Universidad Autónoma de Sinaloa

Facultad de Ciencias Químico Biológicas

Programa Posgrado Ciencia y Tecnología Alimentos

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Procesamiento Secuencial (Germinación-Extrusión) para Obtener Harina Funcional de Sorgo (*Sorghum bicolor* L.) con Valor Nutricional / Nutracéutico Alto

T E S I S

que presenta

LN Luisa Fernanda Madrigales Reátiga

para obtener el grado de

Maestro en Ciencia

y

Tecnología de Alimentos

Director

Dr Cuauhtémoc Reyes Moreno

Dra Janitzio Xiomara K Perales Sánchez

Culiacán de Rosales, SIN, MEX febrero 2019

Presentación

El presente trabajo, titulado **"Procesamiento Secuencial (Germinación-Extrusión) para Obtener Harina Funcional de Sorgo (*Sorghum bicolor* L.) con Valor Nutricional / Nutracéutico Alto"** se desarrolló en "Laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales" y "Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Microbiológico", Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Los C. Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno, Dra. Janitzio Xiomara Korina Perales Sánchez, Dr. Roberto Gutiérrez Dorado, Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez y Dra. Maribel Jiménez Edeza participaron como Asesores Académicos. Los primeros dos fungieron como Director de Tesis. La tesista Luisa Fernanda Madrigales Reátiga recibió "Beca Nacional para Estudios de Posgrado" (Maestría en Ciencias) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de **Culiacán Sinaloa** el día **30** del mes **enero** del año **2019**, el (la) que suscribe **L.N. Luisa Fernanda Madrigales Reátiga** alumno (a) del Programa de **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos** con número de cuenta **16674545**, de la Unidad Académica **Facultad de Ciencias Químico Biológicas**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de **Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno, Dra. Janitzio Xiomara Korina Perales Sánchez** y cede los derechos del trabajo titulado **"PROCESAMIENTO SECUENCIAL (GERMINACIÓN-EXTRUSIÓN) PARA OBTENER HARINA FUNCIONAL DE SORGO (*Sorghum bicolor* L.) CON VALOR NUTRICIONAL / NUTRACÉUTICO ALTO"**, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

L.N. Luisa Fernanda Madrigales Reátiga

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a **Dios** por permitirme despertar cada día y darme la oportunidad de llegar hasta este punto de mi vida; por poner en mi camino a tantas personas maravillosas que me han motivado a superarme y ser una mejor persona.

A mi mamá, **Rosa** por el amor y apoyo ilimitado e incondicional que siempre me has dado, por enseñarme a tener la fortaleza de salir adelante sin importar los obstáculos; no hay palabras en este mundo para agradecerte, mami.

A mi papá, **Felipe** por todo los esfuerzos y sacrificios que has hecho por tu familia, por las enseñanzas que me has dado y estar siempre conmigo en cada momento de mi vida.

A mis hermanos, **Felipe**, **Oscar** y **Alexander** por estar siempre a mi lado sacándome una sonrisa para salir adelante, por su amor y alegría; su compañía ha sido vital en este proceso.

A mi hermana, **Raquel** por ser mi compañera de vida y mi primera amiga por estar en los momentos buenos, pero sobre todo apoyarme en los momentos malos; aún en la distancia siempre estás conmigo.

En general a toda mi familia por sus palabras de aliento y sus buenos deseos; en especial a mi tía **Mireya**.

A mi novio, **Aarón** por motivarme siempre a seguir adelante, por su apoyo y amor incondicional; gracias por las pláticas motivacionales y las sonrisas en medio del estrés. Te amo.

Al posgrado de **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos**, Facultad de Ciencias Químico – Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa por permitirme realizar mis estudios de posgrado y contribuir en mi formación académica.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por la beca otorgada para poder seguir con mis estudios de posgrado.

A los **profesores de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos** por compartir sus conocimientos y experiencias, contribuyendo a mi formación académica.

Al **Dr Cuauhtémoc Reyes Moreno** por darme la oportunidad de trabajar bajo su dirección y poder formar parte de su equipo de trabajo. Así como también por todos los consejos y enseñanzas durante el posgrado.

A la **Dra Xiomara Perales Sánchez** por aceptarme bajo su dirección y compartir sus conocimientos con amor y paciencia; por estar siempre al pendiente de lo que necesitábamos y sobre todo gracias por su apoyo y amistad.

Al **Dr Roberto Gutiérrez Dorado** por aceptarme en su laboratorio, por su disposición en todo momento para resolver cada una de mis dudas con paciencia; gracias por transmitir a sus alumnos el amor por su trabajo.

A la **Dra Maribel Jiménez Edeza** por abrime las puertas de su laboratorio, por compartir sus conocimientos y contribuir de manera importante al proyecto.

A mis **compañeros de generación**, gracias por su amistad y por ayudarme a dar mis primeros pasos dentro de la maestría; por los días completos de estudio y muchas risas, así como por las fiestas y reuniones llenas de diversión.

A mi amiga **Yazmín** por regalarme tu valiosa amistad, por estar siempre conmigo cuando parecía que las cosas no tenían solución, por los días maratónicos en el laboratorio; juntas hemos compartidos tantos momentos; gracias por contagiarme de tu actitud positiva llena de alegría y darme ánimos para nunca rendirme. Te quiero mucho chiquis.

A **Aliette** la mejor vecina de laboratorio y amiga; gracias por tu amistad mi belleza sonorense; por contagiarme con tu alegría todos los días y encontrar las palabras perfectas para cada situación.

A mis amigos **Martín** y **Demis** gracias por su amistad, por ayudarme cuando no entendía, por las largas pláticas siempre con palabras de aliento para seguir adelante y por hacer el trabajo pesado. Los quiero.

A mis compañeros de laboratorio: **Mario, Daniel, Denisse, Jenny, Alondra, Kathya, Brenda, Celeste, Martín Martínez, Fernanda y Alejandro** por hacer de todo esto una experiencia más amena y apoyarme en lo que necesitara; especialmente a **Fernando** gracias shalas por tu ayuda incondicional, por solucionar lo que según yo no tenía arreglo y pues que más se puede esperar del “todólogo” del laboratorio; gracias por la gran persona que eres. **Maritza** gracias por tu ayuda y paciencia en el laboratorio de microbiología; a las novatas que llegaron, pero aprendieron mucho de ti.

A mis amigos de toda la vida **Jennifer**, **Yunice**, **Itzel** y **César** por tantos años de amistad y cada locura que han compartido conmigo; los quiero mucho y deseo que su vida este llena de éxitos.

A mis amigos **Berenice** y **Eduardo** gracias por su amistad incondicional y por convertirse en parte de mi familia; por ser mis compadres y regalarme el ahijado más hermoso **Sebastián**. Los amo mucho.

A todas y cada una de las personas que me apoyaron y creyeron en mí. Muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INDICE DE CUADROS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
I RESUMEN	1
ABSTRACT	3
II INTRODUCCIÓN	4
III REVISION BIBLIOGRÁFICA	7
A SORGO (*Sorghum bicolor* L.)	7
1 Origen	7
2 Aspectos agronómicos	8
3 Descripción botánica	9
4 Descripción del grano de sorgo	11
a Pericarpio	11
b Testa	13
c Endospermo	13
d Embrión	13
5 Estadísticas de producción	13
6 Composición química	14
a Proteínas	14
b Carbohidratos	19
c Lípidos	21
d Vitaminas	21
e Minerales	23
7 Fitoquímicos	23

a Taninos condensados 25
b Ácido fítico 26
c Ácidos fenólicos 26
d Antiocianinas 27
8 Propiedades nutracéuticas del grano de sorgo 28
B GERMINACIÓN 30
1 Proceso de germinación 30
a Imbibición 31
b Iniciación del metabolismo activo del embrión 32
2 Factores que influyen en la germinación 32
a Tiempo de cosecha 32
b Remojo 33
c Temperatura 33
d Inhibidores microbianos 33
e Estrés osmótico 34
3 Cambios durante la germinación del grano 34
4 Efecto de la germinación sobre la composición química del grano 35
5 Efecto de la germinación sobre valor nutricional de los Granos 36
6 Efecto de la germinación sobre niveles de fitoquímicos, actividad antioxidante y propiedades nutracéuticas de los granos 37
C EXTRUSIÓN 38
1 Efecto de la extrusión sobre composición química de Cereales 40
2 Efecto de la extrusión sobre valor nutricional de cereales 41
3 Efecto de la extrusión sobre niveles y perfiles fitoquímicos 42
4 Efecto de la extrusión sobre actividad antioxidante y 43

propiedades nutracéuticas de cereales
5 Efecto de la extrusión sobre los antinutrientes de cereales 44
IV JUSTIFICACIÓN 45
V HIPOTESIS 46
VI OBJETIVOS 47
A OBJETIVO GENERAL 47
B OBJETIVOS ESPECIFICOS 47
VII MATERIALES Y MÉTODOS 48
A MATERIALES 48
B MÉTODOS 48
1 Características físicas del grano de sorgo 48
a Dimensiones físicas 48
b Peso de 1000 granos 48
c Peso hectolítrico 48
2 Composición química del grano de sorgo 48
a Humedad 48
b Proteína cruda 49
c Lípidos 49
d Minerales 49
e Fibra dietaria 49
f Carbohidratos 50
3 Propiedades fisicoquímicas del grano de sorgo 50
a Actividad acuosa 50
b Diferencia total de color ***(ΔE)*** 51
4 Obtención de harinas de sorgo germinada optimizada (***HSGO***) 51
5 Obtención de harinas de sorgo germinada-extrudida (***HSGE***) 53
6 Evaluación de las variables de respuesta para la 53

optimización del proceso de extrusión
a Extracción de fitoquímicos libres 53
b Extracción de fitoquímicos ligados 56
c Compuestos fenólicos totales (***CFT***) 56
d Actividad antioxidante (***ABTS, DPPH***) 58
e Digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) 59
7 Optimización del proceso de extrusión 60
a Diseño experimental / Análisis estadístico 60
b Optimización 60
8 Composición química y propiedades fisicoquímicas de la harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) 62
a Composición química 62
b Propiedades fisicoquímicas 62
1) Actividad acuosa 62
2) Diferencia total de color (***ΔE***) / Valor Hunter L 62
3) pH 62
4) Densidad aparente 62
5) Índice de absorción (***IAA***) y de solubilidad en agua (***ISA***) 63
6) Dispersabilidad 63
7) Índice de absorción de aceite 63
8) Capacidad de formación (***CFE***) y estabilidad de espuma (***CEE***) 64
9) Capacidad emulsificante (***CE***) y estabilidad de emulsión (***EE***) 64
9 Niveles de fitoquímicos, actividad antioxidante y valor nutricional de ***HSGEO*** 64
a Compuestos fenólicos totales (***CFT***) 64
b Taninos condensados (***TC***) 65

c Ácido Fítico 65
d Actividad antioxidante (***ABTS***, ***DPPH***) 66
e Valor nutricional 66
1) Digestibilidad proteínica in vitro (***DPIV***) 66
10 Estabilidad microbiológica 66
a Preparación de la muestra 66
b Conteo de Microorganismos Coliformes Totales (***CT***) 66
c Conteo de Microorganismos Mesofílicos Aerobios 67
d Conteo de Mohos 68
11 Análisis estadístico 68
VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN 69
A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS GRANOS DE SORGO 69
B MEJORES CONDICIONES PARA PRODUCCIÓN DE HARINA DE SORGO GERMINADA EXTRUDIDA CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y DIGEST PROTEINICA *IN VITRO* ALTOS 71
1) Modelos de predicción 71
a Actividad antioxidante (***AAox***) 71
b Compuestos fenólicos totales (***CFT***) 71
c Digestibilidad proteínica in vitro (***DPIV***) 74
2) Optimización del proceso de extrusión 77
C COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROP NUTRICIONALES Y ANTINUTRICIONALES DE HARINAS DE SORGO 77
D PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE HARINAS DE SORGO 84
E COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINAS DE SORGO 90
F ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE HARINAS DE 94

SORGO
IX CONCLUSIONES 100
X BIBLIOGRAFIA 101
Abreviaturas 113

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Pag.
1	Producción nacional de sorgo	15
2	Composición de nutrientes del sorgo, mijo y otros cereales	16
3	Composición química de grano de sorgo	17
4	Composición química y valor nutriticional del grano entero y sus fracciones	18
5	Contenido de aminoácidos esenciales de sorgo	20
6	Composición mineral del sorgo y de los mijos	24
7	Diseño experimental utilizado para obtener diferentes combinaciones de temperatura de extrusión / velocidad de tornillo para obtener harinas de sorgo germinada-extrudida	55
8	Características físicas de los granos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.)	70
9	Diseño experimental usado para obtener diferentes combinaciones de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo para producir harinas de sorgo germinadas extrudidas y resultados experimentales de las variables de respuesta	72
10	Composición química, propiedades nutricionales y antinutricionales de harinas de sorgo	79
11	Propiedades fisicoquímicas de harinas de sorgo	86
12	Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de harinas de sorgo	91
13	Estabilidad microbiológica de harinas de sorgo	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig	Descripción	Pág
1	Planta en madurez fisiológica (izquierda) y en etapa de 3 hojas (derecha)	10
2	Estructura del grano de sorgo	12
3	Diagrama de flujo del proceso de germinación de granos de sorgo	52
4	Diagrama de flujo del proceso de extrusión de granos de sorgo	54
5	Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados	57
6	“Caja negra” del modelo matemático que muestra la relación entre variables de proceso y de respuesta del proceso de extrusión	61
7	Gráfica de contorno donde se muestra el efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante (***AAox***) de las harinas de sorgo germinada extrudida	73
8	Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante (***AAox***) de las harinas de sorgo germinada extrudida	73
9	Gráfica de contorno mostrando el efecto de las variables de proceso sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida	75
10	Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida	75
11	Gráfica de contorno mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida	76
12	Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la digestibilidad proteínica *in vitro*	76

(***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida

13 Gráfica de superposición mostrando la región con la mejor combinación de las variables de proceso a la cual se obtiene una harina de sorgo germinada extrudida optimizada con altos valores de actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***), y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) 78

14 Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo cruda 96

15 Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo geminada optimizada 97

16 Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo geminada extrudida optimizada 99

I RESUMEN

El sorgo (*Sorghum bicolor* L) es el quinto cereal más importante del mundo, después del trigo, el arroz, el maíz y la cebada. Este cereal es reconocido como un cultivo tolerante a sequías.

En los últimos años se ha incrementado la atención a alimentos con propiedades nutracéuticas, así como en el perfil fitoquímico de cereales. El sorgo ha sido reportado por presentar compuestos fitoquímicos (ácidos fenólicos, esteroles, policosanoles, minerales, vitaminas) con diferentes efectos benéficos a la salud. Los compuestos nutracéuticos del sorgo han presentado un amplio número de efectos biológicos, entre los que se encuentran sus propiedades antioxidantes, anticarcinogénicas, disminución de riesgos cardiovasculares y problemas asociados con obesidad. El sorgo constituye una alternativa potencial para la fabricación de alimentos dirigidos a la alimentación humana.

La germinación es un bioproceso ampliamente utilizado en cereales para aumentar el valor nutricional y disminuir algunos factores antinutricionales, así mismo, desencadena actividad enzimática en el grano, lo que lleva a la ruptura de proteínas, carbohidratos y aumenta la biodisponibilidad de nutrientes. Por otro lado, la extrusión contribuye a la estabilidad microbiológica y aceptabilidad sensorial de los alimentos procesados.

El objetivo de esta investigación fue conocer el efecto del procesamiento secuencial germinación-extrusión en el grano de sorgo para la elaboración de harina funcional de sorgo de valor nutricional / nutraceutico alto, apta para la elaboración de productos sensorialmente aceptables.

Los granos de sorgo limpio se sometieron al bioproceso de germinación y posteriormente al proceso de extrusión. Para la optimización del proceso de extrusión se utilizó la metodología de superficie de respuesta con un diseño experimental central rotable donde las variables de proceso fueron temperatura de extrusión (TE= 50-160ºC) y velocidad de tornillo (VT= 50-240rpm) y como variables de respuesta actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***).

La mejor combinación de variables del proceso de extrusión para la producción de harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) fue: TE=137ºC/VT=134rpm. Encontrando que el procesamiento secuencial

(germinación-extrusión) podría ser una estrategia efectiva para incrementar el valor nutricional y capacidad antioxidante de la harina de sorgo germinada; así mismo este proceso podría ser una alternativa para el desarrollo de alimentos funcionales a base de harina de sorgo germinada extrudida, los cuales podrían ser utilizados para la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo.
Palabras clave: Sorgo, germinación, extrusión, capacidad antioxidante

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* L) is the fifth most important cereal in the world, after wheat, rice, corn, and barley. This cereal is recognized as a drought tolerant crop. In recent years, there has been an increase in attention to foods with nutraceutical properties, as well as in the phytochemical profile of cereals. Sorghum has been reported to present phytochemical compounds (phenolic acids, sterols, policosanols, minerals, vitamins) with different beneficial effects on health. The nutraceutical compounds of sorghum have presented a wide number of biological effects, among which are their antioxidant properties, anticarcinogen, decreased cardiovascular risks and problems associated with obesity. Sorghum is a potential alternative for the manufacture of food for human consumption.

Germination is a bioprocess widely used in cereals to increase the nutritional value and decrease certain anti-nutrients, likewise, triggers enzymatic activity in the grain, which lead to the breakdown of proteins, carbohydrates and increases the bioavailability of nutrients; On the other hand, extrusion contributes to the microbiological stability and sensory acceptability of processed foods.

The objective of this research was to know the effect of sequential germination-extrusion processing on sorghum grain for the elaboration of instant flour of extruded germinated sorghum of high nutritional / nutraceutical value, suitable for the production of sensorially acceptable products.

The grains of clean sorghum were subjected to the germination bioprocess and subsequently to the extrusion process. For the optimization of the extrusion process the Response Surface Methodology was used with a rotatable central experimental design where the process variables were extrusion temperature [(***ET***) = 50-160 ° C] and speed screw [(***SS***) = 50- 240rpm] and as response variables antioxidant activity (***AoxA***), total phenolic compounds (***TPC***) and *in vitro* protein digestibility (***IVPD***)

The best combination of extrusion process variables for the production of optimized extruded germinated sorghum flour (***OEGSF***) were: ***ET*** = 137ºC / ***SS*** = 134rpm. The sequential processing (germination-extrusion), could be an effective strategy to increase the nutritional value and antioxidant capacity of the germinated sorghum flour; likewise, this process could be an alternative for the development of functional foods based on extruded germinated sorghum flour,

which could be used for the prevention of diseases associated with oxidative stress.

Keywords: Sorghum, germination, extrusion, antioxidant capacity

II INTRODUCCIÓN

En la actualidad, uno de los problemas más relevantes que se está presentando a nivel mundial en salud pública es el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas debido a los malos hábitos de alimentación y estilo de vida (OMS, 2011). La virtual desaparición de la actividad física y la fácil accesibilidad de alimentos energéticamente densos han propiciado la aparición de sobrepeso corporal y obesidad, que constituye un factor de riesgo para la aparición de hipertensión, arterosclerosis y cáncer (Quirantes y col, 2009).

Otra consecuencia a la época que vivimos y debido a la falta de tiempo para elaborar comida en casa; la mayoría de las personas optan por el consumo de comida rápida con un alto contenido energético, grasas y azúcares simples. Por ello la demanda de productos nutracéuticos y alimentos funcionales para prevenir enfermedades y mejorar la salud se ha incrementado (OMS, 2011).

Un estilo de vida sano con una actividad física adecuada y una dieta balanceada; consumiendo frutas, vegetales, granos (cereales, psudocereales, leguminosas) integrales, podría contribuir a reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades, ya que estos alimentos son fuentes importantes de compuestos bioactivos.

Se considera que los cereales constituyen la principal fuente calórico- proteica en la dieta de la población de la mayoría de los países en desarrollo. El sorgo es uno de los cereales más importantes en el mundo; este cultivo es una fuente importante de energía, proteínas, vitaminas y minerales para millones de habitantes en las regiones más pobres. Este cereal ha llegado a tener una gran importancia, para la población mundial y para la industria alimentaria, similar a la que tienen otros cereales como el maíz, trigo y arroz (Santamaría-Gómez y col, 2018).

El sorgo es una buena fuente de fitoquímicos (ácidos fenólicos, antocianinas, taninos, fitoesteroles, policosanoles). Estos fitoquímicos tienen potencial de impactar significativamente la salud humana; evidencia epidemiológica disponible sugiere que el consumo de sorgo reduce el riesgo de ciertos tipos de cáncer en

los seres humanos en comparación con otros cereales. La alta concentración de fitoquímicos en el sorgo puede ser en parte responsable (Awika y col, 2004).

La humanidad ha fracasado seriamente en su esfuerzo por alimentar en forma adecuada a los millones de personas que viven actualmente en la tierra. Con el crecimiento de la población mundial y la disminución de los suministros de agua, el sorgo representa una buena alternativa para cultivos de uso humano. No se deben desatender las posibilidades del sorgo en el mercado mundial de alimentos. Como ingrediente en las mezclas para consumo humano, el sorgo podría obtener acceso a un creciente mercado de exportación, y contribuir en forma significativa a lidiar los problemas de presión demográfica y de déficit alimentarios (Pérez y col, 2010).

El uso del grano de sorgo para consumo humano y fines industriales va en aumento. Este cereal representa una alternativa excelente para la elaboración de productos destinados a la alimentación humana, debido a que, tiene un contenido de proteína similar al maíz y al trigo; además, es una fuente de vitamina B, minerales, carbohidratos y fitoquímicos. Tiene un potencial adicional para ser utilizado como una fuente de alimentos y bebidas para consumo humano.

Algunas tecnologías de procesamiento en semillas (cereales, pseudocereales, leguminosas) ayudan a incrementar la biodisponibilidad de nutrientes, valor nutricional, palatabilidad, seguridad/estabilidad alimentaria. Entre estas tecnologías se encuentran la molienda, cocción, rostizado, horneado, secado, fermentación, germinación y extrusión (Bresanni y col. 1984).

La germinación de cereales y pseudocereales es una estrategia ampliamente utilizada para mejorar propiedades fisicoquímicas, calidad nutricional, incrementar el contenido de compuestos nutracéuticos, y reducir el contenido de compuestos llamados antinutrientes (ácido fítico, taninos, inhibidores de tripsina). Durante la germinación enzimas hidrolíticas potencializan, actuando sobre moléculas de reserva (carbohidratos, proteínas, lípidos) de las semillas, causando un reordenamiento en el contenido y tipo de estas moléculas y, en paralelo, desarrollando sabores, texturas y aromas; también, durante este bioproceso se activan rutas metabólicas responsables de la síntesis de fitoquímicos asociados con propiedades nutracéuticas, entre las cuales se encuentran la protección y reducción del riesgo de padecer algunas enfermedades crónico degenerativas

como cáncer, diabetes, hipertensión, desórdenes neurológicos y enfermedades cardiovasculares. Los cambios que ocurren en composición química, propiedades nutricionales / nutracéuticas, compuestos bioactivos durante la germinación de cereales y pseudocereales están estrechamente ligados a las condiciones en las cuales el bioproceso se lleva a cabo; derivado de ello, importantes investigaciones se enfocan en conocer la combinación de variables de proceso y la optimización de las condiciones de germinación (tiempo de remojo, temperatura / tiempo de germinación, elicitores) con el propósito de potencializar el contenido de fitoquímicos de interés. Recientemente, la popularidad del proceso de germinación se ha incrementado, ofreciendo productos con probados beneficios sobre la salud, además de ventajas tales como costos bajos de operación (Chavarín-Martínez y col, 2019).

La extrusión-cocción es un proceso continuo que utiliza la combinación de temperatura-alta, presión-alta y condiciones de fuerza de corte altas en un periodo de tiempo corto, lo cual resulta en transformaciones moleculares y reacciones químicas en los productos extrudidos. La extrusión-cocción trae consigo varios cambios bioquímicos como la desnaturalización parcial de proteínas, gelatinización parcial de almidones, modificaciones en lípidos, inactivación de microorganismos y enzimas, formación de componentes volátiles que mejoran el sabor, y un incremento en fibra dietaria soluble. Adicionalmente, la extrusión-cocción tiene el potencial para mejorar el valor nutricional de los productos al mejorar la digestibilidad de proteínas y almidones e incrementando la retención de compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes. También, está tecnología de eficiencia alta minimiza la contaminación de agua y el consumo de energía (Reyes-Moreno y col, 2018).

No hay reportes acerca de la aplicación secuencial de las tecnologías germinación-extrusión sobre el efecto sobre valor nutrimental, nutricional y nutracéutico, propiedades fisicoquímicas, contenido de fitoquímicos, estabilidad microbiológica y vida de anaquel del grano de sorgo. El objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto del procesamiento secuencial germinación-extrusión, aplicando condiciones optimizadas para cada uno de los proceos, sobre composición química, valor nutricional, actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos totales y estabilidad microbiológica del grano de sorgo.

Adicionalmente se pretende obtener un harina funcional de sorgo germinado – extrudido con valor nutricional / nutracéutico alto que pueda ser utilizada en el desarrollo de nuevos productos alimenticios para consumo humano.

III REVISION BIBLIOGRÁFICA

A SORGO (*Sorghum bicolor* L.)

1 Origen

La planta de sorgo es un cultivo originario de África. Acorde a algunas clasificaciones taxonómicas el sorgo pertenece a la familia de las gramíneas o *POACEAE;* el grano es uno de los principales cereales cultivado en los trópicos semiáridos de Asia y África. Los componentes anatómicos del grano de sorgo son el pericarpio, germen o embrión y endospermo; hay una gran diversidad en los atributos de color, forma y tamaño del grano (Earp y col 2004).

Las especies más representativas son el *Sorghum vulgare*, *Sorghum andropogum* y *Sorghum sudanensis*. Pero es la especie *Sorghum bicolor* la que se cultiva para la obtención de grano con fines de consumo humano (Watson y Dallwitz 2008).

El origen de este cultivo ha sido discutido a través de los años, ya que se plantea que procede del Noreste de África, en la región ocupada por Etiopía (Pérez y col, 2010). En esa región se encuentra la mayor diversidad de tipos. Esta diversidad disminuye hacia el norte de África y Asia. Existen, sin embargo, ciertas evidencias de que surgió en forma independiente tanto en África como en la India (Carrasco y col, 2011); aunque se ubicó inicialmente en la India. Se introdujo en América en el siglo XVIII.

Se considera que muchas especies distintas se cultivan de forma esporádica en países de América, y que los sorgos actuales son híbridos de esas introducciones o de mutantes que han aparecido (Pérez y col, 2010). El sorgo como cultivo doméstico llegó a Europa aproximadamente hacia el año 60 d. C. pero nunca se extendió mucho en este continente. Las primeras semillas

probablemente se llevaron al hemisferio Occidental en barcos de esclavos procedentes de África.

Los primeros sorgos dejaban mucho que desear como cultivo granífero. Eran muy altos y, por lo tanto, susceptibles al vuelco y difíciles de cosechar. Además, maduraban muy tardíamente. Los tipos Kafir y Milo se seleccionaron como productores de granos por los primeros colonos en las grandes planicies debido a que su tolerancia a la sequía es mayor que la del maíz (Carrasco y col, 2011).

Con el advenimiento de las máquinas cosechadoras se hicieron selecciones a partir de los materiales originales, obteniendo tipos más precoces y algo más bajos. Sin embargo, fue la combinación de "tipos" de sorgo granífero, iniciada por John B. Seiglinger de Oklahoma, lo que hizo posible cultivarlos utilizando la cosecha mecanizada. El desarrollo posterior de los tipos precoces, así como de variedades resistentes a enfermedades e insectos, junto con el mejoramiento de otras prácticas de producción, estableció firmemente el sorgo granífero como un importante cultivo (Carrasco y col, 2011).

2 Aspectos agronómicos

El sorgo tiene hábito y fisiología vegetal (metabolismo de las plantas C_4) similares a los del maíz (*Zea mays*). El género *Sorghum* presenta un sistema radical profuso que le brinda una estructura de soporte muy desarrollada, lo que permite acumular gran cantidad de reservas. Además, le confiere una mayor capacidad de penetración y mejor persistencia en climas secos, donde la escasez de agua se mantiene por períodos prolongados. Su tallo es grueso, con espinas que nacen por pares, y la altura puede oscilar de 1 a 3 m (Pérez y col, 2010). Los nudos presentan abundantes pilosidades. Las hojas son alternas, aserradas, lanceoladas, anchas y ásperas en su margen; estas tienen la propiedad de quitinización durante los períodos secos, lo que retarda el proceso de desecación (Duke,1983).

Se desarrolla bien en condiciones de clima cálido y con lluvias moderadas bien distribuidas. Requiere entre 450 a 500 mm de agua durante su ciclo y el ámbito de precipitación óptima está entre 600 a 750 mm por año. La temperatura óptima es de 26 a 27ºC (Agrícola, 1991).

Este cultivo es bastante susceptible a deficiencia de Fe, Zn y Mn en el suelo; especialmente es suscetible a suelos vertisoles con altos niveles de carbonato de calcio. Estas deficiencias pueden ser observadas en los cultivos cuando la planta se pone clorótica o con manchas rojizas a lo largo de las hojas (Zeledón y col, 2007). Responde muy bien a una diversidad de suelos aún con características adversas de fertilidad, textura, pendiente, pedregosidad y pH (5.5-7.8).

El sorgo, dependiendo de su condición fisiológica, puede ser fotosensitivo o fotoinsensitivo, esto se refiere a la cantidad de horas luz que el cultivo demanda para su desarrollo y floración. Las variedades fotoinsensitivas son aquellas cuya floración no es afectada por la cantidad de horas luz y florecen independientemente de la época en que sean sembradas. Las variedades criollas o fotosensitivas son las que independientemente de la época de siembra florecen cuando los días son cortos (noviembre- diciembre) (Zeledón y col, 2007). Los fotoinsensitivos necesitan una mayor cantidad de humedad en el suelo para la polinización y llenado del grano; comparados con los fotosensitivos (criollos) que requieren una mínima reserva de humedad en el suelo para completar satisfactoriamente estas etapas de desarrollo. En general el sorgo requiere de 550 mm de agua en todo el ciclo de cultivo y bien distribuidos para una óptima producción (Zeledón y col, 2007).

3 Descripción botánica

El sistema radical adventicio fibroso se desarrolla de los nudos más bajos del tallo. La profundidad de enraizado es generalmente de 1 a 1.3 m, con 80% de las raíces en los primeros 30 cm. El número de pelos absorbentes puede ser el doble que el del maíz, las raíces de soporte pueden crecer de primordios radicales, pero no son efectivas en la absorción de agua y nutrientes. El sorgo es una planta de un solo tallo, pero puede desarrollar otros (hijos) dependiendo de la variedad y el ambiente; está formado de una serie de nudos y entrenudos, su longitud varía de 0.5 a 4 m, su diámetro de 0.5 a 5 cm cerca de la base, volviéndose más angosto en el extremo superior; su consistencia es sólida con una corteza o tejido exterior duro y una médula suave. Los tallos tienen de 7 a 24 nudos y son erectos. El número de hojas varía de 7 a 24 según la variedad y el período de crecimiento, son erectas hasta casi horizontales y se encorvan con la edad. La longitud de una

hoja madura oscila entre 30 a 135 cm y su ancho entre 1.5 a 15 cm; son alternas y lanceoladas o linear-lanceoladas, con una superficie lisa y cerosa (Zeledón y col, 2007). Es una panícula de racimo con un raquis central completamente escondido por la densidad de sus ramas o totalmente expuesto, cuando está inmadura es forzada hacia arriba dentro de la vaina más alta (buche), después que la última hoja (bandera) se expande distendiéndola a su paso. La panícula es corta o larga, suelta y abierta, y compacta o semicompacta. Puede tener de 4 a 25 cm de largo, 2 a 20 cm de ancho y contener de 400 a 800 granos, según el tipo de panícula (Zeledón y col, 2007) (**Fig 1**).

The picture can't be displayed.

Fig 1. Planta en madurez fisiológica (izquierda) y en etapa de tres hojas (derecha)

Gerik y col (1993)

4 Descripción del grano de sorgo

El color del tegumento muestra matices de diferentes colores. El color del grano de sorgo cambia según la variedad, desde el blanco hasta un castaño rojizo muy intenso, con matices intermedios de rosa, rojo, amarillo, castaño y gris. El color del grano está determinado por la pigmentación del pericarpio, la testa y el endospermo, existiendo genes específicos para cada una de las partes. La semilla madura consta del embrión, o germen, y del endospermo, ambos rodeados por una fina capa de cutinosa. Una cubierta externa denominada pericarpio, en conjunto esta estructura forma un fruto de una sola semilla denominada cariopsis (Azuara, 1999).

La estructura del grano de sorgo se compone de tres partes: el pericarpio o cobertura del grano, el endosperma o tejido de reserva y el embrión o futura planta (Domanski y col, 1997) (**Fig 2**).

a Pericarpio

Se subdivide en epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El epicarpio es la parte externa y está compuesta por dos o tres capas de células. El mesocarpio, situado debajo del epicarpio puede variar en su espesor. Cuando es grueso y contiene granos de almidón, el grano tiene apariencia opaca. Los granos translúcidos o perlados tienen el mesocarpio muy fino y no contienen granos de almidón. La

capa más interna o endocarpio consiste en células cruzadas y tubulares que son el principal punto de ruptura cuando se remueve el pericarpio durante la molienda seca del grano. El color del pericarpio varía de blanco, amarillo limón a colorado, siendo los sorgos marrones genéticamente rojos, pero con presencia de testa, lo que significa la presencia de taninos condensados (Domanski y col, 1997).

Fig 2. Estructura del grano de Sorgo

Domanski y col (1997)

b Testa

A partir del integumento interno, inmediatamente debajo del endocarpio, se encuentra una capa fuertemente pigmentada denominada testa. Cuando la testa está presente contiene la mayoría de los taninos condensados del grano (sorgos marrones), lo cual está asociado a los efectos antinutricionales de este cultivo. Estos taninos condensados aparecen en la testa con la maduración del grano, y se observan como una capa continua de color marrón rojizo a violáceo (Domanski y col, 1997).

c Endospermo

Está compuesto por la capa de aleurona y de las porciones periférica, córnea y harinosa, constituyendo la mayor porción del grano con 82%. Niveles altos de almidón (82%) están contenidos en el endosperma y su aprovechamiento depende entre otros factores, de la textura y tipo de endosperma. La textura del endosperma es la proporción relativa de las porciones córnea y harinosa del mismo, característica influenciada por el ambiente (Domanski y col, 1997).

d Embrión

El embrión o germen constituye cerca del 10 % del peso seco del grano y consiste en el eje embrionario y el escutelo. De las distintas fracciones del grano es la que tiene el mayor porcentaje de proteínas, lípidos y minerales (Domanski y col, 1997).

5 Estadísticas de producción

El consumo de sorgo a nivel mundial se ha mantenido estable a lo largo de los últimos años alcanzando valores que van desde los 54 a los 65 millones de ton.

La producción mundial de sorgo en el año 2016 fue de 63 millones de ton. Estados Unidos de América (EUA) participó en primer lugar, con 18% de la producción, como uno de los principales países productores. Nigeria y México, participaron con alrededor de 10 % cada uno; Sudán e India, cada uno con una participación cercana a 9 % del total mundial. Con menores participaciones se encuentran Etiopia, Argentina y China (FAO, 2016).

El sorgo representa el grano forrajero con mayor presencia en nuestro país, ya que es el principal ingrediente en la formulación de alimentos balanceados en el sector pecuario. La producción de sorgo en México, en 2016, fue de 5.1 millones de ton. En el **Cuadro 1** se muestran los estados con producción más importante de sorgo donde se concentró aproximadamente el 82 % de la producción nacional. Tamaulipas se ubica como el principal productor con una participación de 40.2 %, lo cual representa un volumen de 2.0 millones de ton. En segundo lugar, se encuentra Guanajuato con 15.9 % de participación y un volumen de producción de 0.8 millones de ton. El tercer lugar lo ocupa Sinaloa con una participación de 13.3 % del total y un volumen de 0.7 millones de ton (SIAP-SAGARPA, 2018).

6 Composición química

El grano de sorgo está constituido básicamente por proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas, minerales y polifenoles, en porcentajes variables según genotipo y ambiente; contiene, en base seca (bs), 7-16% de proteínas, 55 -75% de almidón, 0.5-5% de lípidos, 1,6% de fibra cruda, y 1-4.5% de minerales (Llopart y col, 2011).

La composición química del sorgo es bastante similar a la del maíz con la diferencia en el contenido de almidón y proteína que es mayor en sorgo, y en el aceite que es mayor en maíz (Domanski y col, 1997) (**Cuadro 2**). En el **Cuadro 3** se muestra la distribución de los principales componentes químicos del grano.

En cuanto a las fracciones del grano de sorgo; pericarpio es bajo en proteína y ceniza y rico en componentes fibrosos. La fracción del germen del sorgo es rica en ceniza, proteína y aceite, pero muy pobre en almidón. Más del 68% de la materia mineral total y del 75% del aceite del grano entero se localiza en el

germen. Su aportación a la proteína del grano es sólo del 15%. El germen del sorgo también es rico en vitaminas B (FAO, 1990) (**Cuadro 4**).

a Proteínas

El segundo gran componente de los granos de sorgo es la proteína; aproximadamente el 80%, 16% y el 3% de las proteínas se encuentran en el endospermo, en el germen y en el pericarpio, respectivamente (Llopart y col, 2011). En el sorgo, la variabilidad es a primera vista grande debido probablemente a que este cereal se cultiva en situaciones agroclimáticas diversas que influyen en la composición del grano (Waggle y col, 1967; Deosthale y col,

Cuadro 1. Producción nacional de sorgo

Ubicación	Sup. Sembrada (ha)	Sup. Cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)	Valor Producción (Miles $$$)
BC	1,349	1,342	6,073	4.52	19,208
Campeche	25,398	25,309	78,292	3.09	226,281
Chiapas	13,111	13,110	34,155	2.60	105,184
Chihuahua	11,610	10,967	64,299	5.86	172,563
Coahuila	2,812	2,813	8,646	3.07	28,394
Colima	1,425	1,403	6,708	4.78	19,436
Durango	4,146	3,802	8,468	2.23	23,720
GTO	236,711	230,976	827,614	3.58	2,824,539
Guerrero	14,000	9,763	31,831	3.26	92,238
Hidalgo	99	99	550	5.56	1,494
Jalisco	38,139	36,459	190,271	5.22	603,656
MICH	120,727	95,537	380,375	3.98	1,297,303
Morelos	39,821	39,263	95,231	2.42	303,414
México	228	228	929.00	4.08	2,501
Nayarit	66,322	60,256	255,029	4.23	763,429
Oaxaca	22,127	7,196	23,556	3.27	69,050

Puebla	30,023	29,182	77,396	2.65	219,892
Querétaro	2,144	2,098.00	18,111	8.63	55,566
Sinaloa	243,650	207,588	690,100	3.32	1,953,092
Tamaulipas	775,571	771,121	2,089,484	2.71	5,828,071

SAGARPA-SIAP (2018)

Cuadro 2. Contenido de nutrimentos del sorgo, mijos y otros cereales

Cereal	Proteína (g)	Grasa (g)	Ceniza (g)	Fibra cruda (g)	CHO (g)	Energía (kcal)
Sorgo	10.4	3.1	1.6	2.0	70.7	329
Mijo perla	11.8	4.8	2.2	2.3	67.0	363
Mijo coracán	7.7	1.5	2.6	3.6	72.6	336
Mijo cola zorra	11.2	4.0	3.3	6.7	63.2	351
Arroz (pardo)	7.9	2.7	1.3	1.0	76.0	362
Trigo	11.6	2.0	1.6	2.0	71.0	348
Maíz	9.2	4.6	1.2	2.8	73.0	358

[a]100 g de porción comestible y 12 por ciento de humedad

Jambunathan y Subramanian (1988); FAO (1990)

Cuadro 3. Composición química de grano de sorgo

Nutrimento	Contenido en 100 g
Agua[1]	9.20
Energía[2]	339
Proteína[1]	11.30
Lípidos[1]	3.30
Ac. grasos saturados[1]	0.457
Ac. grasos monoinsaturados[1]	0.993
Ac. grasos poliinsaturados[1]	1.370
Minerales[3]	
Calcio[3]	28
Hierro[3]	4.40
Magnesio[3]	190
Fósforo[3]	287
Potasio[3]	350
Sodio[3]	6
Zinc[3]	1.54
Vitaminas[3]	
Vitamina C, ácido Ascórbico total[3]	0.0
Tiamina[3]	0.237
Riboflavina[3]	0.142
Niacina[3]	2.927
Vitamina B-6[3]	0.590
Vitamina B-12[4]	0.00
Vitamina A, RAE[4]	0
Vitamina A[5]	0
Vitamina D (D2 + D3)[4]	0.0
Vitamina D[5]	0

[1]gramos (g), [2]kilocalorías (Kcal), [3]miligramos (mg), [4]microgramos (µg), [5]Unidades Internacionales (UI).
USDA (2011)

Cuadro 4. Composición química y valor nutritivo del grano entero y sus fracciones

Fracción	%	Cenizas (%)	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Almidón (%)
Grano entero	100.0	1.7	12.3	3.6	73.8
Endospermo	82.3	0.4	12.3	0.6	82.5
Germen	9.8	10.4	18.9	28.1	13.4
Pericarpio	7.9	2.0	7	4.9	34.6

Domanski y col (1997)

1972). Las fluctuaciones en el contenido proteínico del grano van acompañadas, por lo general, de cambios en la composición aminoácida del grano y su proteína (Waggle y Deyoe, 1966; FAO, 1990). La calidad de la proteína está en función primordialmente de su composición en aminoácidos esenciales (AAE) (**Cuadro 5**).

Las proteínas del sorgo son en general altas en los aminoácidos Leucina, ácido Glutámico, Alanina, Prolina y ácido Aspártico, siendo Lisina, Metionina y Triptófano los más limitantes (Domanski y col, 1997). Las distintas partes del grano difieren en cantidades de proteína y en la proporción de los diversos tipos de esta. En el germen y en la cáscara casi no hay prolaminas; éstas predominan en el endospermo. En consecuencia, las proteínas del germen tienen mayor valor nutritivo que las del endospermo. En las proteínas del germen Lisina, Treonina, Metionina y Cistina alcanzan niveles de 4.1, 3.4, 1.5, 1.0%; mientras que, en las proteínas del endospermo, constituyen sólo el 1.1, 2.8, 1.0 y 0.8% respectivamente. Entre los aminoácidos limitantes de la proteína del sorgo han sido señalados por varios investigadores la Lisina, Metionina, Triptófano, Treonina, Arginina y Glicina (Azuara, 1999).

Las proteínas de los granos, según sus características de solubilidad, se clasifican generalmente en cuatro fracciones de proteínas: Albúminas (hidrosoluble), Globulinas (solubles en una solución salina diluida), Prolaminas (solubles en alcohol) y Glutelinas (solubles en soluciones alcalinas o ácidas diluidas) (FAO, 1990). En muchos aspectos, la proteína endosperma de sorgo es similar a la del maíz. Ambas proteínas contienen un gran porcentaje de prolamina (fracción soluble en alcohol) que es deficiente en el aminoácido esencial Lisina.

b Carbohidratos

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 (Llopart y col, 2011). El almidón del sorgo consiste en Amilopectina, un polímero de cadena ramificada de la glucosa, y de Amilosa, un polímero de cadena lineal. Con unos valores que van del 56 al 73 %, el contenido medio de almidones del sorgo es del 69,5 % (Jambunathan y Subramanian, 1988). Alrededor del 70-80 % del almidón del sorgo es Amilopectina, mientras que el

restante 20-30 % es Amilosa (Deatherage y col, 1955). Factores tanto genéticos como ambientales

Cuadro 5. Contenido de aminoácidos esenciales de sorgo

Aminoácido	Sorgo	% aa FAO*
Lisina	2.4	4.3
Treonina	3.3	3.3
Valina	4.8	2.8
Isoleucina	3,8	4.3
Leucina	13.3	4.9
Tirosina	1.8	2.5
Fenilalanina	4.9	2.9
Triptófano	1.0	1.1
Metionina	1.2	1.7

***Composición de aminoácidos recomendada por la F.A.O. en el balance proteico de la dieta humana.**

Domanski y col (1997)

influyen en el contenido de amilosa del sorgo (Ring y col, 1982). El almidón se encuentra en el endospermo (tanto vítreo y harinoso) y en el pericarpio del grano que es una característica única del sorgo (Rooney y Serna- Saldivar, 2003). Los gránulos de almidón de sorgo varían de 2 a 30 µm de diámetro, con gránulos en el endospermo córneo poligonales y más pequeños que aquellos de endospermo harinoso, que son más de forma redonda (Serna-Saldivar y Rooney, 1995). La naturaleza química del almidón, especialmente el contenido de amilopectina y de amilosa, es también otro factor que repercute en la digestibilidad, la cual resultaba superior con una amilosa baja, como la del sorgo ceroso, que en los granos normales de sorgo (FAO, 1990).

c Lípidos

El contenido de grasa cruda del sorgo es del 3 %, es superior al del trigo y arroz, pero inferior al del maíz. Las capas de germen y aleurona son los principales determinantes de la fracción de lípidos. El germen en sí aporta un 80 % de la grasa total (Rooney y Serna-Saldivar, 1991). Como la grasa del grano se halla mayormente localizada en el germen, en los mutantes del sorgo con la gran fracción del embrión, el contenido de grasa es superior (5.8 a 6.6 %) al normal (Jambunathan, 1980). Las variaciones en el contenido de grasa del grano se atribuían en parte a los diferentes sistemas de solventes que se habían utilizado para la extracción de la grasa del grano. La composición de ácidos grasos de la grasa de sorgo (49 % de ácido Linoleico, 31 % de Oleico, 14 % de Palmítico, 2.7 % de Linoleico y 2.1 % de Esteárico) era análoga a la del maíz, pero resultaba más insaturada (FAO, 1990).

d Vitaminas

El sorgo y los mijos son en general ricas fuentes de vitaminas B. Algunas variedades de endospermo amarillo de sorgo contienen beta-caroteno, que podría ser convertido en vitamina A por el cuerpo humano. Blessin y col (1958) aislaron carotenoides de sorgo y los identificaron como Gluteina, Zeaxantina y beta-caroteno. Suryanarayana Rao y col (1968) analizaron varias variedades de sorgo

para ver cuál era su contenido en betacaroteno. Las variaciones a este respecto eran muy grandes y los valores iban de 0 a 0.097 mg / 100 g de la muestra de grano. Dada la naturaleza fotosensitiva de los carotenos, y la variabilidad debida a factores ambientales, es probable que sea limitada la importancia de las variedades de sorgo de endospermo amarillo como fuente alimentaria de vitamina A. En el grano de sorgo también se han encontrado cantidades detectables de otras vitaminas liposolubles, a saber, D, E y K. El sorgo tal como se consume comúnmente no es una fuente de vitamina C. Al germinar, se sintetiza una cierta cantidad de vitamina C en el grano y al fermentar se produce un aumento del contenido de vitamina (Taur y col, 1984).

Estudios recientes han demostrado también que las necesidades de los conejillos de indias por lo que respecta a la vitamina C en dietas isonitrogenadas, isocalóricas y nutricionalmente suficientes, a base de sorgo, eran de 40 mg por día frente a 2 mg en la dieta a base de caseína. Niveles superiores de ácido ascórbico alimentario contenían este tipo de dietas por lo que se ve un efecto economizador de niacina en la dieta a base de sorgo. Entre las vitaminas B, las concentraciones de Tiamina, Riboflavina y Niacina que hay en el sorgo son comparables a las del maíz. Se han observado amplias variaciones en los valores señalados especialmente para Niacina por diferentes investigadores (Hulse y col 1980). Tanner y col (1947) señalaron el altísimo contenido de Niacina de 9.16 mg / 100 g del sorgo.

Adrian y col (1970) aplicaron diferentes procedimientos de extracción y llegaron a la conclusión de que en el sorgo entre el 20-28 % de Niacina era extraíble en agua fría y por lo tanto biológicamente disponible, comparada con el 45 % del maíz. Carter y Carpenter (1981, 1982) demostraron que Niacina del grano de sorgo se hallaba presente como un complejo de gran peso molecular. Resultaba disponible biológicamente para las ratas después de un tratamiento con solución alcalina del grano, pero no después de hervir en agua. En los cereales hervidos, el contenido de Niacina total en el grano de arroz era de 7.07 mg /100 g, en el de trigo de 5.73 mg/100 g, en el de sorgo de 4.53 mg/100 g, y en el de maíz de 1.88 mg/ 100 g. La proporción de Niacina total disponible para las ratas en el arroz fue de 41 %, en el trigo de un 31 %, en el sorgo en 33 % y en el maíz en un 37 %. Así pues, la biodisponibilidad de Niacina en los granos de cereales resultó ser limitada (Wall y Carpenter, 1988). Otras vitaminas B presentes en el sorgo en cantidades notables por son la vitamina B_6 (0.5 mg /100 g), la Folacina (0.02 mg /100 g), el ácido Pantoténico (1.25 mg /100 g) y la Biotina (0.042 mg /100 g) (USNRC / NAS, 1982; FAO 1990).

e Minerales

La composición mineral de los granos de sorgo y de los mijos es muy variable (**Cuadro 6**). Más que los factores genéticos, son más bien las condiciones ambientales que predominan en la región de cultivo las que determinan su contenido de minerales. 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 (Hubbard y col, 1950). Pedersen y Eggum (1983) reportaron que en las harinas de sorgo se verifica una reducción progresiva en los contenidos de minerales como P, Fe, Zn y Cu en relación a los índices cada vez más bajos de extracción. Asimismo, perlar el grano para eliminar el revestimiento fibroso de la semilla origina una gran reducción en el contenido mineral del sorgo (SankaraRao y Deosthale, 1980). Sin embargo, estos estudios han demostrado también que la disponibilidad *in vitro* de hierro, a juzgar por el hierro ionizable expresado en tanto por ciento del hierro total, era superior en el grano perlado. El descascarillado aumenta la disponibilidad de hierro porque la cáscara es rica en fitato, un compuesto que ligándose al hierro y a otros minerales impide su biodisponibilidad (FAO, 1990).

7 Fitoquímicos

El sorgo contiene varios fitoquímicos (que incluyen compuestos fenólicos, esteroles y policosanoles) que son metabolitos secundarios o componentes celulares integrales. Los fenoles ayudan en la defensa natural de las plantas contra plagas y enfermedades, mientras que los esteroles y policosanoles son principalmente componentes de la cera y los aceites vegetales. Los fitoquímicos han ganado un interés creciente debido a su actividad antioxidante, sus propiedades de colesterción y otros beneficios potenciales para la salud; fracciones de sorgo poseen una actividad antioxidante *in vitro* en relación con otros cereales (Awika y col, 2004).

Los fenoles en sorgos se dividen en dos categorías principales: ácidos fenólicos y flavonoides. Los ácidos fenólicos son derivados del ácido benzoico o cinámico (Hahn y col,1983; Waniska y col, 1989), mientras que los flavonoides

Cuadro 6. Composición mineral* del sorgo y de los mijos

Grano	P	Mg	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Mo	Cr
Sorgo	352	171	15	4.2	2.5	0.44	1.15	0.06	0.017
Mijo perla	379	137	46	8.0	3.1	1.06	1.15	0.07	0.023
Mijo coracán	320	137	398	3.9	2.3	0.47	5.49	0.10	0.028

*mg/100 g de materia seca

Sankara Rao y Deosthale (1980, 1983); FAO (1990)

incluyen taninos y antocianinas como los constituyentes más importantes aislados del sorgo hasta la fecha (Krueger y col, 2003). Los fitoesteroles de sorgo son

similares en composición a los del maíz y contienen esteroles o estanoles en su mayoría libres y sus ésteres de ácido graso / ferulo (Singh y col, 2003).

a Taninos condensados

Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua, con un amplio rango de peso molecular (500 a 3,000 daltons), que contienen un gran número de grupos hidroxilo y otros grupos funcionales con los que se unen a proteínas y otras macromoléculas de manera inespecífica (Scalbert y col, 2002).

Se clasifican condensados e hidrolizables. Los taninos condensados, también denominados proantocianidinas, son polímeros de flavan-3-oles y/o flavan-3,4-dioles. Su naturaleza polimérica los hace únicos dentro de los polifenoles. En presencia de calor y medio ácido liberan antocianidinas, de ahí que también se les denomine proantocianidinas. Los taninos condensados se encuentran ampliamente distribuidos en vegetales y son más abundantes en nuestra dieta que los taninos hidrolizables. Los taninos están presentes en sorgo con una testa pigmentada (clasificados como sorgo de tipo II y III). Dado que el color del pericarpio y el color de la planta secundaria del sorgo se controlan genéticamente, es posible desarrollar diferentes combinaciones de pericarpio y color de la planta con y sin los genes pigmentados de testa, lo que abre la posibilidad de niveles y combinaciones de compuestos fenólicos significativamente diferentes (Awika y Rooney, 2004).

Los taninos de sorgo son casi exclusivamente del tipo "condensado". Brandon y col (1982) informaron la presencia de prodelphinidinas en sorgo (Gujer y col, 1986) también encontraron dímeros y trímeros de heteropoliflavanos con luteolinidina glicosilada como prolongador de cadena y eriodictoilo o su glucósido como terminadores de cadena. Krueger y col (2003) observaron gran heterogeneidad en los polímeros de poliflavan-3-ol (procianidina) en términos de enlaces interflavanos (tipo A o B) y también la presencia de patrones de hidroxilación de Gallocatequina / Epigalocatequina en polímeros de tanino de sorgo (Awika y Rooney, 2004).

b Ácido Fítico

El ácido fítico ha sido considerado un factor antinutricional debido a su fuerte capacidad de quelar iones de metal multi-cargada complejos, especialmente Zn, Fe y Ca (Hardland y Oberkas, 1987). El consumo de grandes cantidades de alimentos que contienen niveles altos de ácido fítico podría producir un déficit en la absorción de algunos minerales de la dieta (Reddy y Pierson, 1994).

Del mismo modo, el ácido fítico (hexafosfato de mioinositol), presente en la mayoría de los materiales vegetales como la sal de fitato, es el principal reservorio de fósforo en semillas maduras. Su asociación con proteínas quela iones metálicos para formar complejos de proteína-mineral-fitato que son altamente insolubles en el pH fisiológico de intestino humano (Alemu, 2009). El ácido fítico sirve como una importante reserva de fosfato generado por la acción de la fitasa durante la germinación de semillas para el desarrollo de la plántula. Sin embargo, esta conversión depende de las condiciones de germinación. A medida que el fitato no puede ser absorbido y los seres humanos tienen una capacidad limitada para hidrolizar esta molécula, un efecto adverso del ácido fítico sobre la biodisponibilidad de minerales se predice (Pawar e Ingle, 1988). En general, en muchas especies de plantas, 90% de ácido fítico se localiza en la capa de aleurona y sólo 10% en el embrión. Hay muchos factores, como la genética, fluctuaciones ambientales, ubicación, condiciones de riego, tipo de suelos, año y la aplicación de fertilizantes que pueden afectar el contenido de ácido fítico y la disponibilidad de fósforo en los cereales. Durante la germinación, la sal de fitato se degrada por la acción de enzimas de fitasa que proporciona el crecimiento de plántulas con fosfato (Hardland y Oberkas, 1987).

c Ácidos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas superiores, sintetizados durante el desarrollo de la semilla; la planta los utiliza como fuente de aminoácidos, aunque su principal función parece ser la defensa de la planta frente a hongos, insectos y nemátodos (Huerta-Ocampo y Barba de la Rosa, 2011). Los ácidos fenólicos constituyen, aproximadamente, un tercio de los fenoles alimentarios; pueden estar presentes en las plantas en formas libres y

ligadas. Los fenólicos ligados pueden estar unidos a distintos componentes de la planta a través de enlaces éster, éter o acetal (Zadernowski y col, 1989).

Los ácidos fenólicos del sorgo existen en su mayor parte como derivados benzoicos o cinámicos. Al igual que en otros cereales, se concentran en su mayor parte en el salvado (cobertura exterior del grano); existen en su mayor parte en formas unidas (esterificadas a polímeros de pared celular), siendo el ácido Ferúlico el ácido fenólico más abundante en sorgo y otros cereales (Adom y Liu, 2002). Varios ácidos fenólicos han sido identificados en el sorgo: Protocatecúico, Cafeíco, p-Cumárico y Sinápico como el más abundante (Hahn 1984; Waniska y col,1989). Se cree que los ácidos fenólicos, como otros fenoles, ayudan en la defensa de las plantas contra las plagas y los patógenos; muestran una buena actividad antioxidante *in vitro* y, por lo tanto, pueden contribuir significativamente a los beneficios para la salud asociados con el consumo de grano entero (Awika y Rooney, 2004). La mayoría de los estudios cuantitativos específicos de los ácidos fenólicos se realizan mediante análisis cromatográfico. En sorgo, los niveles de ácidos fenólicos no se correlacionan con la presencia o niveles de otros fenoles (antocianinas o taninos). Sin embargo, Waniska y col (1989) observaron niveles aumentados de ácidos fenólicos libres en ciertos sorgos con testa pigmentada (que contenía taninos) en comparación con otros sin testa pigmentada. En general, los sorgos tienen niveles de ácidos fenólicos comparables a los de otros cereales (Awika y Rooney, 2004).

d Antocianinas

Las antocianinas han sido ampliamente estudiadas en frutas y verduras debido a sus propiedades antioxidantes y su potencial como colorantes alimentarios naturales. Sin embargo, existen datos limitados sobre los tipos y niveles de antocianinas en los cereales, probablemente porque los cereales nunca han sido considerados como una fuente comercialmente significativa**.** Nip y Burns (1969) identificaron Apigeninidina, Apigeninidina-5-glucósido, Luteolinidina y Luteolinidina-5-glucósido en variedades de sorgo rojo y blanco.

Las antocianinas más comunes en el sorgo son las 3-desoxianocianidinas (Gous 1989). Estas antocianinas tienen una distribución pequeña en la naturaleza y son distintas de las más ampliamente distribuidas Antocianidinas, ya que

carecen de un grupo hidroxilo en la posición C-3 y existen en la naturaleza sustancialmente como agliconas (Clifford, 2000). Las 3-Desoxiantocianidinas son más estables en soluciones ácidas que las antocianidinas comúnmente encontradas en frutas, verduras y otros cereales (Sweeny e Iacobucci, 1981). Esto sugiere una ventaja potencial del sorgo como una fuente comercial viable de antocianinas. Al igual que los taninos, la cuantificación efectiva de las antocianinas se ve obstaculizada por la falta de normas apropiadas, disolventes eficientes de extracción y técnicas de separación (Awika y Rooney, 2004).

8 Propiedades nutracéuticas

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de muerte en los EUA (Sistino, 2003). Varios datos epidemiológicos indican que el consumo de granos integrales reduce significativamente la mortalidad por ECV (Kushi y col, 1999; Slavin y col, 2000; Anderson, 2003). Se cree que los fitoesteroles en las harinas de cereales contribuyen a los efectos beneficiosos. Otros componentes de los granos integrales, incluyendo polifenoles y fibra, también juegan un papel en la prevención de ECV. Por ejemplo, se ha descrito ampliamente un efecto reductor del colesterol de las catequinas y taninos de té y de uva (Santos Buelga y Scalbert, 2000). Los estudios *in vivo* sobre los efectos del sorgo sobre las enfermedades cardiovasculares son escasos. Klopfenstein y col (1981) informaron un efecto de reducción del colesterol de grano de sorgo de tanino bajo cuando se alimentó a cobayas al 58% de la dieta. Este efecto fue mayor que el producido por el trigo, la avena rodada o el mijo perlado.

La obesidad es un problema cada vez mayor en el mundo occidental y está relacionada con varias enfermedades incluyendo enfermedades cardiovasculares y diabetes. El consumo de alimentos (alto en calorías) y el estilo de vida (falta de actividad física) representan la mayor parte de los casos de obesidad. Un cambio radical en cualquiera de estos factores, como exigen muchas estrategias de pérdida de peso, no es fácil de sostener durante largos períodos de tiempo, de ahí el fracaso de las estrategias para producir un impacto sobre la obesidad en la población. Se dispone de numerosos informes sobre la reducción de la ganancia de peso de los animales (ratas, cerdos, conejos, aves de corral) alimentados con sorgo con alto contenido de tanino (Al-Mamary y col 2001; Muriu y col, 2002). Los

mecanismos por los que los sorgos reducen el valor nutricional incluyen la unión de proteínas alimentarias y los carbohidratos (Naczk y Shahidi, 1997) en complejos insolubles que no pueden descomponerse por enzimas digestivas.

A pesar de la evidencia en estudios con animales, no se ha informado sobre cómo estos atributos del sorgo pueden usarse para ayudar a reducir el consumo de calorías en humanos con sobrepeso. También faltan datos epidemiológicos sobre los seres humanos en esta área, probablemente porque en los lugares donde se consumen sorgos de taninos, la obesidad no suele ser un problema debido a diferentes estilos de vida, consumo diario de calorías y otros factores. En ciertos cultivos de África, el sorgo de tanino se prefiere a otros cereales, ya que tiene un "poder de permanencia" más largo en el estómago, es decir, ofrece un valor de saciedad duradero (Awika y Rooney, 2004).

Es esencial evaluar la posibilidad de utilizar esta información para luchar contra la obesidad en los seres humanos. Los alimentos a base de cereales (cereales para el desayuno, pan, galletas, aperitivos extruidos, etc.) son comunes y consumidos en muchas partes del mundo. Los granos de sorgo y sus fracciones molturadas (salvado) pueden ser utilizados como partes de ingredientes en dichos alimentos. Los granos de sorgo de taninos altos se incorporaron en pan y galletas hasta un 15% y 30% respectivamente, sin diferencias significativas en los perfiles de textura o sabor en comparación con los productos de trigo integral (Gordon, 2001).

Los alimentos a base de cereales integrales son un medio viable de combatir la obesidad, ya que se consumen más consistentemente que la mayoría de los otros alimentos y contribuyen con una parte significativa de la ingesta diaria de calorías (Awika y Rooney, 2004).

Se han documentado los efectos positivos del consumo de sorgo y / o mijo en el cáncer. Van Rensburg (1981) informó que el consumo de sorgo se correlacionó consistentemente con la baja incidencia de cáncer de esófago en varias partes del mundo (varias partes de África, Rusia, India, China, Irán, etc.). Chen y col (1993) informaron resultados similares de datos epidemiológicos de la provincia de Sachxi, China. Estos autores estudiaron 21 comunidades dentro de la provincia durante un período de 6 años y encontraron que las regiones que consumían mayores cantidades de sorgo y, en menor medida, de mijo, tuvieron 1.4-3.2 veces

menor mortalidad por cáncer de esófago que las áreas que consumieron principalmente harina de trigo o maíz (Awika y Rooney, 2004).

B GERMINACIÓN

La germinación es un proceso que consiste en la absorción de agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento del embrión de una semilla (Pérez-Pérez y Pavón-Hernández, 2007)

La formación de una semilla y su germinación constituyen fenómenos adaptativos únicos en el ciclo de vida de las plantas superiores. Involucran el desarrollo del embrión y median varios procesos fisiológicos para asegurar la supervivencia de la planta en la próxima generación. Durante la formación de la semilla se acumulan las sustancias de reserva (proteínas, carbohidratos y lípidos), aunado a un incremento en los niveles de ácido abscísico (ABA) durante la embriogénesis intermedia y la pérdida del contenido de agua durante la embriogénesis tardía. Una vez formada, en la gran mayoría de las especies, la semilla pasa a un estado de desecación y posteriormente de latencia hasta el momento de la germinación (Legaria-Solano y col, 2000).

La germinación consiste en la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento activo de los tejidos del embrión, lo que resulta en la ruptura de la cubierta de la semilla y la emergencia de una plántula. En orden secuencial, la germinación involucra la rehidratación, la utilización de las reservas y la formación de las estructuras de síntesis que permitirán a la plántula asumir un modo autótrofo de existencia (Kermode, 1990; King, 1991). En términos bioquímicos la germinación es el resultado de procesos catabólicos y anabólicos contrastantes. Los primeros ocurren en los órganos de almacenamiento (endospermo en plantas monocotiledóneas y cotiledones en dicotiledóneas) y consisten en la degradación y movilización de las macromoléculas de reserva. Los segundos se efectúan en los ejes embrionarios e incluyen la síntesis de macromoléculas, componentes estructurales como membranas y paredes celulares, para generar nuevas células y tejidos durante el crecimiento (Kermode, 1990).

1 Proceso de germinación

Una semilla llega a su estado de madurez cuando se presenta una interrupción en el crecimiento del embrión. Esto puede ser una pausa en el crecimiento de la planta denominada reposo. Se pueden diferenciar dos tipos de reposo: latencia y quiescencia. Latencia es un estado en el que, aunque reinen condiciones favorables de temperatura moderada, agua adecuada y aireación, el crecimiento y el desarrollo no tienen lugar hasta que se experimentan condiciones como secado de la semilla, exposición de la misma a luz solar, ultravioleta y/o infrarroja; tiempo y temperatura, o la adición de agentes químicos.

Quiescencia es la prevención del crecimiento por la ausencia de algunas de las condiciones básicas para el crecimiento normal; la semilla tiene la capacidad de permanecer así por tiempo prolongado hasta que se presenten las condiciones adecuadas para seguir creciendo (Robbins y col,1974**;** Villers, 1979; Footitt y Cohn, 1992). Para que la semilla de origen a una planta el primer paso es la germinación.

La germinación es la capacidad de las semillas para crecer en el momento en que se den las condiciones adecuadas de agua y temperatura entre otras, o la reanudación del crecimiento activo del embrión que rompe la cubierta de la semilla y da lugar a una nueva planta. Son varios los eventos que ocurren durante este tratamiento, el inicio se da con la captación de agua por la semilla (imbibición) (Robbins y col, 1974; Bradford, 1990).

a Imbibición

Es el período durante el cual la semilla absorbe (embebe) agua y se hincha. El agua que rodea a la semilla pasa a través de las envueltas seminales, penetra en su interior y al llegar al embrión, en cantidad suficiente, éste se activa y comienzan los procesos que terminarán en el desarrollo de la planta (De la Cuadra, 1993).

La rehidratación de la semilla es una de las fases bioquímicamente cruciales durante el proceso de germinación. La captación de agua generalmente es un proceso trifásico que se caracteriza por un periodo inicial de ganancia en peso, seguido de una fase estacionaria con un subsecuente incremento que coincide

con el crecimiento de la radícula. Este proceso se puede llevar a cabo en algunas horas hasta varios días (Meredith y Pomeranz, 1985; Fincher, 1989).

El agua se absorbe a través de los orificios naturales en la cubierta, difundiéndose a lo largo de los tejidos; esto ocasiona un incremento en el volumen de las células y de la semilla. Los cuerpos proteínicos del endospermo sufren alargamiento e hinchamiento. De los componentes del endospermo las proteínas son las que absorben agua en mayor proporción (Chavan y Kadam, 1989). Es evidente que una máxima absorción de agua es deseable, sin embargo; una absorción excesiva puede romper la cubierta de la semilla y afectar la germinación puesto que las sustancias celulares van hacia el exterior ocasionando: 1) Pérdidas de reservas, 2) Pérdida de la compartamentalización con mezclas indeseables de sustancias (por ejemplo, energía celular en forma de ATP que puede ser degradado por ATPasa) y 3) Estímulo a la actividad de patógenos del ambiente (Chavan y Kadam, 1989).

b Iniciación del metabolismo activo del embrión

El embrión es una planta en miniatura formada por un corto eje embrionario unido a una o dos «hojas» llamadas cotiledones (De la Cuadra, 1993). Después de que la semilla ha captado el agua suficiente, el embrión se transforma y la plúmula y radícula empiezan a emerger; en esta etapa probablemente hay síntesis y activación enzimática, degradación de inhibidores y cambios profundos en la estructura de la semilla, así como su composición. Existe un incremento en los niveles de metabolitos intermediarios y enzimas, asociados con la producción de energía, particularmente el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Esto se ve reflejado por el aumento en la velocidad de intercambio gaseoso (Duffus y Slaughter, 1980; Chavan y Kadam, 1989).

2 Factores que influyen en la germinación

Debe tenerse en cuenta que la germinación es un proceso fisiológico controlado por múltiples factores (temperatura, agua, presión parcial de oxígeno, luz), pudiendo examinarse para cada uno de ellos la homogeneidad fisiológica de las semillas (mínimo, óptimo y máximo). La germinación de una muestra de semillas en determinadas condiciones clasifica a las semillas en dos conjuntos

mutuamente excluyentes; las que germinan en esas condiciones y las que no lo hacen. En este sentido, se habla de una evaluación de la homogeneidad fisiológica de esas semillas. Un estudio de la capacidad de germinación permite descubrir que factores ambientales influyen en el proceso de germinación y desempeñan un papel central como medida de la homogeneidad fisiológica de las semillas (Lallana y col, 2002).

a Tiempo de cosecha

El tiempo al cual fue cosechado el grano, dependerá de su capacidad germinativa. González-Castañeda y col (2005), reportaron que el porciento de germinación mostraba una tendencia a disminuir conforme aumentaba el tiempo de cosecha, siendo significativamente diferentes los porcentajes de germinación, 71.20%, 65.45% y 60.06% para 30, 60 y 90 días, respectivamente.

b Remojo

Se han sugerido diferentes métodos para estudiar los cambios durante la germinación. Estos métodos recomiendan un remojo antes del tratamiento, en una relación aproximada de 1:3 (semilla/agua p/v), hasta que la semilla no absorba más agua. El tiempo de remojo depende del peso de la semilla y en menor grado del tamaño de la misma, así como de la permeabilidad de la capa externa y de la temperatura de remojo (Mora-Escobedo y col, 1991).

c Temperatura

La temperatura es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Del mismo modo, en el proceso de germinación pueden establecerse unos límites similares. Por ello, las semillas sólo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. Si la temperatura es muy alta o muy baja, la geminación no tiene lugar, aunque las demás condiciones sean favorables (Azcón-Bieto y Talón, 1993).

Se considera una temperatura adecuada aquella que da mejores rendimientos en corto tiempo, siendo ésta dependiente del tipo de semilla. Se reportan temperaturas que van desde 21°C hasta 33°C (Paredes-López y Mora-Escobedo, 1989**;** Mora-Escobedo y col, 1991).

d Inhibidores microbianos

Para inhibir el crecimiento microbiano durante la germinación se utilizan diferentes agentes: hipoclorito de sodio (Lukow y Bushuk, 1984), formaldehido, mezcla de formaldehido-metanol, alcohol etílico al 70% y $CaCl_2$ al 3% (Colmenares de Ruíz y Bressani,1990).

e Estrés osmótico

La exposición de las semillas a concentraciones altas de NaCl u otros agentes osmóticos puede bloquear su habilidad germinativa al inducir cambios en actividades metabólicas asociadas a diferentes fases del proceso de germinación (Bewley, 1997; Garciarrubio y col, 1997). Se han realizado algunos estudios sobre la regulación de la síntesis de proteínas en semillas bajo estrés osmótico o tras la estimulación de ABA. En ejes embrionarios de chícharo mantenidos en polietilenglicol (PEG), la tasa de síntesis de proteínas disminuye para después incrementarse al imbuirlos en agua (Dell'Aquilla y Bewley, 1989). En presencia de este mismo agente osmótico, no se sintetizan las llamadas "proteínas específicas del crecimiento". En otros estudios, Dell'Aquilla y Spada (1992) indican que el PEG puede reducir la toma de agua y la síntesis de proteínas en semillas de trigo, lo que sugiere que el estrés osmótico puede afectar procesos bioquímicos involucrados en la emergencia de la radícula.

3 Cambios durante la germinación del grano

La germinación es uno de los procesos más antiguos utilizados en todo el mundo para la obtención de alimentos, tiene efectos importantes sobre la composición química, valor nutricional y características de aceptabilidad de las semillas germinadas tanto de cereales como leguminosas. Durante la germinación la semilla sufre biosíntesis, degradación y transporte de compuestos como

carbohidratos, grasas y proteínas con la finalidad de nutrir a la plántula en desarrollo (Colmenares de Ruiz y Bressani, 1990; Perales-Sánchez y col, 2014; Salas-López y col, 2018; Chavarín-Martínez y col, 2019).

Las sustancias de reserva durante la germinación son hidrolizadas y transportadas al eje embrionario en crecimiento, lo que lleva aparejado un cambio en las estructuras que la contienen. El carbohidrato de reserva más importante es el almidón que se encuentra en forma de gránulos en el citoplasma. Los lípidos, (constituidos principalmente como grasas neutras) están acumulados en organoides con membrana, llamados esferosomas que se encuentran distribuidos al azar en el citoplasma. Además de los carbohidratos, lípidos y proteínas se encuentran otras sustancias de reserva como fosfato orgánico y varios componentes inorgánicos. Las proteínas de reserva denominadas de este modo por creerse que no desempeñan función alguna metabólica o estructural, están acumuladas en cuerpos específicos, los denominados cuerpos proteínicos que se encuentran distribuidos al azar en el citoplasma (Lallana y col, 2002).

El proceso de germinación genera grandes cambios nutricionales comparados con la semilla sin germinar, debido a que mejora la calidad de las proteínas, mejora distribución de aminoácidos, alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, incrementa la biodisponibilidad de minerales y vitaminas, así como, disminución de factores antinutricionales como fitatos e inhibidores de tripsina (Chavarín-Martínez y col, 2019).

4 Efecto de la germinación sobre la composición química del grano

Nirmala y Muralikrishna (2002) reportaron una disminución del 34% en contenido de almidón del mijo después de remojo durante 24 h, germinación a 25°C durante 96 h y secado a 50°C durante 12 h. Tanto la germinación comparativamente alta, la temperatura y el tiempo de germinación prolongado pueden contribuir a un alto grado de hidrólisis del almidón.

Se ha reportado que tanto el contenido de azúcares solubles totales (AST) como el de azúcares reductores (AR) se incrementan después de la germinación de cereales. La fibra dietaria total en trigo aumento 118% en el estudio de Lee y col (2004) después de la germinación de 168 h; fibra dietética insoluble y soluble aumentaron 106 y 145%, respectivamente. De acuerdo a un estudio de Wijngaard

y Ulmer el contenido de AST en el trigo sarraceno se incrementó en un 9% después de 120 h de germinación y luego disminuyó 23% después de otras 24 h de germinación.

Charoenthaikij y col (2009) reportaron un aumento menor de la proteína bruta (5%) cuando el grano de arroz se remojó durante 15 min, germinó a 35 °C / 24 h, y secó a 55 °C. Moongngarm y Saetung (2010), reportaron un aumento del 29% de proteína cruda en arroz; el grano se remojó a temperatura ambiente por 12 h, germinó a 28-30°C/24 h y secó a 50 °C.

López-Ortiz y col (2011), al germinar sorgo adaptado al suelo de Texas, no encontraron diferencias significativas en el contenido de proteínas entre el sorgo nativo y germinado; explicaron que este fenómeno podría deberse por un posible sistema de equilibrio para los procesos de degradación y síntesis de proteínas en el proceso de germinación, ya que la proteína es uno de los principales sustratos para el crecimiento y el desarrollo de la planta, además destacaron que aunque se modifique o no el contenido de proteína durante la germinación, este proceso mejora su disponibilidad y por ende su valor nutricional.

Perales-Sánchez y col (2014) germinaron granos de amaranto, utilizaron como herramienta la metodología de superficie de respuesta y, al aplicarla, encontraron las condiciones óptimas de germinación del grano para lograr valores máximos de actividad antioxidante, contenido de compuestos fenólicos totales y digestibilidad proteínica *in vitro* en la harina de amaranto germinado optimizada (***HAGO***); las condiciones óptimas de germinación fueron temperatura de germinación = 30°C / tiempo de germinación = 72 h). Al llevar a cabo la germinación de granos de amaranto aplicando esas condiciones óptimas observaron un incremento del 40% en el contenido de proteínas, el cual se le atribuye a la pérdida de material químico a través del proceso de germinación; también reportó un decremento en el contenido de lípidos de un 30%, el cual se le atribuyó al uso de lípidos como fuente de energía durante la germinación.

Salcido-Luque y col (2015) germinaron tres variedades de sorgo con condiciones óptimas de temperatura y tiempo de germinación de 37ºC y 69h, respectivamente. Ellos observaron cambios en la composición química de los germinados con respecto al grano sin procesar. Algunos de los cambios observados fueron el incremento significativo en el contenido de proteína, el cual

se atribuyó a la síntesis de nuevos tejidos que conforman la plántula en desarrollo. El contenido de grasa disminuyo alrededor de 2.76 a 3.55 %, lo que pudiera deberse a los cambios bioquímicos y fisiológicos que se produjeron; los cuales requieren de energía.

.

5 Efecto de la germinación sobre valor nutricional de los granos

La germinación es una técnica de procesado de bajo costo, útil para incrementar el valor nutricional de las semillas de cereales, pseudocereales y leguminosas; se consigue incrementar la digestibilidad de proteínas y carbohidratos, el contenido en algunas vitaminas (Riboflavina, Niacina, ácido Ascórbico), además de reducir e incluso eliminar componentes antinutricionales. Generalmente, estos compuestos forman parte de las sustancias de reserva de la semilla y durante el proceso de germinación son degradados y utilizados en el desarrollo de la plántula (Chavarín-Martínez y col, 2019; Salas-López y col, 2019).

Nic Phiarais y col (2008) estudiaron los cambios en el contenido de proteína de trigo sarraceno durante la germinación. El trigo sarraceo se remojo durante 12 h, se germinaron por 108 h, y malteo por 119 h. Las muestras se liofilizaron y se molieron. El contenido de aminoácidos libres de trigo malteado mostró un incremento, el ácido Glutámico se incrementó en más del 109%, y la actividad proteolítica aumentó 48% durante la germinación.

6 Efecto de la germinación sobre niveles de fitoquímicos, actividad antioxidante y propiedades nutracéuticas de los granos

El bioproceso de germinación tiene un efecto significativo sobre los niveles de fitoquímicos, capacidad antioxidante y propiedades nutracéuticas de los granos; estos cambios están estrechamente relacionados con el tipo de grano y condiciones de germinación (tiempo de remojo, temperatura y tiempo de germinación) (Chavarín-Martínez y col, 2019; Salas-López y col, 2019).

Pasko y col (2008) determinaron los contenidos de antocianinas, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de dos variedades (Aztek, Rawa) de semillas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) y quinoa (*Chenoipodium quinoa*) y sus germinados. La actividad antioxidante, determinada por FRAP, de las semillas evaluadas decreció en el siguiente orden: Quinoa, amaranto var Rawa, amaranto

var Aztek; cuando la cuantificación se realizó mediante ABTS y DPPH la capacidad antioxidante decreció en el orden: Quinoa, amaranto var Aztek, amaranto var Rawa. La actividad antioxidante de los germinados dependió del tiempo de germinación; en el caso de amaranto los valores más altos se alcanzaron al cuarto día mientras que en el caso de quinoa se observaron al sexto día de germinación. La actividad antioxidante, determinada por los tres métodos, mostró correlación significativa con el contenido de compuestos fenólicos totales tanto en semillas como en germinados. Los resultados obtenidos demuestran que las semillas y germinados de los pseudocereales evaluados poseen actividad antioxidante relativamente alta. Los germinados mostraron actividad antioxidante significativamente mayor que las semillas; esto está relacionado con las diferencias en el contenido de antocianinas, compuestos fenólicos totales y otros compuestos.

Perales-Sánchez y col (2014) aplicaron la metodología de superficie de respuesta (MSR) para optimizar las condiciones de germinación de semillas de amaranto con el objetivo de producir harina de amaranto germinada optimizada con los máximos valores de posibles de actividad antioxidante (***AAox***), contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT)*** y flavonoides totales (***FT***). El bioproceso de germinación incrementó ***AAox***, ***CFT*** y ***FT*** en 470%, 829% y 213%, respectivamente, comparado con grano crudo. El bioproceso de germinación es una estrategia eficaz para incrementar ***CFT*** y ***FT*** y mejorar la funcionalidad a través del mejoramiento de la ***AAox***.

Salcido-Luque y col (2015), optimizaron condiciones de germinación (temperatura / tiempo) de grano de sorgo utilizando la metodología de superficie de respuesta para maximizar la concentración de contenido de proteína y actividad antioxidante. La germinación de granos de sorgo en condiciones óptimas incrementó la actividad antioxidante, evaluada por ORAC, en 3.3-5.0 veces en los granos de sorgo estudiados.

C EXTRUSIÓN

La palabra extrudir proviene del latín “extrudere” que significa empujar o presionar hacia afuera (Fellows 1990). La tecnología de extrusión es un proceso continuo que combina el corte mecánico y calor para obtener productos

plastificados y reestructurados con nuevas formas y texturas. El fundamento del proceso es combinar las operaciones unitarias de transferencia de calor, amasado y presión en una sola, lo que produce cambios significativos en la textura de cereales (Zhao y col 2011; Reyes-Moreno y col, 2018)

Los materiales sometidos al proceso de extrusión, en general, sufren transformaciones químicas, estructurales y nutricionales como: (1) Gelatinización parcial del almidón, (2) Desnaturalización parcial de proteína, (3) Oxidación de lípidos, (4) Degradación de vitaminas y fitoquímicos, (5) Aumento en biodisponibilidad de minerales, (6) Incremento en contenido de fibra dietaria soluble, (7) Formación de sabores. A partir de este tipo de procesamiento se obtienen productos de valor nutricional alto, con propiedades fisicoquímicas específicas. La extrusión se ha utilizado para la fabricación de varios tipos de alimentos, como botanas, cereales para desayuno, pastas, productos de confitería harinas precocidas, bebidas y proteínas vegetales texturizadas (Serna-Saldívar y col, 1991; Milán-Carrillo y col, 2000; 2005; Zhao y col, 2011; Reyes-Moreno y col, 2012, 2018). El calor se aplica directamente por inyección de vapor o indirectamente a través de una chaqueta que se encuentra en el extrusor o por la conversión de la energía mecánica. La temperatura final del proceso puede ser hasta de 230°C; el tiempo de residencia es relativamente corto con tiempos de 10-60 s. La cocción por extrusión se reconoce como un proceso de temperatura alta - tiempo corto (HTST por sus siglas en inglés) (Mercier 1993). Este procesamiento minimiza la degradación de nutrimentos por la acción del calor y mejora la digestibilidad por la gelatinización y desnaturalización parcial/total de almidón y proteínas, respectivamente; también destruye la mayoría de los factores antinutricionales de la materia prima (Reyes-Moreno y col, 2018).

La extrusión es un proceso que combina varias operaciones unitarias, incluyendo mezclado, cortado, calentamiento, enfriamiento y formación del producto. Involucra compresión y trabajo sobre un material para formar una masa semisólida bajo condiciones controladas y, finalmente, se forza a pasar esta masa semisólida a través de un área diminuta a una velocidad determinada (Ganjyial y col, 2003).

La cocción por extrusión es una forma especializada, y única en el procesado de materiales amiláceos debido a que se trata de una cocción a niveles de

humedad relativamente bajos, comparado con el horneado convencional o la cocción de masas y pastas. Los niveles normales de humedad utilizados están en el intervalo de 10-40%; sin embargo, a estos niveles de humedad el material se transforma en un fluido dentro del extrusor. Bajo estas condiciones las características físicas de las materias primas, tales como tamaño de partícula, dureza y el grado de plastificación alcanzado durante el proceso de extrusión llegan a ser determinantes para la transformación final del material (Gámez-Valdez y col, 2017; Reyes-Moreno y col, 2018). Otra característica de la cocción por extrusión es que, debido a los esfuerzos de corte que se desarrollan durante el transporte del material en el extrusor, la temperatura se eleva rápidamente (conversión de energía mecánica en calor por flujo viscoso) y así la estructura del material sufre transformaciones profundas en pocos segundos. La masa de partículas, generalmente harinas de cereales y/o leguminosas, hidratada apropiadamente, se convierte en un fluido de viscosidad alta. A medida que el fluido se transporta los elevados esfuerzos de corte en combinación con temperatura alta transforman a los elementos estructurales del material (gránulos de almidón, estructuras proteínicas) (Ganjyial y col, 2003).

Las condiciones del proceso de extrusión representan un papel muy importante en la calidad de los extrudidos. El control del proceso de extrusión del producto depende de los parámetros de los procesos primario y secundario. Los parámetros del proceso primario incluyen; (1) Velocidad de alimentación, (2) Velocidad de tornillo, (3) Temperatura del cilindro, (4) Contenido de agua, (5) Formulación de alimentación, y (6) Configuración de tornillo y matriz. Los parámetros del proceso secundario incluyen: (1) Temperatura de la matriz, (2) Presión y (3) Esfuerzo de torsión (Gámez-Valdez, 2017).

La extrusión tiene un profundo efecto en la estabilidad de las vitaminas en alimentos extrudidos. Temperaturas de extrusión más altas y contenidos bajos de humedad en la alimentación favorecen la degradación de ácido ascórbico durante la extrusión (Killeit, 1994).

1 Efecto de la extrusión sobre composición química de cereales

La extrusión térmica expone a las proteínas a temperaturas y presiones altas y esfuerzos mecánicos intensos, los que se combinan para convertir a los

materiales proteínicos en una masa plástica continua. A medida que esta masa viaja a través del extrusor, las características del flujo hacen que las cadenas de proteínas se alineen en capas paralelas al tornillo, formando una matriz tridimensional de polipéptidos parcialmente asociados, entre la cual se encuentra atrapada el agua. Cuando la presión se libera a la salida del dado, se busca una vaporización de la humedad, lo que resulta en la formación de partículas de proteína fibrosas y porosas. Esta estructura conserva la capacidad de retener agua debido a la disposición de los grupos reactivos en el espacio (Stanley, 1998).

Las condiciones del procesamiento por extrusión (temperatura alta y contenido de humedad bajo) favorecen la reacción de Maillard de grupos amino con azúcares reductores que resultan en pérdidas de aminoácidos (p. ej. disminución de Lisina disponible) y formación de compuestos coloreados. Los cambios químicos durante el cocimiento por extrusión se deben en mayor parte a la forma e intensidad del tratamiento térmico (Ilo y Berghofer, 2003).

En relación a los cambios que suceden en lípidos, el producto extrudido sufre un proceso de emulsión debido a la fuerte presión a que son sometidas las finas gotas de grasa y son recubiertas por los almidones y proteínas, quedando la grasa encapsulada. Para realizar la determinación correctamente es necesario emplear el método de hidrólisis ácida y extracción posterior, ya que con el método de extracto etéreo no se consiguen los resultados que corresponden en realidad al producto. Generalmente las lipasas y peroxidasas son inactivadas durante el proceso de extrusión en condiciones normales, mejorando la estabilidad posterior del producto (Valls,1993).

La base física de la modificación molecular de amilosa y amilopectina está relacionada con el tiempo de exposición durante el canal del tornillo del extrusor, en donde se establecen efectos mecánicos de presión y fuerza de cizalla, los cuales prevalecen por encima de los efectos térmicos, para el fenómeno de despolimerización (Álvarez-Martínez y col, 1988). Las moléculas de amilosa tienen una gran tendencia a reasociarse y formar puentes de hidrógeno, más que las moléculas de amilopectina. Si ocurre retrogradación, la pasta de almidón se vuelve opaca y forma un gel. Con el tiempo, el gel se vuelve gomoso y con tendencia a perder agua (Raymond y Lloyd, 2002). Estos cambios ocurren

principalmente durante y después de la extrusión; este fenómeno afecta significativamente la textura y otras propiedades de alimentos extrudidos. Las películas formadas dependen del contenido de agua, el tipo de almidón y su interacción con otros ingredientes dentro del sistema. La retrogradación se mide en base a la cristalinidad del producto extruido, mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) y difracción de rayos X (Dendy y Dobraszczyk, 2001).

Los cereales y productos basado de cereales también son una fuente rica de vitaminas (Tiwari y Cummins, 2009). La extrusión tiene un profundo efecto en la estabilidad de las vitaminas en alimentos extrudidos. Temperaturas de extrusión más altas y contenidos bajos de humedad en la alimentación favorecen la degradación de ácido ascórbico durante la extrusión (Killeit, 1994). La estabilidad de vitaminas durante la extrusión ha sido extensivamente estudiado (Camire y col, 1990; Killeit, 1994; Riaz y col, 2009).

Athar y col (2006) estudiaron el efecto de procesamiento de las condiciones de extrusión sobre la estabilidad de las vitaminas. Observaron que las piezas extrudidas obtenidas de extrusores de barril corto (90 mm) tenían una mayor tasa de retención del grupo vitamina B (44-62%) en comparación con 20% para extrusores de barril largo.

2 Efecto de la extrusión sobre valor nutricional de cereales

El valor nutricional de los cereales/pseudocereales ha sido estudiado después de ser sometidos al proceso de extrusión. Durante la extrusión, las condiciones de proceso temperatura alta y contenido de agua bajo favorecen la reacción de Maillard, con repercusiones nutricionales, como pérdida de Lisina disponible. Además, afecta en el aspecto sensorial al formarse compuestos pardos. El oscurecimiento no enzimático no siempre se considera un defecto; en algunos casos es deseable un ligero color dorado en ciertos tipos de productos. Aunque el tiempo de residencia dentro del extrusor es muy corto, la temperatura alta, presión y corte aplicado durante el proceso, causa daños en los componentes del alimento (Berset, 1998).

Reyes-Moreno y col (2002) estudiaron el efecto del proceso de extrusión, acompañado de un acondicionamiento previo denominado descascarillado /

suavización (eliminación de testa / remojo previo del grano en disolución de sales monovalentes de sodio), proceso que denominaron descascarillado / suavización / extrusión (DSE), sobre el valor nutricional de granos de garbanzo (*Cicer arietinum* L). Ellos observaron que el proceso DSE mejoró digestibilidades proteínicas aparente (de 78.9-81.7% a 84.0-87.1%) y verdadera (de 82.5-84.8% a 87.3-91.2%) de los granos de garbanzo.

Gaméz-Valdez (2017) estudió el efecto del proceso de extrusión sobre semillas de quinoa, obteniendo como resultados en cuanto a la digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) un incremento de 21.7% en las semillas sometidas al proceso de extrusión.

3 Efecto de la extrusión sobre niveles y perfiles fitoquímicos

Los compuestos bioactivos en alimentos y productos alimentarios desempeñan un papel vital en el humano proporcionando protección contra enfermedades crónico - degenerativas (Van Dokkum y col, 2008)

Varias variables de proceso de extrusión pueden influir en la composición de los productos extrudidos. Estos incluyen las características de las materias primas, mezcla y acondicionamiento de materia prima, temperatura del barril, presión, velocidad del tornillo, contenido de humedad, velocidad de alimentación, entrada de energía, tipo de residencia, configuración de tornillo, etc. influyen en las propiedades fisicoquímicas de las piezas extrudidas. Las variables de proceso de extrusión crítico tales como temperatura, velocidad del tornillo y el contenido de humedad pueden inducir modificaciones deseables, mejorando la palatabilidad y propiedades tecnológicas de productos extrudidos (Brennan y col, 2011).

Estas condiciones tienen la capacidad de producir influencias tanto positivas o negativas en los compuestos bioactivos de los productos extrudidos. Varios estudios han demostrado que el proceso de extrusión reduce significativamente mensurables compuestos bioactivos en los productos alimenticios. Korus y col (2007) investigaron el efecto de la extrusión sobre la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos en frijol común; ellos observaron disminuciones significativas en AAox.

4 Efecto de la extrusión sobre actividad antioxidante y propiedades nutracéuticas de cereales

Se ha reportado que la AAox se incrementa en productos extrudidos al compararse con granos sin procesar; además se ha reportado que AAox se incrementa al aumentar la temperatura de extrusión (TE). Yilmaz y Toledo (2005) observaron que los productos de las reacciones de Maillard obtenidos del calentamiento de Histidina y glucosa tienen actividad de captación de radicales peroxilo y esto se relaciona fuertemente con el ensayo de ORAC.

Korus y col (2007) observaron una menor actividad antioxidante (***AAox***) para frijol rojo oscuro comparado con frijoles negro marrón y crema coloreada, aunque las piezas oscuro-frijoles rojos extrudidos exhibieron mayor contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) al compararse con frijoles marrón negro y crema extrudidos. En caso contrario White y col. (2010) observaron un aumento en los valores de ***AAox*** evaluada por ORAC (6-30%) de un incremento en ***TE***. El aumento en los valores ORAC podría deberse a los productos formados durante la reacción de Maillard.

Milán-Carrillo y col (2012) y Espinoza-Moreno y col (2016) evaluaron el efecto de la extrusión sobre la ***AAox*** en harina de amaranto y una botana a base de harina de maíz transgénico y frijol común negro, respectivamente. Ellos encontraron un aumento significativo en ***AAox*** en compuestos libres, ligados y totales, determinando que podría deberse a la liberación de compuestos fenólicos antioxidantes durante el proceso de extrusión (Zielinski y col, 2000; Korus y col, 2007)

Gaméz-Valdez (2017) optimizó el proceso de extrusión sobre semillas de quinoa obteniendo como condiciones optimizadas (***TE***= 80ºC / ***VT***= 240 rpm); reportando un incremento de la ***AAox*** de un 15% por el método DPPH en semillas sometidas al proceso de extrusión.

5 Efecto de la extrusión sobre factores antinutrimentales en cereales

La extrusión de frijoles y chícharos con temperatura de extrusión ***TE***=180°C y contenido de humedad (***CH***) de la alimentación de 22% favoreció la eliminación completa de los inhibidores de tripsina (El-Hady y Habiba 2003). El contenido de inhibidores de tripsina en habas y chícharos extrudidos se redujo

significativamente después del proceso de extrusión. La inactivación de lectinas e inhibidores de tripsina se incrementó al aumentar la ***TE*** y el ***CH*** de alimentación de la materia prima (Björck y Asp, 1984).

El-Hady y Habiba (2003) reportaron que el remojo de frijoles y chícharos durante un periodo de 16 h, seguido de procesamiento por extrusión, dio como resultado una mayor eliminación de factores antinutricionales al comparar los granos extrudidos con la materia prima.

Camire (2005) estudiaron el efecto de la extrusión sobre factores antinutricionales; la de los inhibidores de la proteasa se puede lograr con éxito mediante el proceso de extrusión a temperaturas más altas mientras que la inhibición completa del gosipol se puede lograr aumentando el contenido de agua de la alimentación durante el proceso de extrusión.

IV JUSTIFICACIÓN

Se considera que los cereales constituyen la principal fuente calórico-proteínica en la dieta de la población de la mayoría de los países en desarrollo. El sorgo es una buena fuente de fitoquímicos que se han asociado con actividad biológica (antioxidantes, anticarcinogénicos, disminución de riesgos cardiovasculares y problemas asociados a obesidad). El sorgo (*Sorghum bicolor* L) es el quinto cereal de mayor importancia en el mundo, después del trigo, el arroz, el maíz y la avena; es reconocido como un cultivo tolerante a sequía.

Debido al incremento en los últimos años en la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas se ha incrementado la demanda de alimentos y bebidas funcionales. La germinación de cereales y pseudocereales es una estrategia utilizada para mejorar propiedades fisicoquímicas, calidad nutricional, incrementar el contenido de compuestos nutracéuticos [protección y reducción del riesgo de padecer algunas enfermedades crónico degenerativas (cáncer, diabetes, hipertensión, desórdenes neurológicos, enfermedades cardiovasculares)] y reducir el contenido de factores antinutricionales (ácido fítico, taninos, inhibidores de tripsina). La extrusión-cocción, proceso de temperatura alta – tiempo corto, trae consigo varios cambios (desnaturalización parcial de proteínas, gelatinización parcial de almidones, modificaciones en lípidos, retención de compuestos bioactivos, inactivación de microorganismos y enzimas, formación de componentes volátiles que mejoran el sabor, y un incremento en fibra dietaria soluble).

No existen reportes en la literatura de los efectos del procesamiento secuencial germinación-extrusión (nutrimentales, nutricionales, niveles de fitoquímicos, actividad antioxidante, estabilidad microbiológica) sobre el grano de sorgo.

V HIPÓTESIS

La aplicación secuencial de las tecnologías de germinación y extrusión, ambas en condiciones óptimas, causa un incremento en valor nutricional, niveles de fitoquímicos y propiedades nutracéuticas; así como una mayor estabilidad microbiológica en el grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L).

VI OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto del procesamiento secuencial germinación-extrusión de grano de sorgo (S*orghum bicolor* L.) sobre contenido nutrimental, niveles de compuestos fenólicos, actividad antioxidante, valor nutricional, propiedades fisicoquímicas y estabilidad microbiológica.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Optimizar el proceso de extrusión [Temperatura de extrusión (***TE***) 50-160ºC / Velocidad de tornillo (***VT***) 50-240 rpm] utilizando como materia prima harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***), para obtener una harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) con valores de actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad proteínica in vitro (***DPIV***) altos.

2. Conocer la composición química y propiedades fisicoquímicas de harina de sorgo crudo (***HSC***), ***HSGO*** y ***HSGEO***

3. Conocer la digestibilidad proteínica *in vitro* de harinas de sorgo (***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO***)

4. Conocer la ***AAox*** y ***CFT*** de harinas de sorgo (***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO***)

5. Conocer la estabilidad microbiológica de harinas de sorgo (***HSC***, ***HSGO, HSGEO***)

VII MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Como materia prima se utilizaron granos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.), adquiridos en el “Mercado Rafael Buelna” del municipio de Culiacán, SIN, MEX.

B MÉTODOS

1 Características físicas del grano de sorgo

a Dimensiones físicas

Se evaluó longitud, anchura y grosor, utilizando un vernier Scala modelo UNOX (Metro Mex, S.A. México, DF). Las mediciones se realizaron en 25 semillas de sorgo seleccionadas al azar. La determinación se realizó por triplicado (Milán-Carrillo y col, 2002).

b Peso de 1,000 granos

Se determinó pesando 1,000 granos, tomados al azar de un lote de semillas limpias, en una balanza OHAUS (Mod TP2KS, SeedburoEquipment, Co., EUA). La prueba se realizó por triplicado.

c Peso hectolítrico

Se cuantificó según el procedimiento 55-10 de la AACC (1995) utilizando una microescala. Un recipiente de volumen conocido (1 L) se llenó de granos y se pesó en una balanza analítica. El peso hectolítrico se obtuvo al dividir el peso de los granos entre el volumen del recipiente y relacionándolo a un volumen de 100 L (kg/hL). La prueba se realizó con diez repeticiones.

2 Composición química del grano de sorgo

a Humedad

Se determinó aplicando el método 44.15 de la AOAC (1999). Se calculó la pérdida de peso de 2 g de muestra, después de calentar a 130ºC durante 1 h en

una estufa de circulación de aire (FELISA mod 142ª, México). La prueba se realizó por triplicado.

b Proteínas

Se utilizó el método 46.12, microKjeldahl, de la AOAC (1999) para la determinación de nitrógeno en un sistema Kjeltec (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia). Se digirieron 0.2 g de muestra, con 5 mL de ácido sulfúrico y mezcla reactiva de selenio (Merck Co., Alemania) a una temperatura de 200ºC. En la destilación de la muestra, previamente diluida con 25 mL de agua, se emplearon disoluciones de NaOH al 40% y ácido bórico al 4% como indicador para recibir el destilado. La titulación se llevó a cabo con una disolución valorada de HCl 0.1 N. Posteriormente, la proteína cruda se calculó multiplicando el contenido de nitrógeno total por 5.85. La prueba se realizó por triplicado.

c Lípidos

Se determinó de acuerdo al método 920.39 de la AOAC (1999). Las extracciones se realizaron en muestras de 3-4 g de harina, que pasaron a través de malla 80 (0.180 mm). Se utilizó un equipo Soxtec System HT 1043 Extraction Unit (Tecator, Suecia); se empleó como disolvente éter de petróleo. La prueba se realizó por triplicado.

d Minerales

Se utilizó el método 934.01 de AOAC (1999). Se pesó 3 a 5 g de muestra, la cual se colocó en crisol de porcelana, y se sometió a incineración en mufla a 550°C hasta que resulte una ceniza gris luminosa con peso constante. Las muestras incineradas se enfriaron en un desecador, se atemperaron (25ºC) y se pesaron. La prueba se realizó por triplicado.

e Fibra dietaria

Se determinó de acuerdo al método oficial 985.29 de la AOAC (1999), con ayuda de un kit de análisis de fibra dietaria total (TDF-100A, Sigma). Se realizaron

cuatro réplicas de 1 g de muestra cada una, previamente desgrasadas. Las muestras se colocaron en un vaso de precipitado de 300 mL y se le agregaron 50 mL de una solución reguladora de fosfatos (pH 6) a cada muestra. A cada vaso con la muestra se adicionaron 100 µL de α-amilasa. Las muestras se sometieron a tratamiento térmico (95°C/15 min) en agitación constante. Después de este tiempo, las muestras se enfriaron a temperatura ambiente, y el pH se ajustó a 7.5 con NaOH 0.275 M o HCl 0.325 M. Se adicionaron 100 µL de una solución de proteasa (5 mg proteasa) a cada muestra y se sometieron a baño maría a 60°C por 30 min y posteriormente se enfriaron. Se ajustó el pH entre 4-4.6, y se adicionaron 100 µL de amiloglucosidasa, las muestras se colocaron a 60°C por 30 min. Finalmente, las muestras se enfriaron y filtraron (usando filtros Gooch #2, previamente secos con 0.5 g de celita, a peso constante), se hicieron 3 lavados de 20 mL con etanol al 78%, 2 lavados de 10 mL con etanol al 95% y 2 lavados de 10 mL con acetona. El residuo de filtrado se secó en una estufa a 70°C por 12 h. Esta parte del residuo se denomina fracción insoluble.

A la solución del filtrado de la fracción insoluble se le adicionaron 4 veces el volumen de la solución filtrada (280 mL aprox.) con etanol al 95% y se dejó reposar (12h/ 25°C), para posteriormente ser filtrado (usando filtros Gocch #2, previamente secos con 0.5g de celita) y se hicieron los mismos lavados descritos en la fracción insoluble. Al residuo de este filtrado se le denomina fracción soluble. El filtro con el residuo se secó en una estufa a 70°C por 12 h. Se registraron los pesos de la fracción insoluble y soluble; de las cuatro réplicas, se tomaron dos de ellas para cuantificar proteínas y las otras dos para cenizas. El porciento de fibra de la fracción insoluble y soluble se calculó de la siguiente manera:

%FI y/o **FS** = [(**PRFS-Proteina-Cenizas-B**) /**PMI**]*100

Donde:

FI= Fibra insoluble; **FS**= Fibra soluble; **PRFS**= Peso del residuo final seco; **B**=blanco; **PMI**= Peso de la muestra inicial

f Carbohidratos(CHO)

El contenido de carbohidratos en la muestra se calculó por diferencia con el resto de nutrimentos utilizando la siguiente fórmula:

CHO= 100 - % Proteína - % Lípidos - % Minerales - % Fibra dietaria total

3 Propiedades fisicoquímicas del grano de sorgo

a Actividad acuosa (a_w)

Para su determinación se utilizó un equipo marca Aqualab mod CX2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EUA). Una muestra de aproximadamente 2 g se colocó en la celda portamuestras del equipo hasta que alcanzó el equilibrio (40-60 min). El instrumento se calibró con una disolución saturada de cloruro de potasio (a_w= 0.876). Las mediciones se realizaron por triplicado a 25 ± 1°C (Milán-Carrillo y col, 2002).

b Diferencia total de color (*ΔE*)

Se utilizó la metodología reportada por Reyes-Moreno y col (2002). El color de las muestras se determinó en un colorímetro Minolta Chroma-Meter mod CR-210 (Minolta LTD, Japón). La determinación de color se basó en el efecto triestímulo, donde ***L*** mide la brillantez y varía de 100 para un blanco perfecto a cero para negro.

Las dimensiones de cromaticidad son dadas por los parámetros ***a*** y ***b***. El valor positivo de ***a*** está asociado al color rojo y el negativo con el verde. El valor positivo de ***b*** está asociado al color amarillo y el negativo con el azul. Para la evaluación del color se utilizaron aproximadamente 100 g de muestra, la cual se colocó en una tapa de caja Petri de vidrio Kimax de 15 cm de diámetro y se midieron los parámetros correspondientes a ***L***, ***a*** y ***b***. Se usó un mosaico blanco como referencia (estándar) de valores ***L***, ***a*** y ***b*** conocidos (***L***=97.63, ***a***=-0.78 y ***b***=2.85). La diferencia total de color (***ΔE***) de la muestra se calculó con la ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

Dónde: ***ΔE*** = Diferencia total de color entre el estándar y la muestra; ***ΔL***, ***Δa*** y ***Δb*** = Diferencias absolutas de los valores de ***L***, ***a*** y ***b*** del estándar utilizado y los valores correspondientes observados en la muestra.

4 Obtención de harinas de sorgo germinada optimizada (HSGO)

Para la obtención de harinas de sorgo germinada se aplicó la metodología reportada por Salcido-Luque y col (2015) (**Fig 3**). Lotes de 100g de granos de sorgo, se distribuyeron homogéneamente sobre charolas de germinación previamente esterilizadas con NaClO a 1,000 ppm, a las cuales después de

secarse se les colocó una cama de algodón la cual se humectó con 150 mL de NaClO a 200 ppm. Posteriormente se llevaron a la germinadora con las condiciones óptimas previamente establecidas de temperatura de germinación (***TG***)= 37º C / tiempo de germinación (***tG***)= 69 h. Durante el bioprocesamiento los granos se germinaron bajo luz/oscuridad en periodos de 50/50% del tiempo de germinación diario.

Los germinados obtenidos del bioproceso se secaron (50 ºC/8h), enfriaron (25ºC) y molturaron utilizando un molino (Perten Laboratory Mill 3100), hasta pasar a través de malla US 80 (0,180 mm); se reconoce como harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***). Además, los granos de sorgo integrales crudos se

The picture can't be displayed.

Fig 3. Diagrama de flujo del proceso de germinación de granos de sorgo

Salcido-Luque (2015)

crudos se molturaron utilizando un molino (Perten Laboratory Mill 3100), hasta pasar a través de malla US 80 (0,180 mm) para obtener harinas de sorgo cruda (***HSC***) que se utilizó como control. La ***HSGO*** y ***HSC*** se envasaron y se mantuvieron a 4ºC en recipientes herméticos hasta su utilización.

5 Obtención de harina de sorgo germinada-extrudida (HSGE)

Para la obtención de harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***) se utilizó el proceso descrito por Milán-Carrillo y col (2012) con ligeras modificaciones (**Figura 4**). El proceso de extrusión se optimizó para obtener harina de sorgo germinada-extrudida (***HSGE***) con contenidos de compuestos fenólicos totales (***CFT***), actividad antioxidante (***AAox)*** y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) altos. La Metodología de Superficie de Respuesta (***MSR***), como herramienta de optimización, se aplicó sobre tres variables de respuesta (***CFT, AAox, DPIV***). Se utilizó un diseño central compuesto rotable con dos factores [Temperatura de extrusión (TE, 50-160ºC), velocidad de tornillo (VT, 50-240 rpm)] en cinco niveles; el diseño generó 13 tratamientos.

La extrusión se llevó a cabo en un extrusor de tornillo simple modelo 20DN (CW Brabender Instruments, Inc., NJ, USA) con un diámetro de tornillo de 19mm; relación longitud – diámetro 20:1; relación de compresión 1:1 y dado de salida de 3 mm.

Se corrieron los 13 tratamientos, con diferentes combinaciones ***TE***/***VT***, anotados en el **Cuadro 7**. Los extrudidos provenientes de cada tratamiento se colectaron en charolas de aluminio perforadas y se enfriaron a medio ambiente. Los extrudidos secos se molturaron (Perten Laboratory Mill 3100) hasta pasar por 80 (0.180 mm), se envasaron herméticamente en bolsas de polietileno y se almacenaron a 4ºC hasta su utilización. Estas harinas fueron reconocidas como harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***), provenientes de cada uno de los 13 tratamientos, a los cuales se les evaluó ***CFT***, ***AAox*** y ***DPIV***.

6 Evaluación de las variables de respuesta para la optimización del proceso de extrusión

a Extracción de fitoquímicos libres

La extracción de fitoquímicos libres se realizó acorde a la metodología propuesta por Adom y Liu (2002) (**Fig 5**). Los fitoquímicos libres se extrajeron a

The picture can't be displayed.

Fig 4. Diagrama de flujo del proceso de extrusión de granos de sorgo

Cuadro 7. Diseño experimental utilizado para obtener diferentes combinaciones de temperatura de extrusión / velocidad de tornillo para obtener harinas de sorgo germinado-extrudido

Orden estándar	Orden de corrida	Temperatura de extrusión (°C)	Velocidad de tornillo (rpm)
1	12	66	77
2	1	143	77
3	6	66	212
4	10	143	212
5	3	50	145
6	9	50	145
7	13	160	50
8	8	105	50
9	11	105	240
10	4	105	145
11	7	105	145
12	5	105	145
13	2	105	145

partir de 0.5 g de muestra a que se adicionaron 10 mL de etanol al 80% (v/v).

La suspensión se agitó en un Rotator (OVAN Noria R, EUA 2010) a velocidad 25 por 10 min y después se centrifugó (3,000g/10°C/10 min). Se separó el sobrenadante, se colocó en tubo cónico y se concentró (Apud Vac Concentrator, Thermo Elector Corporation) a 45°C a presión baja hasta alcanzar un volumen final de 2 mL. El extracto se almacenó a -20°C hasta su utilización. La extracción se realizó por cuadruplicado.

b Extracción de fitoquímicos ligados

La extracción de fitoquímicos ligados se realizó según el procedimiento de Adom y Liu (2002) con modificaciones (Mora-Rochín y col, 2010) (**Fig 5**). El precipitado se digirió con 10 mL de NaOH 2 M, se eliminó el oxígeno en presencia de N_2 gas y la muestra se sometió a tratamiento térmico (baño María a 95°C/30 min), posteriormente se agitó durante 1 h a temperatura ambiente (25°C). La mezcla se neutralizó con 2 mL de HCl concentrado, se agitó por 2 min en un vortex y se agitó en un rotator (OVAN noria R, EUA 2010) con velocidad 25 por 10 min e inmediatamente después se le agregaron 10 mL de hexano para remover lípidos; se realizó la misma operación de agitación mediante el vortex y rotator, se centrifugó (3,000xg/10°C/10 min) y se extrajo el hexano. La mezcla resultante se extrajo con 10 mL de acetato de etilo, se agitó por 2 min (vortex) y se pasó a una agitación en un rotator (OVAN noria R, EUA 2010) con velocidad 25 por 10 min y se centrifugó (3,000xg/10°C/10 min) Se extrajo el acetato de etilo y se almacenó en un tubo cónico; esta extracción se realizó 5 veces. La fracción de acetato de etilo se evaporó hasta sequedad (Apud Vac Concentrator, Thermo Elector Corporation). Los extractos se reconstituyeron con metanol y se almacenaron a -

20°C hasta su posterior utilización. Las determinaciones se realizaron por cuadruplicado.

c Compuestos fenólicos totales (CFT)

Para la determinación de ***CFT*** se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col (1999). En una celda de una placa de 96 celdas, se agregaron 20 µL de una solución estándar de ácido gálico; en las otras celdas se agregaron 20 µL de extractos de fitoquímicos libres y ligados de cada muestra. A la solución estándar de ácido gálico, y a los extractos de fitoquímicos libres y ligados, se les agregaron 180 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 50 ml de

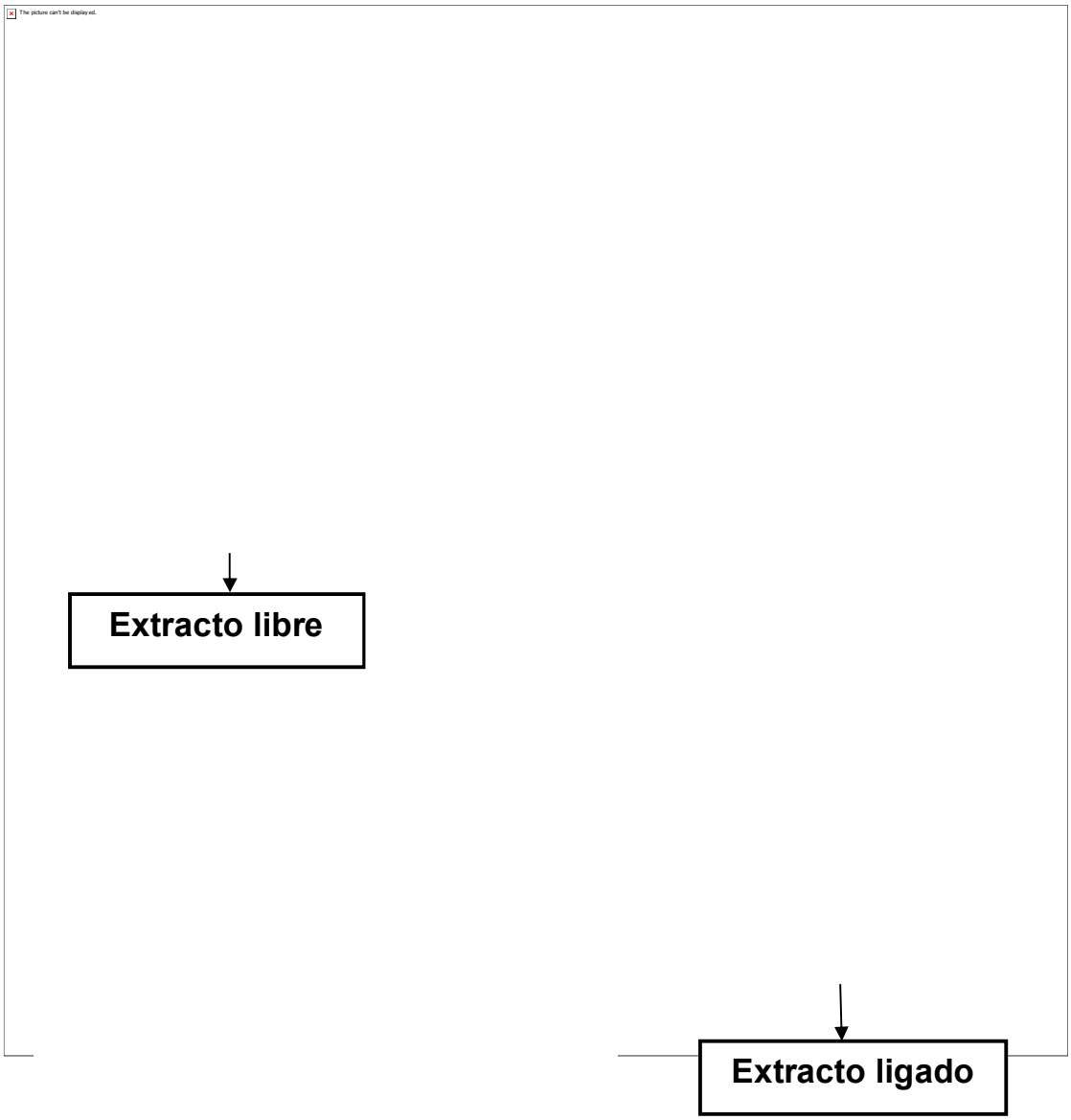

Fig 5. Diagrama de flujo para la obtención de fitoquímicos libres y ligados

Adom y Liu (2002); Mora-Rochin y col (2010)

NaCO3 al 7%. El estándar y los extractos se incubaron (25ºC/90 min) en el mismo equipo. Concluida la incubación se midió la absorbancia a 750 nm en un Lector de Microplacas (Synergy HT Biotek Instrument). Se utilizó metanol como blanco. El contenido de ***CFT*** se expresó como microgramos equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra seca (µg EAG/100 g). El contenido de ***CFT*** se calculó como la suma de compuestos fenólicos presentes en fitoquímicos libres y ligados. El rango de linealidad de la curva de calibración de ácido gálico fue de 25 a 300 ppm. Las determinaciones se hicieron por cuadriplicado.

d Actividad antioxidante (ABTS y DPPH)

La actividad antioxidante se determinó a los extractos de compuestos fenólicos libres y ligados por el método ABTS para compuestos hidrofílicos de acuerdo a lo descrito por Re y col (1999). El ensayo del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotioazolín-6-sulfónico) (ABTS) está basado en la captación por los antioxidantes del radical catión ABTS·+ generado en el medio de reacción. El radical catión del ABTS posee una coloración verde-azulada con un máximo de absorción a 415 nm y una serie de máximos secundarios de absorción a 645, 660, 734, 815 y 820 nm. Dependiendo de la variante del método ABTS utilizada se emplean distintas longitudes de onda, aunque las más frecuentes son 415 y 734 nm. Para el desarrollo del método se suelen emplear dos estrategias; inhibición y decoloración. En la primera los antioxidantes se añaden previamente a la

generación del radical ABTS·+ y lo que se determina es la inhibición de la formación del radical, que se traduce en un retraso en la aparición de la coloración verde-azulada. En la segunda estrategia, los antioxidantes se añaden una vez el ABTS·+ se ha formado y se determina entonces la disminución de la absorbancia debida a la reducción del radical, es decir la decoloración de este.

El grado de protección antioxidante mediada se cuantificó utilizando el antioxidante Trolox como estándar. El radical ABTS+ se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM) incubados a temperatura ambiente (25ºC) y oscuridad durante 12-16 h. Después la solución de ABTS+ se diluyo con agua desionizada para obtener una solución de trabajo de ABTS+. La reacción entre la solución de trabajo de ABTS+ y muestras con diferentes concentraciones se iniciaron y almacenaron a temperatura ambiente (25ºC) hasta que la reacción se completó. La disminución de coloración se monitoreo en un lector de microplacas (Synergy™) y se expresó como porcentaje de inhibición de ABTS, la cual se comparó con una curva estándar de Trolox. Los datos se expresaron como µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra seca. Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

La actividad antiradical DPPH de los extractos de harinas se determinó mediante el procedimiento descrito por Shimamura y col (2014) con ligeras modificaciones para su lectura en un espectrofotómetro. El método de DPPH se utiliza para determinar la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para donar hidrógenos y/o electrones para eliminar los radicales DPPH (2,2-dienil-1-picrahidrazil) al crear la forma no radical DPPH-H. Cuando el radical libre es capturado, el color de la solución de DPPH cambia de un color morado obscuro a un amarillo brillante y la absorbancia a 520 nm disminuye (Brand-Williams y col, 1995).

Se preparó una solución DPPH (0.2 µM), después de 30 min de incubación a temperatura ambiente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 517 nm. Se utilizó como estándar una curva de Trolox (TE) por 100 g de muestra en base seca (µmol de TE/100 g, bs).

e Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)

Se determinó de acuerdo al procedimiento reportado por Rathod y col (2016) con modificaciones. Una porción de un gramo de muestra, seca y desgrasada, se incubó con Pepsina (15 mg de Pepsina en 20 mL de HCl 0. 1 N) a 37°C por 3 h. Después de la incubación se agregaron, para neutralización, 10 mL de NaOH 0.2 N. Posteriormente se adicionaron Pancreatina [40 mg de Pancreatina en 7.5 mL de solución reguladora de fosfatos (pH=8.0)] y se incubó a 37°C por 24 h. Se agregaron 700 µL de ácido tricloroacético (TCA, por sus siglas en inglés) y se sometió a centrifugación (5,000 x g / 10 min / 25°C). Después de descartar el sobrenadante, el precipitado se secó (40-50°C) y se le determinó el contenido de proteína (microKjekdhal). La digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) se calculó utilizando la siguiente ecuación.

DPIV=[(Proteína total – Residuo de proteína)/(Proteína total)]x100

7 Optimización del proceso de extrusión

a Diseño experimental / Análisis estadístico

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (***MSR***), como técnica de optimización, para determinar la mejor combinación de variables del proceso de extrusión para la producción de harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) con valores de actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad de proteína *in vitro* (***DPIV***) altos. Datos de la literatura y ensayos preliminares se tomaron en cuenta para seleccionar el número y niveles de variación de las variables de proceso en el diseño experimental. Se seleccionó un diseño experimental central compuesto rotable de 13 tratamientos. Como variables de proceso se seleccionaron temperatura de extrusión (***TE***, 50-160°C) y velocidad de tornillo (***VT***, 50-240 rpm). Como variables de respuesta se consideraron actividad antioxidante AAox), compuestos fenólicos totales (CFT) y digestibilidad de proteína in vitro (DPIV).

El modelo empírico de la “caja negra” que se presenta a continuación representa la relación entre variables de proceso (TE, VT) y variables de respuesta (AAox, CFT, DPIV) (**Fig 6**).

La expresión dentro de la “caja negra” representa ***AAox***, ***CFT*** y ***DPIV*** cuyo k=1, y 2, respectivamente; βk0, βki, βkii y βkij representan la constante y los coeficientes de los efectos lineal, cuadrático y de interacción, respectivamente. Xi,

Xi2 y XiXj representan los efectos lineal, cuadrático y de interacción de las variables independientes, respectivamente; y ε representa el error, primariamente considerado por la incapacidad para determinar el modelo verdadero. Se aplicó análisis de regresión, los términos no-significativos ($p \leq 0.1$) se eliminaron del polinomio de segundo orden, se recalculó un nuevo polinomio y se obtuvo un modelo de predicción para cada variable de respuesta (Myers 1971).

Los resultados se sometieron a un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA), seguido por la aplicación de la prueba de rango múltiple de Duncan, con un nivel de significancia del 0.05, para comparación de medias. Para la realización de estos análisis se utilizó el programa STAT-EASE (Design Expert 2007).

b Optimización

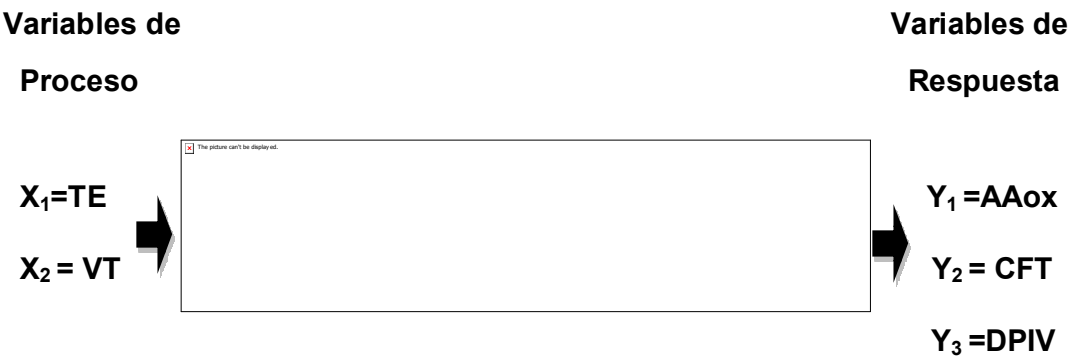

Fig 6. “Caja negra” del modelo matemático que muestra la relación entre variables de proceso y de respuesta del proceso de extrusión

Se aplicó el método convencional gráfico para obtener valores máximos de AAox, CFT y DPIV. Los modelos de predicción se utilizaron para representar gráficamente el sistema. Para la obtención de la ***HSGEO*** con valores máximos de ***CFT***, ***AAox*** y ***DPIV*** se utilizó el procedimiento descrito en la sección **VII.B.5** y del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS** donde se utilizará la mejor condición de ***TE*** y ***VT***.

8 Composición química y propiedades fisicoquímicas de la harina de sorgo cruda (HSC), harina de sorgo germinada optimizada (HSGO) y harina de sorgo germinada extrudida optimizada (HSGEO)

a Composición química

Se cuantificó el contenido de humedad, proteínas, lípidos, minerales, fibra dietaria y carbohidratos de la ***HSC, HSGO*** y ***HSGEO*** de acuerdo a métodos

oficiales de AOAC (1999) descritos en las secciones **VII.B.2.a.b.c.d.e.f** y del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS.**

b Propiedades fisicoquímicas

1) Actividad acuosa

Se evaluó acorde a la metodología propuesta en la sección **VII.B.3.a** del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS**

2) Diferencia total de color (ΔE) / Valor Hunter L

Se evaluó acorde a la metodología propuesta en la sección **VII.B.3.a** del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS**

3) pH

Se determinó acorde a la metodología de AOAC (1999). A 10 g de muestra se les adicionaron 100 mL de agua desionizada hervida y enfriada y se homogenizaron con varilla de vidrio. La suspensión se agitó en agitador orbital (240 rpm / 10 min) y posteriormente se midió el pH de la misma. La evaluación se realizó por triplicado.

4) Densidad aparente

Se determinó de acuerdo a la norma oficial mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002 (NOM 2007). En una probeta graduada se adicionaron 100 mL de harina, vaciada con ayuda de un embudo; se golpeó suavemente 5 veces para favorecer el acomodo de las partículas. Se midió el volumen y el peso de la harina y la densidad aparente se calculó con esos datos. La determinación se realizó por triplicado.

5) Índices de absorción (IAA) y de solubilidad en agua (ISA)

Para estas evaluaciones se utilizó el método descrito por Anderson y col (1969). Una muestra de harina de 2.5 g se suspendió en 30 ml de agua a 30ºC en un tubo para centrifuga de 50 ml previamente tarado. La suspensión se agitó en agitador orbital a velocidad moderada (250 rpm / 30 min) y posteriormente se centrifugó (3000xg / 30°C/10 min). El precipitado y el líquido sobrenadante se

utilizaron para el cálculo de ***IAA*** e ***ISA***, respectivamente. El gel formado se pesó para calcular el ***IAA***, expresado como gramos de gel por gramo de muestra seca. El líquido sobrenadante se decantó cuidadosamente en un recipiente tarado para la determinación de sólidos. El ***ISA***, expresado como gramos de sólidos por gramo de sólidos originales, se calculó a partir de peso de sólidos secos recuperados mediante evaporación del sobrenadante (110°C / 12 h). Ambos índices se determinaron por triplicado.

6) Dispersabilidad

Se determinó de acuerdo a Mora-Escobedo y col (1994). Se suspendió 1 g de muestra en 10 mL de agua desionizada, en un tubo cónico graduado; las muestras se homogenizaron en un homogenizador Ultra Turrax (10,000 rpm x 5 min). La separación de fases se midió después de 30 min de reposo.

7) Índice de absorción de aceite

La absorción de aceite de las harinas se determinó utilizando la metodología reportada por Ordorica-Falomir (1988). Muestras de 0.5 g de harina adicionadas con 3 mL de aceite vegetal se colocaron en un tubo graduado para centrífuga, se agitaron en vortex durante 1 min, se dejaron reposar 30 min y, finalmente, se centrifugaron (1,600 x g / 25ºC/ 25 min). Se midió el volumen de aceite libre. La cantidad de aceite absorbido se calculó restando el volumen de aceite libre al volumen de aceite inicial y se expresó como mL de aceite absorbido/g de harina. La prueba se realizó por triplicado.

8) Capacidad de formación (CFE) y estabilidad de espuma (CEE)

Se evaluaron acorde a los procedimientos propuestos por Hauffman y col (1975). En una probeta de 100 mL se colocaron 0.5 g de muestra a la que se le adicionaron 50 mL de una solución reguladora 0.1M (Citrato: pH 2 y 4; Fosfato: pH 6 y 8; Carbonato: pH 10). La mezcla se agitó en ultraturrax (12,000 rpm / 1 min). Se midió el volumen de espuma formado. La capacidad de formación de espuma se reportó como porcentaje (**% *CFE***); se calculó acorde a la ecuación:

% *CFE* = [(Vol después agitación – Vol antes agitación)/ Vol antes agitación] x 100

La probeta con la suspensión agitada, a la cual se le evaluó % CFE, se dejó reposar 30 min; al final de este tiempo se midió el volumen de la espuma residual y la estabilidad de espuma, reportada como porcentaje (% CEE), se calculó acorde a la ecuación:

% *CEE* = [(Vol espuma después reposo) /(Vol total de espuma)]x 100

9) Capacidad emulsificante (CE) y estabilidad de emulsión (EE)

Para la determinación de capacidad emulsificante y estabilidad de emulsión de ***HSGEO*** se utilizó la metodología reportada por Hauffman y col (1975). Se pesaron 0.7 g de muestra y se le adicionaron 10 mL de una solución reguladora 0.1 M (Citrato: pH 2 y 4; Fosfato: pH 6 y 8; Carbonato: pH 10) y 10 mL de aceite de olivo. La suspensión se homogenizó por agitación en ultraturrax (12,000 rpm / 1 min). La suspensión homogenizada se distribuyó en tubos cónicos graduados para centrífuga y se centrifugó (1,300xg/25ºC/5 min). Se midió el volumen de la emulsión formada. La capacidad de formación de emulsión se evaluó relacionando la capa emulsificada formada y el volumen total y se reportó como porciento de capacidad emulsificante (**%*CE***). La estabilidad de emulsión se evaluó con los mismos tubos utilizados en la determinación de **%*CE***. Los tubos se sometieron a tratamiento térmico en baño María (80ºC/30 min), se enfriaron y centrifugaron (1,300xg/25ºC/5 min). Se midió el volumen de la emulsión. La estabilidad de emulsión, reportada como porcentaje (**%*EE***), se expresó como porciento de emulsión retenido después del tratamiento térmico. La prueba se realizó por triplicado.

9 Niveles de fitoquímicos, actividad antioxidante y valor nutricional de *HSC, HSGO* y *HSGEO*

a Compuestos fenólicos totales (*CFT*)

Para la determinación de ***CFT*** se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col (1999) referenciado en la sección **VII.B.6.b** del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS**.

b Taninos condensados (*TC*)

El contenido de taninos condensados de los extractos de harinas se determinó acorde al método de Xu y Chang (2007). Se empleó una alicuota de 20 µL de extractos acetónicos al 80% de las harinas muestra y una de la solución estándar de catequina-(+); y se mezclaron con 1200 µL de vainillina al 4% en metanol y 600 µL de HCl concentrado y se dejó en reposo durante 15 min. Se midió la absorbancia a 500 nm contra un blanco usando un espectrofotómetro visible UV con lector de microplatos (Synergy HT, Biotek Instrument). Los resultados se calcularon y expresaron como mg equivalentes de catequina/ 100g de muestra. El rango de linealidad de la curva de calibración será de 25 a 500 ppm (r=0.99). La determinación se realizó por cuadriplicado.

c Ácido Fítico

La determinación de ácido fítico se llevó a cabo por espectrofotometría, siguiendo el método de Vaintraub y Latpeva (1988). La técnica se fundamenta en la destrucción de un complejo de (Fe^{3+}- ácido sulfosalicílico) conocido como reactivo de Wade y como señal analítica se utiliza la disminución de la absorción de dicho complejo colorido. El color morado del reactivo de Wade es debido a la reacción entre el ion férrico y el ácido sulfosalicílico con una absorbancia máxima a 500 nm. En presencia del fitato, el ion fierro se une al éster de fosfato y provoca su indisponibilidad para reaccionar con el ácido sulfosalicílico, resultando un decremento en la intensidad del color morado. Para la extracción de fitatos se pesaron aproximadamente 0.5 g de harina y se colocaron en tubos de centrifuga de 50 mL, posteriormente se añadieron 10 mL de HCl al 3.5% en cada tubo y se agitaron inmediatamente para que la mezcla quedara lo más homogénea posible. Los tubos se mantuvieron en agitación mecánica en un agitador orbital durante 6 h. Pasado dicho tiempo los tubos se centrifugaron a 5,000 rpm por 10 minutos y se recolectaron los sobrenadantes. Para la valoración de fitatos primero se añadió la muestra (200 µL de extracto), posteriormente se agregaron 2,800 µL de agua destilada y 1 mL de Reactivo de Wade. Los tubos se agitaron en el vortex y finalmente se midió la absorbancia a 500 nm contra un blanco de agua destilada. Los valores de las absorbancias obtenidas para cada muestra se interpolaron en la curva tipo de fitato de sodio para obtener µg de fitato de sodio y finalmente los

resultados se expresaron en mg equivalentes de fitato de sodio por cada 100 gramos de muestra.

d Actividad antioxidante (ABTS y DPPH)

Para la determinación de ***AAox*** se evaluó acorde a la metodología propuesta en la sección **VII.B.6.d** del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS**

e Valor nutricional

1. Digestibilidad proteínica in vitro (DPIV)

Para la determinación de ***DPIV*** se evaluó acorde a la metodología propuesta en la sección **VII.B.6.e** del capítulo **VII MATERIALES Y MÉTODOS**

10 Estabilidad microbiológica

a Preparación de la muestra

Para la preparación de la muestra se siguió la metodología descrita por la NOM-110-SSA1-1994, a partir de muestras sólidas, se pesaron 10 g de cada harina por analizar en un recipiente estéril de tamaño adecuado, posteriormente se le adicionaron 90 ml de agua peptonada como diluyente, una vez agregado el diluyente, la muestra se sometió a un proceso de homogenización empleando un equipo agitador marca Braun hasta obtener una suspensión completa. Se dejó reposar durante 10 minutos para que las partículas grandes se sedimentaran y transferir la cantidad adecuada de las capas superiores. Esta mezcla inicial se consideró como la dilución “0”, se realizaron diluciones seriadas a partir de la dilución “0” (stock de 10 **g** de la muestra con 90 **mL** de agua peptonada) de cada dilución se tomó 1 **mL** y se sembró en medios de cultivo específicos para determinar la presencia de coliformes totales (CT), mesofílicos aerobios y mohos, mediante el proceso de vertido en placa.

b Conteo de Microorganismos Coliformes Totales (CT)

La cuenta de microorganismos coliformes totales se realizó de acuerdo con las especificaciones de la norma NOM-113-SSA1-1994. Se colocó en cajas Petri por duplicado 1 **mL** de la muestra directa o de la dilución correspondiente, utilizando una pipeta estéril. Despues se le agregaron 10 **mL** de Agar Bilis Rojo

Violeta (ABRV) fundido y mantenido a 45 ± 1°C en baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se esperó a que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se preparó una caja control con 15 **mL** de medio para verificar la esterilidad. Se invirtieron las placas y se colocaron en la incubadora a 35°C, durante 24 ± 2 horas. Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias, seleccionando las placas que contenían entre 25 y 250 colonias. Las colonias típicas son de color rojo rosado, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm. El valor obtenido se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g).

c Conteo de Microorganismos Mesofílicos Aerobios

La cuenta de microorganismos mesofílicos aerobios se realizó de acuerdo con las especificaciones de la norma NOM-092-SSA1-1994. Se colocó en cajas Petri por duplicado 1 **mL** de la muestra directa o de la dilución correspondiente, utilizando una pipeta estéril. Después se le agregaron 10 **mL** de Agar para métodos estándar (APME) fundido y mantenido a 45 ± 1 °C en baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se esperó a que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se preparó una caja control con 15 **mL** de medio para verificar la esterilidad. Se invirtieron las placas y se colocaron en la incubadora a 35°C ± 2ºC, durante 48 ± 2

horas. Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias, seleccionando las placas que contenían entre 25 y 250 colonias. Las colonias típicas son de color amarillo blanquecino, generalmente se comparan con las características de una perla. El valor obtenido se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g).

d Conteo de Mohos

La cuenta de mohos se realizó de acuerdo con las especificaciones de la norma NOM-111-SSA1-1994. Se colocó en cajas Petri por duplicado 1 **mL** de la muestra directa o de la dilución correspondiente, utilizando una pipeta estéril. Después se le agregaron 10 **mL** de Agar Papa Destroxa acidificado (APD) fundido y mantenido a 45 ± 1°C en baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se esperó a que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría. Se preparó una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad. Se invirtieron las placas y se colocaron en la incubadora a 25°C ± 1ºC, durante 3 y 4 días. Después del periodo especificado para la incubación, se contaron las colonias, seleccionando las placas que contenían entre 10 y 150 colonias. Las colonias típicas se caracterizan por ser afelpadas (vellosos) o con cuerpos de fructificación o esporangios coloreados. El valor obtenido se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (UFC/g).

11 Análisis estadístico

Los resultados de esta investigación se analizaron aplicando un diseño experimental unifactorial usando el paquete estadístico Statgraphics Plus 6.0. Se aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan para analizar diferencia significativa entre medias de los diferentes tratamientos ($p \leq 0.05$).

VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS GRANOS DE SORGO

En el **Cuadro 8** se muestran las características físicas de los granos de Sorgo (*Sorghum bicolor* L.). Los granos de sorgo en promedio presentaron dimensiones de 4.40 mm de largo, 3.74 mm de ancho y 2.71 mm de grosor. Estos valores concuerdan con lo reportado por otros investigadores (Reicher y col 1998; Rooney y Serna-Saldivar, 2000; Salcido-Luque y col 2015). Las dimensiones físicas de las semillas son indicadores importantes de calidad, manejo y almacenamiento de las mismas. El peso de 1,000 granos es un indicador del tamaño, y el peso hectolítrico es una medida indirecta de la densidad del grano. El grano de sorgo tuvo un peso de 1,000 granos de 31.78 g. Rooney y Serna-Saldivar (2000) han reportado que el peso de 1,000 granos depende de la diversidad genética y que los granos de sorgo pueden variar de 30 a 80g dependiendo del cultivar y de las condiciones climáticas donde fueron cultivados. Salcido-Luque y col (2015) reportaron un peso de 1,000 granos para variedades distintas de sorgo en un rango de 26 a 38g; estos valores son similares a los encontrados en el presente trabajo. El peso hectolítrico del grano de sorgo fue de 83.51 kg/hL; Montiel y col (2011) reportaron, para este parámetro, valores de 74 a 80 kg/hL para diferentes hibridos de sorgo. Los granos utilizados para llevar a cabo la presente investigación, acorde a sus características físicas, pueden ser catalogados como de buena calidad.

El valor para actividad acuosa (aw) del grano de sorgo fue de 0.66 (**Cuadro 8**), este valor nos indica que el grano se encuentra en valores en donde el desarrollo de la actividad enzimática, el crecimiento de microorganismos y reacciones químicas se llevan a cabo muy lentamente, lo cual significa que el grano puede permanecer en almacenamiento, bajo las condiciones ideales, por un largo periodo sin riesgo de perder su calidad.

En la evaluación de color del grano entero se obtuvieron valores de luminosidad Hunter “L” y ΔE de 36.05 y 60.62, respectivamente (**Cuadro 8**); un

valor bajo de “L” y alto de ΔE indican que la muestra presenta un color muy opaco y oscuro.

Cuadro 8. Características físicas de los granos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.)

The picture can't be displayed.

[a]**Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar**

B MEJORES CONDICIONES PARA LA PRODUCCIÓN DE HARINA DE SORGO GERMINADA EXTRUDIDA CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y DIGESTIBILIDAD PROTEINICA *IN VITRO* ALTOS

Las diferentes combinaciones de variables del proceso de extrusión [Temperatura de extrusión (***TE***) y Velocidad de tornillo (***VT***)] utilizadas para la producción de harina de sorgo germinada extrudida y los valores experimentales de las variables de respuesta [actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***)] obtenidas para cada combinación, se muestran en el **Cuadro 9**.

1 Modelos de predicción para las variables de respuesta

a Actividad antioxidante (*AAox*)

Las **Fig 7 y 8** muestran el efecto de la temperatura de extrusión (***TE***) y velocidad de tornillo (***VT***) sobre la actividad antioxidante de las ***HSGE***. En las dos **Fig** se observa que la actividad antioxidante (***AAox***) aumenta al incrementar ***TE*** y ***VT***. Los valores de ***AAox*** variaron de 6412 hasta 7770 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs) (**Cuadro 9**). Los modelos de regresión para la actividad antioxidante de las harinas de sorgo germinada extrudida fueron: Usando variables codificadas:

AAox=+6986.17+444.10*A+174.29*B-68.75*A*B+221.97*B^2

Usando variables originales:

AAox=+6044.50568+15.23498*TE-8.90728*VT-0.026316*TE*VT+0.049189* VT^2

El modelo de regresión explicó el 97.28 % de la variación total en los valores de actividad antioxidante (p= 0.0001)

b Compuestos fenólicos totales (CFT)

La temperatura de extrusión (***TE***) y velocidad de tornillo (***VT***) tuvieron un efecto significativo (p< 0.01) sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***). De igual manera, el

término cuadrático de la temperatura de extrusión (***TE***) y velocidad de tornillo (***VT***) tuvieron un efecto significativo ($p < 0.01$) sobre el contenido de compuestos fenólicos (***CFT***) de las ***HSGE***; así como la interacción tuvo un efecto significativo ($p < 0.01$). El modelo de regresión para el contenido de compuestos fenólicos

Cuadro 9. Diseño experimental[a] usado para obtener diferentes combinaciones de temperatura de extrusión y velocidad de tornillo para producir harinas de sorgo germinadas extrudidas y resultados experimentales de las variables de respuesta

The picture can't be displayed.

[a] Diseño compuesto central rotable con 2 factores y 5 niveles; 13 tratamientos; [b] Los tratamientos están ordenados por orden estándar (no por orden de corrida); [c] Método de ABTS, µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs); [d] mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra (bs); [e] %.

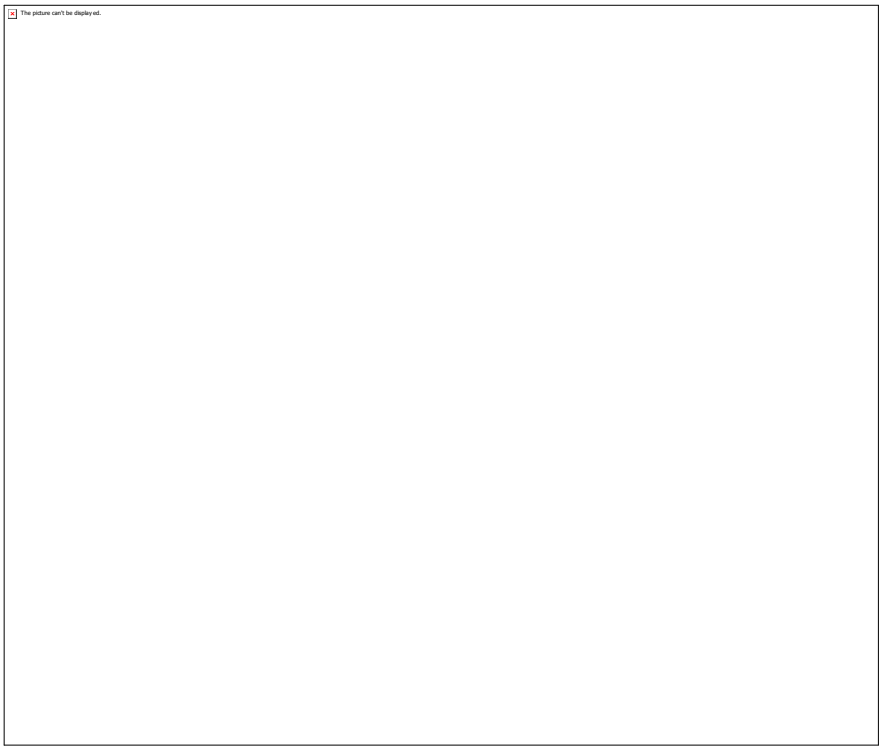

Fig 7. Gráfica de contorno donde se muestra el efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante (***AAox***) de las harinas de sorgo germinada extrudida.

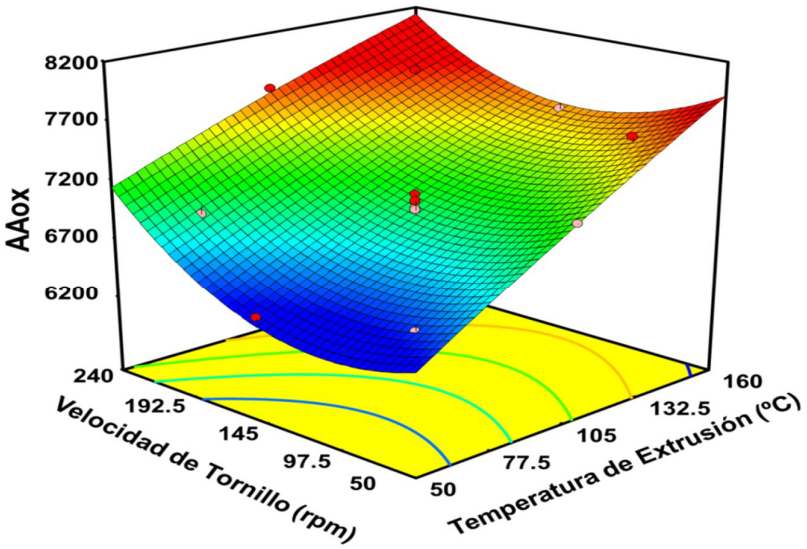

Fig 8. Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la actividad antioxidante (***AAox***) de las harinas de sorgo germinada extrudida.

totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***) fue del orden cuadrático y presentó las siguientes expresiones:

Usando valores codificados:

CFT=+306.33 +17.12*A+0.86*B-8.56*A*B-1.47*A^2-4.88*B^2

Usando variables originales:

CFT=+174.90816+1.11954*TE+0.67044*VT-3.27560E-003*TE*VT-9.72810E-004*TE^2-1.08175E-003*VT^2

El modelo de regresión para el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***) explicó el 89.42 % de la variación total ($p< 0.0001$) de los valores obtenidos para las ***HSGE***. Las **Fig 9 y 10** muestran la relación entre la temperatura de extrusión (***TE***) y la velocidad de tornillo (***VT***) sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las HSGE. En ambas **Fig** se observa que al incrementar la ***TE*** y ***VT*** el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) incrementa. Los valores de compuestos fenólicos totales (***CFT***) variaron desde 276.2 hasta 329.3 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ 100 g de muestra (bs).

c Digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV)

Los términos cuadráticos de la temperatura de extrusión (***TE***) y la velocidad de tornillo (***VT***) tuvieron efecto significativo ($p< 0.01$) sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***). De igual manera, el término lineal de la velocidad de tornillo (***VT***) tuvo un efecto

significativo ($p < 0.01$) dentro el modelo. El modelo de regresión para la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***) fue del orden cuadrático y presentó las siguientes expresiones:

Usando valores codificados:

DPIV=+74.69-1.03*B-8.46*A^2-10.55*B^2

El modelo de regresión para la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***) explicó el 97.19 % de la variación total ($p< 0.0001$) en los valores de ***DPIV***. Las **Fig 11 y 12** muestran la relación entre la temperatura de extrusión (***TE***) y la velocidad de tornillo (***VT***) sobre la

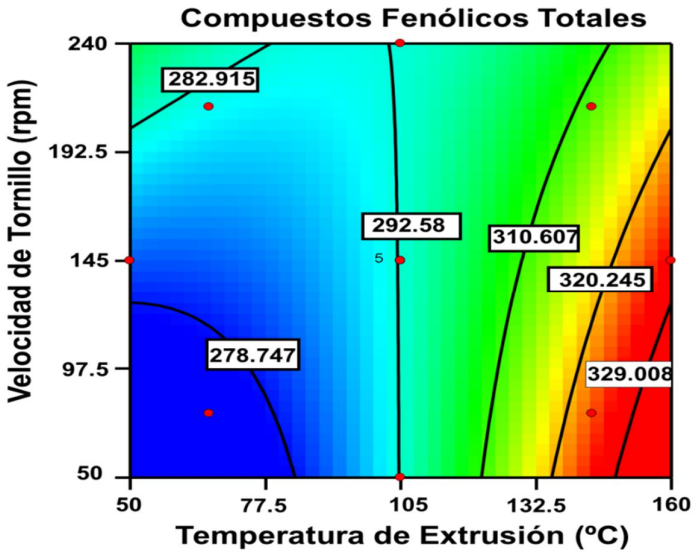

Fig 9. Gráfica de contorno mostrando el efecto de las variables de proceso sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida

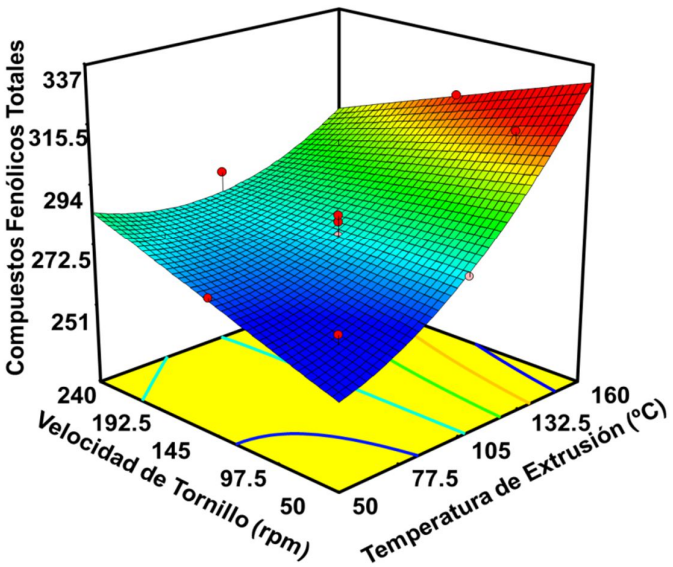

Fig 10. Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre el contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) de las harinas de sorgo germinada extrudida

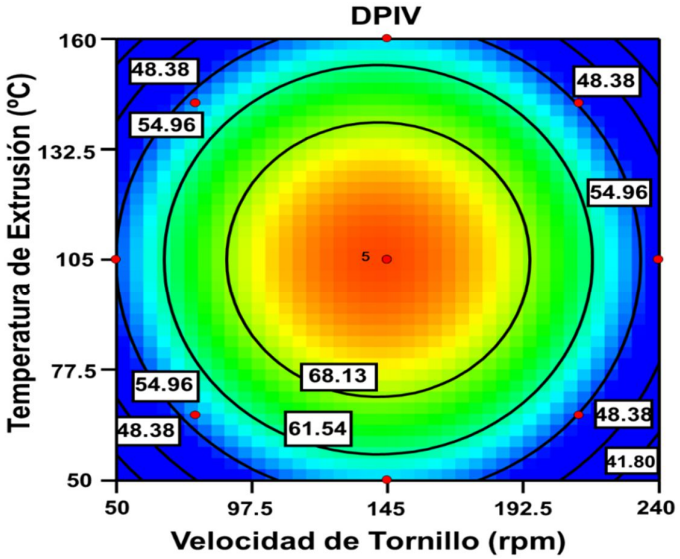

Fig 11. Gráfica de contorno mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida

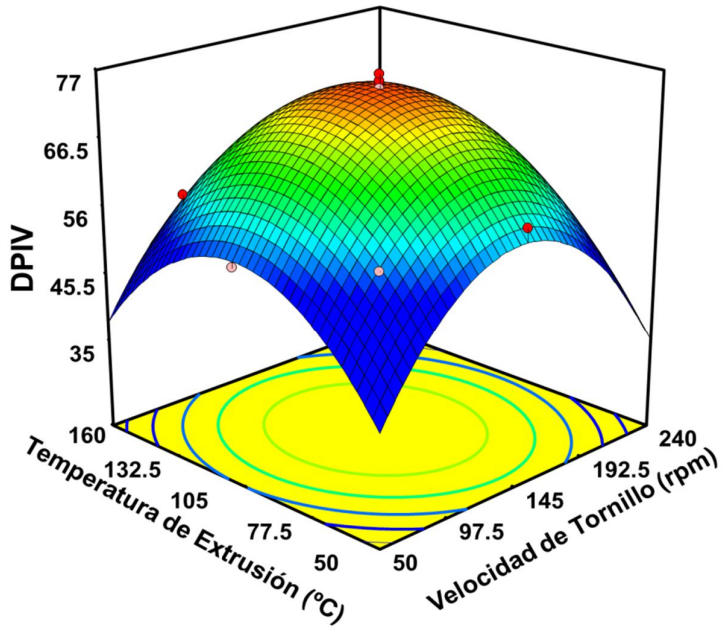

Fig 12. Gráfica de superficie de respuesta mostrando el efecto de las variables de proceso sobre la digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida

digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de las harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***). En ambas **Figuras** se observa que a temperaturas y velocidades medias la ***DPIV*** incrementa. Los valores de ***DPIV*** variaron desde 52.3 hasta 76.3 %.

2 Optimización del proceso de extrusión

Las **Fig 7, 9** y **11** son gráficas de contorno que muestran el efecto de la de la temperatura de extrusión (***TE***) y velocidad de tornillo (***VT***) sobre la actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***) de harinas de sorgo germinada extrudida (***HSGE***). La

superposición de estos gráficos de contorno generó la **Figura 13**, cuyo punto central de la región optimizada corresponde a la combinación óptima de las variables del proceso de extrusión la cual presentó una región (***TE***=137 °C/***VT***=134 rpm), para obtener harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) con valores máximos de actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***) y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***). Con estas combinaciones de variables de proceso (***TE***=137 °C/***VT***=134 rpm) es posible predecir la obtención de los siguientes valores: ***AAox***=7,343 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs), ***CFT***=306.6 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra (bs), **DPIV**=68.7 %, respectivamente.

Los datos que se muestran a continuación y a los que se hará referencia para su comparación contra los datos de la semilla sin germinar y semilla germinada serán de harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) obtenida bajo las condiciones ***TE***=137°C/***VT***=134 rpm.

C COMPOSICIÓN QUÍMICA, PROPIEDADES NUTRICIONALES Y ANTINUTRICIONALES DE HARINAS DE SORGO

El **Cuadro 10** muestra la composición química de harinas de sorgo: Harina de sorgo crudo (***HSC***), harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***) [obtenida al aplicar condiciones optimizadas del proceso de germinación (**TG**=37°C/**tG**=69 h) (Salcido-Luque y col (2015)], harina de sorgo germinada extrudida optimizada (**HSGEO**) [obtenida al aplicar condiciones optimizadas del proceso de extrusión (***TE***=137°C/***VT***=134 rpm)].

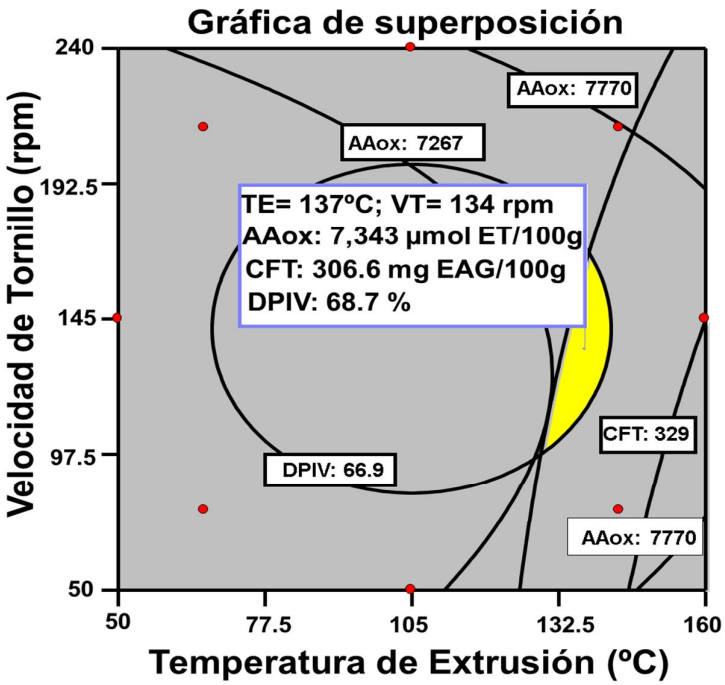

Fig 13. Gráfica de superposición mostrando la región con la mejor combinación de las variables de proceso a la cual se obtiene una harina de sorgo germinada extrudida optimizada con altos valores de actividad antioxidante (***AAox***), compuestos fenólicos totales (***CFT***), y digestibilidad proteínica *in vitro* (***DPIV***)

Los contenidos de proteína cruda de las harinas ***HSC***, ***HSGO*** y ***HSGEO*** fue de 12.13%, 14.71% y 14.44%, respectivamente (**Cuadro 10**). El bioproceso de germinación propició un incremento ($p<0.05$) en el contenido de proteína del 21.26%. El aumento de los niveles de proteína cruda ocasionados por la germinación del grano ha sido reportado (Perales-Sánchez y col 2014; Salcido-Luque y col 2015; Gómez-Favela y col 2017; Sánchez-Osuna y col 2108) con anterioridad. El incremento en el contenido de proteína, durante la germinación, puede ser atribuido a la pérdida de nutrimentos, particularmente carbohidratos, a través del proceso de respiración. Esta disminución en el contenido de carbohidratos puede presentarse principalmente como pérdida de azúcares durante la respiración. El proceso de extrusión no se observó diferencia ($p\geq0.05$) significativos en el contenido de proteínas, esto concuerda con otros investigadores (Montoya-Rodríguez y col 2014; Espinoza-Moreno y col 2016) al someter al proceso de extrusión granos como amaranto, frijol negro y maíz transgénico no observaron diferencias ($p\geq0.05$) en el contenido de proteínas entre los granos crudos y los extrudidos.

Ohtsubo y col (2005), investigaron el desarrollo de un nuevo producto alimenticio a partir de arroz integral pregerminado por un extrusor de doble tornillo. Encontrando que el contenido de productos desarrollados por procesameinto secuencial presentaban un mayor contenido de proteínas (8.2%) que los granos de arroz pulido (6,6%) y arroz integral (7,8%). Concluyendo que el procesamieno secuencial es uan estrategia efectiva para incrementar el contenido de proteínas en términos de nutrición, además de mejorar el sabor de los productos obtenidos por procesamiento secuencial.

Por su parte Zhu y col (2017), evaluaron el efecto del procesamiento secuencial (germinación-extrusión) sobre las propiedades nutricional y fisicoquímicas de productos extruidos y tortillas de trigo. Reportando que el proceso de germinación ocasiono un incremento significativo ($p<0.05$) del 7% en el contenido de proteína con respecto al grano de trigo; sin embargo, el contenido de proteínas de las harinas germinadas extruidas no mostró diferencias estadísticas después del proceso de extrusión.

Las harinas de sorgo ***HSC***, ***HSGO*** y ***HSGEO*** tuvieron contenidos de lípidos de 3.35%, 2.72% y 1.29%, respectivamente (**Cuadro 10**). A medida que se realizó el procesamiento secuencial a la ***HSC***, se observó que los niveles de lípidos para

Cuadro 10. Composición química, propiedades nutricionales y antinutricionales de harinas de sorgo

The picture can't be displayed.

Medias con letra diferente en el mismo renglón indican diferencia significativa (Duncan p≤0.05); [1] HSC= Harina de sorgo cruda, HSGO= Harina de sorgo germinada optimizada, HSGEO= Harina de sorgo germinada extrudida optimizada; [2]Digestibilidad proteínica in vitro; [3]mg eq catequina/100g bs; [4] mg eq ácido fítico/100g bs

todas las ***HSGO*** y ***HSGEO*** fueron disminuyendo ($p<0.05$) 18.8% y 52.57%, respectivamente (**Cuadro 10**).

La reducción en el contenido de lípidos durante el proceso de germinación es debido al uso de éstos, como fuente de energía requerida para actividades metabólicas, tales como, síntesis de DNA, RNA, enzimas, Proteínas estructurales y otras moléculas biológicas que son necesarias para el el desarrollo de la plántula; haciendo uso de las reservas de nutrientes (principalmente almidón y lípidos), además, la acción de las enzimas lipasas las cuales descomponen las grasas en glicerina y ácidos grasos, estos compuestos son solubles en agua, y se pueden difundir en el tejido las células (Traoré y col, 2004; Perales-Sánchez y col 2014; Gómez-Favela y col 2017; Domínguez-Arispuro y col 2017; Salas-López y col., 2018). Mientras que, la reducción de lípidos durante la extrusión puede atribuirse a las condiciones utilizadas como alta velocidad del tornillo, la alta temperatura de la matriz, fuerza de cizalla y el contenido de humedad que pueden causar pérdida del contenido de lípidos, otra causa puede ser la producción de complejo de amilosa-lípido y proteína-lípido (Singkhornart y col, 2014; Zhu y col, 2017; Reyes-Moreno y col, 2018).

Albarracín y col (2015), estudiaron el efecto de los procesos germinación-extrusión en harina de arroz, reportando que el proceso secuencial ocasiono una disminución del 27% en el contenido de lípidos con respecto al grano. La combinación de procesos de germinación y extrusión podría ser una estrategia para obtener productos expandidos o harinas precocidas con beneficios mejorados para la salud.

Las harinas de sorgo ***HSC***, ***HSGO*** y ***HSGEO*** tuvieron contenidos de fibra dietaria total de 5.97%, 8.92% y 9.10%, respectivamente (**Cuadro 10**). El bioproceso de germiación incrementó ($p<0.05$) la fibra dietaria total un 49%

respecto a la harina cruda; mientras que el proceso de extrusión aplicado secuencialmente mostro un incremento ($p \geq 0.05$) del 3% respecto a la ***HSGO*** (**Cuadro 10**).

Estos cambios en el contenido de fibra durante el proceso de germinación pueden deberse a la modificación de los polisacáridos de la pared celular de las semillas produciendo un aumento en hemicelulosa, celulosa y polisacáridos péctidicos. Estos resultados coinciden con los reportados por otros investigadores quienes observaron un comportamiento similar durante la germinación de pseudocereales (Perales-Sánchez y col 2014) y leguminosas (Megat y col, 2016; Domínguez-Arispuro y col 2017; Salas-López y col 2017). Por su parte, en el proceso de extrusión existe la liberación de oligosacáridos debido a la rotura de glucosídicos de los polisacáridos por el estrés mecánico, así como, a la formación de materiales resistentes a las degradaciones enzimáticas, como el almidón y los complejos de proteína-polisacáridos originados por el calentamiento. Así como, a los Ciclos de enfriamiento y reacción de Maillard (Espinoza-Moreno y col 2016). La fibra dietaria está asociada con la prevención de diferentes enfermedades y es fundamental para el mantenimiento de la salud intestinal (Liu 2007). Así, el procesamiento secuencial podría ser utilizado como una herramienta para aumentar el contenido de fibra en las semillas, mejorando sus beneficios para la salud.

Algunos autores han reportado que el procesamiento secuencial de germinación-extrusión aplicado en cereales (arroz y trigo), incrementa el contenido de proteínas, minerales y fibra dietaria, así como, una disminución en el contenido de lípidos con respecto a los granos sin procesar (Ohtsubo y col (2005) ; Singkhornart y col 2013: Albarracín y col, 2015), lo cual puede tener un benéfico para la salud, debido a que FAO/OMS sugieren moderar el consumo de grasa a un valor máximo de 30% de las calorías, mantener constantes las proteínas y consecuentemente aumentar el consumo de carbohidratos complejos (con bajo índice glicémico) para obtener alimentos saludables (FAO, 2016). Así, el proceso secuencial germinación-extrusión podría ser utilizado como herramienta útil para obtener productos con una adecuada distribución de macronutrientes.

El **Cuadro 10** muestra la digestibilidad proteínica in vitro (DPIV) de las harinas de sorgo [***HSC*** = Harina de sorgo crudo (sin procesar), ***HSGO*** = Harina de sorgo germinado optimizada, ***HSGEO*** =Harina de sorgo extrudido optimizada].

El bioproceso de germinación incrementó ($p < 0.05$) DPIV en 9.65% (**Cuadro 10**) con respecto a la ***HSC***. Durante la germinación se presenta hidrólisis de compuestos (fitatos) que contienen fosfatos orgánicos y liberan fosfatos inorgánicos, los cuales son utilizados para el crecimiento de la planta; el rompimiento de fitatos durante la germinación se atribuye al incremento significativo de la actividad de la enzima endógena fitasa. La reducción del contenido de taninos en los germinados, al compararse con materiales crudos, ha sido bien documentado, puede atribuirse a la lixiviación de los mismos dentro del agua de remojo durante el proceso de germinación. También durante la germinación hay una reducción de la actividad de los inhibidores enzimáticos, los cual ocasiona un incremento en la acción de enzimas proteolíticas (tripsina, quimotripsina) (Pisarikova y col 2005; Gamel y col 2006; Shimelis y Rakshit 2007; Elizalde y col 2009).

Con respecto al proceso de extrusión, este ocasiono un incrementó ($p < 0.05$) DPIV en 12.60% (**Cuadro 10**) con respecto a la ***HSGO***. En el caso del proceso de extrusión, la DPIV se incrementó debido a la destrucción de factores antinutricionales (taninos, saponinas, inhibidores de tripsina y quimotripsina) y desnaturalización de las proteínas, como resultado de las condiciones aplicadas (fuerzas de corte, temperatura, humedad) durante el procesamiento (Gamel y col 2006; Elizalde y col 2009; Montoya-Rodríguez y col 2015).

Los resultados de este trabajo concuerdan con lo reportado con otros autores, quienes han reportado que el procesamiento secuencial de germinación-extrusión incrementa la ***DPIV*** en arroz (Albarracín y col, 2015) y frijol negro (Rosa-Mill y col, 2017).

La presencia de factores anti-nutricionales limita la digestibilidad de las proteínas y los carbohidratos mediante la inhibición de sus respectivas enzimas proteolíticas y amilolíticas (Yagoub 2003; Mohammed y col 2011). En el **Cuadro 10** se presentan los resultados obtenidos para factores anti-nutricionales como taninos y ácido fítico. Los valores en el contenido de taninos en las harinas de sorgo crudo (***HSC***), harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***) y harina de

sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) fueron 73.77, 48.28 y 25.11 mg eq catequina/100g bs, respectivamente.

Después de aplicar el procesamiento de germinación se puede observar una disminución significativa ($p<0.05$) del 35% el contenido de taninos con respecto a la ***HSC***; la cual puede atribuirse a varios factores como: la lixiviación de este tipo de compuestos durante la etapa de remojo en el proceso de germinación ó a la mayor actividad de enzimas proteolíticas (tripsina, quimotripsina) (Pisarikova y col, 2005; Gamel y col, 2007; Shimelis y Rakshit, 2007; Elizalde y col, 2009).

Por otra parte, El proceso de extrusión ocasionó una disminución significativa ($p<0.05$) del 48% el contenido de taninos con respecto a la ***HSGO***. Esta reducción puede ser atribuida a las condiciones de proceso de extrusión como el esfuerzo de corte y altas temperaturas aplicadas, lo que favorecen la inactivación de taninos debido a que estos se descomponen y se produce un reordenamiento químico, por lo que el procesamiento puede alterarlos estructuralmente (Morales y col, 2015). La disminución en el nivel de taninos no significa que se pierden, sino que durante el procesamiento se unen a otras moléculas (es decir, proteínas, carbohidratos, minerales) dificultando su extracción (Awika y col., 2003).

Khandelwal y col (2010), estudiaron el efecto de diversos procesos sobre el contenido de polifenoles y taninos en leguminosas, encontrando que el procesamiento de germinación provocó una disminución de taninos del 58.7% frijol mungo y 42.9% para garbanzo. Ademas, observaron una tendencia en el grado en que el procesamiento reduce los contenidos de polifenoles y taninos (germinación> cocción a presión> remojo). Estas técnicas de procesamiento demostraron ser estrategias efectivas para reducir los niveles de polifenoles y taninos en alimentos obtenidos de leguminosas, y aumentra la biodisponibilidad de las proteínas en los mismos.

En cuanto al contenido de ácido fítico en las harinas de sorgo crudo (***HSC***), harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***) y harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) fue de 470.90, 389.34 y 325.82 mg eq ácido fítico/100g bs, respectivamente (**Cuadro 10**). Se puede observar que la ***HSGO*** y ***HSGEO*** presentaron una disminución significativa ($p<0.05$) en contenido de ácido fítico del 17 y 16%, respectivamente con respecto a ***HSC***.

Estos valores obtenidos en este trabajo son similares a los reportados por Salcido-Luque (2015), quien reportó un contenido de ác. fítico para variedades de sorgo crudo de 443.9-572 mg eq ácido fítico/100g bs y sorgo germinado 467.63 - 545.51 mg eq ácido fítico/100g bs.

Otros investigadores aplicaron procesamiento secuencial germinación-extrusión en trigo (Singkhornart y col, 2014) y arroz (Albarracín y col 2015), obteniendo una disminución significativa del contenido de ácido fítico.

D PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE HARINAS DE SORGO

El **Cuadro 11** muestra las propiedades fisicoquímicas de las harinas de sorgo crudo (***HSC)***, harina de sorgo germinada optimizada (***HSGO***) y harina de sorgo germinada extrudida optimizada(***HSGEO***).

Los valores Hunter "L" para harinas de sorgo ***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO*** fueron de 77.57, 73.44 y 63.30, respectivamente (**Cuadro 11**); mientras que las ∆E de estos materiales fueron de 19.25, 22.63 y 34.38, respectivamente (**Cuadro 11**). La germinación y extrusión de granos de sorgo provocó una disminución ($p<0.05$) en el valor Hunter "L" (de 77.57% a 73.44%) y aumentó la diferencia total de color (de 19.25% a 34.38%) de la ***HSGEO***, esto puede deberse a que durante la germinación se forman hidrolizados de proteínas y almidón, los cuales durante el secado favorecen las reacciones de Maillard (Perales-Sánchez y col 2014). El decremento en el valor "L" y aumentó en ∆**E** indican una disminución en la luminosidad y un oscurecimiento en la materia prima, fenómenos que están asociados a diferentes reacciones. En el proceso de germinación se forman hidrolizados de proteínas y almidón, los cuales durante el secado favorecen las reacciones de Maillard (Perales-Sánchez y col 2014). Mientras que, en el proceso de extrusión la elevación de la temperatura favorece reacciones de pardeamiento (reacción de Maillard y caramelización), lo que provoca una mayor intensidad de oscurecimiento de los productos extruidos (Singkhornanrt y col, 2014). A menudo, este puede considerar una característica nutricional importante.

Las harinas ***HSC*** mostró un valor de pH de 0.33, ***HSGO*** obtuvo un valor de pH 0.51 y ***HSGEO*** presentó un valor de actividad acuosa de 0.42 (**Cuadro 11**). Estos

valores (a_w=0.33-0.51) se encuentran en un rango en donde el crecimiento de microorganismos, así como las reacciones químicas y enzimáticas ocurren lentamente, lo que se traduce en una larga vida de anaquel.

El índice de absorción de agua (***IAA***) está estrechamente relacionado con las propiedades de los biopolímeros que constituyen este tipo de granos (almidón y proteína) (Ugrozov y col 2007; 2008). Las harinas de sorgo ***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO*** registraron valores de ***IAA*** de 2.26, 2.30 y 2.19 g gel/g muestra (**Cuadro 11**). Los valores de índice de solubilidad en agua (***ISA***) de las harinas de sorgo ***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO*** fueron de 6.04, 12.15 y 13.70 g de sólidos/ 100 g de muestra seca, respectivamente (**Cuadro 11**).

Singkhornart y col (2014), estudiaron la influencia de la germinación y la extrusión como procesamiento secuencial sobre las propiedades fisicoquímicas de trigo; observando incremento el ***ISA*** en los germinados, puede deber a la hidrólisis de almidón en polisacáridos de cadena más corta por la acción de enzimas

Cuadro 11. Propiedades fisicoquímicas de harinas de sorgo

Propiedades Fisicoquímicas	**HSC[1]**	**HSGO[1]**	**HSGEO[1]**
Color			
Valor Hunter L	77.57 ± 1.52^{A}	73.44 ± 0.49^{B}	63.30 ± 0.61^{C}
ΔE	19.25 ± 0.25^{C}	22.63 ± 0.55^{B}	34.38 ± 0.49^{A}
Actividad acuosa (a_w)	0.33 ± 0.006^{C}	0.51 ± 0.002^{A}	0.42 ± 0.002^{B}
pH	6.38 ± 0.02^{A}	5.66 ± 0.06^{B}	5.45 ± 0.08^{C}
Densidad aparente	65.33 ± 0.26^{B}	59.50 ± 0.12^{C}	74.40 ± 1.12^{A}
IAA[2]	2.26 ± 0.10^{A}	2.30 ± 0.43^{A}	2.19 ± 0.23^{A}
ISA[3]	6.04 ± 0.38^{B}	12.15 ± 1.96^{A}	13.70 ± 1.83^{A}
IAaceite[4]	1.42 ± 0.01^{C}	1.70 ± 0.01^{A}	1.50 ± 0.01^{B}
Dispersabilidad (%)	50 ± 0.01^{A}	50.00 ± 1.92^{A}	50 ± 0.01^{A}
Formación espuma (%)	3.50 ± 0.31^{B}	43.57 ± 2.54^{A}	1.19 ± 0.18^{C}
Estabilidad espuma (%)	71.11 ± 3.84^{A}	50.64 ± 1.11^{B}	0.00 ± 0.01^{C}
Actividad emulsión (%)	57.78 ± 5.02^{A}	50.00 ± 0.01^{B}	32.50 ± 0.01^{C}
Estabilidad emulsión (%)	99.17 ± 8.77^{A}	75.00 ± 0.01^{B}	62.82 ± 2.22^{C}

Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar; medias con letra diferente en el mismo renglón indican diferencia significativa (Duncan p≤0.05)

[1]HSC= Harina de sorgo cruda, HSGO= Harina de sorgo germinada optimizada, HSGEO= Harina de sorgo germinada extrudida optimizada

[2]Índice de absorción de agua = g gel/g muestra; [3]Índice de solubilidad en agua = sólidos/100g muestra; [4] Índice de absorción de aceite = mL de aceite absorbido / g de muestra

amilolíticas, causando la disminución en el contenido de almidón y aumento de azúcares reductores y no reductores durante la primera etapa del procesamiento; lo que resultó en una disminución en la absorción de agua. Mientras que el proceso de extrusión provocó la gelatinización del almidón produciendo modificaciones estructurales significativas, como destrucción de la cadena del polímero. Ademas, por las altas fuerzas de corte y las temperaturas, se aumentó la severidad del tratamiento térmico, lo que en consecuencia eleva el ***ISA*** y provoca un menor ***IAA*** en la harina de trigo germinado-extrudido. El ***ISA*** se relacionó con la cantidad de moléculas solubles, que está relacionada con la dextrinización. En otras palabras, el ***ISA*** se usa como un indicador para la degradación de los compuestos moleculares y mide el grado de conversión del almidón durante la extrusión. Además, la dextrinización es bien conocida como el mecanismo predominante de la degradación del almidón durante la extrusión (Lazou y Krokida, 2010).

La habilidad de los productos alimenticios para captar aceite es una cualidad importante, debido a que mejora la retención de sabor y aroma, además de proporcionar una mayor sensación gustativa en algunos tipos de alimentos

(Kinsella 1976). Los índices de absorción de aceite (***IAaceite***) de las harinas de sorgo, ***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO*** fueron 1.42, 1.70 y 1.50 mL de aceite absorbido / g de muestra, respectivamente (**Cuadro 11**). De los valores obtenidos para esta propiedad la harina de sorgo crudo (***HSC***) obtuvo el menor valor, ambos procesos (extrusión, germinación) favorecieron el incremento en el IAaceite; el mayor incremento se observó al aplicar condiciones optimizadas de germinación a los granos (de 1.42 a 1.70 mL aceite absorbido / g muestra) (**Cuadro 11**), esto podría atribuirse a que durante la germinación de granos existe un aumento en la disponibilidad de estos aminoácidos al desenmascarar los residuos no polares de la proteína internas de moléculas atribuido al atrapamiento físico de aceite. La gran capacidad de absorción de aceite de las harinas de germinadas de cereales y leguminosas, sugieren que estas harinas serían útiles en la formulación de alimentos donde una propiedad de retención de aceite sea una consideración importante. Mientras que, el proceso de extrusión provoco una disminución ($p < 0.05$) del 11.76% con respecto a la ***HSGO***, eso puede deberse a la desnaturalización proteica, que conllevaría la agregación de los grupos hidrofóbicos, y por lo tanto, la unión de dichos grupos hidrofóbicos libres con el aceite se vería reducida (Granito y col. 2007). Sin embargo, el procesamiento secuencial (germinación-extrusión) favorece valores bajos de ***IAaceite*** lo que ayudan a evitar el enranciamiento y el desarrollo del poder oxidativo, siendo estos aspectos de especial interés ya que determinan la aceptación del producto por parte del consumidor (Aguilera-Gutiérrez y col 2009).

Las dispersabilidades de las harinas de sorgo (***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO***) registrados en este estudio fueron: 50.00, 50.00 y 50.00%, respectivamente (**Cuadro 11**). El valor de dispersabilidad se ha correlacionado, de manera indirecta, al grado de desnaturalización de las proteínas de un alimento procesado; un valor de dispersabilidad alto indica una menor desnaturalización de las proteínas (Visser y Thomas 1987). Sin embargo, no se apreciaron diferencias significativas entre ***HSC, HSGO*** y ***HSGEO***.

Las espumas se pueden considerar como dispersiones de burbujas de gas en una fase continua que puede ser líquida o semisólida; la función de las proteínas, al igual que en las emulsiones, es reducir la tensión interfacial orientando sus grupos hidrofílicos hacia el exterior de la burbuja en contacto con el agua, y los

hidrofóbicos hacia el interior, con el aire (Murray y Ettalaie 2004; Castel 2010). La capacidad de formación de espuma y estabilidad de espuma (%) de las harinas de sorgo (***HSC***, ***HSGO***, ***HSGEO***) registrados en este estudio fueron: 3.50, 43.57 y 1.19, y 71.11, 50.64 y 0%, respectivamente (**Cuadro 11**). Se observó que la germinación del grano de sorgo ocasionó un incremento significativo (de 3.50 a 43.57%) en esta propiedad funcional. Esto puede deberse a que las proteínas son de los principales agentes espumantes en muchos productos alimentarios, debido a que son fuertemente adsorbidas en la interfase agua-gas; sin embargo, sus propiedades de formación y estabilidad pueden ser modificadas por diversos factores (concentración y solubilidad proteica, pH, tipo de sales y carbohidratos) además de los intrínsecos de la proteína (hidrofobicidad total y superficial, carga neta, conformación molecular y susceptibilidad al trabajo mecánico durante el espumado). Cuando se formula una espuma el interés primordial es el aumento de volumen respecto al volumen inicial y la estabilidad de la espuma a lo largo del tiempo (Cheftel y col. 1989). El tamaño de las burbujas también es de gran importancia para las propiedades de las espumas, ya que influyen en la textura, palatabilidad y estabilidad de los productos aireados (Balerin y col. 2007). Por lo tanto, el incremento en la formación de espuma en la ***HSGO*** pudiera atribuirse al tipo de proteínas de los germinados y a la solubilidad de éstas, a mayor solubilidad mayor capacidad de formación de espuma, pero se ve afectada por propiedades moleculares tales como la flexibilidad de la cadena, la densidad y distribución de la carga y la hidrofobicidad. La capacidad de la proteína para disminuir la tensión interfacial depende de su capacidad para desplegar rápidamente, reordenar y exponer sus grupos hidrófobos en la interfase. La espuma y la estabilidad de la espuma están influenciadas por dos conjuntos diferentes de propiedades moleculares que a menudo son antagónicas. Mientras que la primera se ve afectada por la tasa de adsorción en la interfaz aire-agua, la flexibilidad y la hidrofobicidad, ésta depende básicamente de las propiedades reológicas de la proteína, tanto en la interfase como en la masa. Estas propiedades mecánicas a su vez dependen del grado de hidratación, del espesor de la película interfacial, de la concentración de proteínas y de las interacciones intermoleculares favorables (Olivos-Lugo y col. 2010). Por otra parte, durante el proceso de extrusión se presentó una disminución ($p < 0.05$) de 97.26 y del 100%

de capacidad de formación y estabilidad de espuma con respecto a la ***HSGO***. Estos valores bajos de la ***HSGEO*** pueden atribuirse principalmente a los cambios en la configuración que sufren las proteínas al ser expuestas a altas temperaturas en las etapas de cocción. Las moléculas de proteínas flexibles presentan una excelente capacidad de formar espumas, sin embargo las moléculas ordenadas globulares presentan una menor capacidad de formación de espuma porque éstas son incapaces de reducir la tensión superficial de la interfase aire-agua. Como resultado de someter las muestras a un tratamiento térmico, se consigue una menor solubilización de las proteínas debido a la desnaturalización de las mismas, lo que provocará una reducción de la capacidad espumante (Yasumatsu y col. 2014). Los resultados obtenidos en esta investigación para la propiedad de capacidad de formación de espuma al aplicar el procesamiento secuencial concuerdan con lo reportado por Granito y col (2007), pues observaron una reducción durante el proceso de cocción de la capacidad de formación de espuma en harinas de judías.

Por su parte, los valores para la actividad y estabilidad de emulsión para las harinas de sorgo crudo (***HSC***), germinada optimizada (***HSGO***) y germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) fueron de 57.78, 50.00 y 32.50% y; 99.17, 75.00 y 62.82, respectivamente (**Cuadro 11**). Se observó una disminución significativa de ambas (actividad y estabilidad de emulsión) conforme se fueron sometiendo a cada uno de los procesos germinación y extrusión.

E COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HARINAS DE SORGO

El contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) en las harinas de sorgo cruda, germinada optimizada, y germinada extrudida optimizada fueron de 240.42, 303.95 y 309.75 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra (bs), respectivamente (**Cuadro 12**).

El proceso de germinación de granos de sorgo en condiciones optimizadas, incrementó ($P < 0.05$) los contenidos de compuestos fenólicos libres, ligados y totales en 24%, 28% y 26% respectivamente (**Cuadro 12**). Estos resultados son similares a los reportados por otros investigadores (Perales-Sánchez y col, 2014; Salcido-Luque y col, 2015; Salas-López y col, 2018) quienes observaron que la

germinación de semillas de amaranto (pseudo-cereal), sorgo (cereal) y frijol tepari (leguminosa) incrementa contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante con respecto a granos sin procesar, lo cual mejora su funcionalidad y potencial terapéutico. Estos incrementos podrían deberse a la liberación y biosíntesis de compuestos fenólicos (Duodu, 2014); se sabe que todos los sorgos contienen ácidos fenólicos, que se encuentran en el pericarpio, testa, capa de aleurona y endospermo, y los niveles de estos compuestos no sólo depende del genotipo, sino también del estrés biótico y abiótico. (Hahn y col, 1984; McDonough y col, 1986). Durante la germinación, enzimas que degradan la pared celular (principalmente esterasas) se activan y modifican la estructura de la pared celular de la semilla, liberando compuestos fenólicos como hidroxicinamatos (p.ej. ácidos Ferúlico y p-Cumárico) que se ligan, por enlaces éster y éter, a los polisacáridos de la pared celular de las semillas. Adicionalmente, durante la germinación de las semillas, la biosíntesis de compuestos fenólicos es favorecida por la activación de la fenilalanina amonia liasa (enzima clave en biosíntesis de fenólicos) (Duodu, 2014).

Con respecto al proceso de extrusión, El contenido de compuestos fenólicos totales (***CFT***) se incrementó ligeramente (2%) en la harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) producida a partir de ***HSGO***; los compuestos fenólicos ligados fueron la principal fracción responsable de esta mejora en ***CFT*** (**Cuadro 12**). Varios estudios han informado el efecto de las condiciones de extrusión sobre el contenido fitoquímicos, reportando pérdidas o aumentos importantes de compuestos bioactivos debido a los efectos térmicos y los cambios

Cuadro 12. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de harinas de sorgo

The picture can't be displayed.

Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar; Medias con letra diferente en el mismo renglón indican diferencia significativa (Duncan p≤0.05)

[1] HSC= Harina de sorgo crudo; HSGO= Harina de sorgo germinada optimizada, HSGEO= Harina de sorgo germinada extrudida optimizada

[2] µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g; bs

[3] mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g; bs.

químicos que ocurren durante la extrusión. Por ejemplo, la liberación de compuestos fenólicos depende en gran medida del contenido de humedad, el tiempo y la temperatura (Reyes-Moreno y col, 2018). El proceso de extrusión incrementa el contenido de compuestos fenólicos debido a la ruptura de la pared celular y la liberación de comuestos fenólicos, y a la formación de productos de la reacción de Maillard que son cuantificados como compuestos fenólicos (Espinoza-Moreno y col, 2016). Sin embargo, en la literatura existen reportes que el proceso térmico que ocurre durante la extrusión podría disminuir el contenido de compuestos fenólicos debido a la descarboxilación de ácidos fenólicos (Repo-Carrasco-Valencia y col, 2009).

Albarracín y col (2015) reportaron un incremento del 33 % de los valores de contenido de fenólicos libres de harina de arroz germinada comparada con el grano sin germinar. Estos valores se pueden atribuir a que, durante la germinación se degrada la pared celular por la hidrólisis enzimática aumentando las formas fenólicas libres (Moongngarm y Khomphiphatkul, 2010). Al someter al proceso de extrusión la harina de arroz germinada incrementaron los valores de contenido de fenólicos libres, estos aumentos pueden deberse a la liberación de ácidos fenólicos por la descomposición de los componentes celulares de la matriz (Brennan y col, 2011) que explican el incremento de los mismos. Los resultados de este trabajo son comparables a los reportados por otros investigadores, quienes observaron que el procesamiento secuencial (germinación-extrusión) en trigo (Singkhornart y col, 2013) y maíz (Gong y col, 2018) incrementa el contenido de compuestos fenólicos con respecto a granos sin procesar, lo cual mejora su funcionalidad y potencial terapéutico.

La actividad antioxidante (***AAox***) total (suma de actividades antioxidantes de fitoquímicos libres y ligados) se determinó empleando las metodologías de ABTS y DPPH obteniendo valores para la ***HSC*** de 4,273 y 758.31 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs), respectivamente (**Cuadro 12**). La ***AAox*** de la ***HSGO*** evaluada por las dos metodologías mencionadas anteriormente fue: ABTS=8, 410 y DPPH=1,378 n µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de

muestra (bs). Mientras que, ***HSGEO*** obtuvo valores de: ABTS=7, 517 y DPPH=1,204 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs), respectivamente (**Cuadro 12**).

En el grano crudo la mayor contribución a la actividad antioxidante (***AAox***), evaluada por las dos metodologías, correspondió a los fitoquímicos ligados; mientras que en ***HSGO*** y ***HSGEO*** la mayor contribución a la actividad antioxidante (***AAox***), evaluada por las dos metodologías, correspondió a los fitoquímicos libres (**Cuadro 12**). El bioproceso de germinación incrementó significativamente ($P < 0.05$) la ***AAox*** en un 97% y 82%, evaluada por las metodologías de ABTS y DPPH, respectivamente (**Cuadro 12**). Los valores obtenidos en este trabajo son similares a lo obtenido por Dicko y col (2005), quienes determinaron la ***AAox*** mediante la metodología de ABTS en granos de sorgo rojo crudos y germinados, reportan valores entre 3,000 y 8,000 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs), respectivamente.

Salcido-Luque y col (2015), estudiaron el efecto de la germinación sobre la ***AAox*** por la metodología de ABTS en tres variedades sorgo, reportando valores para el sorgo crudo de 4,022 hasta 6,017 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs) y en el sorgo germinado se obtuvieron valores de 10,866- 21,022 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs). Las diferencias con respecto a nuestro trabajo, podría deberse a los diversos factores agronómicos tales como tipo de suelo, tiempo de cosecha, condiciones climáticas, entre otros; los cuales tienen influencia sobre la producción de metabolitos secundarios en las plantas llevando a un incremento o decremento de compuestos fenólicos con actividad antioxidante en los granos.

Perales-Sánchez y col (2014) estudiaron los cambios de la actividad antioxidante de semillas de amaranto germinado y observaron que la actividad antioxidante para las fracciones de fenólicos libres, ligados y totales, evaluada por la metodología de ABTS, incrementaron en 756, 261 y 470 %, respectivamente.

La ***HSGEO*** presentó valores de ***AAox*** de 7,517 y 1, 204 µmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra (bs), por la metodología de ABTS y DPPH, respectivamente. Se puede observar que el proceso de extrusión causó una disminución ($p<0.05$) del 11 y 13% respectivamente al compararse con ***HSGO***. La ***AAox*** no correlacionó con el contenido fenólico, esto puede deberse que el tipo

de compuestos fenólicos presentes en la **HSGEO**, poseen poca actividad ABTS (Altan y col 2009).

Albarracín y col (2015) reportaron un incremento de los valores de ***AAox*** de harina de arroz germinada comparada con el grano sin germinar, así como un incremento mayor en los germinados de arroz sometidos al proceso de extrusión; explicando que la capacidad antioxidante y la actividad antirradical de los productos extruidos dependen no solo del nivel de compuestos bioactivos, sino también de la composición de los mismos.

F ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE HARINAS DE SORGO

La NOM-147-SSA1-1996 establece para una harina integral la cantidad permisible de mesófilos aerobios 500,000 UFC/g, para coliformes totales 500 UFC/g y para mohos 500 UFC/g. **El Cuadro 13** muestra los resultados obtenidos del recuento de bacterias aerobias, coliformes totales y mohos en harinas de sorgo cruda, germinada optimizada y germinada extrudida optimizada.

La harina de sorgo cruda (***HSC***) se encuentran dentro de la norma en cuanto a mesófilos y mohos ya que se evidenciaron en cantidades menores a los establecidos como límite máximo, 1400 UFC/g de mesofílos aerobios y 20 UFC/g de mohos; excepto por coliformes totales que no cumple con las especificaciones sanitarias de la norma, 1600 UFC/g de coliformes totales. La **Fig 14** muestra los resultados obtenidos con las diferentes diluciones según el microorganismo para harina de sorgo crudo (***HSC***).

Chávez-Bravo y col (2016) evaluaron semillas de chía con tamizaje y molienda y sin tamizaje y molienda, en la semilla con tamizaje y con molienda contaron 2000 UFC/g de bacterias mesofílicas aerobias, $<$10 UFC/g de coliformes totales y 35 UFC/g de hongos y levaduras, en el caso de la semilla sin tamizaje y molienda se halló 2500, $<$10 y 2500 UFC/g respectivamente; observándose que la semilla sin tamizaje y molienda no cumplió con las especificaciones sanitarias de la norma en cuanto a hongos y levaduras.

La harina de sorgo germinada optimizada presentó mala calidad microbiológica, todas las muestras reportaron valores fuera de la especificación sanitaria (NOM-147-SSA1-1996) que oscilaron entre $50x10^5$, $60x10^5$ y 1000 UFC/g, para coliformes totales, mesofílos aerobios y mohos respectivamente (**Cuadro 13**). Estos valores representan un incremento de 3, 3 y 1 unidades logarítmicas respectivamente comparada con la harina de sorgo cruda, lo cual representa un riesgo a la salud de los consumidores. Los conteos microbianos elevados en este tipo de muestras

Cuadro 13. Estabilidad microbiológica de harinas de sorgo

The picture can't be displayed.

Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar; Medias con letra diferente en el mismo renglón indican diferencia significativa (Duncan p≤0.05)

[1] HSC= Harina de sorgo crudo; HSGO= Harina de sorgo germinada optimizada, HSGEO= Harina de sorgo germinada extrudida optimizada

[2]Unidades formadoras de colonia

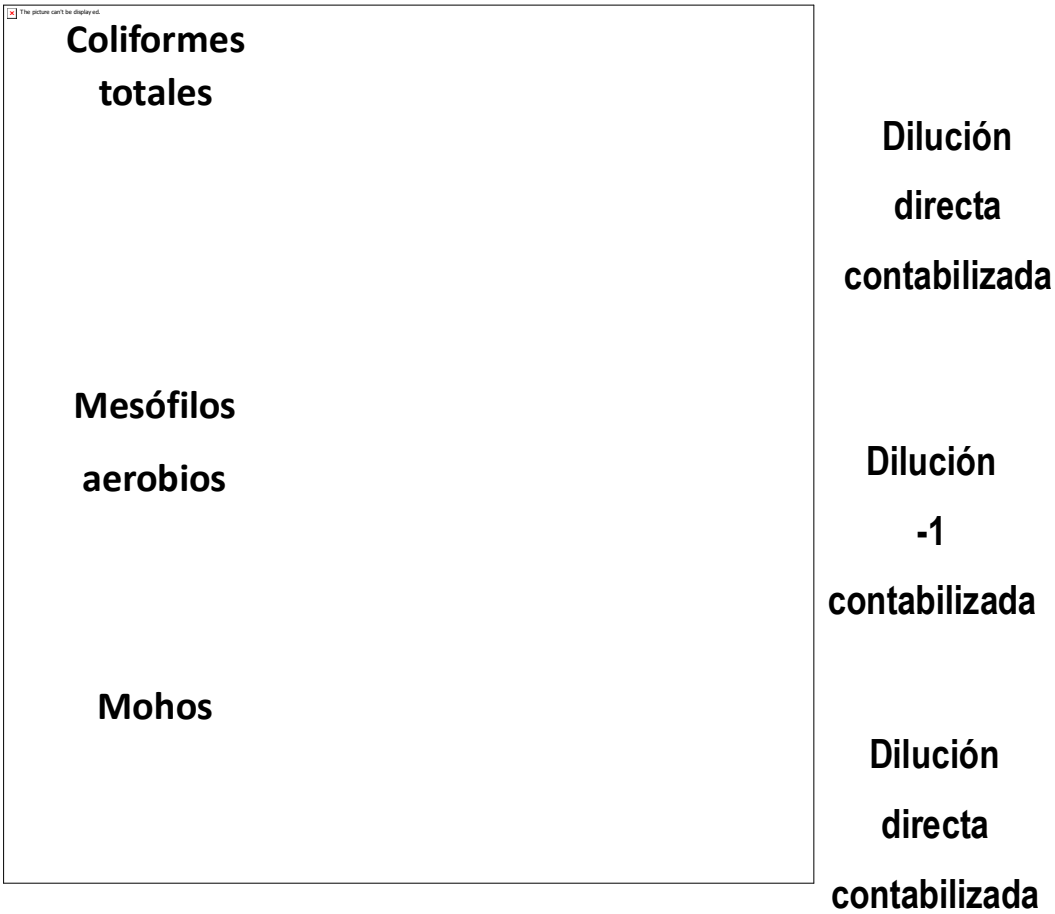

Fig 14. Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo cruda.

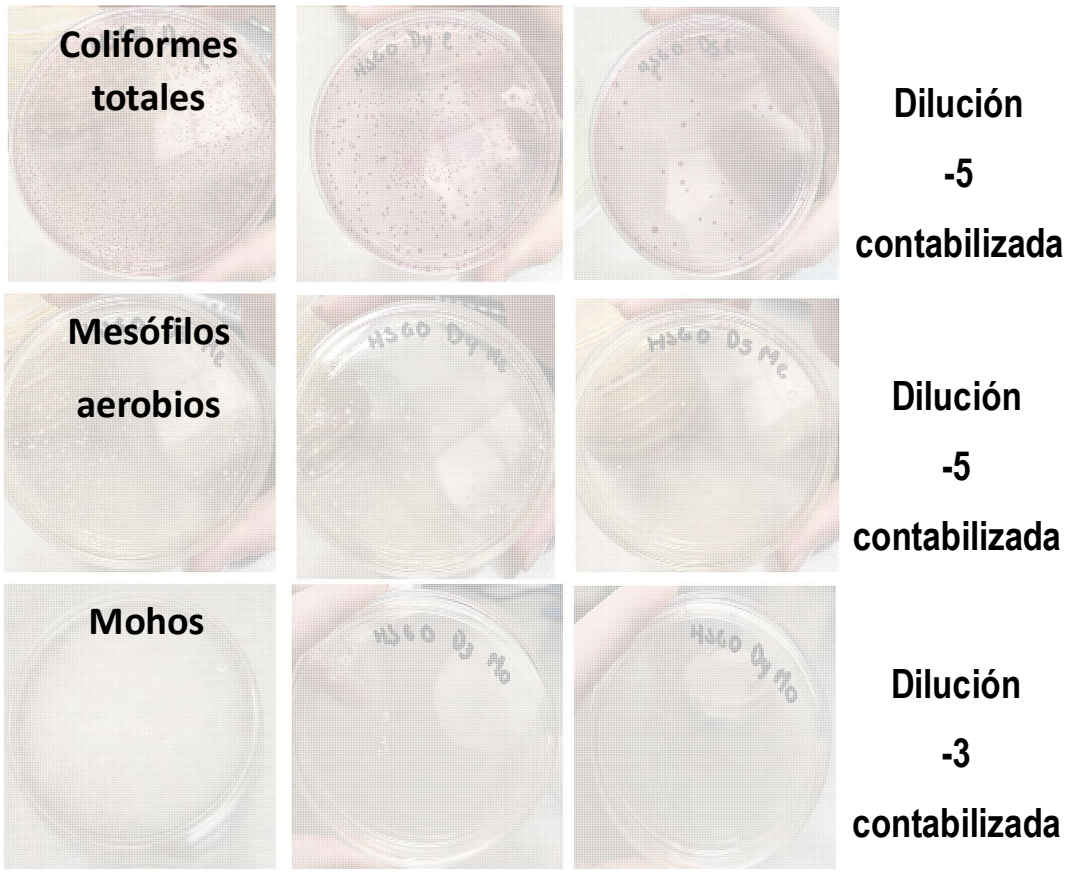

Fig 15. Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo geminada optimizada

Sangronis y col (2009), realizaron el recuento de bacterias aerobias, coliformes totales, *Escherichia coli*, levaduras y mohos en semillas sin germinar y germinadas de dos variedades de *Phaseolus vulgaris,* concluyendo que la germinación de *Phaseolus vulgaris* variedades negra y blanca incrementó significativamente la población de aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras con respecto a las semillas sin germinar, resultados similares se obtuvieron en el presente trabajo.

Soylemez y col (2011) estudiaron germinados de alfalfa y se encontró un incremento de 5 y 6 unidades logarítmicas para mohos y levaduras, respectivamente, comparado con los granos sin germinar; además afirman que el uso de hipoclorito de sodio en los germinados produce un efecto antimicrobiano de corta duración. Para no perder las ventajas del bioproceso de germinación; es decir, calidad nutricional mejorada, se aplicó la extrusión como proceso secuencial para la producción de harina de sorgo germinada extrudida optimizada; obteniendo como resultado una reducción microbiana, significativamente importante con respecto a la harina germinada, 5 veces menor para coliformes totales y mesófilos (**Cuadro 13**). La **Fig 16** muestra los resultados obtenidos con las diferentes diluciones según el microorganismo para harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***).

Resultados similares se obtuvieron en un estudio realizado por Aguirre-Tafur y Calderón-Mera (2015), en el cual realizaron una mezcla alimenticia extrudida a base de quinoa, arroz y frijol, donde se redujeron los coliformes totales hasta reportar ausencia, comparados con la materia prima.

Por otra parte, Navarrete-Jaramillo y col (2013) llevaron a cabo la elaboración de una pasta funcional con adición de harina de bagazo de uva, reportando <10 UFC/g para coliformes, mohos y levaduras afirmando que mediante el proceso de extrusión se obtienen productos con escasas cargas microbianas que cumplan con los requisitos microbiológicos.

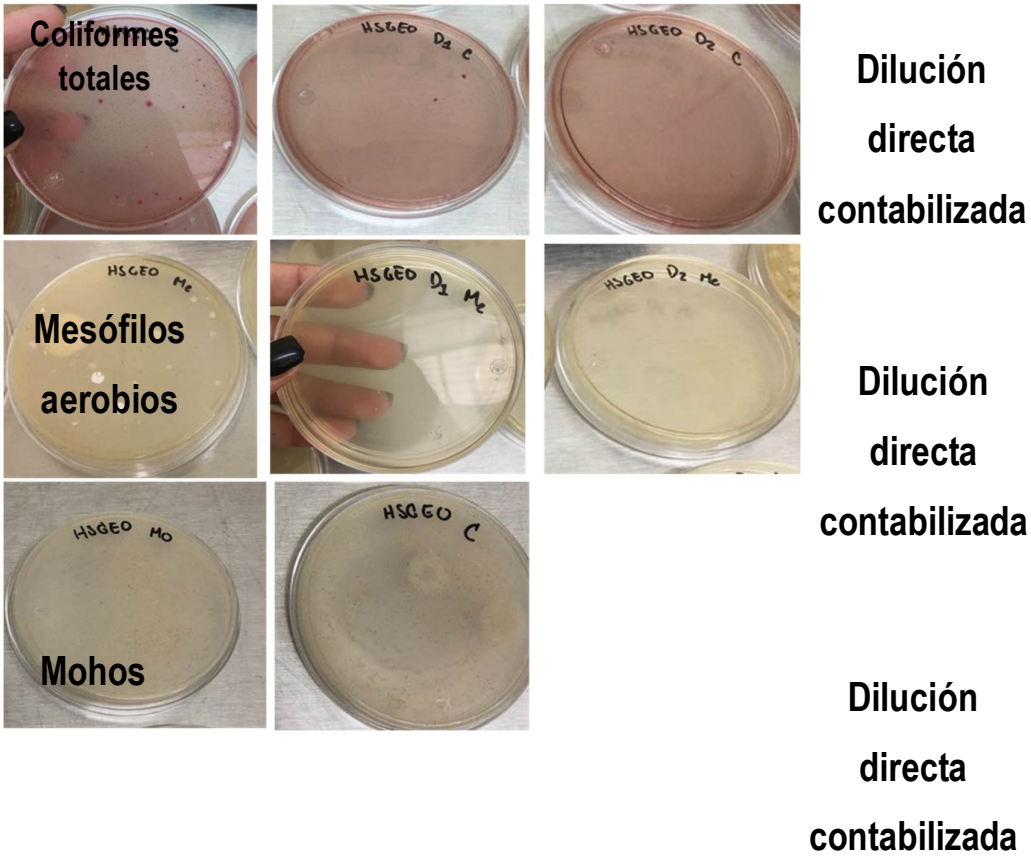

Fig 16. Fotografías que muestran el crecimiento de coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos, según el tipo de dilución que se contabilizó en harina de sorgo geminada extrudida optimizada

IX CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron modelos matemáticos de predicción adecuados y reproducibles [nivel de significancia $p < 0.05$, $R^2 > 0.80$, coeficiente de varianza (CV) < 10%, prueba de falta de ajuste > 0.05] para cada una de las variables de respuesta estudiadas (***AAox***, ***CFT***, ***DPIV***).
2. La mejor combinación de variables del proceso de extrusión (temperatura de extrusión y velocidad de tornillo) para la producción de ***HSGEO*** con valores altos de ***AAox*** [ABTS=7,343µmol ET/100g muestra (bs), DPPH= 1,204 µmol ET/100g muestra (bs)], ***CFT*** [306.6 mg EAG/100g muestra (bs)] y ***DPIV*** (68.7%) fue ***TE***=137°C/ ***VT***= 134 rpm
3. La metodología de superficie de respuesta es una herramienta útil para la optimización del proceso de extrusión de germinados de sorgo para la obtención de una harina funcional (harina de sorgo germinada extrudida optimizada, ***HSGEO***) con ***AAox***, ***CFT*** y ***DPIV*** altos.
4. La harina de sorgo germinada extrudida optimizada (***HSGEO***) podría ser usada como fuente natural de antioxidantes en el desarrollo de nuevos alimentos y bebidas funcionales.
5. La ***HSGEO*** cuenta con las especificaciones sanitarias marcadas por la norma de harinas integrales.

.

X BIBLIOGRAFÍA

Adom KK y Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:6182-6187

AACC. 1995. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 9a ed. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, MN, EUA

Adrian J, Murias de Queroz MJ, Frangne R. 1970. La vitamine PP dans les graines de céréales et de légumineuses. *Annales de la nutrition et de l'alimentation* 24:155-166

Afify AMR, El-Beltagi HS, El-Salam SMA, Omran AA. 2012. Effect of soaking, cooking, germination and fermentation, processing on proximate analysis and mineral content of three white sorghum varieties (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 40(2):92-98

Agrícola DG. 1991. Aspectos Técnicos sobre Cuarenta y Cinco Cultivos Agrícolas de Costa Rica. San José, Costa Rica: Ministerio de Agricultura y Ganadería

Aguirre-Tafur DH, Calderon-Mera YK. 2015. Elaboración de una mezcla alimenticia extruida a base de harina de quinua (*ChinopodiumquinoaWilld*), arroz (*Oriza sativa*) y frijol gandul (*Canajuscajan*) saborizado con harina de lúcuma. Tesis de Licenciatura. Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, UNPD, Perú

Albarracín M, De Greef DM, González RJ, Drago SR. 2015. Germination and extrusion as combined processes for reducing phytates and increasing phenolics content and antioxidant capacity of *Oryza sativa* L. whole grain flours. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 66(8):905-911

Alemu KM. 2009. The Effect of Natural Fermentation on some Antinutritional Factors, Minerals, Proximate Composition and Sensory Characteristics in Sorghum Based Weaning Foods. Tesis de Maestría en Ciencias. Addis Ababa University, Ethiopia

Al-Mamary M, Al-habori M, Al-Aghbari A, Al-Obeidi A. 2001. *In vivo* effects of dietary sorghum tannins on rabbit digestive enzymes and mineral absorption. *Nutrition Research* 21:1393-1401

Altan A, Mccarthy KL, Maskan M. 2009. Effect of extrusion process on antioxidant activity, total phenolics and b-glucan content of extrudates developed from barley-fruit and vegetable by-products. *International Journal of Food Science and Technology* 44:1263–1271

Alvarez-Martínez L, Kandury KP, Harper JM. 1988. A general model for expansion of extruded products. *Journal of Food Science* 53:609-615

Anderson JW. 2003. Whole grain protects against atherosclerotic cardiovascular disease. *Proceedings of the Nutrition Society* 62:135-142

Anderson RA, Conway HF, Pfeifer VF y Griffin E. 1969. Gelatinization of corn grits by roll and extrusion cooking. *Cereal Science Today* 14:4-7,11-12.

AOAC . 1999. Official Methods of Analysis, 16th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Gaithersburg, MD, USA.

Athar N, Hardacre A, Taylor G, Clark S, Harding R, McLaughlin J. 2006. Vitamin retention in extruded food products. *Journal of Food Composition and Analysis* 19:379-383

Awika JM, Rooney LW, Waniska RD. 2004. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 90:293-301

Awika JM, Rooney LW, Wu X, Prior RL. Cisneros-Zevallos L. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:6657–6662

Azcon-Bieto J, Talon M. 1993. Fisiología y Bioquímica Vegetal. Interamericana. McGraw - Hill, Madrid, España.

Azuara F. 1999. Evaluación de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) con potencial para alimentación humana. Coahuila: Universidad Autonóma Agraria Antonio Narro. 44 p.

Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9:1055-1066.

Björck M, Nyman M, Asp N. 1984. Extrusion cooking and dietary fiber. Effects on dietary fiber content and on degradation in the rat intestinal tract. *Cereal Chemistry* 61:174-179.

Blessin CW, VanEtten CH, Wiebe R.1958. Carotenoid content of the grain from yellow endosperm-type sorghums. *Cereal Chemistry* 35:359-365.

Bradford KJ. 1990. Awater relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiology* 94:840.

Brandon MJ, Foo LY, Porter LJ, Meredith P. 1982. Proanthocyanidins of barley and sorghum composition as a function of maturity of barley ears. *Phytochemistry* 21:2953–2957.

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

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

Bressani R, Harper J, Whickstrom B. 1984. *Processed and Packaged weaning foods: Development, manufacture and marketing. Improving the nutritional status of children duringweaning period.* USA: MIT. Cambridge.

Buck J, Walcott R, Beuchat L. 2003. Recent Trends in Microbiological Safety of Fruits and Vegetables. Obtenido de www.aspnet.org/online/feature/safety.

Camire ME, Camire A, Krumhar K. 1990. Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29:35-57

Camire ME, Dougherty MP, Briggs JL. 2005. Antioxidant-rich foods retard lipid oxidation in extruded corn. *Cereal Chemistry* 82:666-670

Capitani MI, Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC. 2013. Microstructure, chemical composition and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93(15):3856-3862

Carrasco N, Zamora M, Melin A. 2011. Manual de sorgo. 1ª ed. Buenos Aires: INTA. 110 p.

Carter EGA, Carpenter KJ. 1981. Bound niacin in sorghum and its availability. *Nutrition Research* 1:571-579.

Carter EGA, Carpenter KJ. 1982. The available niacin values of foods for rats and their relation to analytical values. *Journal of Nutrition* 112:2091-2103

Castel MV. 2010. Estudio de las Propiedades Funcionales, Tecnológicas y Fisiológicas de las Proteínas de Amaranto. Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral

Cava R, Sangronis E, Rodriguez M, Colina J. 2009. Calidad microbiológica de semillas germinadas de *Phaseolus vulgaris*. *INTERCIENCIA* 34: 796-800

Charoenthaikij P, Jangchud K, Jangchud A, Piyachomkwan K, Tungtrakul P y Prinyawiwatkul W. 2009. Germination conditions affect physicochemical properties of germinated brown rice flour. *Journal of Food Science* 74:658-665.

Chavan JK y Kadam SS. 1989. Nutritional improvement of cereals by sprouting. Critical Review Food Science and Nutrition. 28:401

Chavarín-Martínez CD, Reyes-Moreno C, Gutiérrez-Dorado R. 2019. Germination Effect on Physicochemical Properties, Nutritional Profile, and Bioactive Compounds of Cereals and Pseudocereals. Mora-Escobedo R, Camacho-Reynoso R, Cristina (ed). Nova Publishers. In press.

Chávez-Bravo E, Alonso-Calderon A, Castañeda-Roldán E, Ramos-Casellis M, Marroquín-Torres V. 2016. Calidad microbiológica de la semilla de chía negra (*Salvia hispanica* L) y sus coproductos barras y galletas. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* 7(15):58-64

Chen F, Cole P, Mi ZB, Xing LY. 1993. Corn and wheat-flour consumption and mortality from esophageal cancer in Shanxi, China. *International Journal of Cancer* 53:902–906

Clifford MN. 2000. Anthocyanins - Nature, occurrence and dietary burden. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 80:1063-1072

Colmenares de Ruiz AS, Bressani R. 1990. Effect of germination on the chemical composition and nutritive value of amaranth grain. *Cereal Chemistry* 67:519-522

Czukor B. 2000. Processing. En: “Carbohydrates in Grain Legumes Seeds, Improving Nutritional Quality and Agronomic Characteristics”, Hedley CL (ed.), CABI Publishing, Norwich, UK, pp 112-115

De la Rosa-Mill J, Pérez-Carrillo E, Guajardo-Flores S. 2016. Effect of germinated black bean cotyledons (*Phaseolus vulgaris* L.) as an extruded flour ingredient on physicochemical characteristics, in vitro digestibility starch, and protein of nixtamalized blue maize cookies. *Starch/Stärke* 69:1-10

Deatherage WL, McMasters MM, Rist CE. 1955. A partial survey of amylose content in starch from domestic and foreign varieties of corn, wheat and sorghum and from some other starch-bearing plants. *Trans American Association of Cereal Chemists* 13:3 I-42

De la Cuadra C. 1993. Germinación, latencia y dormicion de las semillas. Dormicion en las avenas locas. Madrid: Hojas divulgadoras

Dell’Aquilla A, Bewley JD. 1989. Protein synthesis in the axes of polyethylene glycol-treated pea seed and during subsequent germination. *Journal of Experimental Botany* 40:1001-1007.

Dell’Aquilla A, Spada P. 1992. Regulation of protein synthesis in germinating wheat-embryos under polyethylene glycol and salt strees. *Seed Science Research* 2:75-80

Dendy DAV, Dobraszczyk BJ. 2001. Cereals and Cereal products, Chemistry and Technology. Aspen Publishes, Inc. Gaithersburg, Maryland.

Deosthale YG, Nagarajan V, Visweswar K. 1972. Some factors influencing the nutrient composition of sorghum grain. *Indian Joournal of Agricultural Sciences* 42:100-108

Design Expert. 2007. Version 7.0.0. by Stat-Ease. Minneapolis, MN, USA, Design Expert Inc.

Dicko MH, Gruppen H, Traore AS, van Berkel WJH, Voragen AGJ. 2005. Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:2581-2588

Domanski C, Giorda LM, Feresin O. 1997. Composición y calidad del grano de sorgo. *Sitio Argentino de Producción Animal* 7:47-50.

Duffus CM, Slaughter JC. 1980. Seeds and their Uses. John Wiley and Sons. New York, NY. pp. 1-54

Duke J. 1983. Sorghum X almumParodi. Handbook of Energy Crops. Disponible desde internet URL: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke-energy/Sorghum-X almum.html.

Duodu KG. 2014. Effects of processing on phenolic phytochemicals in cereals and legumes. *Cereal Foods World* 59:64-70

Dykes L y Rooney LW. 2006. Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science* 44: 236.

Earp CF, McDonough CM, Awika J, Rooney LW. 2004. Testa development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) *Moench*. *Journal of Cereal Science* 39:(2)303-311

El-Hady EAA, Habiba RA. 2003. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *LWT - Food Science and Technology* 36:285-93

Elizalde AD, Porrilla YP, Chaparro DC. 2009. Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 7(1):114-116

Elmaki HB, Babiker EE, El Tinay AH. 1999. Changes in chemical composition grain malting starch and tannin contents and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. *Food Chemistry* 64:331–336

Espinoza-Moreno RJ, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, López-Valenzuela JA, Paredes-López O, Gutiérrez-Dorado R. 2016. Healthy ready-to-eat expanded snack with high nutritional and antioxidant value produced from whole amarantin transgenic maize and black common bean. *Plant Foods for Human Nutrition* 71:218–224

Fageer ASM, Babiker EE, El-Tinay AH. 2004. Effect of malt pretreatment and / or cooking on phytate and essential amino acids contents and *in vitro* protein digestibility of corn flour. *Food Chemistry* 88:261-265

FAO. 1990. El Sorgo y el Mijo en la Nutrición Humana. *Food and Agriculture Organization.* Disponible en: http://www.fao.org/docrep/t0818s/T0818S04.htm#Produccion de sorgo

FAO. 2016. Estadísticas de Producción Agropecuaria. Sorgo. *Food and Agriculture Organization.* Roma (IT). Disponible en: http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor.

Fellows P. 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice, Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 177-182

Fellows PG. 1990. Extrusion, Food Processing and Technology En: Harwood DE (editores), Principles and Practice. Great Britain, p. 267-277

Fincher GB. 1989. Molecular and celular bioly associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40:305-346

Footitt S, Cohn MA. 1992. Seed dormancy in red rice. VIII. Embryo acidification during dormancy-breaking and subsequent germination. *Plant Physiology* 100(3):1196-1202

Gamel TH, Linssen JP, Mesallam AS, Damir AA, Shekib LA. 2006. Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86 (1):82-89

Gámez-Valdez LC. 2017. Efecto de la Extrusión sobre Actividad Antioxidante y Compuestos Fenólicos de Semillas de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). Optimización del Proceso. Tesis de Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología de Alimetos, Programa Regional de Posgrado en Alimentos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, SIN, MEX, 134 p

Garciarrubio A, Legaria JP, Cavarrubias A. 1997. Abscisic acid inhibits germination of mature Arabidosis seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta* 203:182-187

Gernah DI, Ariahu CC, Ingbian EK. 2011. Effects of malting and lactic fermentation on some chemical and functional properties of maize (*Zea mays*). *American Journal of Food Technology* 6:404-412

Gómez-Favela M.A, Gutiérrez-Dorado R, Cuevas-Rodríguez E.O, Canizalez-Román V.A, León-Sicairos C, Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C. 2017. Improvement of chia seeds with antioxidant activity, GABA, essential amino acids, and dietary fiber by controlled germination bioprocess. *Plant Foods for Human Nutrition* 72(4):345-352

González-Castañeda J. arroyo-Torres IL, Borondanenko A, Carballo-Monsivais CA. 2005. Efecto de la época de cosecha en las características físicas, químicas y funcionales de amaranto (*Amanranthus hypochondriacus).* VII Congreso nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guanajuato, Gto. pp. 95-102

Gordon LA. 2001. M.S. thesis, Texas A&M University, College Station, TX.

Gous F. 1989. Tannins and phenols in black sorghum.Ph.D. dissertation, Texas A&M University, College Station, TX

Gujer R, Magnolato D, Self R. 1986. Glucosylated flavonoids and other phenolic compounds from sorghum. *Phytochemistry* 25:1431–1436

Hagerman AE, Rield KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 46:1887

Hahn DH, Rooney LW, Faubion J.M. 1983. Sorghum phenolic acids, their HPLC separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chemistry* 60:255–259

Hahn DH. 1984. Phenols of sorghum and maize: the effect of genotype and alkali processing. Ph.D. dissertation. Texas A&M University, College Station, TX

Hardland BF, Oberkas D. 1987. Phytate in foods. *World Review of Nutrition and Dietetics* 52:235-259

Hauffman VL, Lee CK, Burns EE. 1975. Selected funtional properties of sunflower meal (*Heliantusanhus*). *Journal of Food Science* 40: 70-74

Hubbard JE, Hall HH, Earle FR. 1950. Composition of the component parts of the sorghum kernel. *Cereal Chemistry* 27:415-420

Huerta-Ocampo J, Barba de la Rosa A. 2011. Amaranth: A pseudo-cereal with nutraceutical properties. *Current Nutrition and Food Science* 7(1):1-9

Hulse JH, Laing EM, Pearson OE. 1980. Sorghum and the Millets: Their Composition and Nutritive Value. New York, Academic Press. 997 p

Idris WH, Hassan AB, Babikar EE, Eltinay A.H. 2005. Effect of malt pre-treatment on antnutritional factors and hcl extractability of minerals of sorghum cultivars. *Pakistan Journal of Nutrition* 4:396-401

Jambunathan R, Subramanian V. 1988. Grain Quality and Utilization of Sorghum and Pearl Millet.In: "Biotechnology in Tropical Crop Improvement". *Proceedings of the International Biotechnology Workshop*, Patancheru, India, pp133-139

Jambunathan R. 1980. Improvement of the nutritional quality of sorghum and pearl millet. *Food Nutrition Bulletin* 2:11-16

Kermode AR. 1990. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. *Critical Reviews in Plant Sciences* 9:155-195

Khandelwal S, Udipi S, Ghugre P. 2010. Polyphenols and tannins in Indian pulses: Effect of soaking, germination and pressure cooking. *Food Research Internatio*nal 43: 526-530

Killeit U. 1994. Vitamin retention in extrusion cooking. Food Chemistry 49:149-155.

King J. 1991. The genetic basis of the plant physiological processesOxford University Press. New York, USA. pp: 347-393.

Kinsella JE. (1976). Functional properties of food proteins: a rview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 7:219-280

Klopfenstein CF, Varriano-Marston E, Hoseney RC. 1981. Cholesterol-lowering effect of sorghum diet in guinea pigs. *Nutrition Reports International* 24:621-626

Korus J, Gumul D y Czechowska K. 2007. Effect of extrusion on the phenolic composition and antioxidant activity of dry beans of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Technology and Biotechnology* 45:139-146

Krueger CG, Vestling MA, Reed JD. 2003. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of heteropolyflavan-3-ols and glucosylated heteropolyflavans in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:538–543

Kushi LH, Meyer KA, Jacobs DR. 1999. Cereals, legumes, and chronic disease risk reduction: evidence from epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition* 70:451S-458S

Lee MH, Lee JS, Lee TH. 2004. Germination of buckwheatgrain: Effects on minerals, rutin, tannins and colour. En: Advances in Buckwheat Research: Proceedings of the 9th InternationalSymposium on Buckwheat. Research Institute of Crop Production. Prague, Czech Republic. 50-54.

Legaria-Solano J, Ponce-Romero G y Muñoz-Orozco A. 2000. Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de las semillas y el crecimiento de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). *Revista Fitotécnia Mexicana* 23:153-166.

Llopart EE, Drago S, González RJ. 2011. Efectos de las Condiciones de Extrusión en las Propiedades Fisicoquímicas y Funcionales de Productos Extrudidos de

Sorgo Integral de bajo Contenido de Taninos. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral. 131 p.

López Ortiz NC, Tique MM, Pérez Lavalle L. 2011. Contribución al estudio del sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) para nutrición humana. *Perspectivas en Nutrición Humana* 13:33-44.

Lukow OM, Bushuk W. 1984. Influence of germination on wheat quality. I. Functional (breadmaking) and biochemical properties. *Cereal Chemistry* 61:336.

McDonough CM, Rooney LW y Earp CF. 1986. Structural characteristics of *Eleusine coracana* (finger millet) using scanning electron and fluorescence microscopy. *Food Microstructure* 5:247–256.

Mercier C. 1993. Nutritional appraisal of extruded foods. *International Journal of Food Science and Nutrition* 44: 545-553.

Meredith P, Pomeranz Y. 1985. Sprouted grain. En: "Advances in Cereal Science and Technology". Pomeranz Y (ed.). *American Association of Cereal Chemists.* St. Paul MN. 239-320.

Milán-Carrillo J, Gutiérrez-Dorado R, Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Ramírez-Wong B, Reyes-Moreno C. 2005. The optimization of the extrusión process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International Journal of Food Science and Tecnology* 40:1-11.

Milán-Carrillo J, Montoya-Rodríguez A, Reyes-Moreno C. 2012. High Antioxidant Capacity Beverages from Roasted and Extruded Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) flours. In: "Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds", Chapter 13, Tunick M y De Mejía-González E (ed), ACS Symposium Series, *American Chemical Society*, Washington, DC, USA, pp 199-216.

Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Armienta-Rodelo E, Cárabez-Trejo A, Mora-Escobedo R. 2000. Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L). *LWT – Food Science and Technology* 33:117-123.

Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, Camacho-Hernández IL, Rouzaud-Sandez O. 2002. Optimization of extrusion process to transform hardened chickpeas (*Cicer arietinum L*) into a useful product. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82:1718-1728.

Mohammed NA, Mohammed IA, Barbiker EE. 2011. Nutritional evaluation of sorghum flour (*Sorghum bicolour* L. Moench) during processing of Injera. *International Journal of Nutrition and Food Engineering* 5(3):99-103

Moline H, Kulik M. 1997. Contamination and deterioration of alfalfa sproutds caused by a seedborne isolate of Erwinia herbicola. *Journal of Food Quality* 20: 53-60

Montiel MD, Elizalde JC, Santini F, Giorda L. 2011. Características físicas y químicas del grano de sorgo. Relación con la degradación ruminal en bovinos. *Archivos de Zootecnia* 60 (231): 533-541

Montoya-Rodríguez A, Milán-Carrillo J, Reyes-Moreno C, González de Mejía E. 2015. Characterization of peptides found in unprocessed and extruded amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) pepsin / pancreatin hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences* 16:8536-8554.

Moongngarm A, Saetung N. 2010. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chemistry* 122:782-788.

Mora-Escobedo R, Paredes-López O, Dominguez J. 1991. Optimization of germination procedure by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology* 21:24:51

Mora-Escobedo R, Paredes-López O, Gutiérrez-López GF. 1994. Effect of germination on the reological and functional properties of amaranth seeds. *LWT – Food Science and Technology* 24:241-246

Mora-Rochin S, Gutiérrez-Uribe JA, Serna-Saldivar SO, Sánchez-Peña P, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science* 52 (3):502-508

Muriu JI, Njoka-Njiru EN, Tuitoek JK. Nanua JN. 2002. Evaluation of sorghum (*Sorghum bicolor*) as replacement for maize in the diet of growing rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Asian-Australian Journal of Animal Science* 15:565-569

Murray B, Ettelaie R. 2004. Foam stability: proteins and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 9 (5):314-320.

Myers RH. 1971. Response Surface Methodology, 1st ed. Boston. Allyn and Bacon Publishers. 426p.

Naczk M, Shahidi F. 1997. Nutritional implications of canola condensed tannins. Antinutrients and Chemicals in Food: ACS Symposium Series. 662:186-208.

Navarrete-Jaramillo AA. 2013. Elaboración y Caracterización de Pasta Funcional con Adición de Harina de Bagazo de Uva. Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile, Santiago, Chile 59 p

Nic-Phiarais BP, Schehl BD, Arendt EK. 2008. Proteinchanges during malting of buckwheat. *The Journal of the American Society of Brewing Chemists* 66:127-135

Nip WK, Burns EE. 1969. Pigment characterization in grain sorghum. I. Red varieties. *Cereal Chemistry* 46:490–495.

Nirmala M, Muralikrishna G. 2002. Changes in starch during malting of finger millet (ragi, Eleusine coracana, Indaf-15) and its in vitro digestibility studies using purified ragi amylases. European *Food Research and Technolog*y 215(4):327-333.

NOM 092. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE BACTERIAS AEROBIAS EN PLACA. Obtenido de http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.htm.

NOM 110. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. PREPARACIÓN Y DILUCIÓN DE MUESTRAS DE ALIMENTOS PARA SU ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. Obtenido de http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html.

NOM 111. Norma Oficial Mexicana **NOM-111-SSA1-1994**, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS. Obtenido de http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.htm.

NOM 113. Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS. MÉTODO PARA LA CUENTA DE MICROORGANISMOS COLIFORMES TOTALES EN PLACA. Obtenido de http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html

NOM 2007. Norma Oficial Mexicana NMX-FF-034/1-SCFI-2002 (en línea). www.economianoms.gob.mx. Consultado: 21 abril 2007.

Nour AAM, Ahmed IAM, Babiker EE, Yagou AEA. 2010. Investigations on winter season Sudanese sorghum cultivars: effect of sprouting on the nutritional value. *International Journal of Food Science and Technology* 45:884–890

Ogbonna AC, Abuajah CI, Ide EO y Ukpong Sunny Udofia US. 2012. Effect of malting conditions on the nutritional and anti-nutritional factors of sorghum grist. The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI. *Food Technology* 36(2):64-72.

Olivos-Lugo B, Valdivia-López M, Tecante A. 2010. Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). *Revista de Agroquimica y Tecnologia de Alimentos* 16 (1):89-96.

OMS. Organización Mundial de la Salud. **2011.** Global status report on noncommunicable disaeses 2010. Geneva.

Ordorica-Falomir C. 1988. Obtención de Aislados Proteicos por Micelización y Precipitación Isoeléctrica a partir de Pasta de Cártamo. Tesis de Doctorado CINVESTAV-IPN Unidad Irapuato, Guanajuato, GTO, México.

Paredes-López O, Mora-Escobedo R. 1989. Germination of amaranth seeds: Effects on nutrient composition and color. *Journal of Food Science* 54:761-762

Pasko P, Sajewicz M, Gorinstein S, Zachwieja Z. 2008. Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in Amaranthus cruentus and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta Chromatographyca* 20:661-672

Pawar VD, Ingle UM. 1988. Investigations on phytate protein mineral complexes in whey fractions of moth bean (*Phaseolus aconitifolius* Jacq) flour. *Journal of Food Science and Technology* 25: 190-195

Pedersen B, Eggum B0. 1983. The influence of milling on the nutritive value of flour from cereal grains. 6. Sorghum. *Plant Foods for Human Nutrition* 33:313-326.

Perales-Sánchez JXK, Reyes-Moreno C, Gómez-Favela MA, Milán-Carrillo J, Cuevas-Rodríguez EO, Valdez-Ortiz A, Gutiérrez-Dorado R. 2014. Increasing 158 the antioxidant activity, and total phenolic and flavonoid contents by optimizing the germination conditions of amaranth seeds. *Plant Foods for Human Nutrition* 69:196-202.

Pérez A, Saucedo O, Iglesias I, Hilda B, Wencomo F, Reyes G, Idolkys M. 2010. Caracterización y potencialidades del grano de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Pastos y Forrajes* 33: n1.

Pérez-Pérez CJ. 2007. Germinación de semillas de *Mimosa aculeaticarpa* var. biuncifera (Benth) Barneby (*Fabaceae*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 31 p.

Quirantes A, López M, Pérez A. 2009. Estilo de vida, desarrollo científico-técnico y obesidad. *Revista Cubana de Salud Pública* 35:n3

Raydmond WL, Lloyd WR. 2002. Snack Foods Processing. New York, U.S.A.: CRC press.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M y Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26 (9):1231-1237.

Reddy NR, Pierson MD.1994. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. *Food Research International* 27:281-290.

Reichert, R, Mwararu M y Mukuru S. 1998. Characterization of colored grain sorghum lines and identification of high tannin lines with good dehulling characteristics. *Cereal Chemistry* 65:165-170.

Repo-Carrasco-Valencia RM y Serna LA. 2011. Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components. *Food Science and Technology (Campinas)* 31(1):225-230.

Reyes-Moreno C, Argüelles-López OD, Rochín-Medina JJ, Milán-Carrillo J, Rivera-López J, Valdez-Ortiz A, López-Valenzuela JA, Gutiérrez-Dorado R. 2012. High antioxidant activity mixture of extruded whole quality protein maize and common bean flours for production of a nutraceutical beverage elaborated with a traditional Mexican formulation. *Plant Foods for Human Nutrition* 67:450–456.

Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J, Rouzaud-Sandez O, Garzón-Tiznado JA, Mora-Escobedo R. 2002. Dehulling / softening / extrusion (DES): Technological alternative to improve nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* L). *Agrociencia (México*) 36: 181-189.

Reyes-Moreno, C., Reyes-Fernández, P.C., Cuevas-Rodríguez, E.O., Milán-Carrillo, J. and Mora-Rochín, S. **2018**. Changes in Nutritional Properties and Bioactive Compounds in Cereals During Extrusion Cooking. In: "Extrusion of Metals, Polymers, and Food Products." Downloaded from http://www.intechopen.com/books/extrusion-of-metals-polymersand-food-products http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68753

Riaz M, Asif M, Ali R. 2009. Stability of vitamins during extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49:361-368

Ring SH, Akingbala JO, Rooney LW. 1982. Variation in amylose content among sorghums. In L.W. Rooney & D.S. Murty, éds. Proceedings of the International Symposium on Sorghum Grain Qua/ity Hyderabad, Inde, 28-3 I octubre 1981, p. 269-279.

Robbins WW, Weier TE y Stocking CR. 1974. Botánica. Cap. 15. Ed. Limusa, México. pp 253-277.

Rooney LW, Serna-Saldivar SO. 1991. Sorghum. Handbook of cereal science and technology. In K.J. Lorenz & K. Kulp, éds. New York, Marcel Dekker.pp. 233-269.

Rooney LW, Serna-Saldivar SO. 2000. Sorgum. Handbook of CeralCiencie y Tecnology.2nd Edition. K Kulp y J Ponte eds. New York: Marcel Dekker.149-175.

Rooney LW, Serna-Saldivar SO. 2003. Food use of whole corn and dry-milled fractions. In: White PJ and Johnson LA eds. Corn Chemistry and Technology, 2nd edition. St. Paul, MN: *American Association of Cereal Chemists* pp.495-535.

Salas-López F, Gutiérrez-Dorado R, Milán-Carrillo J, Cuevas-Rodríguez EO, Canizalez-Román VA, León-Sicairos CR, Reyes-Moreno C. 2017. Nutritional and antioxidant potential of a desert underutilized legume – tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). Optimization of germination bioprocess. *Food Science and Technology (Campinas)* 38(1):254-262

Salcido-Luque NJ. 2015. Efecto de la Germinación Sobre Valor Nutricional y Capacidad Antioxidante de Granos de Sorgo (*Sorghum bicolor*). Optimización del Bioproceso. Tesis de Maestría en Ciencias, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, SIN, MEX. 160 p.

Sánchez-Osuna MF. Bebidas Funcionales Elaboradas con Mezclas de Granos Integrales (Amaranto/Chía) Procesados por Extrusión y Germinación . Tesis de Maestría en Ciencias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimetnos, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, SIN, MEX, 153 p

SankaraRao DS, Deosthale YG. 1980. Effect of pearling on mineral and trace element composition and ionizable iron content of sorghum. *Nutrition Reports International* 22:723-728

SankaraRao DS, Deosthale YG. 1983. Mineral composition, ionizable iron and soluble zinc in malted grains of pearl millet and ragi. *Food Chemistry* 11:217-223

Santamaría-Gómez JM, Piloni-Martini J, Quintero-Lira A, Bernardino-Nicator A, Güemes-Vera N. 2018. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante antes y después del proceso de extrusión. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 3:406-410.

Santos-Buelga C, Scalbert A. 2000. Proanthocyanidins and tannin like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1097-1117.

Scalbert A, Morand C, Manach C, Remesy C. 2002. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 56:276–282.

Serna-Saldivar S y Rooney LW. 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. In D. A. V. Dendy (Ed.), Sorghum and millets: chemistry and technology St. Paul, MN: *American Association of Cereal Chemists*. Inc. 1st ed. pp. 69–124.

Serna-Saldivar SD, McDonough CM, Rooney LW. 1991. The Millets.In: "Handbook of Cereal Science and Technology", Lorenz KJ, Kulp k (ed), pp 271-300.

Shimamura T, Sumikura Y, Yamazaki T, Tada A, Kashiwagi T, Ishikawa H, Matsui T, Sugimoto N, Akiyama H, Ukeda H. 2014. Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives-inter-laboratory evaluation study. *Analysis of Sciences* 30:712-21.

SIAP-SAGARPA. 2018. Servicio de información agroalimentaria y pesquera, México. Disponible en internet: https://www.gob.mx/busqueda?utf8=%E2%9C%93&site=siap&q=produccion+agricola+por+estado

Singh V, Moreau RA, Hicks KB. 2003. Yield and phytosterol composition of oil extractedfrom grain sorghum and its wet-milled fractions. *Cereal Chemistry* 80:126-129.

Singkhornart S, Edou-Ondo S, Ryu G. 2014. Influence of germination and extrusion with CO2 injection on physicochemical properties of wheat extrudates. *Food Chemistry* 143:122–131.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178.

Sistino JJ. 2003. Epidemiology of cardiovascular disease in the last decade: treatment options and implications for perfusion in the 21st century. *Perfusion* 18:73–77.

Slavin JL, Jacobs D, Marquart L. 2000. Grain processing and nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40:309-326

Stanley DW. 1998. Protein Reactions during Extrusión Processing. En: "Extrusion Cooking". Cap 10. Mercier C, Linko P, Harper JM (ed). St Paul, MN, EUA, *American Association of Cereal Chemists* pp 321-341.

Suryanarayana-Rao K, Rukmini C y Mohan VS. 1968.13-carotene content of some yellow-endospenn varieties of sorghum. *Indian Journal of Agricultural Science 38:368-372.*

Sweeny JG, Lacobucci GA. 1981. Synthesis of anthocyanidins – III: total synthesis of apigeninidin and luteolinidin chlorides. *Tetrahedron* 37:1481–1483.

Tanner FW, Pfeiffer SE y Curtis JJ. 1947. B-complex vitamins in grain sorghums. Cereal Chem. 24:268-274.

Taur AT, Pawar VD, Ingle UM. 1984. Effect of fermentation on nutritional improvement of grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Indian Journal of Nutrition and Dietetics*. 21:129-136

Tiwari U y Cummins E. 2009. Nutritional importance and effect of processing on tocols in cereals. *Trends in Food Science and Technology* 20:511-520.

Traore´ T, Mouquet C, Icard-Verni C, Traor AS y Treche S. 2004. Changes in nutrient composition, phytate and cyanide contents and a-amylase activity during cereal malting in small production units in Ouagadougou (Burkina Faso). *Food Chemistry* 88:105–114.

Trejo-Flores S. 1987. Elaboración de un producto extrudido y frito con base en amaranto germinado, cereales y soya desgrasada. Tesis. Instituto Nacional de la Nutricion "Salvador Zubiran". Dpto. de Ciencia y Tecnologia de los Alimentos.

United States National Research Council/National Academy of Sciences. 1982. United States Canadian tables of fred composition. Washington, DC, National Academy Press. 3e rev.

USDA (United States Department of Agriculture). 2011. The Sorghum Story, an Ancient, Healthy and Nutritious Old World Cereal. Disponible en: http://sorghumcheckoff.com/wpcontent/uploads/2012/06/2013_09_nutrition_booklet_small.pdf

Vaintraub IA, Lapteva NA. 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry* 175:227–230

Van Dokkum W, Frolich W, Saltmarsh M, Gee J. 2008. The health effects of bioactive plant components in food: Results and opinions of the USA COST 926 action. *Nutrition Bulletin* 33:133-139

Van Rensburg SJ. 1981. Epidemiological and dietary evidence for a specific nutritional predisposition to esophageal cancer. *Journal of the National Cancer Institute.* 67:243-251.

Vázquez-Ovando A, Betancur-Ancona D, Chel-Guerrero L. 2013. Physicochemical and functional properties of a protein-rich fraction produced by dry fractionation of chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *CyTA-Journal of Food* 11 (1):75-80.

Vidal-Valverde C, Frías J, Sierra I, Blazquez I, Lambien F, Kuo YH. 2002. New functional legume food by germination. Effect on the nutritive value of beans, lentils and peas. *European Food Research and Technology* 215:472–476.

Villers TA. 1979. Reposo y supervivencia de las plantas. Ediciones Omega. Barceona, España.

Visser A, Thomas A. 1987. Review: Soya protein products-their processing, functionality, and application aspects. *Food Reviews International* 3 (1-2):1-32.

Waggle DH y Deyoe CW. 1966. Relationship between protein level and amino acid composition of sorghum grain. *Feedstuffs* 38: 18-19.

Waggle DH, Deyoe CW y Smith FW. 1967. Effect of nitrogen fertilization on the amino acid composition and distribution in sorghum grain. Crop Sci., 7: 367-368.

Wall IS y Carpenter K.1988. Variation in availability of niacin in grain products. *Food Technology* (Chicago), 42(10):198-204.

Waniska RD, Poe JH y Bandyopadhyay R. 1989. Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. *Journal of Cereal Science* 10:217-225

Wijngaard HB y Ulmer HM. 2006. The effect of germination time on the final malt quality of buckwheat. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 64:214-221.

Xu BL y Chang SKC. 2007. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by estraction solvents. *Journal of Food Science*. 72(2):159-166.

Yagoub AG. 2003. A biophysical study on roselle (*Hibiscus sabdariffal)* seeds total proteins of the traditionally fermented food. Ph..D Thesis. Facuty of Agriculture, University of Khartoum, Sudan.

Yilmaz Y y Toledo R. 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products. *Food Chemistry* 93:273-278.

Zadernowski R, Nowak-Polakowska H, Wicklund T, Fornal L. 1997. Changes in oat lipids affected by extrusion. *Nährung Food* 41:224-7.

Zeledón H, Hernández M, Ayala J y Guzmán de Serrano R. 2007. Guía técnica del sorgo . 1ª ed . La Libertad, El Salvador: Intsormil. 38 p.

Zhao X, Wei Y, Wang Z, Chen F, Ojokoh AO. 2011. Reaction kinetics in food extrusion: methods and results. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51:835–854.

Zhu L, Adedeji AA y Alavi S. 2017. Effect of germination and extrusion on physicochemical properties and nutritional qualities of extrudates and tortilla from wheat. *Journal of Food Science* 82(8):1867-1875

Zielinski H y Kozowska H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected 363 cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:2008-2016.

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
a	Parámetro Hunter-Lab
AAox	Association of Official Analytical Chemists
ABA	Ácido abscísico
ABRV	Agar bilis rojo violeta
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
APD	Agar papa dextrosa
ANOVA	Análisis de varianza de una sola vía

AOAC	Association of Official Analytical Chemists
APME	Agar para métodos estándar
AR	Azúcares reductores
AST	Azúcares solubles totales
ATP	Adenosín trifosfato
a_w	Actividad acuosa
b	Parámetro Hunter-Lab
Bs	Base seca
CE	Capacidad emulsificante
CEE	Capacidad de estabilidad de espuma
CFE	Capacidad de formación de espuma
CFT	Compuestos fenólicos totales
CH	Contenido de humedad
cm	Centímetro(s)
col	Colaborador(es)
CT	Coliformes totales
ºC	Grados centígrados
DPIV	Digestibilidad proteínica *in vitro*
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ΔE	Diferencia total de color
EAG	Equivalentes de ácido gálico
ECV	Enfermedades cardiovasculares
ed	Editor(es)
EE	Estabilidad de emulsión
ET	Equivalentes de trolox
FAO	Food and Agriculture Organization (Organización para los Alimentos y la Agricultura)
FT	Flavonoides totales
g	Gramo (s)
h	Hora (s)

HCl	Ácido clorhídrico
HSC	Harina de sorgo crudo
HSGE	Harina de sorgo germinada extrudida
HSGEO	Harina de sorgo germinada extrudida optimizada
HSGO	Harina de sorgo germinada optimizada
IAA	Índice de absorción en agua
ISA	Índice de solubilidad en agua
Kg	Kilogramo (s)
kg/hL	Kilogramo / hectolitro
L	Litro (s)
L	Parámetro Hunter-Lab
Mg	Miligramo (s)
Min	Minuto (s)
mL	Mililitro (s)
Mm	Milímetro (s)
MSR	Metodología de Superficie de Respuesta
µL	Milímetro(s)
µm	Microlitro(s)
µm	Micrómetro(s)
N_2	Nitrógeno
NaCl	Cloruro de sodio
NaClO	Hipoclorito de sodio
NaoH	Hidróxido de sodio
Nm	Nanómetro
No	Número
ORAC	Capacidad de Absorbancia de Radicales Oxígeno
P	Nivel de significancia
p/p	Peso/peso
p/v	Peso/volumen

PEG	Politilenglicol
pH	Potencial hidrógeno
Pp	Páginas publicadas
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto
S	Segundo (s)
TE	Temperatura de extrusión
TG	Temperatura de germinación
Tg	Tiempo de germinación
UFC	Unidades formadoras de colonias
UI	Unidades internacionales
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
VT	Velocidad de tornillo