L., Cheng, C. Y., Lin, Y. P., Lau, Y. W., Juan, I. M., & Lin, J. K. (1998). Hypolipidemic effect of green tea leaves through induction of antioxidant and phase II enzymes including superoxide dismutase, catalase, and glutathione S-transferase in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1893-1899.
- Linko, P., Colonna, P., & Mercier, C. (1981). High-temperature, short-time extrusion cooking [Cereal products]. *Advances in Cereal Science and Technology*, 4, 145.
- Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219.

- Llopart, E. E., Drago, S. R., De Greef, D. M., Torres, R. L., & González, R. J. (2014). Effects of extrusion conditions on physical and nutritional properties of extruded whole grain red sorghum (*sorghum* spp). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(1), 34-41.
- Lopes da Silva, F. L., Escribano-Bailón, M. T., Alonso, J. J. P., Rivas-Gonzalo, J. C., & Santos-Buelga, C. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2), 374-382.
- López, H. W., Coudray, C., Levrat-Verny, M. A., Feillet-Coudray, C., Demigné, C., & Rémésy, C. (2000). Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11(10), 500-508.
- López, H. W., Levrat-Verny, M. A., Coudray, C., Besson, C., Krespine, V., Messenger, A., ... & Rémésy, C. (2001). Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *Journal of Nutrition*, 131(4), 1283-1289.
- López-Herradón, A., Lozano, D., Portal-Núñez, S., Ardura, J. A., Gutiérrez-Rojas, I., Maycas, M., ... & Esbrit, P. (2014). Comparación de las acciones osteogénicas de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) en modelos de ratón diabético y con déficit del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I). *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 6(2), 46-56.
- López-Oliva, M. E., Agis-Torres, A., García-Palencia, P., Goni, I., & Muñoz-Martínez, E. (2006). Induction of epithelial hypoplasia in rat cecal and distal colonic mucosa by grape antioxidant dietary fiber. *Nutrition Research*, 26(12), 651-658.
- López-Oliva, M. E., Agis-Torres, A., Goni, I., & Muñoz-Martínez, E. (2010). Grape antioxidant dietary fibre reduced apoptosis and induced a pro-reducing shift in the glutathione redox state of the rat proximal colonic mucosa. *British Journal of Nutrition*, 103(08), 1110-1117.
- López-Oliva, M. E., Pozuelo, M. J., Rotger, R., Muñoz-Martínez, E., & Goñi, I. (2013). Grape antioxidant dietary fibre prevents mitochondrial apoptotic pathways by enhancing Bcl-2 and Bcl-x L expression and minimising oxidative stress in rat distal colonic mucosa. *British Journal of Nutrition*, 109(01), 4-16.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265-275.

- Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1957-1997.
- Lupton, J. R. (2004). Microbial degradation products influence colon cancer risk: the butyrate controversy. *Journal of Nutrition*, 134(2), 479-482.
- Lupton, J. R. (2012). From basic science to dietary guidance: dietary fiber as an example. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20, 346-349.
- Ma, G., Jin, Y., Piao, J., Kok, F., Guusje, B., & Jacobsen, E. (2005). Phytate, calcium, iron, and zinc contents and their molar ratios in foods commonly consumed in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10285-10290.
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., & Törrönen, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6178-6187.
- Maclean, W. C., López, D. R. G., Gastañaduy, A., & Graham, G. G. (1983). The effect of decortication and extrusion on the digestibility of sorghum by preschool children. *Journal of Nutrition*, 113(10), 2071-2077.
- Macpherson, A. J., McCoy, K. D., Johansen, F. E., & Brandtzaeg, P. (2008). The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunology*, 1(1), 11-22.
- Maestro Fernández, A., Fernández Lombardía, J., Paz Aparicio, A., Rodríguez López, L., García González, P., Fernández Lombardía, M. I., ... & Vigil Castiello, F. J. (2010). Simulación numérica del comportamiento mecánico de la reparación del ligamento cruzado anterior monofascicular y bifascicular con único túnel tibial. *Trauma (Mapfre)*, 21(2), 97-101.
- Maiese, K., Morhan, S. D., & Chong, Z. Z. (2007). Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Current Neurovascular Research*, 4(1), 63.
- Maljaars, P. W. J., Peters, H. P. F., Mela, D. J., & Masclee, A. A. M. (2008). Ileal brake: a sensible food target for appetite control. A review. *Physiology & behavior*, 95(3), 271-281.
- Mallett, A. K., Rowland, I. R., & Bearne, C. A. (1986). Influence of wheat bran on some reductive and hydrolytic activities of the rat cecal flora. *Nutrition and Cancer*, 8(2):125-31.



- Mamiro, P. R. S., Van, J., Mwikya, S. M., & Huyghebaert, A. (2001). In vitro extractability of calcium, iron, and zinc in finger millet and kidney beans during processing. *Journal of Food Science*, 66(9), 1271-1275.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- Mariani, P., Viti, M. G., Montouri, M., La Vecchia, A., Cipolletta, E., Calvani, L., & Bonamico, M. (1998). The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 27(5), 519-523.
- Marks, D. J., Seymour, C. R., Sewell, G. W., Rahman, F. Z., Smith, A. M., McCartney, S. A., & Bloom, S. L. (2010). Inflammatory bowel diseases in patients with adaptive and complement immunodeficiency disorders. *Inflammatory Bowel Diseases*, 16(11), 1984-1992.
- Marteau, P., Pochart, P., Flourie, B., Pellier, P., Santos, L., Desjeux, J. F., & Rambaud, J. C. (1990). Effect of chronic ingestion of a fermented dairy product containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on metabolic activities of the colonic flora in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52(4), 685-688.
- Martín de Portela, M. L., Fernández I., Pallaro A. (2006). Anexo I: Metodología para determinar la calidad proteica. En: *Energía y macronutrientes en la nutrición del siglo XXI*. M. L. P. Martín de Portela. Eds. La prensa médica argentina, pp. 373.
- Martínez Domínguez, B., Ibañez Gomez, M. V., & Rincón León, F. (2002). Acido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52(3), 219-231.
- Martínez, B. F., & Pau, C. L. (1992). Extrusión de sorgo integral y decorticado. *Agronomía Mesoamericana*, 3, 40-44.
- Martínez-Augustín, O., Rivero-Gutiérrez, B., Mascaraque, C., & Sánchez de Medina, F. (2014). Food derived bioactive peptides and intestinal barrier function. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12), 22857-22873.

- Masters, R. C., Liese, A. D., Haffner, S. M., Wagenknecht, L. E., & Hanley, A. J. (2010). Whole and refined grain intakes are related to inflammatory protein concentrations in human plasma. *Journal of Nutrition*, 140(3), 587-594.
- Maxon, E. D., Fryar, W. B., Rooney, L. W., & Krishnaprasad, M. N. (1971). Milling properties of sorghum grain with different proportions of corneous to floury endosperm. *Cereal Chemistry*, 48, 478-489.
- Mbithi-Mwikya, S., Van Camp, J., Yiru, Y., & Huyghebaert, A. (2000). Nutrient and antinutrient changes in finger millet (*Eleusine coracana*) during sprouting. *LWT-Food Science and Technology*, 33(1), 9-14.
- McIntosh, G. H., Noakes, M., Royle, P. J., & Foster, P. R. (2003). Whole-grain rye and wheat foods and markers of bowel health in overweight middle-aged men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(4), 967-974.
- McIntyre, A., Gibson, P. R., & Young, G. P. (1993). Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. *Gut*, 34(3), 386-391.
- McNeil, N. I. (1984). The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *American Journal of Clinical Nutrition*, 39(2), 338-342.
- Mellen, P. B., Walsh, T. F., & Herrington, D. M. (2008). Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 18(4), 283-290.
- Metzger, D. D., Hsu, K. H., Ziegler, K. E., & Bern, C. J. (1989). Effect of moisture content on popcorn popping volume for oil and hot-air popping. *Cereal Chemistry*, 66(3), 247-248.
- Mietus-Snyder, M. L., Shigenaga, M. K., Suh, J. H., Shenvi, S. V., Lal, A., McHugh, T., & Ames, B. N. (2012). A nutrient-dense, high-fiber, fruit-based supplement bar increases HDL cholesterol, particularly large HDL, lowers homocysteine, and raises glutathione in a 2-wk trial. *FASEB Journal*, 26(8), 3515-3527.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., & Kanter, M. (2000). Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(3), 312S-319S.
- Ministerio de Salud. Presidencia de la Nacion. Enfermedad celiaca. <http://www.msal.gov.ar/index.php/component/content/article/48/125-enfermedad-celiaca>

- Mishra, G., Joshib, D. C., & Pandaa, B. K. (2014). Popping and Puffing of Cereal Grains: A Review. *Journal of Grain Processing and Storage*, 1(2), 34-46.
- Mitchell J., & Areas J. (1992). Structural changes in biopolymers during extrusion. *Food Extrusion Science and Technology*. J. L. Kokini, C. T. Ho, M. V. Karwe. Eds. Marcel Dekker, New York, Estados Unidos, pp. 345-360.
- Molnár-Perl, I., & Füzfai, Z. (2005). Chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrochromatographic techniques in the analysis of flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1073(1), 201-227.
- Montiel, M. D., Elizalde, J. C., Santini, F. & Giorda, L. (2011). Características físicas y químicas del grano de sorgo. Relación con la degradación ruminal en bovinos. *Archivos de Zootecnia*, 60, 533-541.
- Murtaugh, M. A., Jacobs, D. R., Jacob, B., Steffen, L. M., & Marquart, L. (2003). Epidemiological support for the protection of whole grains against diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(01), 143-149.
- Murty, D. S., Patil, H. D., Prasada Rao, K. E., & House, L. R. (1982). A note on screening the India sorghum collection for popping quality. *Journal of Food Science and Technology*, 19, 79-80.
- Murugesan, G., & Bhattacharya, K. R. (1991). Basis for varietal difference in popping expansion of rice. *Journal of Cereal Science*, 13(1), 71-83.
- Mwasaru, M. A., Reichert, R. D., & Mukuru, S. Z. (1988). Factors affecting the abrasive dehulling efficiency of high-tannin sorghum. *Cereal Chemistry*, 65(3), 171-174.
- Nakamura, Y., & Sonoyama, K. (2012). Reduced Expression of Polymeric Immunoglobulin Receptors in the Intestine of Young Rats Fed a Fiber-free Diet. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 31(3), 51.
- Natella, F., Nardini, M., Di Felice, M., & Scaccini, C. (1999). Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1453-1459.
- Nath, A., Chattopadhyay, P. K., & Majumdar, G. C. (2007). High temperature short time air puffed ready-to-eat (RTE) potato snacks, process parameter optimization. *Journal of Food Engineering*, 80(3), 770-780.
- Natsume, M., Osakabe, N., Oyama, M., Sasaki, M., Baba, S., Nakamura, Y., Osawa T., & Terao, J. (2003). Structures of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and

- urine after oral ingestion of (-)-epicatechin: differences between human and rat. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(7), 840-849.
- Nelson, N. (1944). A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 153(2), 375-380.
- Nguyen, T. D., Canada, A. T., Heintz, G. G., Gettys, T. W., & Cohn, J. A. (1991). Stimulation of secretion by the T 84 colonic epithelial cell line with dietary flavonols. *Biochemical Pharmacology*, 41(12), 1879-1886.
- Ngwenya, N. R. (2009). Effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of sorghum [*sorghum bicolor* (L.) moench] based foods. Thesis Doctoral, Texas A&M University.
- Nicholls, P. (2012). Classical catalase: ancient and modern. *Archives of biochemistry and biophysics*, 525(2), 95-101.
- Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., & Pettersson, S. (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336(6086), 1262-1267.
- Nie, L., Wise, M., Collins, F. W., & Meydani, M. (2007). Inhibition of colonic cancer cell proliferation and COX2 by oats avenanthramides (Avns). *FASEB Journal*, 21(5), 102.
- Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Antioxidant,  $\alpha$ -Glucosidase and Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Bioactive Compounds From Maize (*Zea mays* L.). *Chemical Biology & Drug Design*, 83(1), 119-125.
- Nilsson, A. C., Östman, E. M., Granfeldt, Y., & Björck, I. M. (2008). Effect of cereal test breakfasts differing in glycemic index and content of indigestible carbohydrates on daylong glucose tolerance in healthy subjects. *The American journal of clinical nutrition*, 87(3), 645-654.
- Nuutila, A. M., Kammiovirta, K., & Oksman-Caldentey, K. M. (2002). Comparison of methods for the hydrolysis of flavonoids and phenolic acids from onion and spinach for HPLC analysis. *Food Chemistry*, 76(4), 519-525.
- Nyman, M., Björck, I., Håkansson, B., & Asp, N. G. (1987). Popping of whole-grain wheat: Effects on dietary fibre degradation in the rat intestinal tract. *Journal of Cereal Science*, 5(1), 67-72.
- Ogrodowska, D., Zadernowski, R., Czaplicki, S., Derewiaka, D., & Wronowska, B. (2014). Amaranth seeds and products—the source of bioactive compounds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(3), 165-170.

- Ohnson, L. A., & Fox, S. R. (1991). Relationships among maize quality factors. *Cereal Chemistry*, 68(6), 602-605.
- Ojeda, A., Frías, A., González, R., Linares, Z., & Pizzani, P. (2010). Contenido de taninos, fósforo fítico y actividad de fitasas en el grano de 12 híbridos de sorgo granífero (*Sorghum bicolor* (L) Moench). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(1), 93.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta*, 25(121), 20-33.
- Oyarzábal Yera, A., Molina Cuevas, V., Jiménez Despaigne, S., Curveco Sánchez, D., & Mas Ferreiro, R. (2010). Efectos del policosanol, el extracto de semillas de uva y su terapia combinada sobre marcadores oxidativos en ratas. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(1), 87-96.
- Padilla, F. C., Rincón, A. M., & Bou-Rached, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(3), 303-308.
- Paglia, D. E., & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
- Pansu D., Bellaton C., Bronner F. (1983) Developmental changes in the mechanisms of duodenal calcium transport in the rat. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 244(1), G20-G26.
- Parfitt, A. M., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., ... & Recker, R. R. (1987). Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2(6), 595-610.
- Parker, M. L., Grant, A., Rigby, N. M., Belton, P. S., & Taylor, J. R. N. (1999). Effects of popping on the endosperm cell walls of sorghum and maize. *Journal of Cereal Science*, 30(3), 209-216.
- Paskerová, H., Hilscherová, K., & Bláha, L. (2012). Oxidative stress and detoxification biomarker responses in aquatic freshwater vertebrates exposed to microcystins and cyanobacterial biomass. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(6), 2024-2037.
- Paturi, G., Butts, C. A., Monro, J. A., Hedderley, D., Stoklosinski, H., Roy, N. C., & Ansell, J. (2012). Evaluation of gastrointestinal transit in rats fed dietary fibres differing in

- their susceptibility to large intestine fermentation. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 107-115.
- Pawar, S. G., Pardeshi, I. L., Borkar, P. A., & Rajput, M. R. (2014). Optimization of process parameters of microwave puffed sorghum based ready-to-eat (RTE) food. *Journal of Ready to Eat Food*, 1(2), 59-68.
- Pedersen, J. F., Milton, T., & Mass, R. A. (2000). A twelve-hour in vitro procedure for sorghum grain feed quality assessment. *Crop science*, 40(1), 204-208.
- Pereira, M. A., O'Reilly, E., Augustsson, K., Fraser, G. E., Goldbourt, U., Heitmann, B. L., Hallmans, G., Knekt, P., Liu S., Pietinen, P., Spiegelman, D., Stevens, J., Virtamo, J., Willett, W. C., & Ascherio, A. (2004). Dietary fiber and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of cohort studies. *Archives of Internal Medicine*, 164(4), 370-376.
- Pérez, A. A., Drago, S. R., Carrara, C. R., De Greef, D. M., Torres, R. L., & González, R. J. (2008). Extrusion cooking of a maize/soybean mixture: Factors affecting expanded product characteristics and flour dispersion viscosity. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 333-340.
- Pérez, A., Saucedo, O., Iglesias, J., Wencomo, H. B., Reyes, F., Oquendo, G., & Milián, I. (2010). Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Pastos y Forrajes*, 33(1), 1-1.
- Pérez-Llamas F., Gil Hernández A., Zamora Navarro, S. (2010). Calcio, fósforo, magnesio y flúor. Metabolismo óseo y su regulación. En: *Tratado de Nutrición, Tomo I. Bases fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. (Ed: Gil, A.). 2º Eds. Madrid, España, pp. 643.
- Pérez-Navarrete, C., Betancur-Ancona, D., Casotto, M., Carmona, A., & Tovar, J. (2007). Efecto de la extrusión sobre la biodisponibilidad de proteína y almidón en mezclas de harinas de maíz y frijol lima. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(3), 278-286.
- Pérez-Navarrete, C., González, R., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2006). Effect of extrusion on nutritional quality of maize and Lima bean flour blends. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2477-2484.
- Perez-Vizcaino, F., Duarte, J., Jimenez, R., Santos-Buelga, C., & Osuna, A. (2009). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. *Pharmacological Reports*, 61(1), 67-75.

- Phutthaphadoong, S., Yamada, Y., Hirata, A., Tomita, H., Hara, A., Limtrakul, P., ... & Mori, H. (2010). Chemopreventive effect of fermented brown rice and rice bran (FBRA) on the inflammation-related colorectal carcinogenesis in ApcMin/+ mice. *Oncology Reports*, 23(1), 53-59.
- Politz, M. L., Timpa, J. D., & Wasserman, B. P. (1994). Quantitative measurement of extrusion-induced starch fragmentation products in maize flour using nonaqueous automated gel-permeation chromatography. *Cereal Chemistry*, 71(6), 532-536.
- Pool-Zobel, B., Van Loo, J., Rowland, I., & Roberfroid, M. B. (2002). Experimental evidences on the potential of prebiotic fructans to reduce the risk of colon cancer. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S273-S281.
- Prizont, R. (1984). Influence of High Dietary Cellulose on Fecal Glycosidases in Experimental Rat Colon Carcinogenesis. *Cancer Research*, 44, 557-561.
- Pylkas, A. M., Juneja, L. R., & Slavin, J. L. (2005). Comparison of different fibers for in vitro production of short chain fatty acids by intestinal microflora. *Journal of Medicinal Food*, 8(1), 113-116.
- Qiu, Y., Liu, Q., & Beta, T. (2010). Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry*, 121(1), 140-147.
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Radhakrishnan, M. R., & Sivaprasad, J. (1980). Tannin content of sorghum varieties and their role in iron bioavailability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(1), 55-57.
- Ragae, S., Abdel-Aal, E. S. M., & Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98(1), 32-38.
- Ramachandra, G., Virupaksha, T. K., & Shadaksharaswamy, M. (1977). Relation between tannin levels and in vitro protein digestibility in finger millet (*Eleusine coracana* Gaertn.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(5), 1101-1104.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Glaser, B. K., & Rao, C. S. (1991). Fecal bulking effect of whole grain flour from selected grains. *Cereal Chemistry*, 68(5), 556-558.
- Rao, D. S., & Deosthale, Y. C. (1980). Effect of pearling on mineral and trace element composition and ionisable iron content of sorghum. *Nutrition Reports International*, 22(5), 723-728.

- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). Purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition purified Ad HOC writing committee on the reformulation of the AIN-79 A rodent diet. *Journal of Nutrition*, 153, 1939-1951.
- Rezar, V., Pajk, T., Marinšek Logar, R., Ješe Janežič, V., Salobir, K., Orešnik, A., & Salobir, J. (2003). Wheat bran and oat bran effectively reduce oxidative stress induced by high-fat diets in pigs. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 47(2), 78-84.
- Richardson, D. P. (2003). Wholegrain health claims in Europe. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(01), 161-169.
- Riedl, K. M., & Hagerman, A. E. (2001). Tannin-protein complexes as radical scavengers and radical sinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4917-4923.
- Roberfroid, M. B. (2000). Defining functional foods. *Functional Foods*, 9.
- Roberfroid, M. B. (2002). Global view on functional foods: European perspectives. *British Journal of Nutrition*, 88(S2), S133-S138.
- Roberfroid, M. B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93(1), 13-26.
- Robutti, J. L. (1995). Maize kernel hardness estimation in breeding by near-infrared transmission analysis. *Cereal Chemistry*, 72(6), 632-636.
- Robutti, J., Borrás, F., Gonzalez, R., Torres, R., & De Greef, D. (2002). Endosperm properties and extrusion cooking behavior of maize cultivars. *LWT-Food Science and Technology*, 35(8), 663-669.
- Rodrigo Sáez, L. (2006). La enfermedad celiaca en el adulto. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98(6), 397-407.
- Rodrigo, M. E., Valdivieso, R., Suárez, S., Oriondo, R., & Oré, R. (2011, January). Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. En: *Anales de la Facultad de Medicina*, 72 (1), pp. 7-11.
- Romanová, D., Grančai, D., Józová, B., Božek, P., & Vachálková, A. (2000). Determination of apigenin in rat plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 870(1), 463-467.
- Rooney, L. W. (2004). *Cereal Grains Lecture*. Cereal Grains. Texas A&M University: College Station.



- Rowland, I. R. (1988). Interactions of the gut microflora and the host in toxicology. *Toxicologic Pathology*, 16(2), 147-153.
- Rowland, I. R., & Tanaka, R. (1993). The effects of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolism in rats associated with a human faecal microflora. *Journal of Applied Bacteriology*, 74(6), 667-674.
- Roy, S. (1985). Protein and Energy Availability of Processed Sorghum Product. Thesis for Doctoral, Andhra Pradesh Agricultural University.
- Rudloff, S., & Lönnerdal, B. (1992). Solubility and digestibility of milk proteins in infant formulas exposed to different heat treatments. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 15(1), 25-33.
- Sahyoun, N. R., Jacques, P. F., Zhang, X. L., Juan, W., & McKeown, N. M. (2006). Whole-grain intake is inversely associated with the metabolic syndrome and mortality in older adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83(1), 124-131.
- Salazar, Z. A. (2000). Calidad industrial del trigo para su comercialización. el trigo de temporal en México. Villaseñor, ME y Espitia, RE. Eds. Campo Experimental Valle de México, INIFAP. Chapingo, Estado de México.
- Sánchez, A., Puche, R., Zeni, S., Oliveri, B., Galich, A. M., Maffei, L., ... & Bregni, C. (2002). Papel del calcio y de la vitamina D en la salud ósea (Parte I). *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*, 11(6), 201-217.
- Sandberg, A. S., & Svanberg, U. (1991). Phytate hydrolysis by phytase in cereals, effects on in vitro estimation of iron availability. *Journal of Food Science*, 56(5), 1330-1333.
- Saravanabavan, S. N., Shivanna, M. M., & Bhattacharya, S. (2013). Effect of popping on sorghum starch digestibility and predicted glycemic index. *Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 387-392.
- Saturni, L., Ferretti, G., & Bacchetti, T. (2010). The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients*, 2(1), 16-34.
- Schatzkin, A., Park, Y., Leitzmann, M. F., Hollenbeck, A. R., & Cross, A. J. (2008). Prospective study of dietary fiber, whole grain foods, and small intestinal cancer. *Gastroenterology*, 135(4), 1163-1167.
- Scholz-Ahrens, K. E., & Schrezenmeir, J. (2007b). Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *Journal of Nutrition*, 137(11), 2513S-2523S.

- Scholz-Ahrens, K. E., Ade, P., Marten, B., Weber, P., Timm, W., Açil, Y., ... & Schrezenmeir, J. (2007a). Prebiotics, probiotics, and synbiotics affect mineral absorption, bone mineral content, and bone structure. *Journal of Nutrition*, 137(3), 838S-846S.
- Schroeter, H., Heiss, C., Balzer, J., Kleinbongard, P., Keen, C. L., Hollenberg, N. K., Sies, H., Kwik-Urbe, C., Schmitz, H. H., & Kelm, M. (2006). (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), 1024-1029.
- SENASA. (2011). SANIDAD VEGETAL. Resolución 554/2011. Norma de Calidad para la Comercialización de Sorgo. Modifíquese la Resolución N° 1075/94.
- Serna-Saldívar, S., & Rooney, L. W. (1995). Structure and chemistry of sorghum and millets. *Sorghum and millets: Chemistry and Technology*, 69-124.
- Serpen, A., Gökmen, V., Pellegrini, N., & Fogliano, V. (2008). Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 816-820.
- Sharma, V., Champawat, P. S., & Mudgal, V. D. (2014). Process development for puffing of Sorghum. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 2(1), 6-170.
- Shewry, P. R., & Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947-958.
- Shi, H., Noguchi, N., & Niki, E. (2001). Flavonoids and other polyphenols. *Methods Enzymol*, 335, 157-166.
- Shiau, S. Y., & Chang, G. W. (1983). Effects of dietary fiber on fecal mucinase and beta-glucuronidase activity in rats. *Journal of Nutrition*, 113(1), 138-144.
- Shiau, S. Y., & Ong, Y. O. (1992). Effects of cellulose, agar and their mixture on colonic mucin degradation in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 38(1), 49-55.
- Shimoni, E., Dirks, E. M., & Labuza, T. P. (2002). The relation between final popped volume of popcorn and thermal-physical parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 35(1), 93-98.
- Silva, J. P., Shabalina, I. G., Dufour, E., Petrovic, N., Backlund, E. C., Hultenby, K., Wibom, R., Nedergaard, J., Cannon, B., & Larsson, N. G. (2005). SOD2 overexpression:

- enhanced mitochondrial tolerance but absence of effect on UCP activity. *EMBO Journal*, 24(23), 4061-4070.
- Singh, J., & Whelan, K. (2011). Limited availability and higher cost of gluten-free foods. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 24(5), 479-486.
- Singleton V. L., Orthofer R., & Lamuela-Raventos M. R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Slavin, J. (2003). Why whole grains are protective: biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(01), 129-134.
- Slavin, J. (2013b). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
- Slavin, J. L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutrition*, 21(3), 411-418.
- Slavin, J. L. (2008). Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(10), 1716-1731.
- Slavin, J., & Feirtag, J. (2011). Chicory inulin does not increase stool weight or speed up intestinal transit time in healthy male subjects. *Food & Function*, 2(1), 72-77.
- Slavin, J., & Green, H. (2007). Dietary fibre and satiety. *Nutrition Bulletin*, 32(s1), 32-42.
- Slavin, J., Tucker, M., Harriman, C., & Jonnalagadda, S. S. (2013a). Whole grains: definition, dietary recommendations, and health benefits. *Cereal Foods World*, 58(4), 191-198.
- Smith, C. W., & Frederiksen, R. A. (2000). Sorghum: Origin, history, technology, and production. Vol. 2. John Wiley & Sons. ISBN: 978-0-471-24237-6
- Smith, E. A., & Macfarlane, G. T. (1996). Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *Journal of Applied Bacteriology*, 81(3), 288-302.
- Song, A., Eckhoff, S. R., Paulsen, M., & Litchfield, J. B. (1991). Effects of kernel size and genotype on popcorn popping volume and number of unpopped kernels. *Cereal Chemistry*, 68:464-466.
- Sosa, M., Gómez de Tejada, M. J., & Hernández, D. (2001). Prevención de la osteoporosis. Concepto, clasificación, factores de riesgo y clínica de la osteoporosis. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*, 10(A), 7-11.
- Soylu, S., & Tekkanat, A. (2007). Interactions amongst kernel properties and expansion volume in various popcorn genotypes. *Journal of Food Engineering*, 80(1), 336-341.

- Sreerama, Y. N., Sasikala, V. B., & Pratape, V. M. (2008). Nutritional implications and flour functionality of popped/expanded horse gram. *Food Chemistry*, 108(3), 891-899.
- Stevens, L., & Rashid, M. (2008). Gluten-free and regular foods: a cost comparison. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*, 69(3), 147-150.
- Stewart, M. L., Nikhanj, S. D., Timm, D. A., Thomas, W., & Slavin, J. L. (2010). Evaluation of the effect of four fibers on laxation, gastrointestinal tolerance and serum markers in healthy humans. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 56(2).
- Stuart, S. M. A., Johnson, P. E., Hamaker, B., & Kirleis, A. (1987). Absorption of zinc and iron by rats fed meals containing sorghum food products. *Journal of Cereal Science*, 6(1), 81-90.
- Stuber, C. W., Lincoln, S. E., Wolff, D. W., Helentjaris, T., & Lander, E. S. (1992). Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics*, 132(3), 823-839.
- Suzuki, K., Meek, B., Doi, Y., Muramatsu, M., Chiba, T., Honjo, T., & Fagarasan, S. (2004). Aberrant expansion of segmented filamentous bacteria in IgA-deficient gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(7), 1981-1986.
- Sweley, J. C., Rose, D. J., & Jackson, D. S. (2012). Hybrid and environment effects on popcorn kernel physiochemical properties and their relationship to microwave popping performance. *Journal of Cereal Science*, 55(2), 188-194.
- Tahiri, M., Tressol, J. C., Arnaud, J., Bornet, F. R., Bouteloup-Demange, C., Feillet-Coudray, C., ... & Coudray, C. (2003). Effect of short-chain fructooligosaccharides on intestinal calcium absorption and calcium status in postmenopausal women: a stable-isotope study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(2), 449-457.
- Takahara, S., Morohashi, T., Sano, T., Ohta, A., Yamada, S., & Sasa, R. (2000). Fructooligosaccharide consumption enhances femoral bone volume and mineral concentrations in rats. *Journal of Nutrition*, 130(7), 1792-1795.
- Tarola, A. M., Van de Velde, F., Salvagni, L., & Preti, R. (2012). Determination of phenolic compounds in strawberries (*Fragaria ananassa* Duch) by high performance liquid chromatography with diode array detection. *Food Analytical Methods*, 6(1), 227-237.
- Taylor, J. R. N., & Schüssler, L. (1986). The protein compositions of the different anatomical parts of sorghum grain. *Journal of Cereal Science*, 4(4), 361-369.

- 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., Bean, S. R., Ioerger, B. P., & Taylor, J. R. (2007). Preferential binding of sorghum tannins with  $\gamma$ -kafirin and the influence of tannin binding on kafirin digestibility and biodegradation. *Journal of Cereal Science*, 46(1), 22-31.
- Tebib, K., Besançon, P., & Rouanet, J. M. (1996). Effects of dietary grape seed tannins on rat cecal fermentation and colonic bacterial enzymes. *Nutrition Research*, 16(1), 105-110.
- Thompson, T., Dennis, M., Higgins, L. A., Lee, A. R., & Sharrett, M. K. (2005). Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 18(3), 163-169.
- Thorat, S. S., Satwadhar, P. N., Kulkarni, D. N., Choudhari, S. D., & Ingle, U. M. (1988). Effect of various grain parameters on popping quality of sorghum. *Journal of Food Science and Technology*, 25(6), 361-363.
- Thornton, J. R. (1981). High colonic pH promotes colorectal cancer. *Lancet*, 317(8229), 1081-1083.
- Tomás-Barberán, F. A., & Espin, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 853-876.
- Tong, L. T., Zhong, K., Liu, L., Qiu, J., Guo, L., Zhou, X., ...& Zhou, S. (2014). Effects of dietary wheat bran arabinoxylans on cholesterol metabolism of hypercholesterolemic hamsters. *Carbohydrate Polymers*, 112, 1-5.
- Topping, D. L., & Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 81(3), 1031-1064.
- Torgersen, H., & Toledo, R. T. (1977). Physical properties of protein preparations related to their functional characteristics in comminuted meat systems. *Journal of Food Science*, 42(6), 1615-1620.
- Torresani, M. E., & Somoza, M. I. (2009). *Lineamientos para el cuidado nutricional*. 3° Eds. Eudeba. Buenos Aires, Argentina.
- Tovar, J., Bjoerck, I. M., & Asp, N. G. (1990). Starch content and  $\alpha$ -amylolysis rate in precooked legume flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(9), 1818-1823.

- Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., De Vos, C. R., ... & Battino, M. (2008). Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 696-704.
- Turner, D. L. (2004). The use of specialty sorghums for expy ed snack food processing. Thesis Doctoral, Texas A&M University.
- Turner, N. D., Diaz, A., Taddeo, S. S., Vanamala, J., McDonough, C. M., Dykes, L., ... & Rooney, L. W. (2006). Bran from black or brown sorghum suppresses colon carcinogenesis. *FASEB Journal*, 20(4), A599.
- Turnlund, J. R., King, J. C., Keyes, W. R., Gong, B., & Michel, M. C. (1984). A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and alpha-cellulose. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40(5), 1071-1077.
- Uauy, R., Hertrampf, E., & Reddy, M. (2002). Iron fortification of foods: overcoming technical and practical barriers. *Journal of Nutrition*, 132(4), 849S-852S.
- Ummadi, P., Chenoweth, W. L., & Uebersax, M. A. (1995). The influence of extrusion processing on iron dialyzability, phytates and tannins in legumes. *Journal of Food Processing and Preservation*, 19(2), 119-131.
- Valencia, M. E., de Ferrer, P. A. R., & de Portela, M. L. P. M. (2013). Biodisponibilidad de nutrientes minerales. *Revista Farmaceutica*, 18.
- Van de Vijver, L. P. L., Van den Bosch, L. M. C., Van den Brandt, P. A., & Goldbohm, R. A. (2009). Whole-grain consumption, dietary fibre intake and body mass index in the Netherlands cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(1), 31-38.
- Van den Heuvel, E. G., Schoterman, M. H., & Muijs, T. (2000). Transgalactooligosaccharides stimulate calcium absorption in postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, 130(12), 2938-2942.
- Van Gaal, L. F., Mertens, I. L., & Christophe, E. (2006). Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*, 444(7121), 875-880.
- Van Loo, G., Saelens, X., Van Gorp, M., MacFarlane, M., Martin, S. J., & Vandenabeele, P. (2002). The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death and Differentiation*, 9(10), 1031-1042.
- Van Rensburg, S. J. (1981). Epidemiologic and dietary evidence for a specific nutritional predisposition to esophageal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 67(2), 243-251.

- Vargas, R., Santiago, R., & Patiño, M. (2008). Diseño y Construcción de un Controlador de Temperatura Programable para una Máquina Extrusora. *Revista Colombiana de Física*, 40(2).
- Velasco, J., Mariscal-Arcas, M., Rivas, A., Caballero, M., Hernández-Elizondo, J., & Olea-Serrano, F. (2009). Valoración de la dieta de escolares granadinos e influencia de factores sociales. *Nutrición Hospitalaria*, 24(2), 193-199.
- Velásquez-Forero, F. H. (2009). Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patología*, 47(2), 108-117.
- Verbruggen, M. A., Beldman, G., Voragen, A. G. J., & Hollemans, M. (1993). Water-unextractable cell wall material from sorghum: isolation and characterization. *Journal of Cereal Science*, 17(1), 71-82.
- Viraktamath, C. S., Raghavendra, G., & Desikachar, H. S. R. (1972). Varietal differences in chemical composition, physical properties and culinary qualities of some recently developed sorghum strains. *Journal of Food Science and Technology*, 9(2), 73-76.
- Vitaglione, P., Napolitano, A., & Fogliano, V. (2008). Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Trends in Food Science & Technology*, 19(9), 451-463.
- Vitali, D., Dragojević, I. V., & Šebečić, B. (2008). Bioaccessibility of Ca, Mg, Mn and Cu from whole grain tea-biscuits: impact of proteins, phytic acid and polyphenols. *Food Chemistry*, 110(1), 62-68.
- Vitoria, J. C., & Bilbao, J. R. (2013). Novedades en enfermedad celíaca. *Anales de Pediatría*, 78(1), 1-5.
- Walker, A. F. (1983). The estimation of protein quality. En: *Developments in Food Proteins*. Hudson B.J.F. Eds. Applied Science, New York, Cap 2, pp. 293-319.
- Walter, T., Pizarro, F., Abrams, S. A., & Boy, E. (2004). Bioavailability of elemental iron powder in white wheat bread. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(3), 555-558.
- Wanders, A. J., Mars, M., Borgonjen-Van Den Berg, K. J., De Graaf, C., & Feskens, E. J. M. (2014). Satiety and energy intake after single and repeated exposure to gel-forming dietary fiber: post-ingestive effects. *International Journal of Obesity*, 38(6), 794-800.
- 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.

- Watzke, H. J. (1998). Impact of processing on bioavailability examples of minerals in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 9(8), 320-327.
- Weaver, C. M., & Liebman, M. (2002). Biomarkers of bone health appropriate for evaluating functional foods designed to reduce risk of osteoporosis. *British Journal of Nutrition*, 88(S2), S225-S232.
- Weaver, C. M., Martin, B. R., Story, J. A., Hutchinson, I., & Sanders, L. (2010). Novel fibers increase bone calcium content and strength beyond efficiency of large intestine fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 8952-8957.
- Weisstaub, A. R., Abdala, V., Gonzales Chaves, M., Mandalunis, P., Zuleta, Á., & Zeni, S. (2013). Polydextrose Enhances Calcium Absorption and Bone Retention in Ovariectomized Rats. *International Journal of Food Science*, 1-8.
- Wood, P. J. (2007). Cereal  $\beta$ -glucans in diet and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 230-238.
- Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochemical Medicine*, 15(2), 212-216.
- Yang, Y., Li, Z., Nan, P., & Zhang, X. (2011). Drug-induced glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency-related hemolysis risk assessment. *Computational Biology and Chemistry*, 35(3), 189-192.
- Ye, E. Q., Chacko, S. A., Chou, E. L., Kugizaki, M., & Liu, S. (2012). Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *Journal of Nutrition*, 142(7), 1304-1313.
- Yenagi, N., Kachapur, M., & Bhuvaneshwari, G. (2005). Popping quality and proximate composition of pop sorghum cultivars. *Research Highlights*, 15, 119-124.
- Yu, J., & Tuinstra, M. R. (2001). Genetic analysis of seedling growth under cold temperature stress in grain sorghum. *Crop Science*, 41(5), 1438-1443.
- Yuwei, L., WeiHua, X., XiaoXiao, J., Bo, Z., Qian, W., & YiJian, H. (2013). The impact of processing on phytic acid, in vitro soluble zinc and Phy/Zn molar ratio of faba bean (*Vicia faba* L.). *International Food Research Journal*, 20(3), 1285-1291.
- Zafar, T. A., Weaver, C. M., Zhao, Y., Martin, B. R., & Wastney, M. E. (2004). Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats. *Journal of Nutrition*, 134(2), 399-402.



- Zaichick, V., & Tzaphlidou, M. (2002). Determination of calcium, phosphorus, and the calcium/phosphorus ratio in cortical bone from the human femoral neck by neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, 56(6), 781-786.
- Zaichick, V., & Tzaphlidou, M. (2003). Calcium and phosphorus concentrations and the calcium/phosphorus ratio in trabecular bone from the femoral neck of healthy humans as determined by neutron activation analysis. *Applied Radiation and Isotopes*, 58(6), 623-627.
- Zduńczyk, Z., Juśkiewicz, J., & Estrella, I. (2006). Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. *Nutrition*, 22(9), 898-904.
- Zeledón, H. S., Hernández, M. A., Ayala Morán, J. E., Guzmán de Serrano, R. F., Borja, C. A., Alvarado de Torres, M., & Calderón, V. R. (2007). Guía técnica del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), 5-36.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349.
- Zeni, S., Gregorio, S., Gomez, A. C., Somoza, J., & Mautalen, C. (2002). Olpadronate prevents the bone loss induced by cyclosporine in the rat. *Calcified Tissue International*, 70(1), 48-53.
- Zhang, D. D. (2006). Mechanistic studies of the Nrf2-Keap1 signaling pathway\*. *Drug Metabolism Reviews*, 38(4), 769-789.
- Zhang, H., & Forman, H. J. (2012). Glutathione synthesis and its role in redox signaling. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 23(7), 722-728.
- Ziegler, K.E. (2001). Popcorn. En: *Speciality corns*. Hallauer, A.R. (Ed. CRC Press). 2° Eds. Boca Raton, FL, pp. 199-234.