



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Evaluación de la bioaccesibilidad de proteínas de tortillas obtenidas
a partir de harina de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench)
nixtamalizada por calentamiento óhmico

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta

I. A. Lucía Berenice Vega Vázquez

Dirigido por:

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Co-dirigido por:

Dra. Aurea Karina Ramírez Jiménez

Querétaro, Qro., 2021



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Evaluación de la bioaccesibilidad de proteínas de tortillas obtenidas a partir de harina de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) nixtamalizada por calentamiento óhmico

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencia y Tecnología en alimentos

Presenta

I.A. Lucía Berenice Vega Vázquez

Dra. Marcela Gaytán Martínez
PRESIDENTE

Dra. Aurea Karina Ramírez Jiménez
SECRETARIO

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
VOCAL

Dra. Janet Alejandra Gutiérrez Uribe
SUPLENTE

Dr. Iván Andrés Luzardo Ocampo
SUPLENTE

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha de aprobación por el Consejo Universitario 2021
México

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	i
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
2.1 El sorgo.....	2
2.2 Composición química.....	3
2.2.1 Carbohidratos.....	4
2.2.2 Lípidos.....	4
2.2.3 Minerales.....	5
2.2.4 Proteínas.....	5
2.3 Compuestos fitoquímicos del sorgo.....	7
2.4 Digestibilidad de proteínas de sorgo.....	11
2.4.1 Efecto del procesamiento en la digestibilidad de proteínas de sorgo.....	13
2.5 Nixtamalización.....	15
2.5.1 Ventajas y desventajas de la nixtamalización.....	15
2.6 Procesos alternativos de nixtamalización.....	17
2.6.1 Calentamiento óhmico.....	17
2.6.2 Uso del calentamiento óhmico en la nixtamalización.....	18
3. HIPÓTESIS.....	20
4. OBJETIVOS.....	21

4.1	Objetivo general	21
4.2	Objetivos específicos	21
5.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
5.1	Materia prima	21
5.2	Metodología general.....	21
5.3	Preparación de la materia prima	22
5.4	Obtención de harina nixtamalizada por proceso tradicional	22
5.5	Obtención de harinas nixtamalizada por calentamiento óhmico.....	22
5.6	Caracterización de masas obtenidas por método tradicional y por calentamiento óhmico	23
5.6.1	Capacidad de absorción de agua subjetiva (CAAS)	23
5.6.2	Rendimiento de la masa	24
5.7	Elaboración de tortillas obtenidas por el proceso tradicional y el proceso de calentamiento óhmico.....	24
5.7.1	Pérdida de peso de tortillas	24
5.7.2	Rendimiento de la tortilla	24
5.8	Selección de tortillas	25
5.9	Caracterización proximal.....	25
5.9.1	Humedad	25
5.9.2	Grasa.....	26
5.9.3	Proteína	26
5.9.4	Cenizas.....	27
5.9.5	Carbohidratos	27
5.10	Caracterización nutracéutica de harinas	27
5.10.1	Extracto metanólico (compuestos fenólicos libres)	27

4.10.2	Cuantificación de fenoles totales	28
5.10.3	Cuantificación de flavonoides totales.....	28
5.10.4	Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD.....	28
5.10.5	Capacidad antioxidante por el método ABTS	28
5.10.6	Capacidad antioxidante por el método DPPH.....	29
5.11	Cuantificación de compuestos antinutricios.....	30
5.11.1	Cuantificación de taninos condensados (CT)	30
5.12	Digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> de proteínas presentes en tortillas nixtamalizadas de sorgo por CO y proceso tradicional	30
5.12.1	Contenido de proteínas.....	32
5.12.2	Medición de bioaccesibilidad	32
5.13	Diseño experimental y análisis estadístico	33
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
6.1	Evaluación fisicoquímica de harinas y tortillas nixtamalizadas tradicionalmente	34
6.2	Evaluación fisicoquímica de harinas y tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico	39
6.3	Caracterización proximal	42
6.4	Caracterización nutracéutica de sorgo crudo y nixtamalizado.....	45
6.4.1	Contenido de fenoles solubles totales	45
6.4.2	Contenido de flavonoides	46
6.5	Compuestos antinutricios	48
6.5.1	Contenido de taninos condensados.....	48
6.6	Cuantificación de compuestos fenólicos libres por HPLC-DAD.....	50
6.7	Capacidad antioxidante	53

6.8 Bioaccesibilidad de proteínas de sorgo	55
7. CONCLUSIONES	59
8. REFERENCIAS	61
9. ANEXOS.....	76
Anexo I	76
Anexo II	81
Anexo III.....	82

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 1. Composición proximal del grano de sorgo	4
Tabla 2. Evaluación fisicoquímica de harina y tortilla nixtamalizada tradicionalmente.....	34
Tabla 3. Variables de calidad de harina y tortilla nixtamalizada por calentamiento óhmico	39
Tabla 4. Composición proximal de sorgo crudo, tortilla nixtamalizada tradicionalmente y tortilla nixtamalizada por calentamiento óhmico variedad 82w21.	42
Tabla 5. Contenido de compuestos fenólicos libres, cuantificados por HPLC-DAD, de harinas crudas de sorgo y tortillas nixtamalizadas ($\mu\text{g/g}$).	50
Tabla 6. Análisis de correlaciones entre capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.....	55
Tabla 7. Bioaccesibilidad de proteínas (%) de tortillas de sorgo nixtamalizadas por diferentes métodos.	55
Tabla 8. Coeficientes de permeabilidad neta aparente (Papp Net) (cm/s) y relación de flujo de proteína de sorgo blanco nixtamalizada por diferentes métodos.	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales países productores de sorgo.....	1
Figura 2. Principales países consumidores de sorgo en millones de toneladas	3
Figura 3. Esquema de un cuerpo de proteína de sorgo	6
Figura 4. Cuerpos proteicos de sorgo en relación con el almidón y la matriz de glutelina	13
Figura 5. Esquema básico del equipo de calentamiento óhmico para aplicaciones alimentarias	19
Figura 6. Cocedor Óhmico tipo batch.	23
Figura 7. Tortillas de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench) nixtamalizadas tradicionalmente.....	38
Figura 8. Contenido de fenoles totales de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos.	47
Figura 9. Contenido de flavonoides de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos..	47
Figura 10. Contenido de taninos condensados de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos.....	49
Figura 11. Capacidad antioxidante por (A) ABTS y (B) DPPH de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos..	54

RESUMEN

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es un cereal en grano con ventajas agronómicas sobre el maíz debido a sus bajos requerimientos hídricos y altos rendimientos productivos. Este cereal no contiene gluten y es rico en proteínas que contiene fitoquímicos con alta capacidad antioxidante. Sin embargo, los compuestos antinutricionales, así como el alto entrecruzamiento de sus proteínas, disminuyen su bioaccesibilidad proteica. La nixtamalización mediada por calentamiento óhmico (CO) se ha propuesto como procedimiento ecológico para aumentar la bioaccesibilidad de los cereales mediante la reducción de compuestos antinutricionales, ya que requiere menos tiempo de procesamiento y no genera efluentes contaminantes, en comparación con la nixtamalización (NT) tradicional. Este proyecto tuvo como objetivo evaluar la bioaccesibilidad proteica de tortillas obtenidas de harinas de sorgo nixtamalizadas por CO. Se procesaron siete variedades diferentes de sorgo rojo y blanco. Como las variedades 82w21 y 8133 presentaban las mejores características para la elaboración de tortillas por nixtamalización tradicional, las mismas variedades fueron sometidas a CO a diferentes voltajes (110 y 120 V) y temperaturas de procesamiento (85 y 90 °C). Los resultados mostraron que la variedad 82w21 procesada a 120 V y 85 °C presentó el mayor rendimiento de tortilla (1.81 kg de tortilla/kg de masa) y las mejores características de calidad ya que la masa era muy blanda y la tortilla inflada y se podía enrollar. El perfil nutracéutico de esta misma variedad se determinó por ambos métodos de nixtamalización mostrando que el mayor contenido de compuestos fenólicos, así como la mayor capacidad antioxidante, se encontró en las tortillas nixtamalizadas por CO, que, además, disminuyeron su contenido de taninos inicial (-25.77%). La bioaccesibilidad de proteínas incremento en ambos tratamientos con el tiempo de incubación, encontrándose la mayor bioaccesibilidad ($58.23 \pm 0.93\%$) en el CO a los 60 min en la FD, sin embargo, la nixtamalización tradicional tuvo la mayor velocidad de permeación al inicio y final de la digestión (10.34×10^{-5} cm/s). En conclusión,

el calentamiento óhmico aumentó la bioaccesibilidad de proteínas en mayor medida que la nixtamalización tradicional, por lo que puede emplearse esta tecnología para la obtención de tortillas nixtamalizadas de sorgo.

Palabras clave: Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), bioaccesibilidad de proteínas, nixtamalización, calentamiento óhmico;

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) is a cereal grain with agronomic advantages over corn due to its low water requirements and high production yields. This cereal is gluten-free and phytochemicals-containing protein-rich cereal with high antioxidant capacity. However, anti-nutritional compounds and the high cross-linking of their proteins decrease its protein bioaccessibility. Ohmic heating based-nixtamalization (OH) has been proposed as an ecological procedure to increase the cereal digestibility by reducing its antinutritional compounds, since it requires less processing time and does not generate contaminant effluents, compared to traditional nixtamalization (NT). This project aimed to evaluate the protein bioaccessibility of tortillas obtained from sorghum flours nixtamalized by OH. Seven different varieties of red and white sorghum were processed. As the 82w21 and 8133 varieties presented the best characteristics for making tortillas by traditional nixtamalization, the same varieties were subjected to OH at varying voltages (110 and 120 V) and processing temperatures (85 and 90 °C). Results showed that 82w21 variety processed at 120V and 85 °C displayed the highest tortilla yield (1.81 kg tortilla/kg masa) and the best quality characteristics since the masa was very soft and the tortilla inflated and was able to roll. The nutraceutical profile of this variety was determined by both nixtamalization methods, showing that OH had the highest content of phenolic compounds and the highest antioxidant capacity, together with a decreased in the initial tannins content (-25.77%), Protein bioaccessibility increased in both treatments with incubation time, finding the highest bioaccessibility ($58.23 \pm 0.93\%$) in OH at 60 min in DF, however, traditional nixtamalization had the highest permeation rate at the beginning and end of digestion (10.34×10^{-5} cm/s). In conclusion, ohmic heating increased the bioaccessibility of proteins to a greater extent than traditional nixtamalization, so this technology can be used to obtain nixtamalized

sorghum tortillas.

Keywords: Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench), Nixtamalization, ohmic heating, protein digestibility.

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto los detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



Lucía Berenice Vega Vázquez

1. INTRODUCCIÓN

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es un cultivo básico en muchas regiones principalmente de África y Asia, donde se cultiva debido a su facilidad para crecer en zonas áridas (Aruna y Visarada, 2019). Este cereal es una buena fuente de energía, además aporta compuestos fenólicos y tiene una alta capacidad antioxidante (Luzardo-Ocampo et al., 2020). Además es fuente de vitaminas del complejo B (Dykes et al., 2005).

Diversos estudios han reportado que se puede utilizar el sorgo para la producción de tortillas (Bedolla et al., 1983). Sin embargo, existen algunos inconvenientes al utilizar este cereal debido a su contenido de compuestos antinutricionales como los taninos condensados, y a la alta reticulación de sus proteínas que ocasionan una reducción en la digestibilidad proteica (Proietti et al., 2015).

Se han probado distintos métodos para disminuir el problema de la digestibilidad proteica. Entre estos, la nixtamalización es prometedora para lograr estos objetivos puesto que se ha visto que puede disminuir el contenido de taninos condensados (Gaytán-Martínez et al., 2017), y aumentar la bioaccesibilidad de proteínas en un 5.26 y 26.31% para sorgo rojo y blanco, respectivamente (Cabrera-Ramírez et al., 2020). Sin embargo, presenta varias desventajas como largo tiempo de procesamiento, utilización de grandes cantidades de agua, disminución de nutrientes y grandes valores de contaminación (Castro-Muñoz et al., 2015; Escalante-Aburto et al., 2019; García-Zamora et al., 2015; Valderrama-Bravo et al., 2015).

El calentamiento óhmico es una tecnología emergente que se ha utilizado para obtener harinas nixtamalizadas de maíz para la producción de masa y tortillas (Gaytán-Martínez et al., 2012), eliminando las desventajas de la nixtamalización puesto que el calentamiento se lleva a cabo en tiempos muy cortos manteniendo la calidad nutricional sin generar residuos (Cullen et al.,

2012). No obstante, no se conoce el efecto del calentamiento óhmico en la calidad de las tortillas obtenidas por calentamiento óhmico, así como su efecto sobre compuestos bioactivos y la bioaccesibilidad de sus proteínas. Debido a esto el objetivo de este estudio fue evaluar la bioaccesibilidad de proteínas de tortillas obtenidas a partir de harinas de sorgo nixtamalizadas por calentamiento óhmico.

2. ANTECEDENTES

2.1 El sorgo

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) es el quinto cereal más cultivado a nivel mundial, después del trigo, el maíz, el arroz y la cebada. Los principales países que lo producen son Estados Unidos, Nigeria, México y Etiopía (Figura 1), mientras que los que más lo consumen son China, Nigeria, India y México (Figura 2), (FAOSTAT, 2018; FIRA, 2019).

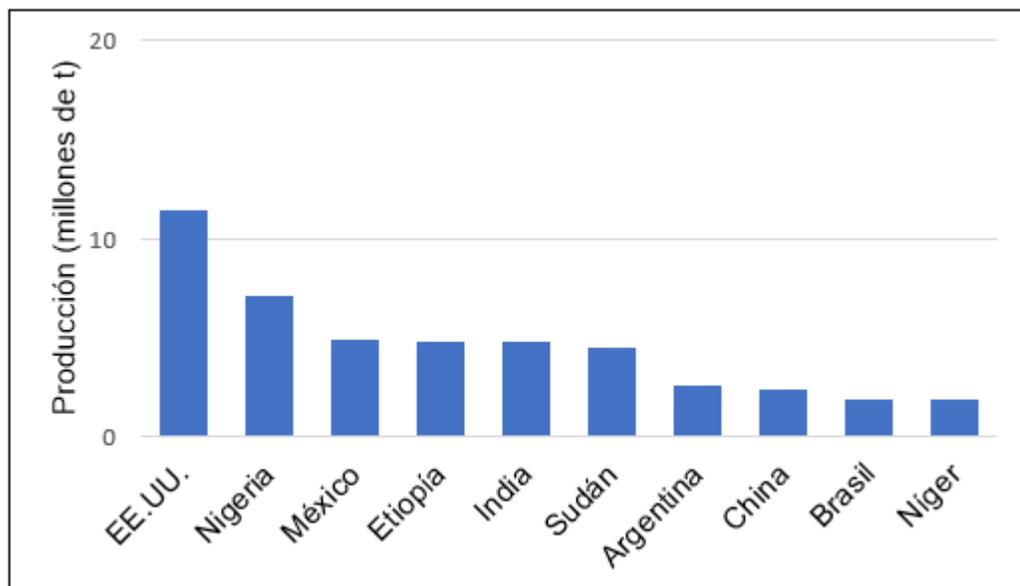


Figura 1. Principales países productores de sorgo.

Adaptada y con base en FAOSTAT (2018).

Se cree que este cultivo es capaz de sustituir al maíz, principalmente en zonas con acceso limitado al agua (Getachew et al., 2016), ya que tiene una alta

resistencia a condiciones ambientales como la sequía y las altas temperaturas, además de que sus requerimientos de agua son bajos y su rendimiento es alto (Dykes et al., 2005) y al no contener gluten puede ser consumido por personas con enfermedad celíaca (Pontieri et al., 2013). Sin embargo, en México su principal uso es el consumo pecuario (FIRA, 2015).

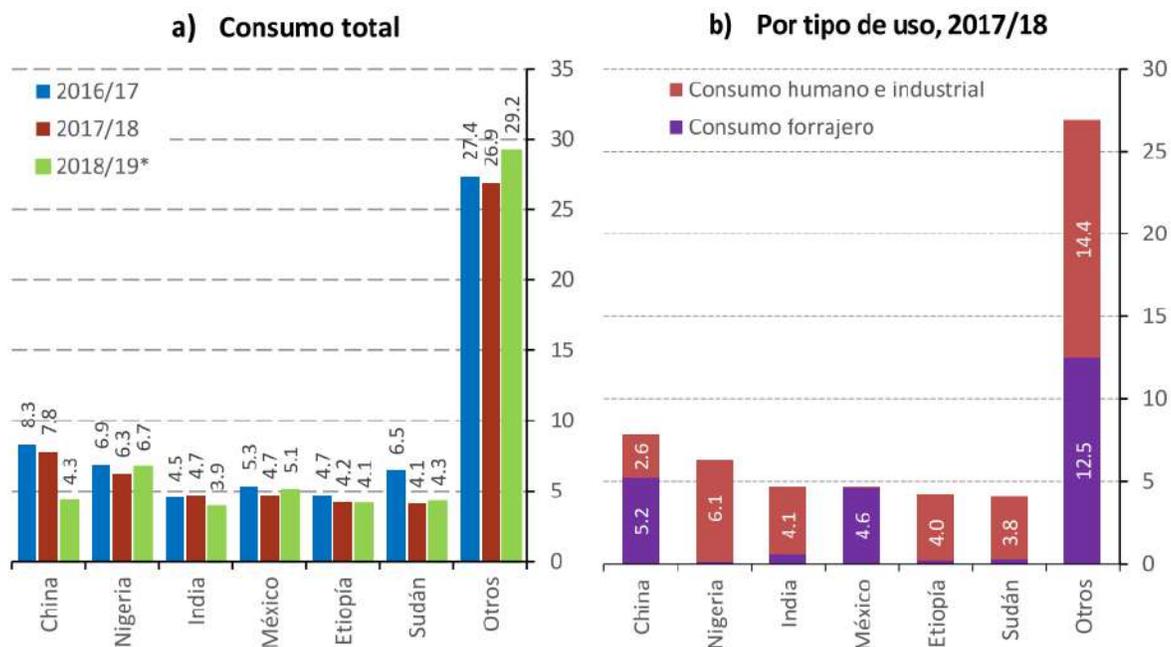


Figura 2. Principales países consumidores de sorgo en millones de toneladas (FIRA, 2019).

2.2 Composición química

La composición química del sorgo (Tabla 1) varía dependiendo de la especie y diversidad genética, así como factores ambientales (Ralph et al., 2000).

Tabla 1. Composición proximal del grano de sorgo

Contenido	Contenido (%)
Humedad	10.6-16.5
Lípidos	2.1-7.6
Proteínas	4.4- 21.1
Carbohidratos	57.0-80.6
Fibra cruda	1.0-3.4

(Ratnavathi y Komala, 2016)

Además, contiene vitaminas liposolubles (D, E, K) e hidrosolubles (complejo B, excepto B12) y algunos minerales (Taylor y Kruger, 2019).

2.2.1 Carbohidratos

Entre los carbohidratos del sorgo, el almidón se encuentra en mayor proporción ocupando del 56 al 75% del total del grano. En general el almidón de sorgo contiene entre 24 a 33% de amilosa (Beta et al., 2001) y entre 67 a 76% de amilopectina, mientras que las variedades cerosas contienen amilopectina casi en su totalidad. Además, este almidón se considera de digestión lenta y por lo tanto su índice glucémico es más bajo que el de almidones de otros granos, lo cual puede contribuir en el control de la obesidad.

También existen otros carbohidratos presentes en el sorgo como fibra dietética, la cual se encuentra principalmente en el pericarpio y es rica en celulosa; y azúcares como sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa y estaquiosa (Ratnavathi, 2019).

2.2.2 Lípidos

Del total de lípidos presentes en el sorgo, el 86.2% corresponde a triglicéridos, el 10.7% a fosfolípidos y el resto a glucolípidos (Price y Parsons, 1975). Contiene ácidos grasos como linoleico, oleico, palmítico, linolénico y esteárico (Rooney, 1978). De estas fracciones, aproximadamente el 75% se encuentran

presentes en el germen, el 13% en el endospermo (Serna-Saldivar y Rooney, 1995) y el 12% en el pericarpio (Taylor y Kruger, 2019).

2.2.3 Minerales

El sorgo es una buena fuente de minerales. Los principales son potasio, fosforo, hierro, zinc y en menor medida calcio (Proietti et al., 2015). En general estos se encuentran en mayor proporción en las capas externas del grano (Taylor y Kruger, 2019). Sin embargo, el zinc se encuentra mayoritariamente en el germen (Hama et al., 2011).

2.2.4 Proteínas

Las proteínas de sorgo se consideran de bajo valor biológico ya que contienen cantidades muy bajas de aminoácidos esenciales, principalmente de lisina e isoleucina (Wu et al., 2013). Por otro lado, estas proteínas son ricas en leucina, aunque, esto también es negativo ya que este aminoácido se interpone en la conversión de triptófano a niacina, lo que puede ocasionar pelagra (Badawy, 2014).

De acuerdo con la clasificación de Osborn, las proteínas se dividen en diferentes clases dependiendo de su solubilidad y propiedades químicas. Las clases principales son las albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en sal), glutelinas (solubles en soluciones ácidas y alcalinas) y prolaminas (solubles en soluciones acuosas de etanol) (Branlard y Bancel, 2006).

Las proteínas de sorgo se encuentran dentro de un tipo de organelos llamados cuerpos proteicos, los cuales, a su vez, se encuentran dentro de una matriz proteica formada en su mayoría por glutelinas y en menores cantidades albúminas y globulinas (Figura 3) (Seckinger y Wolf, 1973).

En el sorgo, las albúminas y las globulinas constituyen del 10 al 30% del total de proteínas y se encuentran ubicadas en las capas externas del grano y del germen. Ambas proteínas contienen una cantidad mayor de lisina a

comparación de las prolaminas. Las glutelinas se encuentran en porcentajes desde 27.7% (Taylor et al., 1985) hasta de 50% (Beckwith, 1972; Bean et al., 2016), mientras que las kafirinas (prolaminas en sorgo) son las que se encuentran en mayor proporción constituyendo del 70 al 80% del total de proteínas de este cereal y contienen grandes cantidades de glutamina y prolina, que corresponden al 30% de los residuos de aminoácidos totales de las kafirinas (Belton et al., 2006).

Las kafirinas se clasifican en función de su peso molecular y solubilidad en α , β , γ , y δ (Wu et al., 2013). Las α -kafirinas representan del 66 al 84% de las kafirinas totales, se dividen en dos grupos con pesos moleculares de entre 23 a 25 kDa, y contienen principalmente aminoácidos no polares. En este tipo de proteínas no ocurre reticulación, forman enlaces intramoleculares y se encuentran principalmente en forma de monómeros y oligómeros.

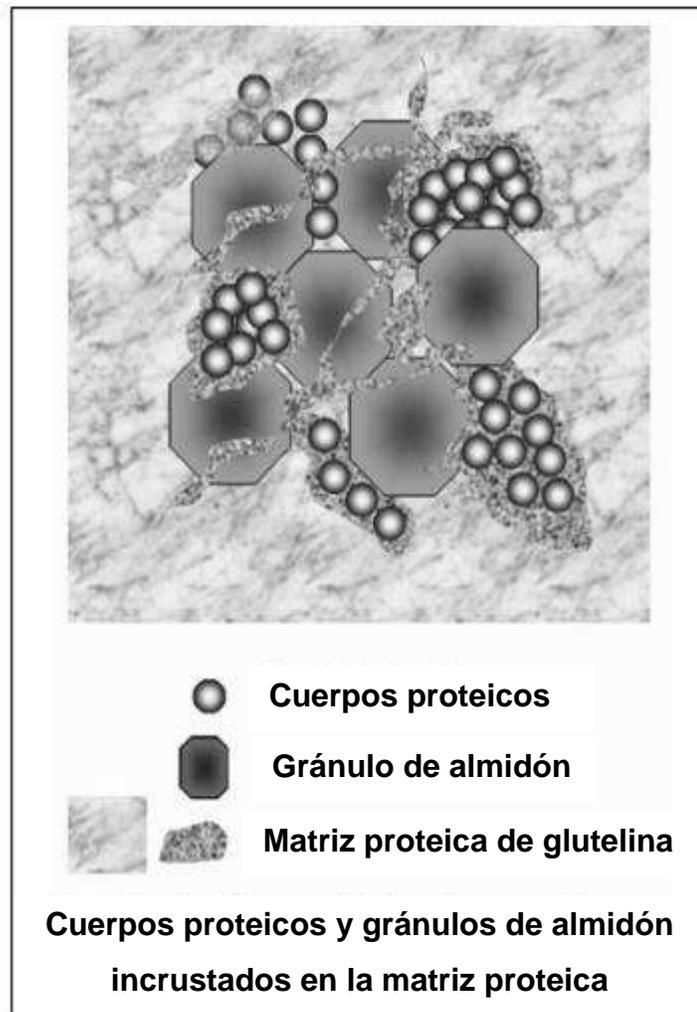


Figura 3. Esquema de un cuerpo de proteína de sorgo

(de Mesa-Stonestreet et al., 2010).

Las β y γ kafirinas se encuentran ampliamente reticuladas y forman enlaces disulfuro intramoleculares e intermoleculares. Las β -kafirinas representan del 8 al 13%, tienen un peso molecular de 18 kDa, contienen principalmente metionina y cisteína y se encuentran en forma de monómeros y polímeros; las γ -kafirinas representan del 9 al 21%, tienen un peso molecular de 20 kDa y contienen prolina, cisteína e histidina y se encuentran en forma de oligómeros y polímeros.

Finalmente, las δ -kafirinas son las que se encuentran menos caracterizadas y no se conoce su concentración, aunque se sabe que es menor a las demás, su peso molecular es de 13 kDa y son ricas en metionina (Belton et al., 2006).

2.3 Compuestos fitoquímicos del sorgo

El sorgo es un cereal rico en fitoquímicos como compuestos polifenólicos, esteroides y policosanoides, los cuales contribuyen a los beneficios a la salud que normalmente se le atribuyen al consumo de granos integrales (Duodu y Awika, 2019).

Los polifenoles tienen diferentes funciones ya sea como intermediarios de rutas metabólicas, componentes estructurales, moléculas de señalización, entre otras. Entre estos compuestos, los más importantes presentes en el sorgo son los ácidos fenólicos y flavonoides (Ratnavathi y Komala, 2016); los ácidos fenólicos se dividen en benzoico y cinámico, mientras que los flavonoides se dividen en flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonoles y flavanoles. Estos últimos mejor conocidos como taninos condensados (Duodu y Awika, 2019).

El perfil de compuestos polifenólicos del sorgo puede cambiar dependiendo de aspectos genéticos como el color, el grosor del pericarpio, la testa pigmentada, entre otros (Awika et al., 2005; Dykes et al., 2009; Taleon et al., 2012) y

algunos factores, como el estrés biótico (franja hollín, mosquito de sorgo, antracnosis foliar, planta striga y mohos de grano) y abiótico (alojamiento, resistencia a la sequía y sensibilidad al fotoperiodo), pueden incrementar la presencia de estos (Dicko et al., 2005). Se ha reportado que la mayoría de variedades de sorgo con colores rojos y púrpuras, así como con pericarpios gruesos tienen mayor contenido de fenoles (Dykes et al., 2005).

Gaytán-Martínez et al. (2017) reportaron el contenido fenólico de dos variedades de sorgo rojo y blanco. El contenido total de fenoles, que incluía ácido gálico, ácido clorogénico y ácido ferúlico, fue de 47.86 y 34.78 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de muestra; el contenido de flavonoides totales, que incluía catequina y quercetina fue 85.50 y 59.30 µg equivalentes de rutina (ER)/ g de muestra; a su vez que el contenido de taninos condensados fue de 20.54 y 0.89 mg equivalentes de catequina (EC)/ g de muestra para sorgo rojo y blanco respectivamente.

Luzardo-Ocampo et al., (2020) realizaron una digestión *in vitro* en un estudio para conocer el impacto de la nixtamalización sobre la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos del sorgo y reportaron que el proceso de nixtamalización redujo el contenido de compuestos fenólicos totales sobre todo en la fase oral. Los flavonoides igualmente disminuyeron durante la etapa oral, pero más tarde, durante la fase gástrica aumentaron su bioaccesibilidad tras haber sido nixtamalizados, absorbiéndose a los 120 min en el intestino delgado.

Los taninos condensados, por su parte, se volvieron más bioaccesibles después de la nixtamalización y los valores máximos no superan el límite reportado dentro de la ingesta segura para el consumo humano (3-35 mg EC/ g/ día) (Koch et al., 2015).

Los compuestos fenólicos se consideran antioxidantes por su capacidad de neutralizar de radicales libres, además, tienen otros beneficios como la regulación de la microbiota intestinal lo cual puede causar efectos benéficos

en enfermedades como diabetes, obesidad, dislipidemia, enfermedades cardiovasculares y cáncer (Yang et al., 2012; Cardoso et al., 2015).

De igual manera, Gaytán-Martínez et al. (2017) determinaron la capacidad antioxidante de estas dos variedades de sorgo por medio del método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) y reportaron 86.34% de actividad antirradical (%ARA, por sus siglas en inglés) en sorgo rojo y 79.79 %ARA en sorgo blanco, lo que indica que, a mayor cantidad de compuestos fenólicos, mayor capacidad antioxidante.

Sin embargo, a pesar de los beneficios a la salud, los compuestos fenólicos, en especial los taninos condensados, se consideran factores antinutricionales ya que pueden acomplejarse con proteínas y con esto disminuir la digestibilidad y la bioaccesibilidad de estas y de algunos minerales como el hierro y el zinc en el tracto digestivo (Dykes y Rooney, 2006).

El problema de los taninos condensados es que en concentraciones de entre 5 y 10% de materia seca forman complejos con proteínas que resisten la hidrólisis de las proteasas y con esto disminuyen su digestibilidad (Luzardo-Ocampo et al., 2020). Se ha observado que tienen la capacidad de unir enzimas intestinales relacionadas con la digestibilidad del sorgo por medio de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas que se refuerzan debido a la conformación de las proteínas y los taninos, bloqueando los sitios catalíticos de las enzimas causando su inhibición y por consiguiente disminuyendo su digestibilidad (Barrett et al., 2018), además de que provocan un incremento en la excreción de nitrógeno y grasa fecal, perjudicando las respuestas de insulina y glucosa (Bravo, 1998). Macáková et al., (2014) reportaron que los taninos pueden quelar minerales provocando que no se encuentren biodisponibles para el organismo, por lo que el consumo frecuente de sorgo con alto contenido de taninos podría causar enfermedades debidas a deficiencia de minerales, como la anemia.

Cabrera-Ramirez et al., (2020) en un estudio *in vitro*, evaluaron la bioaccesibilidad de proteínas de sorgo tras el proceso de cocción y nixtamalización usando dos variedades de sorgo. Los autores encontraron que la bioaccesibilidad de proteína del sorgo rojo cocido (39.39%), durante la etapa gástrica a los 90 min era menor en comparación con la variedad blanca cocida (43.05%) bajo las mismas condiciones. Lo anterior es debido al mayor contenido de taninos presentes en la variedad de sorgo rojo, los cuales a pH bajo (2-4) como el del estómago, producen efectos estéricos debido a su gran tamaño impidiendo su acceso a las enzimas.

Además de lo anterior, existen otros fitoquímicos antinutricionales en el sorgo como son el ácido fítico y los glucósidos cianogénicos.

El ácido fítico es la fuente principal de fósforo en el sorgo y también posee capacidad antioxidante. Puede ser benéfico, ya que ayuda a impedir la digestión del almidón y a ralentizar la absorción de glucosa (Truong et al., 2016). Se ha demostrado que una dieta rica en ácido fítico puede ser beneficiosa para tratar diabetes mellitus ya que provoca una disminución en el contenido de triglicéridos en sangre, un aumento de colesterol HDL y puede evitar la formación de cálculos renales (Omoruyi et al., 2013).

Adicionalmente, se ha encontrado mediante pruebas *in vitro* un decremento en la proliferación de células de cáncer de mama y efectos antitumorales, así como mejoras en el sistema inmune. Sin embargo, el ácido fítico no se degrada fácilmente en el tracto gastrointestinal (Coulibaly et al., 2011). Este ácido orgánico, de igual manera que los taninos, atrapa minerales como calcio y magnesio; proteínas y enzimas como la pepsina, la amilasa y la tripsina produciendo baja disponibilidad de nutrientes (Proietti et al., 2015).

Los glucósidos cianogénicos, por su parte, se consideran antinutricionales ya que son sustancias tóxicas presentes en los vegetales que le sirven a la planta como defensa para los depredadores. La durrina, es el principal glucósido

cianogénico y al hidrolizarse por medio de la β -glucosidasa produce *p*-hidroxibenzalaldehído y ácido hidrocianico, compuestos que causan intoxicaciones graves por cianuro (Proietti et al., 2015).

Debido a esto, se afirma que los factores antinutricionales provocan un consumo desequilibrado de elementos necesarios y alteran la disponibilidad de energía metabolizable y aminoácidos esenciales (Dykes y Rooney, 2006). Sin embargo, la capacidad que tienen estos factores antinutricios se relaciona con el consumo de dietas poco variadas y con deficiencia de minerales, por lo que su efecto negativo o positivo depende de la frecuencia y de la posibilidad de absorberse y ser digeridos por el organismo (Proietti et al., 2015).

2.4 Digestibilidad de proteínas de sorgo

La digestibilidad de proteínas se define como la fracción de aminoácidos o nitrógeno alimentario que se absorbe después de la ingestión de alimentos (Mun et al., 2016) y sirve para evaluar la calidad nutricional de un genotipo.

La puntuación de aminoácidos corregida por la digestibilidad de las proteínas (PDCAAS) es considerada como la medida estándar de calidad de una proteína y se define como la digestibilidad de la proteína verdadera multiplicada por la puntuación de aminoácidos de la proteína (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura & Fundación Iberoamericana de Nutrición, 2017). El PDCAAS cuantifica la calidad de una proteína, ya sea en términos de composición de aminoácidos esenciales (en especial lisina) o la posibilidad de asimilar y absorber la proteína (Taylor y Kruger, 2019).

En 2010, Henley realizó un estudio donde calculaba el PDCAAS del sorgo obteniendo un valor de entre 0.10 y 0.29, mientras que el PDCAAS de los otros cereales se encontraba entre 0.44 y 0.66, lo que significa que el sorgo tiene una digestibilidad proteica menor en comparación con otros cereales.

Sin embargo, el PDCAA tiene algunas limitaciones, como el hecho de que estima de manera elevada la calidad proteica en alimentos que contienen antinutricios o que contienen proteínas de difícil digestión, además, no toma en cuenta de manera correcta la biodisponibilidad de los aminoácidos.

Por lo que es recomendable utilizar un método diferente para cuantificar la digestibilidad de proteínas que sea aplicable a todos los alimentos. Los ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo* con animales no rumiantes como cerdos y ratas se consideran más prometedores. Se han observado múltiples similitudes en la capacidad que tienen los humanos y las ratas para digerir alimentos por lo que una opción más adecuada para esta determinación es el método *in vitro* del saco intestinal invertido (Campos-Vega et al., 2015; Lassoued et al., 2011; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura & Fundación Iberoamericana de Nutrición, 2017).

Con esta técnica, es posible monitorear la ruta de digestión que sigue un compuesto determinado durante el proceso gastrointestinal. Además, se pueden obtener parámetros como la bioaccesibilidad y la digestibilidad del compuesto de interés.

Por otro lado, se ha estudiado la microestructura de las kafirinas y su relación con la matriz de glutelina (Figura 4), observándose que las α -kafirinas se encuentran como monómeros y oligómeros en el interior de los cuerpos proteicos. Las β y γ -kafirinas se encuentran como oligómeros y polímeros en el núcleo y periferia de estos, lo que provoca una disminución de la digestibilidad al impedir que las α -kafirinas lleguen hasta las enzimas hidrolíticas como las peptidasas al ser bloqueadas por los enlaces disulfuro intermoleculares de las β y γ -kafirinas (Wu et al., 2013).

Además, la presencia de algunos componentes antinutricionales como los taninos condensados y el ácido fítico (Proietti et al., 2015) que presentan afinidad a ligarse con proteínas y enzimas digestivas disminuyendo hasta en

un 50% la digestibilidad y la bioaccesibilidad de estas y por lo tanto baja disponibilidad de nutrientes (Dykes y Rooney, 2006).

Como ya se mencionó, son varios los factores que afectan la digestibilidad de las proteínas de sorgo, como puede ser la naturaleza del sorgo utilizado, es decir, si se utiliza el grano entero o alguna fracción como el endospermo; si los granos contienen cantidades de taninos mayores al 5%, entre otros factores. Además, se ha demostrado que las kafirinas de sorgo son hidrofóbicas lo cual también puede influir en la digestibilidad relativa (Duodu et al., 2003).

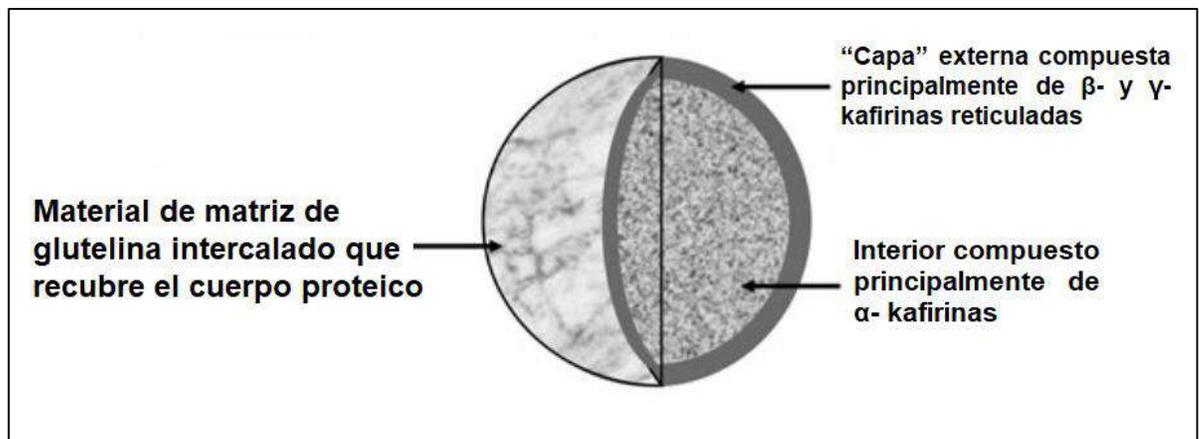


Figura 4. Cuerpos proteicos de sorgo en relación con el almidón y la matriz de glutelina (de Mesa-Stonestreet et al., 2010).

2.4.1 Efecto del procesamiento en la digestibilidad de proteínas de sorgo

Las proteínas de sorgo pueden volverse aún más indigeribles después de su procesamiento, como en el caso de la cocción húmeda, durante la cual se produce una mayor reticulación de proteínas y por consiguiente disminuye su digestibilidad. (Fombang et al., 2005).

En 1997, Arbab y El Tinay, realizaron un estudio mediante un ensayo *in vitro* con pepsina para cuantificar la digestibilidad de las proteínas del grano de sorgo entero sin taninos y con taninos. Se observó que la digestibilidad del sorgo sin taninos disminuyó tras la cocción húmeda en un rango de 20 a 55%,

mientras que, en el sorgo con taninos, la disminución de la digestibilidad fue de 61%.

Debido a lo anterior, se ha buscado mejorar la digestibilidad proteica del sorgo por medio de la disminución del contenido de antinutricios o del aumento de la accesibilidad de las kafirinas a las pepsinas, implementando varios métodos de procesamiento como: irradiación (Shawrang et al., 2011), germinación y fermentación (Elmaki et al., 1999), altas presiones (Correia et al., 2011) y nixtamalización (Gaytán-Martínez et al., 2017). Los autores reportan que el proceso térmico alcalino puede ser una alternativa para mejorar la digestibilidad proteica del sorgo, sin embargo, es un método de cocción con alta humedad.

Recientemente, Cabrera-Ramirez et al. (2020) evaluaron el efecto del proceso de nixtamalización en la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de proteínas de harinas de sorgo blanco y rojo durante una digestión gastrointestinal *in vitro*. Se observó que, durante la etapa gástrica, la bioaccesibilidad proteica se vio disminuida en ambas variedades, con mayor énfasis en el sorgo rojo cocido, lo que comprueba que el proceso de cocción junto con el alto contenido de taninos provoca una reducción de la digestibilidad al formar enlaces entre taninos y proteínas.

Por el contrario, al llegar a la etapa intestinal, el sorgo blanco nixtamalizado mostró un aumento en la bioaccesibilidad de proteínas tanto en la fracción digerible como en la no digerible, en tanto que la variedad roja nixtamalizada no mostró diferencias significativas para la fracción no digerible, pero si aumento la bioaccesibilidad para la fracción digerible. Los autores concluyeron que el proceso de nixtamalización aumenta la bioaccesibilidad de las proteínas de sorgo al descomponer los complejos proteína-tanino.

2.5 Nixtamalización

La nixtamalización o cocción termo-alcalina, es un proceso común empleado en maíz pero que puede llevarse a cabo en diferentes granos, que se utiliza para la obtención de harina o masa. Esta consiste en someter los granos a una cocción alcalina con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y agua durante 25 a 45 minutos y posteriormente dejar reposar el grano cocido en el agua de la cocción, llamada nejayote, durante 12 a 16 horas y finalmente lavar los granos para retirar el exceso de cal (Ramírez-Araujo et al., 2019). Esto se realiza con el fin de ablandar el pericarpio y endospermo del grano para facilitar la molienda (Santiago-Ramos et al., 2018b) y posteriormente elaborar diferentes productos como tortillas, tostadas, nachos, botanas, tamales, entre otros.

Gaytán-Martínez et al., (2017) buscaron estandarizar el proceso de nixtamalización en sorgo, llegando a la conclusión de que 30 minutos, con 1% de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, fue el tratamiento que producía, de acuerdo con el diseño de superficies de respuesta, las mejores características nutricionales manteniendo la mayor capacidad antioxidante posible y reduciendo el mayor contenido de taninos en un sorgo rojo.

2.5.1 Ventajas y desventajas de la nixtamalización

La nixtamalización presenta algunas ventajas como mejorar el valor nutricional del grano (Santiago-Ramos et al., 2018a) ya que aumenta la disponibilidad de algunos aminoácidos, vitaminas y minerales como lisina, triptófano, niacina y calcio, lo que puede ayudar a prevenir enfermedades como pelagra, raquitismo y osteoporosis y además aumenta el contenido de fibra dietaria soluble (Paredes-López et al., 2009). Asimismo mejora las propiedades reológicas como la viscoelasticidad de la masa y reduce el contenido de micotoxinas (Santiago-Ramos et al., 2018b).

También se ha visto que al someter el sorgo a una cocción termo-alcalina disminuye el contenido de aflatoxinas y taninos condensados ya que éstos se

encuentran principalmente en las capas externas del grano, las cuales se eliminan durante este tratamiento. Esto evita la formación de complejos de taninos con proteínas aumentando la digestibilidad y disponibilidad proteica (Escalante-Aburto et al., 2019).

Por otro lado, la nixtamalización muestra algunas desventajas, entre las cuales se encuentran:

- Largo tiempo de procesamiento, ya que los granos deben dejarse reposando en el nejayote durante doce horas y la cantidad de agua utilizada es muy grande. Se utilizan aproximadamente 3 L de agua por kilogramo de cereal, de la cual al menos el 50% se desecha (García-Zamora et al., 2015).
- Pérdida de nutrientes del grano en el agua residual (nejayote): Los componentes del pericarpio se solubilizan produciendo hasta un 79% de pérdidas de materia seca que involucran fibra dietética (celulosa y hemicelulosa), polisacáridos, almidón, proteínas, lípidos y compuestos fenólicos como antocianinas, carotenoides y ácido ferúlico (Escalante-Aburto et al., 2019).
- Los desechos (nejayote) tienen valores de DBO (demanda biológica de oxígeno) y DBQ (demanda química de oxígeno) de $14,219 \pm 309$ mg/L y $40,058 \pm 82$ mg O₂/L, respectivamente (Castro-Muñoz et al., 2015; Valderrama-Bravo et al., 2015), lo cual lo hace altamente contaminante y difícil de tratar.

Gaytán-Martínez et al (2017) evaluaron el efecto de la nixtamalización sobre el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en harinas de dos variedades de sorgo. El contenido de fenoles totales en la variedad roja disminuyó de 47.86 a 7.5 mg de EAG/ g en sorgo rojo y de 34.78 a 10.9 mg de EAG / g en sorgo blanco usando 2% de cal y 30 minutos de cocción. Mientras que el contenido de taninos de la variedad roja disminuyó en 90% bajo condiciones de 2% de cal y 40 minutos de cocción y de manera contraria, la

variedad blanca aumentó su contenido dos veces utilizando 2% de cal y 30 minutos de cocción.

Con respecto a la capacidad antioxidante de las harinas, la determinación ABTS mostro una disminución de 64% a 31.1% ARA en sorgo rojo y de 55% a 49.9% ARA en sorgo blanco.

2.6 Procesos alternativos de nixtamalización

Para dar solución a las problemáticas del proceso, se han probado varias alternativas. Una de estas consiste en remplazar el Ca(OH)_2 por otras sales de calcio como sulfato, carbonato y cloruro, las cuales disminuyen significativamente el pH del nejayote (4.19-7.39) en comparación con el obtenido por el proceso tradicional de nixtamalización (12-14), lo que produce una menor contaminación y un descascarado del grano incompleto y por lo tanto menor pérdida de fibra (Campechano-Carrera et al., 2012).

Otra alternativa involucra el uso de diferentes tecnologías alternativas. Entre estas se encuentran: extrusión (Chaidez-Laguna et al., 2016), transporte de bajo cizallamiento (Mercado-Pedraza, et al., 2014), microondas (Méndez-Albores et al., 2012), ultrasonido (Janve et al., 2013) y calentamiento óhmico (Ramírez-Araujo et al., 2019; Ramírez-Jiménez et al., 2019).

2.6.1 Calentamiento óhmico

El calentamiento óhmico (CO) es un proceso que produce el aumento de la temperatura de un material conductor al pasar corriente eléctrica sobre él. En el caso de los alimentos, al pasar energía eléctrica esta se convierte en energía térmica (Efecto Joule) calentando el alimento instantáneamente y provocando su cocción como resultado de la resistencia que ofrece al paso de la corriente (Cappato et al., 2017).

Se ha reportado que esta tecnología usada en alimentos mantiene la calidad nutricional debido a que los tiempos de procesamiento son más cortos

comparados con el calentamiento convencional. Además, tiene una eficiencia energética de 90%, es ecológica al no genera residuos y existe mayor uniformidad en el calentamiento (Cullen et al., 2012).

Las variables de proceso más importantes que deben controlarse durante el calentamiento óhmico son la intensidad del campo eléctrico, la cual varía con el voltaje, y la conductividad eléctrica, que varía dependiendo de la temperatura y de algunos parámetros del alimento como disociación iónica, viscosidad, textura, entre otros (Sarang et al., 2008). La temperatura es el parámetro más importante ya que afecta la movilidad de los iones del producto (Zareifard et al., 2014a). Además de éstos, existen otros parámetros involucrados en el proceso como frecuencia y tiempo de residencia.

La conductividad eléctrica es un parámetro fundamental ya que mide la capacidad de un material para conducir electricidad en una unidad de área (S/m). Esta, generalmente es directamente proporcional a la elevación de la temperatura y ayuda a establecer las mejores condiciones y la intensidad del proceso.

2.6.2 Uso del calentamiento óhmico en la nixtamalización

Se han realizado estudios utilizando esta tecnología para nixtamalizar harinas de maíz para producir masa y tortillas. Los principios de este método consisten en aplicar corriente eléctrica mediante un par de electrodos colocados en una celda, por la cual se hace pasar el alimento a nixtamalizar (Figura 5). Es necesario que previo al proceso, el maíz se pre-acondicione con agua y cal. Una vez que el maíz se encuentra acondicionado se alimenta a la celda de calentamiento y se aplica corriente eléctrica, generando calor que cocina el alimento obteniéndose una masa que posteriormente será secada y molida para conseguir una harina nixtamalizada (Ménera-López et al., 2013).

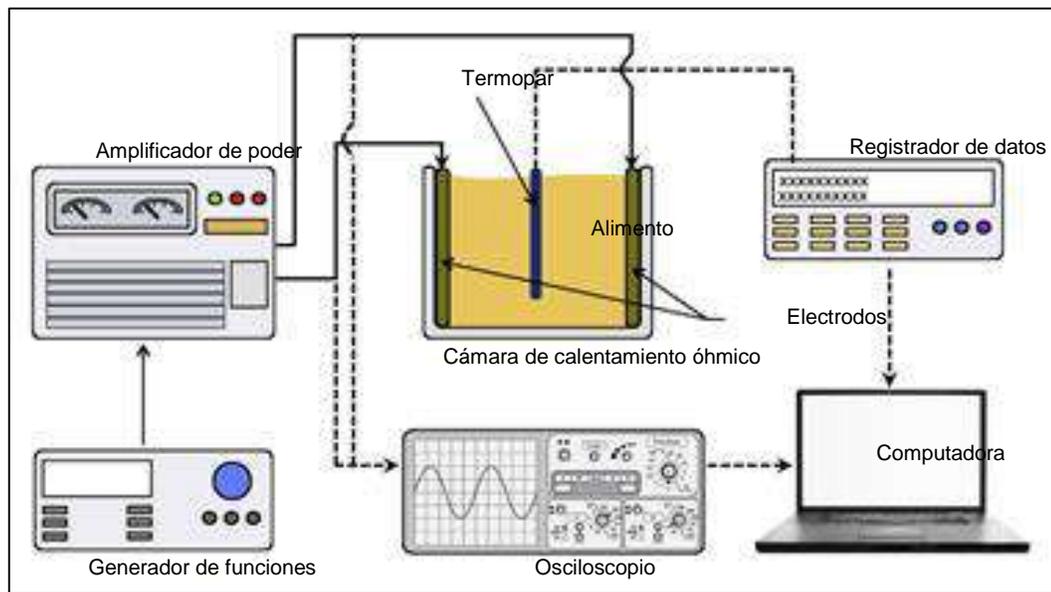


Figura 5. Esquema básico del equipo de calentamiento óhmico para aplicaciones alimentarias (Koubaa et al., 2016b).

Se ha reportado que, para nixtamalizar maíz, existen algunos parámetros fisicoquímicos del alimento que deben tomarse en cuenta como el tamaño de partícula, el pH, la capacidad de absorción de agua (CAAS), la viscosidad y la textura (Bello-Pérez et al., 2002; Quintanar Guzmán et al., 2009).

Algunos autores han evaluado parámetros fisicoquímicos y reológicos de esta tecnología, comparándola con el proceso tradicional de nixtamalización (HNT). Como resultado, se obtuvieron tortillas hechas con harinas nixtamalizadas por calentamiento óhmico (HNCO) con características similares a las hechas con HNT, pero con mayor humedad lo cual contribuyó con una textura más suave y mayor rendimiento. Además, el contenido de proteínas, fibra y calcio fue superior en la HNCO, por lo que se puede considerar que esta tecnología emergente es una alternativa para llevar a cabo la nixtamalización incluso de manera industrial (Gaytán-Martínez et al., 2012) descartando el problema de contaminación provocado al desechar el nejayote (Escalante-Aburto et al., 2019).

Cota-López (2017) realizó un estudio donde evaluó la biodisponibilidad de proteínas de tortillas hechas con HNT, HNCO, harina comercial (HC) y de maíz crudo (MC) utilizando ratas Wistar para cuantificar la ganancia de peso, el coeficiente de eficiencia alimentaria (CEA), y la relación de eficiencia proteica (PER).

La ganancia de peso total fue mayor en las dietas de tortillas hechas de HNCO (22.82 g) en comparación con las hechas con HNT (15.94 g) y el MC (1.04 g) debido a la baja disponibilidad de algunos aminoácidos como lisina y triptófano en el MC.

En cuanto al CEA, que mide el aumento de peso corporal por gramo de peso consumido, no se encontraron diferencias significativas entre las tortillas hechas con HNT (0.07) y HNCO (0.09). En cambio, el CEA del MC fue significativamente menor (0.004).

Por último, para el caso de la PER, que mide la calidad nutricional de una proteína, el valor más alto obtenido fue de la dieta de tortillas hechas de HNCO (1.74), seguido de las hechas por HNT (1.2) y finalmente el MC (0.07).

Estos resultados demuestran el efecto positivo de la nixtamalización por medio de CO sobre la biodisponibilidad de proteínas de harinas de maíz.

A pesar de las mejoras encontradas en este proceso, aún no se tiene conocimiento sobre el efecto de esta tecnología en las proteínas, lo cual podría contribuir con el aumento de la digestibilidad en las proteínas de sorgo.

3. HIPÓTESIS

Las condiciones óptimas de nixtamalización de sorgo usando calentamiento óhmico, permitirán la obtención de harinas con las características físico-químicas adecuadas para la elaboración de tortillas, así como una mayor bioaccesibilidad proteica.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar la bioaccesibilidad *in vitro* de proteínas de tortillas obtenidas a partir de harinas de sorgo, nixtamalizadas por calentamiento óhmico.

4.2 Objetivos específicos

- Optimizar las condiciones de procesamiento para la obtención de harinas nixtamalizadas de sorgo usando calentamiento óhmico.
- Comparar los parámetros de calidad de las harinas y tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico, con los de las harinas y tortillas nixtamalizada por el proceso tradicional.
- Caracterizar nutricional y nutraceuticamente las harinas nixtamalizadas por calentamiento óhmico y por nixtamalización tradicional.
- Evaluar y comparar la bioaccesibilidad proteica *in vitro* de las tortillas obtenidas de harina nixtamalizada por calentamiento óhmico y las obtenidas de harina nixtamalizada por el proceso tradicional.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materia prima

Se utilizó sorgo (*Shorgum bicolor* L. Moench) de siete variedades diferentes, cinco rojas (8133, 81g67, 82g34, 82g93, 85p20) y dos variedades blancas (82w21 y Paloma), así como hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) grado alimenticio.

5.2 Metodología general

Con cada variedad de sorgo se elaboraron harinas y tortillas nixtamalizadas de manera tradicional, seleccionando las variedades que tuvieron la mejor calidad tortillera y el mayor rendimiento. Con las variedades seleccionadas se elaboraron harinas y tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico y con estas se seleccionó la variedad y las condiciones de calentamiento que

permitieran tener la tortilla con mayor calidad tortillera. A las tortillas seleccionadas de ambos tratamientos de nixtamalización, así como a la harina cruda se les evaluaron parámetros proximales y nutracéuticos lo que indicó su potencial como ingrediente alternativo al maíz para la elaboración de tortillas.

5.3 Preparación de la materia prima

El sorgo se lavó realizando tres enjuagues con agua limpia para retirar el tratamiento químico e impurezas. Una vez limpio se extendió en charolas y se dejó secar durante 24 horas en un lugar fresco y seco.

5.4 Obtención de harina nixtamalizada por proceso tradicional

El sorgo se nixtamalizó en una vaporera a ebullición (94°C) durante 30 minutos utilizando 3 L de agua/ kg de sorgo y 1.3% de Ca(OH)_2 , después de lo cual se dejó reposar 12 horas a temperatura ambiente (Gaytán-Martínez et al., 2017).

Pasadas el tiempo de reposo, se decantó el nejayote y se tomó una muestra de éste a la que se le midió el pH y contenido de sólidos (Sánchez-Nuñez, 2014) y el sorgo se enjuagó con agua limpia agitándolo para eliminar el exceso de Ca(OH)_2 y se molió con un molino de disco (Nixtamatic) para disminuir el tamaño de partícula.

Posteriormente el sorgo nixtamalizado se deshidrató utilizando un deshidratador convectivo (Excalibur), se pasó por un molino de café (Hamilton Beach) y se tamizó usando una malla no. 60. Las muestras se almacenaron en bolsas de plástico protegidas de la luz a 4°C hasta su posterior uso (Gaytán-Martínez et al., 2017).

5.5 Obtención de harinas nixtamalizada por calentamiento óhmico

Los granos de sorgo enteros y limpios se molieron usando un molino de disco para molienda seca (Nixtamatic) para disminuir el tamaño de partícula. El sorgo molido se acondicionó a 50% de humedad, utilizando una solución al 0.3% de Ca(OH)_2 a 50°C durante 10 minutos. (Kitchen Aid, St Joseph,

Michigan, USA). La cocción se realizó utilizando un cocedor óhmico tipo batch con 200 g de capacidad, equipado con dos electrodos de acero inoxidable en los extremos del sistema, con cuerpos y tapas aislantes (Figura 6). Para encontrar las mejores condiciones de proceso, se realizó un diseño factorial 2x2 cuyas variables independientes fueron voltaje (110 y 120 V) y temperatura (85 y 90°C).

Finalmente, las masas cocidas se secaron en un deshidratador convectivo (Excalibur) a 60°C, se molieron en un molino de disco para molienda seca (Nixtamatic), se tamizaron en malla no. 60 y se almacenaron en bolsas de plástico a 4°C hasta su posterior caracterización.



Figura 6. Cocedor Óhmico tipo batch.

5.6 Caracterización de masas obtenidas por método tradicional y por calentamiento óhmico

5.6.1 Capacidad de absorción de agua subjetiva (CAAS)

Se determinó de acuerdo con la metodología descrita por Aranbula-Villa et al., (2001). Se pesaron 250 g de harina y se adicionó agua con una bureta hasta obtener una masa. Los litros de agua utilizados por kilogramo de harina se reportaron como la CAAS.

5.6.2 Rendimiento de la masa

Se obtuvo según el método descrito por Mauricio et al., (2004). Se realizó una sumatoria del valor de CAAS, más una unidad del mismo y se reportó como kg de masa/ kg de harina.

5.7 Elaboración de tortillas obtenidas por el proceso tradicional y el proceso de calentamiento óhmico

Con la masa obtenida de cada harina se elaboraron tortillas con un tamaño de diámetro de 12.5 cm y 1.2 mm de grosor. Se cocieron en un comal a 270°C durante 17 segundos en la primera cara, posteriormente se voltearon y se cocieron 50 segundos y finalmente se regresaron a la primera cara donde nuevamente se cocieron por 17 segundos. Se elaboraron 3 tortillas por cada tratamiento (Gaytán-Martínez et al., 2012).

5.7.1 Pérdida de peso de tortillas

Se determinó según lo reportado por Arámbula et al. (1999). Se pesó la tortilla antes y después de cocerse y se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\%PP = \frac{(PT_{cruda} - PT_{cocida}) * 100}{PT_{cruda}}$$

Donde:

PT_{cruda} = peso de la tortilla cruda

PT_{cocida} = peso de la tortilla cocida

5.7.2 Rendimiento de la tortilla

Se determinó de acuerdo con la metodología reportada por Arámbula *et al.* (1999). El rendimiento se evaluó en función al rendimiento de masa y a la CAAS. Para lo cual se usó la siguiente fórmula:

$$RT = \frac{PT\ cruda}{PT\ cocida} * RM$$

5.8 Selección de tortillas

Con los resultados obtenidos de la caracterización de masa y tortilla se seleccionó la tortilla nixtamalizada tradicionalmente, y la nixtamalizada por óhmico, que mostró el mayor rendimiento y las mejores características de calidad tortillera observadas al momento de su elaboración.

5.9 Caracterización proximal

Se determinó la composición proximal de las muestras de tortilla nixtamalizada tradicionalmente, así como la nixtamalizada por calentamiento óhmico seleccionada y sus correspondientes harinas, mediante la metodología de la AOAC (2002).

5.9.1 Humedad

Se determinó mediante la técnica 925.23 (AOAC, 2002). Se pesaron 3 g de muestra en un crisol o charola de aluminio previamente puesta a peso constante y se registró el peso del crisol y de la muestra, posteriormente se colocó la muestra en la estufa a 135°C durante 3 a 4 horas y pasado este tiempo se dejó enfriar en un desecador. Una vez enfriada la muestra con la charola se pesó y se calculó el porcentaje de humedad por medio de la siguiente fórmula:

$$\% Humedad = \frac{Mh - Ms}{Mo} x 100$$

Donde:

Mh = Peso del crisol con muestra húmeda

Ms = Peso del crisol con muestra seca

Mo = Peso de la muestra húmeda

5.9.2 Grasa

El contenido de grasa o extracto etéreo se midió por la técnica 920.39 (AOAC, 2002). Se pesaron 2 g de muestra en un papel filtro el cual se cerró y colocó dentro de un cartucho para Soxhlet con un tapón de algodón, todo previamente colocado a peso constante. Se pesó un vaso para Goldfish también puesto a peso constante y se le añadieron aproximadamente 100 mL de éter de petróleo, después este se colocó en un soporte debajo de un condensador y se calentó hasta ebullición manteniendo una constante evaporación y condensación durante 3 a 4 horas. Transcurrido este tiempo, se retiró el vaso del equipo, se evaporó el éter de petróleo y se colocó el vaso a peso constante por medio de la estufa registrando el peso final. El porcentaje de grasa se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracto etéreo} = \frac{B - A}{P.M.} \times 100$$

Donde:

B= Peso del vaso con grasa (g)

A= Peso del vaso a peso constante (g)

P.M.= Peso de la muestra

5.9.3 Proteína

Se obtuvo a través del método 920.105 (Kjeldhal, AOAC, 2002). Se pesaron 0.5 g de muestra en un matraz de digestión y se adicionó un catalizador de sulfato de sodio y sulfato de cobre y 10 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente las muestras se sometieron a una digestión a 400°C durante 4 horas. Pasada la digestión las muestras se dejaron enfriar y se adiciono agua destilada e hidróxido de sodio al 40% y se realizó una destilación, la cual se recogió en un matraz Erlenmeyer con 25 mL de ácido bórico al 4% y unas gotas de indicador rojo de metilo y verde de bromocresol. Finalmente se tituló con ácido

clorhídrico 0.1 N hasta el vire de color violeta. Con el volumen de ácido clorhídrico gastado se obtuvo el contenido de nitrógeno total y de proteína por medio de la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned}\% \text{ Nitrógeno} &= (A-B) \times C \times D \times 100 \\ \% \text{ Proteína} &= \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor (6.25)}\end{aligned}$$

Donde:

A= mL de solución gastados en la muestra problema

B= mL de solución gastados del blanco

C= meq N₂ 0.014

D= Normalidad del ácido

M= Peso de la muestra

5.9.4 Cenizas

El contenido de cenizas se obtuvo realizando la técnica 945.46 (AOAC, 2002). Se pesaron 3 g de muestra en un crisol previamente puesto a peso constante, posteriormente se colocó la muestra en la mufla a 550-5560°C durante 5 horas hasta calcinarla por completo y una vez pasado este tiempo se sacó de la mufla y se dejó enfriar en un desecador. Finalmente se pesó la muestra y se calculó el contenido de cenizas por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso de las cenizas}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

El contenido de carbohidratos se obtuvo por diferencia.

5.10 Caracterización nutracéutica de harinas

5.10.1 Extracto metanólico (compuestos fenólicos libres)

Se realizó de acuerdo con la metodología de Cardador-Martínez et al., (2002). Se pesó 1 g de harina a la cual se le adicionaron 10 mL de metanol, posteriormente se tapó con aluminio para proteger de la luz y se mantuvo en

agitación constante durante 24 horas. Pasado este tiempo se centrifugó a $984\times$ g durante 10 minutos y se guardó el precipitado y el sobrenadante en diferentes tubos.

4.10.2 Cuantificación de fenoles totales

Se realizó de acuerdo con la metodología de Singleton y Rossi, (1965). Se mezclaron 40 μ l de extracto metanólico con 460 μ l de agua y reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10). Posteriormente se neutralizó con carbonato de sodio al 7% y se dejó en reposo durante 2 horas en oscuridad. La absorbancia se midió a 760 nm en un espectrofotómetro UV-Vis y se realizó una curva de calibración de ácido gálico para medir el total de fenoles, los cuales se expresaron como mg EAG /g de muestra.

5.10.3 Cuantificación de flavonoides totales

Se realizó utilizando el método de Oomah et al. (2005). Se colocarán 50 μ L del extracto metanólico en una microplaca y posteriormente 180 μ L de metanol y 20 μ L de 2-aminoetildifenilborato al 1% en metanol, se mezclará bien y se determinará su absorbancia a 404nm. La concentración de flavonoides se determinó mediante una curva de calibración de 0 a 50 μ l/ mL. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de rutina /g de muestra.

5.10.4 Cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Se realizó una identificación y cuantificación de compuestos fenólicos libres de acuerdo con la metodología utilizada por Ramírez-Jiménez et al. (2014). Se utilizó un sistema de cromatografía de líquidos de alto rendimiento acoplado a un detector de matriz de diodos (HPLC-DAD). El equipo utilizado de HPLC (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EE. UU.) tenía una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies; 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m de tamaño de partícula de grano), la cual se controló termostáticamente ($35 \pm 0.6^\circ\text{C}$), manteniendo un caudal de 1 mL/min. Para la fase móvil se utilizaron dos

disolventes: disolvente A (agua acidificada: ácido acético 0.1 %) y disolvente B (100 % acetonitrilo). Los ácidos fenólicos se midieron a 280 nm y los flavonoides a 320 nm, y el volumen de inyección utilizado fue de 20 µL. Se utilizaron estándares comerciales para los ácidos cafeico, elágico, gálico, clorogénico, ferúlico, hidroxifenilacético, hidroxibenzoico, catequina, galato de epigallocatequina, epicatequina y quercetina para la cuantificación de compuestos fenólicos.5.10.5 Capacidad antioxidante por el método ABTS

Se realizó siguiendo la metodología reportada por Nenadis et al., (2004) con algunas modificaciones. Se mezclaron 5 mL de una solución de ABTS 7 mM y 88 µl de persulfato de potasio (K₂S₂O₈) 140 mM y se expusieron a la luz durante 12 horas para generar radicales. Pasado este tiempo se mezclaron 500 µl de la solución anterior con 25 mL de etanol y se midió la absorbancia a 734 nm para asegurarse que se encontrara entre 0.7 y 1. Posteriormente se colocaron 20 µl en una microplaca de 96 pozos junto con el blanco (metanol) y 0.23 mL de solución ABTS y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis a 734 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición y se calcularon por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(1 - A_{\text{muestra}}) * 100}{A_{\text{control}}}$$

Dónde:

A_{muestra} = absorbancia de la muestra a 734 nm

A_{control} = absorbancia del control a 734 nm

5.10.6 Capacidad antioxidante por el método DPPH

Se realizó de acuerdo con la metodología de Fukumoto y Mazza (2000). En una placa de 96 pozos se agregaron 22 µL de extracto metanólico y 200 µL de solución DPPH 150 µM. La placa se dejó en oscuridad a temperatura ambiente

(~22 ° C). Se leyó la absorbancia a 520 nm a los 0 4, 10, 30, 60 y 90 minutos. El porcentaje de inhibición DPPH se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(1 - A_{\text{muestra}}) * 100}{A_{\text{control}}}$$

Donde:

A_{muestra} = absorbancia de la muestra a 520 nm

A_{control} = absorbancia de control (ausencia de antioxidante)

5.11 Cuantificación de compuestos antinutricios

5.11.1 Cuantificación de taninos condensados (CT)

Se realizó de acuerdo con método descrito por Feregrino-Pérez et al. (2008). Se colocaron 50 µl de extracto metanólico en una placa de 96 pozos y se mezclaron con 200 µl de vainillina acidificada (5 g/L de vainillina y 47.2 g/L de HCl en metanol). Se midió la absorbancia a 492 nm y se reportó como mg (+) – equivalentes de (+)-catequina/ g de muestra (mg EC/ g). Además, se utilizó un blanco que contenía los mismos reactivos a excepción de la vainillina y se sometió a las mismas condiciones. a excepción de la vainillina y se sometió a las mismas condiciones.

5.12 Digestión gastrointestinal *in vitro* de proteínas presentes en tortillas nixtamalizadas de sorgo por CO y proceso tradicional

Para conocer el proceso que las muestras sufren durante la digestión gastrointestinal, así como para evaluar la bioaccesibilidad, se simuló una digestión gastrointestinal humana utilizando como muestras las tortillas seleccionadas de los tratamientos de nixtamalización tradicional (Variedad 82w21) y nixtamalización por CO (Variedad 82w21 120 V, 85°C) de acuerdo

con procedimiento reportado por (Vega-Rojas et al., 2021). Se reclutaron cuatro voluntarios sanos que previamente firmaron un consentimiento informado (Anexo III) para participar en el estudio y ellos debieron consumir su última comida al menos 90 minutos antes de iniciada la evaluación. Posteriormente, para la simulación de la fase oral, cada participante masticó 1 g de muestra durante 15 veces por 15 segundos, mismas que se recolectaron en un vaso de precipitado al que se añadieron 6 mL de agua destilada. Las muestras se incubaron en un baño de agua oscilante a 37 °C y 80 ciclos/minuto durante 10 minutos. Para simular la fase gástrica se tomó una alícuota de 10 mL de la digestión oral y se ajustó a pH 2 con ácido clorhídrico 0.5 N, se adicionó pepsina (0.055 g en 0.94 mL de HCl 20 mM) y se incubó a 37 °C durante 2 horas. Para la fase intestinal, se preparó una solución intestinal artificial con 5 mL de solución amortiguadora de Krebs-Ringer (pH 6.8) bajo condiciones anaeróbicas (NaCl 118 mM, 4.7 KCl, MgSO₄ 1.2 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, NaHCO₃ 25 mM, glucosa 11 mM y CaCl₂ 2.5 mM) y se adicionaron 3 mg de bilis bovina y 2.6 mg de pancreatina. Posteriormente las muestras de la digestión gástrica se colocaron en un tubo de ensayo con un saco intestinal invertido de rata Wistar macho (250-300 g, 6-8 semanas de edad, n = 3 para cada procedimiento de digestión). Para este procedimiento las ratas Wistar se obtuvieron del bioterio del del Bioterio de la Universidad Nacional Autónoma de México (Campus Juriquilla, Querétaro, México) y se mantuvieron en condiciones adecuadas de humedad, temperatura y ciclos de día/noche de 12/12 horas, bajo condiciones de limpieza y ventilación aceptables de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999. Además, previo al sacrificio, las ratas se mantuvieron en ayuno durante 16 horas con agua *ad libitum* y se anestesiaron con pentobarbital sódico (60 mg/kg) inyectado por vía intraperitoneal. El intestino fue expuesto por una incisión abdominal en la línea media y se extirpó un segmento de 20-25 cm del yeyuno proximal de la rata y se colocó en el amortiguador de Krebs-Ringer a 37°C, donde se lavó con la misma solución y se volteó sobre una varilla de vidrio y se ató de un extremo. Los sacos

intestinales se incubaron durante 30, 60 y 90 minutos en un baño de agua oscilante a 37°C y 80 ciclos/minuto. Pasado este tiempo, se retiraron y se tomó el precipitado restante del tubo el cual se clasificó como la fracción no digerible (FND) y la fracción dentro del saco intestinal como la fracción digerible (FD), las cuales se utilizaron para determinar la bioaccesibilidad de cada muestra. Los experimentos se realizaron por triplicado y se utilizó un blanco con agua destilada en lugar de la muestra, el cual se trató bajo las mismas condiciones de digestión. Los restos de los animales se manejaron de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002. El procedimiento fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro con no. de oficio. CBQ20/055.

5.12.1 Contenido de proteínas

La concentración de proteína se determinó utilizando el kit de ensayo del ácido bicinonínico (BCA) para cada una de las fracciones obtenidas. Las muestras se centrifugaron (984× g, 10 min, 4 °C) y se filtraron (0.22 µm) y posteriormente se mezclaron con la solución de BCA (25 µL de muestra por 200 µL de solución) y se leyó la absorbancia a 562 nm. Se realizó una curva estándar de albúmina de suero bovino (BSA) para expresar la cantidad total de proteína como mg equivalentes de BSA por gramo de muestra.

5.12.2 Medición de bioaccesibilidad

Se calculó el porcentaje de bioaccesibilidad de las proteínas durante la digestión gastrointestinal *in vitro* mediante la siguiente fórmula (D'Antuono et al., 2015):

$$\%Bioaccesibilidad = \frac{Cf}{C0} \times 100$$

Donde:

C_0 = concentración inicial de proteínas en una determinada etapa de digestión *in vitro*

C_f = concentración final de proteínas en la misma etapa.

5.13 Diseño experimental y análisis estadístico

Para seleccionar el mejor tratamiento de calentamiento óhmico se realizó un diseño factorial 2x2 cuyas variables independientes fueron voltaje (110 y 120 V) y temperatura (85 y 90°C), considerando la tortilla que permitió obtener la mejor calidad tortillera y que tuvo el mayor rendimiento.

Para la selección de la tortilla nixtamalizada tradicionalmente, el análisis nutricional y nutracéutico, así como la digestión *in vitro* se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) así como una comparación de medias por el método de Tukey, utilizando en la digestión los datos de bioaccesibilidad de proteínas (%) y tiempo de digestión (min).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Evaluación fisicoquímica de harinas y tortillas nixtamalizadas tradicionalmente

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la evaluación fisicoquímica de las harinas, masas y tortillas de sorgo nixtamalizadas tradicionalmente. Estas propiedades son importantes ya que de estas depende el uso alimentario al que se destine la harina y en este caso es de interés conocer si esta tiene o no la calidad apropiada para la elaboración de tortillas.

Tabla 2. Evaluación fisicoquímica de harina y tortilla nixtamalizada tradicionalmente

Color de sorgo	Variedad	CAAS (ml agua/g harina)	PP (%)	RT (kg tortilla/kg masa)
Rojo	8133	1.70	21.17 ± 1.87 ^{ab}	2.13 ± 0.05 ^a
Rojo	81g67	1.50	19.88 ± 6.69 ^b	2.00 ± 0.17 ^{ab}
Rojo	82g34	1.94	27.11 ± 0.99 ^{ab}	2.14 ± 0.03 ^a
Rojo	82g93	1.40	24.40 ± 1.22 ^{ab}	1.81 ± 0.03 ^{bc}
Blanco	82w21	1.65	22.17 ± 0.09 ^{ab}	2.06 ± 0.00 ^{ab}
Rojo	85p20	1.40	30.89 ± 1.05 ^a	1.66 ± 0.03 ^c
Blanco	Paloma	1.40	21.94 ± 0.26 ^{ab}	1.87 ± 0.01 ^{abc}

Se muestra la media ± desviación estándar de dos replicas. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas ($p < 0.05$) por la prueba Tukey-Kramer. CAAS: Capacidad de absorción de agua subjetiva; PP: pérdida de peso; RT: Rendimiento de tortilla.

Entre estas propiedades, la capacidad de absorción de agua subjetiva (CAAS), muestra la cantidad de agua que la harina puede absorber para obtener una

masa y está directamente relacionada con su rendimiento, puesto que entre más agua absorbe, mayor será la cantidad obtenida.

La CAAS se encontró en un rango entre 1.40 y 1.94 ml agua/ g de harina, donde la variedad 82g34 mostró la mayor absorción (1.94 ml agua/ g harina), seguida de 8133, 82w21 y 81g67 (1.70, 1.65 y 1.50 ml/ g, respectivamente), mientras que la menor absorción se encontró en 82g93, 85p20 y Paloma (1.40 ml agua/ g harina).

En estudios realizados en maíz, se han reportado valores de CAAS de 1.01 a 1.27 ml de agua/ g de harina (Gaytán-Martínez et al., 2013), los cuales son menores a los encontrados en el presente estudio. Las diferencias se atribuyen a que se está utilizando una matriz alimentaria diferente y posiblemente el sorgo presente un menor contenido de endospermo duro en comparación con el maíz, ya que se ha reportado que los granos que tienen una mayor dureza de endospermo se encuentran más compactos y esto impide la absorción de agua (Bressani, 2008).

En harina de sorgo nixtamalizada, Boniface y Gladys (2011) reportaron un valor de CAAS de 4.54 ml de agua/ g de harina. Durante la nixtamalización, los autores utilizaron 400 g de sorgo por cada 2 L de agua y el grano se dejó reposar durante 24 h. Los resultados encontrados en el presente estudio, son considerablemente más bajos, lo cual puede atribuirse a las diferencias en las condiciones de nixtamalización, ya que en este caso se utilizó menor cantidad de agua y el tiempo de remojo también fue menor; así mismo, pueden existir variaciones en el método empleado para calcular este valor y las variedades de sorgo empleadas.

La pérdida de peso (PP) nos indica la cantidad de agua que se evapora durante la cocción de la tortilla, especialmente durante el inflado, provocando una disminución en su peso. Este parámetro se encontró entre 19.88 y 30.89% donde se observa que la variedad 81g67 fue la que tuvo el menor porcentaje

de PP (19.88%), sin embargo, este valor no fue estadísticamente diferente a lo encontrado en las demás variedades, con excepción de 85p20, la cual mostró el mayor porcentaje de PP (30.89%).

En estudios anteriores realizados en tortillas de maíz, Gaytán-Martínez et al., (2012) reportaron una pérdida de peso (PP) de 19.66%, mientras que Méndez-Albores et al., (2012) reportaron valores entre 18.64 y 21.60%. Además, se ha reportado que la pérdida de peso ideal durante la elaboración de tortillas debe de encontrarse alrededor del 16%, y una baja pérdida de peso, ayuda a obtener una tortilla con textura más agradable, más flexible y más suave al momento de recalentarse (Gaytán-Martínez et al., 2013). En este estudio todas las variedades mostraron valores más altos de PP que lo previamente reportado, y la variedad que más cercana estuvo al 16% fue la 81g67.

La pérdida de peso, es una característica relacionada con la humedad de las masas, la temperatura del comal y el tiempo de cocción de la tortilla (Gaytán-Martínez et al., 2012) e influye directamente en el rendimiento de tortilla, ya que no solo es necesario que la masa tenga una alta CAAS, sino que esta debe de ser capaz de mantener la humedad en la tortilla durante el cocimiento.

Esto, a su vez, está relacionado con la cantidad de pericarpio que se mantiene después de la nixtamalización y el lavado, ya que esta parte del grano permite la retención de agua debido a que las condiciones alcalinas del proceso provocan una hidrólisis de la hemicelulosa, la cual actúa como una goma, por lo que la alta PP encontrada en este estudio puede deberse a que se haya perdido una cantidad considerable de esta parte del grano (Gaytán-Martínez et al., 2012; Méndez-Albores et al., 2012).

Finalmente, el rendimiento de tortilla (RT) indica los kilogramos de tortilla que se producen por cada kilogramo de masa, y en el caso de la producción de tortillas se desea que este valor sea lo más alto posible (Andrio et al., 2011). Este parámetro se encontró en un rango de 1.66 ± 0.03 a 2.14 ± 0.03 kg de

tortilla/ kg masa. El mayor rendimiento se encontró en la variedad 82g34, pero este valor no mostró diferencias estadísticas con ninguna variedad con excepción de 82g93 (1.81 kg/kg) y 85p20 (1.66 kg/kg).

Estos valores son más altos que los reportados en tortillas de maíz por Salinas-Moreno y Aguilar-Modesto, (2010) quienes calcularon rendimientos entre 1.48 y 1.52 kg tortilla/ kg masa, así como los reportados por Gaytán-Martínez et al., (2013) de 1.59-1.69 kg tortilla/ kg masa. Los mayores resultados encontrados en el sorgo se atribuyen a la alta CAAS que tuvieron todas las variedades de sorgo, en comparación con las variedades de maíz usadas en los estudios mencionados.

Con los resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica, se seleccionaron las variedades con las mejores características para elaborar tortillas. Gaytán-Martínez et al., (2013) mencionan que los parámetros deseables para las harinas nixtamalizadas destinadas a la industria de la masa y la tortilla (IMT) no están completamente definidos, sin embargo, es preferible que el grano utilizado tenga una dureza intermedia a suave, una alta CAAS, una baja pérdida de peso (alrededor del 16%) y un rendimiento de tortilla alto; Vázquez-Carrillo et al., (2015) mencionan que el RT deseable para la IMT debe ser mayor a 1.5 kg tortilla/ kg masa; mientras que Topete-Betancourt et al. (2020) mencionan que una masa con buenas características de textura, tiene la fuerza adhesiva apta para que la tortilla pueda enrollarse, así como separarse en láminas, lo cual es muy importante en la fabricación de tortillas.

Tomando en cuenta lo anterior, todas las variedades mostraron rendimientos de tortilla adecuados, pero no todas mostraron características deseables para la elaboración de tortillas.

En la Figura 7 se muestran las fotografías de las tortillas obtenidas de cada variedad de sorgo. La variedad 82g34 obtuvo la mayor CAAS y RT, sin embargo, como se mencionó anteriormente, la tortilla se rompía al momento

de la cocción, por lo que no se consideró apta. Por el contrario, la variedad 85p20 mostró el menor RT debido a que fue la variedad con menor CAAS y mayor PP, observándose, además, que la masa obtenida era demasiado granulosa, no se observaba cohesión y se rompía con facilidad, por lo que también se descartó su uso. Al igual que esta variedad, Paloma y 82g93 mostraron los menores valores de CAAS y la masa de 82g93 se desbarataba. En cambio, las variedades 81g67, 8133 y 82w21 mostraron características de textura agradables, ya que la masa obtenida, era suave, flexible y se podía enrollar, por lo que se consideran aptas para elaborar tortillas. De estas tres variedades la variedad roja 8133 y la blanca 82w21 fueron las que mostraron la mayor CAAS y RT por los que fueron seleccionadas para las pruebas de nixtamalización por calentamiento óhmico.



Figura 7. Tortillas de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) nixtamalizadas tradicionalmente

6. 2 Evaluación fisicoquímica de harinas y tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico

La Tabla 3 muestra los resultados de la evaluación fisicoquímica de las harinas, masas y tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico (CO), las cuales fueron procesadas a 50% de humedad, utilizando dos voltajes (110 y 120 V) y dos temperaturas (85 y 90°C).

Tabla 3. Variables de calidad de harina y tortilla nixtamalizada por calentamiento óhmico

Variedad	V (V)	T (°C)	CAAS (mL agua/ g harina)	PP (%)	RT (kg tortilla/ kg masa)
8133 (Roja)	110	85	1.09 ± 0.04 ^a	22.45 ± 1.54 ^a	1.62 ± 0.06 ^a
	110	90	1.18 ± 0.14 ^a	17.37 ± 0.04 ^b	1.80 ± 0.12 ^a
	120	85	1.20 ± 0.00 ^a	20.67 ± 3.49 ^{ab}	1.75 ± 0.08 ^a
	120	90	1.20 ± 0.12 ^a	20.49 ± 0.38 ^{ab}	1.75 ± 0.10 ^a
82w21 (Blanca)	110	85	1.13 ± 0.00 ^b	22.24 ± 4.83 ^a	1.66 ± 0.10 ^a
	110	90	1.18 ± 0.04 ^{ab}	19.70 ± 4.28 ^a	1.75 ± 0.08 ^a
	120	85	1.29 ± 0.08 ^a	20.77 ± 1.16 ^a	1.81 ± 0.08 ^a
	120	90	1.09 ± 0.04 ^b	16.05 ± 0.35 ^a	1.75 ± 0.03 ^a

Se muestra la media ± desviación estándar de dos replicas. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer. V: voltaje; T: temperatura; CAAS: Capacidad de absorción de agua subjetiva; PP: pérdida de peso; RT: Rendimiento de tortilla.

La CAAS se encontró entre 1.09 y 1.20 ml agua/ g harina para la variedad roja 8133, donde no se observan diferencias significativas entre tratamientos, mientras que en la variedad blanca 82w21 se encontró entre 1.09 y 1.29 ml agua/ g harina encontrando el valor más alto en el tratamiento de 120 V y 85°C. Estos valores son menores a los calculados para estas mismas variedades

nixtamalizadas de manera tradicional (1.70 ml/g para 8133 y 1.65 ml/g para 82w21), sin embargo, son parecidos a los reportados por Gaytán-Martínez et al., (2012), quienes llevaron a cabo una nixtamalización por calentamiento óhmico en harinas de maíz bajo condiciones similares de humedad y temperatura (45 y 52.5% de humedad y 80 y 90°C) reportando valores entre 1.20 y 1.30 ml agua/ g harina. Estos autores, mencionan, que la temperatura aplicada en el CO es un factor que influye en la capacidad de absorción de agua puesto que conforme se aplicó una mayor temperatura, la absorción de agua fue mayor, esto se debe a los cambios generados en el almidón ya que las altas temperaturas aceleran la absorción de agua al inducir la gelatinización del gránulo el cual pierde su estructura y forma un gel.

En el caso del sorgo, se observa que de igual manera existe una mayor absorción de agua conforme aumenta la temperatura y el voltaje, sin embargo, en la variedad 8133 estos cambios no son lo suficientemente grandes para detectar diferencias significativas entre tratamientos, mientras que en 82w21 se observa que el valor más alto se encontró utilizando 120 V y 85°C y el más bajo utilizando 120 V y 90°C.

La pérdida de peso se encontró entre 17.37% y 22.45% para la variedad 8133, donde la mayor PP se observó en el tratamiento a 110 V y 85°C y la menor utilizando 110 V y 90°C, mientras que para 82w21 la PP se encontró entre 16.05 y 22.25% y no existieron diferencias entre tratamientos. En comparación con los valores obtenidos en la nixtamalización tradicional (21.17% para 8133 y 22.17% para 82w21), la PP fue menor en todos los tratamientos de CO, con excepción del tratamiento de 110 V y 85°C para ambas variedades, lo que se considera benéfico ya que al existir una menor PP se obtiene una tortilla más suave y flexible y con mayor rendimiento. Esta disminución en la PP puede deberse a que las condiciones de voltaje y temperaturas aplicadas hayan logrado hidrolizar la hemicelulosa del pericarpio y por lo tanto se haya retenido más agua (Gaytán-Martínez et al., 2012).

Estos valores son similares a los reportados por Gaytán-Martínez *et al.*, (2012) en maíz nixtamalizado por CO a 45 y 52.5% de humedad y 80 y 90°C cuyos tratamientos mostraron una pérdida de peso entre 19.21 y 21.29%.

Por último, el rendimiento de tortilla se encontró entre 1.62 al 1.81 kg de tortilla/kg de masa, el cual nuevamente es menor al encontrado en estas mismas variedades nixtamalizadas tradicionalmente (2.13 kg/kg para 8133 y 2.06 kg/kg para 82w21) debido a que existió una menor CAAS. No obstante, los resultados son similares a los reportados por (Gaytán-Martínez *et al.*, 2012) en harinas de maíz nixtamalizadas por calentamiento óhmico, quienes reportan rangos entre 1.74 y 1.86 y entre 1.77 y 1.87 kg/kg, además, los valores encontrados en todos los tratamientos son mayores de 1.5 kg tortilla/kg masa, por lo que se consideran rendimientos aceptables (Vázquez-Carrillo *et al.*, 2015).

Debido a que no existieron diferencias significativas entre los resultados de cada tratamiento, para seleccionar la variedad y las condiciones de calentamiento óhmico se tomó en cuenta el resultado de rendimiento de tortilla, así como las características observadas al momento de su elaboración. El mayor rendimiento (1.81 kg tortilla/kg masa) se observó en la variedad blanca 82w21 bajo las condiciones de 120 V y 85°C, además esta tortilla mostró la mayor CAAS de todas, y la textura se consideró adecuada ya que la tortilla era flexible y tenía la capacidad de enrollarse, por lo que esta tortilla, así como la obtenida de esta misma variedad nixtamalizada tradicionalmente fueron seleccionadas para llevar a cabo las pruebas restante.

6. 3 Caracterización proximal

Las tortillas seleccionadas en la nixtamalización tradicional (82w21) y la nixtamalización por calentamiento óhmico (82w21 120V, 85°C), así como el sorgo crudo se sometieron a una caracterización proximal, cuyos resultados se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición proximal de sorgo crudo, tortilla nixtamalizada tradicionalmente y tortilla nixtamalizada por calentamiento óhmico variedad 82w21.

	Cenizas (%)	Lípidos (%)	Proteínas (%)	Carbohidratos* (%)
Sorgo crudo	1.66 ± 0.10 ^b	5.79 ± 0.29 ^a	11.27 ± 0.23 ^b	81.34 ± 0.60 ^a
Tortillas NT	4.14 ± 0.30 ^a	5.65 ± 0.18 ^a	12.83 ± 0.41 ^a	77.38 ± 1.07 ^b
Tortillas NCO	3.94 ± 0.03 ^a	5.32 ± 0.11 ^a	12.30 ± 0.39 ^{ab}	78.44 ± 0.27 ^b

Se muestra la media ± desviación estándar de tres replicas calculadas en base seca. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer. NT: Nixtamalización tradicional; NCO: Nixtamalización por calentamiento óhmico. * Carbohidratos calculados por diferencia.

La composición química del sorgo varía dependiendo de factores ambientales y del rendimiento del grano. Además, este cereal se considera superior a otros debido principalmente a su alto contenido de proteínas y fibra (Domanski et al., 2014).

El contenido de cenizas nos indica la cantidad de materia inorgánica, es decir, minerales presentes en el alimento. En el caso del sorgo los minerales que destacan son calcio, potasio, hierro, fósforo y zinc (Ratnavathi, 2019). Este valor se encontró entre 1.66% y 4.14% donde se observa que el sorgo crudo tiene el valor más bajo y las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente el más alto. El valor encontrado en el sorgo crudo es similar a lo reportado por Gaytán-Martínez et al., (2017) quienes encontraron un valor de 1.31% en sorgo blanco (“Tortillas y pan”) y también coincide con lo reportado por Llopart y Drago, (2016) quienes reportaron un rango entre 1.2 y 1.8% en 14 variedades de sorgo blanco.

Posterior a la nixtamalización el contenido de cenizas aumentó a 4.14% en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente y a 3.94% en las nixtamalizadas por calentamiento óhmico. Esto sucede ya que a que aumenta el contenido de calcio en el grano por la adición de hidróxido de calcio y se sabe que este aumento puede variar dependiendo de las condiciones utilizadas en la nixtamalización como la temperatura de cocción alcanzada, el tiempo de reposo del grano en el agua de cocción y la cantidad de calcio que logre removerse del grano durante el lavado, ya que estos parámetros influyen en la difusión del calcio en el grano (Santiago-Ramos et al., 2018a).

En el caso de la nixtamalización tradicional se agregó 1% de hidróxido de calcio, mientras que en el calentamiento óhmico únicamente se agregó 0.3%, sin embargo, se observa que no existen diferencias entre el contenido de cenizas presente en ambos tratamientos. Esto se debe a que en la nixtamalización tradicional una parte importante del calcio añadido se pierde en el nejayote provocando que este tenga un valor altamente alcalino, el cual en este estudio mostro un valor de pH de 9.36, mientras que, en el calentamiento óhmico al no existir agua residual, todo el calcio añadido es absorbido por el grano (Ramírez-Araujo et al., 2019).

En cuanto al contenido de lípidos, estos se encontraron en un rango de 5.32% a 5.79%. El contenido encontrado en el sorgo crudo (5.79%) es mayor a lo reportado por Gaytán-Martínez et al., (2017) para sorgo blanco, quienes reportan un valor de 2.70% y a lo reportado por Llopart y Drago, (2016) quienes reportan un rango entre 2.8 y 3.4%, sin embargo, se encuentra dentro del rango reportado por Jimoh y Abdullahi, (2017) quienes reportan un contenido de lípidos entre 3.60% y 10.54%. Estas diferencias se deben a la variedad de sorgo utilizado, así como el ambiente de producción.

En estudios anteriores se ha reportado que el proceso de nixtamalización puede provocar una disminución en el contenido de lípidos la cual se debe a diferentes factores como las pérdidas en el nejayote, reacciones de saponificación debidas a la acción del hidróxido de calcio, así como la formación de complejos amilosa-lípidos (Ramírez-Jiménez et al., 2019; Thachil et al., 2014). Pero en este caso a pesar de existir una disminución en ambos tratamientos de nixtamalización no se observaron

cambios significativos entre tratamientos, lo que indica que las pérdidas de estos componentes en el nejayote fueron mínimas.

El contenido de proteínas se encontró entre 11.27 % y 12.83 %. Los valores encontrados en el presente estudio para el sorgo crudo (11.27%) se encuentran dentro del rango obtenido anteriormente por Llopart y Drago (2016) quienes reportaron un contenido de proteínas entre 8.5% y 11.9% en sorgo blanco de 14 variedades.

El mayor contenido de proteínas se obtuvo en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente (12.83%) y este valor no mostró diferencias estadísticas en comparación con las tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico (12.30%), pero si es mayor al encontrado en el sorgo sin procesar (11.27%). Este aumento puede deberse a que la nixtamalización provoca la remoción del pericarpio del grano y por lo tanto disminuye el contenido de carbohidratos, aumentando proporcionalmente el contenido de proteínas. En el caso de la nixtamalización por calentamiento óhmico se observó un aumento en comparación con el sorgo crudo, pero este no fue significativo ya que no existen pérdidas de materia seca.

Finalmente, el contenido de carbohidratos se encontró entre 77.38% y 81.34%. Se observa que las tortillas nixtamalizadas por ambos procesos muestran una disminución de este contenido debido a los cambios en las proteínas, lípidos y cenizas ya que los carbohidratos se calcularon por diferencia.

En general, no se observan cambios significativos entre los contenidos encontrados en los dos tratamientos de nixtamalización. No obstante, sería interesante observar el efecto de ambos tratamientos sobre el contenido de fibra dietética total, soluble e insoluble para observar si existen diferencias entre los métodos de procesamiento ya que en estudios anteriores se ha reportado que la nixtamalización tradicional puede aumentar el contenido de fibra soluble y disminuir el contenido de fibra insoluble, mientras que en la nixtamalización por calentamiento óhmico igualmente aumenta la fibra soluble pero al no existir pérdidas en el nejayote la insoluble se mantiene igual, lo que supone una ventaja para el alimento (Ramírez-Jiménez et al., 2019).

6.4 Caracterización nutracéutica de sorgo crudo y nixtamalizado

6.4.1 Contenido de fenoles solubles totales

El sorgo es un cereal rico en compuestos fenólicos, que se encuentran principalmente en el pericarpio del grano y se relacionan con efectos benéficos a la salud debido a su actividad antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, entre otras (Wu et al., 2011).

La concentración de estos compuestos puede cambiar de manera considerable dependiendo del genotipo o variedad de sorgo, así como el entorno de cultivo, el color del pericarpio o el método de extracción utilizado por lo que existe una gran variación en el contenido de compuestos fenólicos reportados en el sorgo (Rao et al., 2018).

En la Figura 8 se muestra el contenido de fenoles totales solubles de sorgo crudo y de las tortillas seleccionadas de cada tratamiento de nixtamalización. En el sorgo crudo, el valor encontrado fue de 0.61 mg EAG/g muestra, el cual es menor a los reportado anteriormente por diferentes autores, como Díaz-González et al. (2019), quienes reportaron un contenido de fenoles de 1.79 mg EAG/ g en una variedad de sorgo blanco bajo en taninos; o Gaytán-Martínez et al., (2017) quienes encontraron un contenido de 34.78 mg EAG/g en sorgo blanco; mientras que es mayor a lo reportado por Rao et al., (2018), quienes encontraron un contenido de 0.24 mg EAG/g muestra en sorgo blanco.

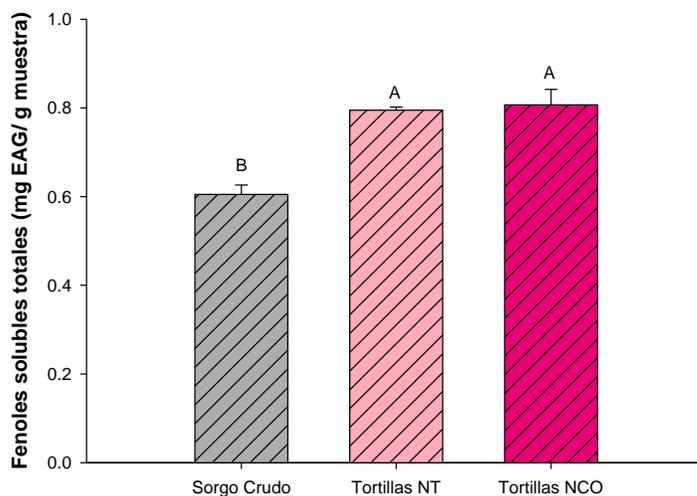


Figura 8. Contenido de fenoles totales sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos. NT – Nixtamalización tradicional, NCO – Nixtamalización por Calentamiento Óhmico. Se muestra la media \pm desviación estándar de tres replicas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer.

En estudios anteriores se ha observado que la nixtamalización tradicional produce una disminución del contenido de compuestos fenólicos debido a que una fracción importante de estos se pierde junto con el pericarpio del grano al lixiviarse en el nejayote (Gaytán-Martínez et al., 2017).

Díaz-González et al. (2019) evaluaron el efecto de la nixtamalización sobre la reducción de compuestos fenólicos reportando reducciones en el contenido de fenoles totales de 82%, 67% y 53% al utilizar 0.3% de hidróxido de calcio y reducciones de 79%, 68% y 49% al utilizar 0.5% de hidróxido de calcio en tres variedades de sorgo con alto, medio y bajo contenido de taninos, respectivamente. Los autores mencionan que la maceración del grano en solución alcalina ayuda a desprender el pericarpio donde se encuentran estos compuestos y las altas temperaturas aceleran a la lixiviación de estos en el nejayote.

Sin embargo, en este caso, una vez obtenidas las tortillas de ambos tratamientos de nixtamalización el contenido de fenoles totales solubles aumentó a 0.79 mg EAG/g en las tortillas de la nixtamalización tradicional y a 0.81 mg EAG/g en las del tratamiento de calentamiento óhmico donde no existieron diferencias significativas entre los valores encontrados para las tortillas de los dos tratamientos.

Este aumento se atribuye a que las condiciones alcalinas de la nixtamalización, al igual que las temperaturas alcanzadas en la misma provocaron una hidrólisis del enlace éster liberando los ácidos fenólicos que en un inicio se encontraban en el sorgo crudo de manera insoluble unidos y esterificados a componentes de la pared celular (Salinas-Moreno et al., 2017).

6.4.2 Contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides en el sorgo crudo, y en las tortillas de cada tratamiento de nixtamalización se muestra en la Figura 9.

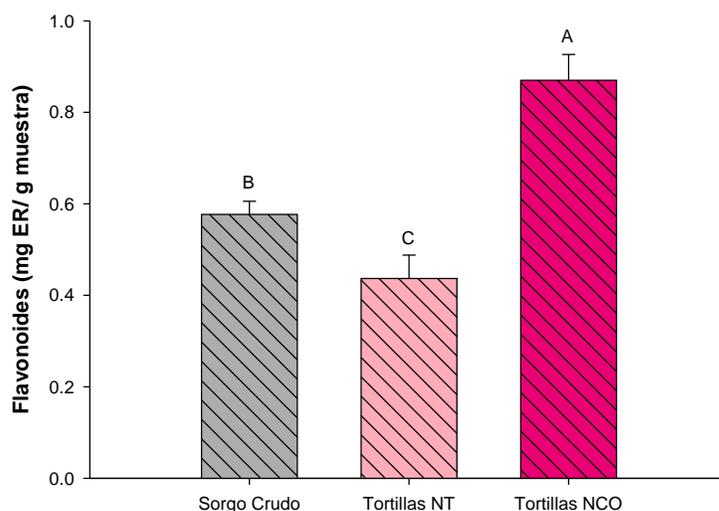


Figura 9. Contenido de flavonoides de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos. NT – Nixtamalización tradicional, NCO – Nixtamalización por Calentamiento Óhmico. Se muestra la media \pm desviación estándar de tres replicas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la Prueba de Tukey-Kramer.

El valor encontrado en el sorgo crudo fue de 0.58 mg ER/g de muestra. Este valor es similar a lo reportado anteriormente por Li et al., (2021), quienes analizaron el contenido de compuestos fenólicos de 6 variedades de sorgo encontrando un contenido de flavonoides totales solubles de 0.65 a 3 mg ER/g. Estos compuestos, al igual que los ácidos fenólicos son una clase de polifenoles que se encuentran naturalmente en el sorgo y se pueden clasificar en flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas, flavanos entre otros. Entre estos los grupos mayoritarios encontrados en el sorgo son los flavanos mejor conocidos como antocianidinas, y los flavonoles (flavan-3-oles y flavan-4oles) (Ratnavathi y Komala, 2016).

Se ha reportado que estos compuestos poseen efectos en la inhibición de la carcinogénesis, además de actuar como antibacterianos, antiinflamatorios y aportan una alta capacidad antioxidante la cual varía según la posición y el número del azúcar y de los grupos hidroxilo y metoxi que contengan (Huang et al., 2015; Ratnavathi, 2019).

Una vez obtenidas las tortillas de la nixtamalización tradicional el contenido de flavonoides se vio disminuido a 0.44 mg ER/g muestra. Esta disminución se atribuye

a que la mayoría de los flavonoides se encuentran en el pericarpio del grano y durante las etapas de remojo y lavado de la nixtamalización, al igual que sucede con otros compuestos, se pierden al quedarse en el nejayote; por otro lado, también puede deberse a que las altas temperaturas de cocimiento, así como el pH alcalino del medio provoquen una hidrólisis de flavonoides (Ramírez-Jiménez et al., 2019).

Anteriormente, Gaytán-Martínez et al. (2017) reportaron pérdidas de flavonoides después de la nixtamalización de hasta 50% en sorgo blanco, las cuales eran mayores conforme aumentaba el contenido de hidróxido de calcio usado. En el presente estudio las pérdidas tras la nixtamalización fueron de 24%, diferencias que se deben al contenido inicial de flavonoides en el grano.

De forma contraria a la nixtamalización tradicional, las tortillas obtenidas de la nixtamalización por calentamiento óhmico mostraron un aumento en el contenido de flavonoides (0.87 mg ER/g de muestra). Las diferencias entre los tratamientos de nixtamalización se deben a que, en el calentamiento óhmico, no se pierden los compuestos bioactivos. Además, se ha reportado que esta tecnología provoca que las paredes celulares se permeabilicen, lo que facilita la extracción de los polifenoles (El Darra et al., 2013).

6.5 Compuestos antinutricios

6.5.1 Contenido de taninos condensados

El contenido de taninos condensados en el sorgo crudo, y las tortillas seleccionadas de los tratamientos de nixtamalización se muestra en la Figura 10.

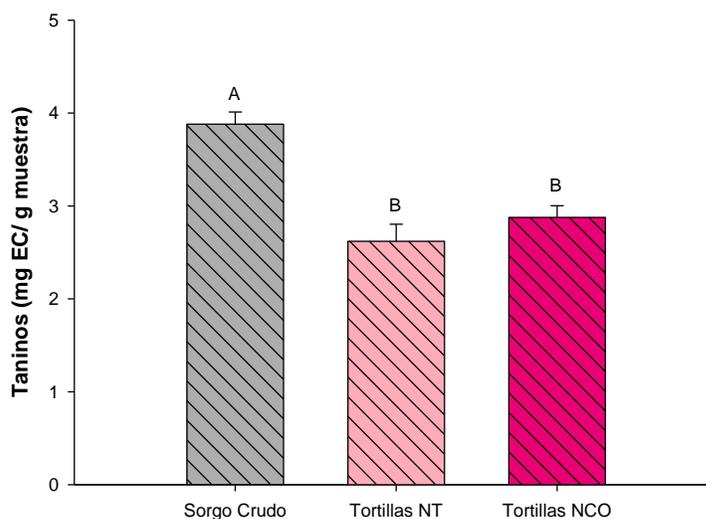


Figura 10. Contenido de taninos condensados de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos. NT – Nixtamalización tradicional, NCO – Nixtamalización por Calentamiento Óhmico. Se muestra la media \pm desviación estándar de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la Prueba de Tukey-Kramer.

El valor de taninos condensados en el sorgo crudo fue de 3.88 mg EC/g muestra, el cual está dentro del rango reportado en sorgo por Rao et al., (2018) quienes obtuvieron valores entre 0.09 y 5.55 mg EC/g de muestra.

Una vez obtenidas las tortillas de ambos tratamientos de nixtamalización, los taninos condensados se vieron disminuidos un 32.47% en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente (2.62 mg/g) y un 25.77% en las nixtamalizadas por calentamiento óhmico (2.88 mg/g), no mostrando diferencias entre sí. Estos resultados concuerdan con lo encontrado anteriormente por Gaytán-Martínez et al., (2017) quienes reportaron una disminución del 27% del contenido inicial de taninos condensados en sorgo blanco nixtamalizado tradicionalmente, mientras que Díaz-González et al., (2019) mencionan que entre mayor es el contenido inicial de taninos, mayor es la reducción de su contenido.

La disminución de estos compuestos se considera positiva, porque a pesar de que estos también contribuyen a la capacidad antioxidante, pueden tener efectos negativos, ya que como se había mencionado anteriormente, se unen a las proteínas

formando complejos de alto peso molecular que interfieren con la digestibilidad proteica del sorgo.

De acuerdo con lo estimado por Coneval, (2018), una persona consume un promedio diario de 217.9 g de tortilla en zonas rurales (8-10 tortillas) y 155.4 g de tortillas en zonas urbanas (6-8 tortillas), por lo que si se consumiera esta misma cantidad de tortillas de sorgo nixtamalizado tradicionalmente, equivaldría a un promedio estimado entre 407 y 570 mg taninos/día, o bien entre 447 y 627 mg taninos/día si fueran tortillas nixtamalizadas pro CO, lo que se consideraría seguro para el consumo humano (1500-2000 mg taninos/día) (Sharma et al., 2019).

En el caso de la nixtamalización tradicional, la reducción de los taninos condensados, al igual que sucede con los flavonoides, puede deberse a la lixiviación de estos en el agua de cocción, ya que estos se encuentran ubicados en el pericarpio del sorgo, o bien puede deberse a la hidrólisis ocasionada por las altas temperaturas del proceso (Gaytán-Martínez et al., 2017); mientras que en el tratamiento de calentamiento óhmico la disminución está atribuida a la despolimerización de estos compuestos debido a la temperatura alcanzada (García-Mier et al., 2012).

6.6 Cuantificación de compuestos fenólicos libres por HPLC-DAD

En la Tabla 5 se muestra el contenido de compuestos fenólicos libres detectados en el sorgo crudo y las tortillas de ambos tratamientos de nixtamalización.

Tabla 5. Contenido de compuestos fenólicos libres, cuantificados por HPLC-DAD, de harinas crudas de sorgo y tortillas nixtamalizadas (µg/g).

Compuesto	Crudo	Tortilla nixtamal	Tortilla calentamiento óhmico
Ácido cafeico	98.44 ± 25.48 ^{Ab}	ND	ND
Ácido clorogénico	121.81 ± 11.03 ^{Bb}	133.39 ± 2.19 ^{Ba}	375.79 ± 16.06 ^{Ab}
Ácido elágico	479.25 ± 5.71 ^{Ba}	ND	784.17 ± 9.42 ^{Aa}
Ácido ferúlico	4.73 ± 0.13 ^{Bc}	25.79 ± 0.17 ^{Aa}	2.61 ± 0.03 ^{Ce}
Ácido gálico	105.22 ± 2.43 ^{Ab}	135.56 ± 45.35 ^{Aa}	174.15 ± 7.53 ^{Ac}
Ácido hidroxifenilacético	36.72 ± 3.33 ^{Bc}	62.72 ± 6.49 ^{Aa}	ND
Ácido hidroxibenzoico	110.66 ± 39.43 ^{Ab}	ND	ND
(+)-Catequina	148.44 ± 0.52 ^{Ab}	16.82 ± 0.42 ^{Ba}	ND

Galato de epigallocatequina	524.36 ± 4.10 ^{Aa}	38.43 ± 3.35 ^{Ba}	26.75 ± 2.19 ^{Be}
Epicatequina	142.38 ± 1.67 ^{Ab}	134.72 ± 27.52 ^{Aa}	89.39 ± 0.006 ^{Ad}
Quercetina	104.00 ± 6.76 ^{Ab}	ND	ND

Se muestra la media ± desviación estándar, calculados en base seca de dos replicas. Letras mayúsculas diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos, letras minúsculas diferentes en una misma columna indican diferencias significativas entre compuestos ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer.

Se detectaron once compuestos, entre ellos siete ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, elágico, ferúlico, gálico, hidroxifenilacético e hidroxibenzoico) y cuatro flavonoides (catequina, galato de epigallocatequina, epicatequina y quercetina).

En el sorgo crudo los compuestos se encontraron en un rango de 4.73 a 524.36 $\mu\text{g/g}$. Los compuestos que se detectaron en mayor cantidad fueron el galato de epigallocatequina y el ácido elágico y (524.36 ± 4.10 y $479.25 \pm 5.71 \mu\text{g/g}$), y los que se encontraron en menor cantidad fueron el ácido hidroxifenilacético y el ferúlico (36.72 ± 3.33 y $4.73 \pm 0.13 \mu\text{g/g}$). En otros estudios se ha identificado que al ácido ferúlico como el compuesto mayoritario en el sorgo (Li et al., 2021; Shen et al., 2018), sin embargo, en el presente estudio este se encuentra en la menor proporción. Esto se debe a que este ácido fenólico se encuentra principalmente en su forma ligada y suele localizarse en mayor concentración en variedades rojas.

Una vez realizados los diferentes tratamientos de nixtamalización y la obtención de tortillas, se observaron diferentes comportamientos en cada compuesto dependiendo del tratamiento empleado.

En las tortillas nixtamalizadas de forma tradicional se observó una marcada disminución en los compuestos fenólicos ya que estos se detectaron en un rango de 16.82 a 135.56 $\mu\text{g/g}$ siendo el ácido gálico el compuesto que se detectó en mayor concentración y la catequina en menor. Algunos compuestos como el ácido cafeico, elágico, hidroxibenzoico y la quercetina no lograron detectarse tras el proceso de nixtamalización y la obtención de tortillas, lo cual se atribuye a las altas temperaturas utilizadas en el proceso de nixtamalización, así como en la cocción de las tortillas, mientras que otros compuestos como el ácido ferúlico ($25.79 \pm 0.17 \mu\text{g/g}$) y el hidroxifenilacético ($62.72 \pm 6.49 \mu\text{g/g}$), por el contrario, mostraron un aumento de 5.45 y 1.70 veces más después de la nixtamalización.

Anteriormente ya se han reportado aumentos del ácido ferúlico en harinas de sorgo (Gaytán-Martínez et al., 2017) después del proceso de nixtamalización. Los autores mencionan que este aumento tiene que ver con la presencia de arabinoxilanos los cuales en el grano de sorgo se encuentran rodeando al ácido ferúlico por lo que este se encuentra en forma ligada y una vez realizada la nixtamalización el enlace éster entre estos compuestos se rompe liberándolos de la matriz. En el caso del ácido hidroxifenilacético el aumento en su contenido puede deberse a que de manera similar este compuesto se encuentre inicialmente en su forma ligada y se libere con las temperaturas de la nixtamalización.

En el caso de las tortillas nixtamalizadas por medio de calentamiento óhmico, los compuestos fenólicos fueron detectados en un rango más amplio entre 2.61 y 784.17 $\mu\text{g/g}$, siendo el ácido ferúlico el compuesto q detectado en menor proporción y el ácido elágico el de mayor.

De forma similar a la nixtamalización tradicional, el ácido cafeico, hidroxibenzoico y la quercetina no lograron ser detectados después del tratamiento de calentamiento óhmico, sin embargo, en este caso tampoco el ácido hidroxifenilacético logró ser detectado, y el ácido ferúlico, mostró una disminución del 55% ($2.61 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$).

Por otro lado, los ácidos fenólicos como el clorogénico y el elágico mostraron un aumento de 3 y 1.5 veces (375.79 ± 16.06 y $784.17 \pm 9.42 \mu\text{g/g}$, respectivamente) después del calentamiento óhmico, mientras que, en el caso de los flavonoides, no existieron diferencias significativas entre los dos tratamientos de nixtamalización con excepción de la catequina, la cual no logró ser detectada en el tratamiento de calentamiento óhmico.

Existen algunas diferencias entre los resultados obtenidos en este mismo estudio por medio de técnicas espectrofotométricas y los encontrados por cromatografía HPLC-DAD. En el caso de las técnicas espectrofotométricas, el contenido de fenoles totales solubles aumentó en ambos tratamientos de nixtamalización en comparación con el crudo, mientras que en HPLC-DAD únicamente aumentó con el calentamiento óhmico; y en el caso de los flavonoides, las técnicas espectrofotométricas mostraron un aumento en el contenido utilizando el tratamiento de calentamiento óhmico,

mientras que en los resultados arrojados por HPLC-DAD ambos tratamientos de nixtamalización provocaron disminución en el contenido.

Estas discrepancias pueden deberse a las diferencias de cada técnica, o al tiempo en que estas se llevaron a cabo, ya sea porque algunos compuestos fenólicos pudieron ser degradados por el tiempo de almacenamiento o quizás a que existen otros compuestos fenólicos presentes en las harinas que no fueron detectados en el equipo de HPLC. Sin embargo, en ambas técnicas se puede observar que el calentamiento óhmico es capaz de mantener e incluso aumentar en mayor medida el contenido de fenoles totales solubles, mientras que en el caso de los flavonoides estos son altamente sensibles a las temperaturas de ambos procesos de nixtamalización.

6.7 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es la capacidad que tienen las moléculas con potencial redox en los alimentos de inhibir la degradación oxidativa. Se ha demostrado que el sorgo es un cereal con alta capacidad antioxidante, la cual se debe a su contenido de compuestos fenólicos, ya que son capaces de reaccionar con radicales libres y detener las reacciones en cadena (Floegel et al., 2011; Rao et al., 2018). Conocer la capacidad antioxidante de las tortillas de sorgo es importante ya que esta está relacionada con la prevención de la oxidación de las células del organismo y por ende puede evitar el desarrollo de algunas enfermedades transmisibles como diabetes y cáncer (Coronado et al., 2015).

En las Figuras 11A y B se muestra la capacidad antioxidante del sorgo crudo y las tortillas nixtamalizadas por ambos tratamientos obtenidas mediante el ensayo ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), respectivamente.

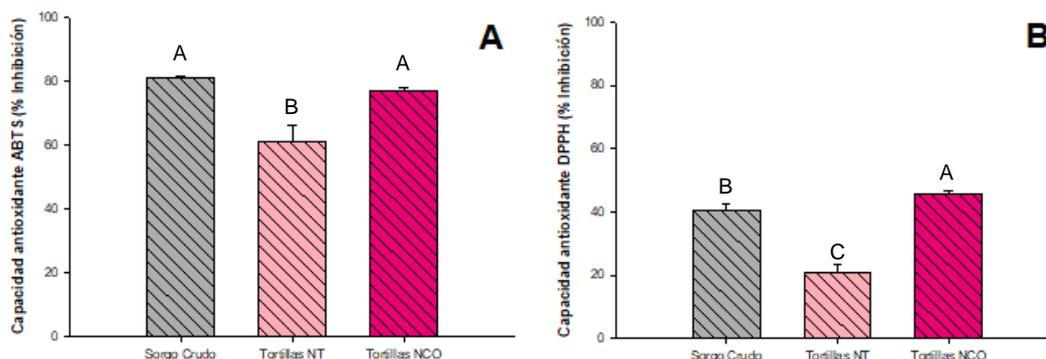


Figura 11. Capacidad antioxidante por (A) ABTS y (B) DPPH de sorgo crudo y tortillas nixtamalizadas por diferentes métodos. NT – Nixtamalización tradicional, NCO – Nixtamalización por Calentamiento Óhmico. Se muestra la media \pm desviación estándar de tres replicas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) por la prueba de Tukey-Kramer.

En el caso del ensayo ABTS, el sorgo crudo mostró un porcentaje de inhibición de 81.20 %, similar al 79.79 % reportado por Gaytán-Martínez et al. (2017) en sorgo blanco, mientras que en el ensayo DPPH se encontró un valor más bajo (40.45 %), que el reportado en ese mismo estudio que fue de 71.66 %.

Una vez realizada la nixtamalización y la obtención de tortillas el porcentaje de inhibición encontrado por el ensayo ABTS para las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente disminuyó significativamente a 61.14 %, mientras que para las tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico disminuyó a 77.10 %, pero no mostró cambios significativos en comparación con el sorgo crudo.

El ensayo DPPH, mostró tendencias similares en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente, ya que disminuyeron su porcentaje de inhibición hasta 20.81 %, sin embargo, en las nixtamalizadas por calentamiento óhmico de manera contraria a lo sucedido en el ensayo ABTS, aumentaron hasta 45.75 %.

Por otro lado, se puede observar que, en todos los tratamientos, los resultados obtenidos en el ensayo ABTS fueron mayores a los encontrados en DPPH. Esta misma tendencia sucedió en el estudio de Gaytán-Martínez et al. (2017). Estas diferencias pueden atribuirse al mecanismo de acción que utiliza cada radical ya que DPPH actúa recibiendo átomos de hidrógeno H^+ , mientras que ABTS puede aceptar electrones o protones. Además, debido a que el ABTS requiere una previa activación

del radical por medio de persulfato de potasio, este tiende a ser menos estable que el DPPH (Floegel et al., 2011).

Otra razón puede ser que el radical DPPH no es capaz de reaccionar con los compuestos flavonoides que no contienen grupos hidroxilo en el anillo B, mientras que ABTS reacciona con facilidad (Rogisnky et al., 2005).

Se realizó un análisis de correlaciones para observar la relación existente entre la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos presentes en el sorgo (Tabla 6). Se puede observar que la capacidad antioxidante obtenida por ambos métodos se debe principalmente al contenido de flavonoides presentes en el sorgo. Esto concuerda con los resultados encontrados en el contenido de flavonoides ya que estos muestran la misma tendencia de aumentar en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente y disminuir en las tortillas nixtamalizadas de manera tradicional.

Tabla 6. Análisis de correlaciones entre capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.

	Fenoles	Flavonoides	Taninos	ABTS	DPPH
Fenoles	1.000	0.278	-0.951	-0.061	-0.232
Flavonoides	0.278	1.000	-0.024	0.884	0.861
Taninos	-0.951	-0.024	1.000	0.343	0.447
ABTS	-0.062	0.884	0.343	1.000	0.902
DPPH	-0.232	0.861	0.447	0.902	1.000

*Correlación significativa (alfa \leq 0.05)

6.8 Bioaccesibilidad de proteínas de sorgo

6.8.1 Bioaccesibilidad proteica de tortillas de sorgo

La Tabla 7 muestra la bioaccesibilidad de las proteínas (%) en las etapas de boca, estómago e intestino durante la digestión gastrointestinal *in vitro* de las tortillas de sorgo obtenidas por ambos tratamientos de nixtamalización.

Tabla 7. Bioaccesibilidad de proteínas (%) de tortillas de sorgo nixtamalizadas por diferentes métodos.

Etapas	Nixtamalización tradicional (%)	Calentamiento óhmico (%)
Boca	12.95 ± 0.09 ^{Af}	10.98 ± 0.20 ^{Be}
Estómago	13.52 ± .43 ^{Bf}	17.68 ± 0.91 ^{Ad}
Fracción digerible		
15	23.71 ± 0.56 ^{Ac}	23.78 ± 1.28 ^{Ac}
30	39.09 ± 0.52 ^{Ab}	23.73 ± 0.64 ^{Bc}
60	56.36 ± 0.39 ^{Ba}	58.23 ± 0.93 ^{Aa}
Fracción no digerible		
15	15.21 ± 0.15 ^{Be}	23.08 ± 0.33 ^{Ac}
30	21.86 ± 0.46 ^{Ad}	18.18 ± 2.17 ^{Bd}
60	23.15 ± 0.25 ^{Bc}	29.01 ± 0.85 ^{Ab}

Se muestra la media ± desviación estándar de dos experimentos independientes, por triplicado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre etapas y letras mayúsculas diferentes indican diferencias entre tratamientos según la prueba de Tukey-Kramer ($p < 0.05$).

En la etapa oral la bioaccesibilidad de proteínas de las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente (TNT) fue de $12.95 \pm 0.09\%$, mayor que la encontrada en las tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico (TNCO) ($10.20 \pm 2.06\%$). Sin embargo, al pasar a la etapa gástrica con 30 min de incubación, la TNT no mostraron cambios significativos en su bioaccesibilidad ($13.52 \pm .43\%$), mientras que en las TNCO mostraron un aumento de aproximadamente 7% ($17.68 \pm 0.91\%$), siendo más bioaccesibles que las TNT.

Anteriormente Cabrera-Ramírez et al. (2020) reportaron una pequeña disminución de la bioaccesibilidad proteica de harinas de sorgo nixtamalizadas tradicionalmente, al pasar de la etapa oral a la gástrica. Los autores mencionan que esta disminución se debe a que bajo las condiciones de pH del estómago (entre 2 y 4) los taninos condensados presentes en el sorgo, ejercen mayormente sus efectos estéricos impidiendo el paso de las enzimas a las proteínas, sin embargo, en el presente estudio, sucedió lo contrario, puesto que la bioaccesibilidad aumentó en el estómago, principalmente en las tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico lo que puede deberse a que la pepsina haya hidrolizado algunas de las proteínas a péptidos o

aminoácidos libres. Además, posiblemente el calentamiento óhmico haya provocado la hidrólisis o modificación de los enlaces disulfuro presentes, favoreciendo el acceso de enzimas y mejorando la bioaccesibilidad proteica (Tinoco et al., 2020).

Posteriormente en la etapa intestinal, nuevamente se observó un aumento en la bioaccesibilidad en ambos tratamientos. En general, la fracción digerible, mostró una mayor bioaccesibilidad de proteínas que la fracción no digerible en ambos métodos de nixtamalización, y esta fue aumentando conforme el tiempo de incubación.

En la fracción digerible (FD), la bioaccesibilidad de proteínas encontrada en las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente fue de $23.71 \pm 0.56\%$ a los 15 minutos de incubación y esta aumentó a $39.09 \pm 0.52\%$ y $56.36 \pm 0.39\%$ a los 30 y 60 minutos, alcanzando la mayor bioaccesibilidad a los 60 minutos. En las tortillas obtenidas por calentamiento óhmico, a los 15 minutos la bioaccesibilidad proteica era similar a la obtenida mediante el proceso tradicional ($23.78 \pm 1.28\%$), pero en este caso ésta se mantuvo en el mismo valor a los 30 minutos de incubación ($23.73 \pm 0.64\%$) y posteriormente aumentó alcanzando su mayor valor a los 60 minutos, donde además el valor alcanzado fue mayor que el obtenido en las TNT ($58.23 \pm 0.93\%$). El aumento de la bioaccesibilidad proteica en la fracción digerible es positivo, debido a que, si las proteínas se liberan de la matriz alimentaria, es más probable que puedan ser absorbidas en el intestino delgado y puedan llegar a los diferentes tejidos para ejercer su función (Feher, 2017).

En la fracción no digerible (FND), la bioaccesibilidad de las TNT aumentó conforme al tiempo pasando de $15.21 \pm 0.15\%$ a $21.86 \pm 0.46\%$ y finalmente $23.15 \pm 0.25\%$ a los 15, 30 y 60 minutos de incubación; mientras que las TNCO mostraron diferentes comportamientos con el tiempo ya que a los 15 minutos su bioaccesibilidad proteica era de $23.08 \pm 0.33\%$ y esta disminuyó ligeramente a $18.18 \pm 2.17\%$ a los 30 minutos de incubación y nuevamente aumentó a $29.01 \pm 0.85\%$ a los 60 minutos. Esta fracción indica la cantidad de proteínas que resistieron la digestión gastrointestinal y que llegan al colon. En otros estudios se ha descubierto que algunos péptidos obtenidos de la fracción no digerible de frijol común tienen actividad antiproliferativa contra células de cáncer colorrectal humano (Luna-Vital et al., 2015), sin embargo, no se conoce el efecto que tienen las proteínas o péptidos del sorgo en el colón.

Las fluctuaciones observadas en la bioaccesibilidad de las TNCO en la FND, pueden deberse a diferentes motivos. Uno de ellos es que los taninos condensados que se habían hidrolizado en un principio con la nixtamalización, pueden volver a polimerizarse debido a las condiciones alcalinas del intestino produciendo nuevamente moléculas de alto peso que disminuyan la bioaccesibilidad (Lemlioglu-Austin et al., 2012). Otra razón puede ser el efecto de los compuestos fenólicos sobre las proteínas del sorgo, ya que esos pueden generar algunos compuestos oxidantes como las quinonas las cuales pueden modificar la estructura de las proteínas, o bien, algunos flavonoides son capaces de actuar como inhibidores de tripsina dificultando la hidrólisis de las proteínas y con ello disminuyendo la bioaccesibilidad (Cabrera-ramírez et al., 2020; Luzardo-Ocampo et al., 2020). Finalmente otro factor que también podría afectar la bioaccesibilidad es la formación de enlaces disulfuro entre kafirinas, especialmente en la nixtamalización tradicional (Liu et al., 2019).

En general, las tortillas obtenidas mediante calentamiento óhmico mostraron mayor bioaccesibilidad de proteínas que las obtenidas de forma tradicional, a pesar de tener un contenido similar de taninos condensados. Esto puede deberse a que, en la nixtamalización por calentamiento óhmico, a diferencia del método tradicional, no se usan grandes cantidades de agua y por lo tanto las proteínas del sorgo que tienen naturaleza hidrofóbica no se contraen y por lo tanto, existe menor formación de enlaces disulfuro y mayor accesibilidad de las enzimas a las proteínas lo que además puede aumentar la digestibilidad de proteínas y facilitar su absorción.

6.8.2 Permeabilidad aparente y relación de flujo

La permeabilidad neta aparente (P_{app} Neta) (cm/s) y la relación de flujo de la proteína de sorgo nixtamalizada por ambos tratamientos se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Coeficientes de permeabilidad neta aparente (P_{app} Neta) (cm/s) y relación de flujo de proteína de sorgo blanco nixtamalizada por diferentes métodos.

Tiempo	Nixtamalización tradicional		Calentamiento óhmico	
	P_{app}	Flujo	P_{app}	Flujo
15	$10.59 \times 10^{-5} \pm 0.72^a$	0.64 ± 0.02^c	$1.44 \times 10^{-5} \pm 0.96^d$	0.97 ± 0.07^b
30	$1.4384 \times 10^{-5} \pm 0.26^d$	1.11 ± 0.02^b	$3.47 \times 10^{-5} \pm 1.19^c$	1.53 ± 0.19^a
60	$10.34 \times 10^{-5} \pm 0.06^a$	0.41 ± 0.00^d	$8.04 \times 10^{-5} \pm 0.25^b$	0.50 ± 0.01^{cd}

Los datos se expresaron como la media \pm desviación estándar de dos experimentos independientes, por triplicado. Letras diferentes indican diferencias significativas entre todos los tratamientos según la prueba de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). TNT: tortillas nixtamalizadas tradicionalmente; TNCO: tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico.

La permeabilidad aparente neta indica la cantidad de proteína que atraviesa la membrana del intestino delgado por unidad de tiempo, es decir, la velocidad de permeación. Este valor, además, nos da una estimación de la cantidad de proteína que logró absorberse (Ma et al., 2014), Las tortillas nixtamalizadas tradicionalmente mostraron una permeabilidad aparente neta entre 1.44×10^{-5} a 8.03×10^{-5} cm/s las tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico entre 1.44×10^{-5} a 10.59×10^{-5} (Figura 13).

Las TNT, mostraron una disminución de su velocidad a los 30 min y posteriormente a los 60 aumentaron nuevamente a la misma velocidad que tenían a los 15 minutos; mientras que las TNCO aumentaron su velocidad de permeación conforme al tiempo. De acuerdo con estos resultados, ambos tratamientos muestran una velocidad de permeabilidad alta, ya que valores menores a 1×10^{-7} cm/s se consideran permeabilidad baja y 1×10^{-7} cm/s se consideran permeabilidad alta (Artursson et al., 2001).

La relación de flujo o relación de absorción ayuda a estimar si el transporte de proteínas es activo o pasivo, es decir si necesita de energía y/o algún transportador o no. Si los valores son menores a 0.50 o mayores a 2.00, el transporte se considera activo y si se encuentra entre 0.50 y 2.00 el transporte se considera pasivo (Hubatsch et al., 2007). En este estudio, el transporte de proteínas de las TNT se encontró entre 0.41 y 0.65, por lo tanto, no se puede asegurar, pero se acerca más a transporte pasivo, mientras que en las TNCO se encontró entre 0.50 y 1.53 clasificándose igualmente como transporte pasivo, lo que indicaría que no existe gasto de energía para llevar a cabo la absorción.

7. CONCLUSIONES

- El calentamiento óhmico demostró ser una tecnología emergente que puede utilizarse como alternativa a la nixtamalización tradicional para obtener harinas de sorgo para elaborar tortillas con características de calidad adecuadas, con la ventaja de reducción de tiempo, además de ser un proceso

ecológico, por lo que podría ser conveniente su utilización en la industria de la masa y la tortilla.

- Los parámetros que permitieron obtener las tortillas con las mejores características de calidad, así como el mayor rendimiento fueron 1120 V y 85°C utilizando sorgo blanco variedad 82w21.
- En comparación con la nixtamalización tradicional, el calentamiento óhmico mostró mantener en mayor medida el contenido de compuestos fenólicos, así como la mayor capacidad antioxidante en las tortillas.
- El contenido de taninos condensados disminuyó significativamente en las tortillas procesadas por ambos tratamientos de nixtamalización.
- Ambos tratamientos de nixtamalización pueden incrementar la bioaccesibilidad de proteínas de las tortillas, especialmente en la fracción digerible, sin embargo, el calentamiento óhmico logró aumentar en mayor medida la bioaccesibilidad proteica.
- Hace falta realizar más estudios para conocer la bioactividad de los compuestos presentes en las tortillas de ambos métodos de nixtamalización. Además, sería conveniente estudiar más a fondo los mecanismos por los cuales aumentó la bioaccesibilidad proteica para asegurar la eficacia del calentamiento óhmico.

8. REFERENCIAS

- Arámbula, V. G., Figueroa, C. J. D., González, H. J., & Ordorica, F. C. A. (1999). Corn masa and tortillas from extruded instant corn flour containing hydrocolloids and lime. *Journal of Food Science*, *64*(1), 120–124.
- Aranbula-Villa, G., Barron-Avila, L., Gonzalez-Hernández, J. Moreno-Martinez, E., & Luna-Barcenas, G. (2001). Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maiz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, estructurales y reológicas, estructurales y texturales, masa y tortilla de maiz. *Arch. Latinoam. Nutr.*, *51*, 187–194.
- Arbab, M., & El Tinay, A. (1997). Effect of cooking and treatment with sodium bisulphite or ascorbic acid on the in vitro protein digestibility of two sorghum cultivars. *Food Chemistry*, *59*(3), 339–43.
- Artursson, P., Palm, K., & Luthman, K. (2001). *Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport*. *46*, 27–43.
- Aruna, C., & Visarada, K. B. R. S. (2019). Sorghum Grain in Food and Brewing Industry. In *Breeding Sorghum for Diverse End Uses*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101879-8.00013-9>
- Awika, J. M., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. (2005). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, *90*(1–2), 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.058>
- Badawy, A. A. B. (2014). Pellagra and alcoholism: A biochemical perspective. *Alcohol and Alcoholism*, *49*(3), 238–250. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agu010>
- Barrett, A. H., Farhadi, N. F., & Smith, T. J. (2018). Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins— A review of efficacy and mechanisms. *LWT - Food Science and Technology*, *87*, 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.002>
- Bean, S. R., Wilson, J. D., Moreau, R. A., Galant, A., Awika, J. M., Kaufman, R. C., Adrianos, S. L., & Ioerger, B. P. (2016). Structure and composition of the Sorghum grain. In *Sorghum: State of the Art and Future Perspectives*. American Society of

- Beckwith, A. C. (1972). Grain Sorghum Glutelin: Isolation and Characterization. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 20, Issue 4, pp. 761–764). <https://doi.org/10.1021/jf60182a020>
- Bedolla, S., Palacios, M. G., & Rooney, L. W. (1983). Cooking Characteristics of Sorghum and Corn for Tortilla Preparation by Several Cooking Methods. *Cereal Chemistry*, 60 (4), 263–268. <http://eprints.icrisat.ac.in/3473/>
- Belton, P., Delgadillo, I., Halford, N., & Shewry, P. (2006). Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science*, 44, 272–286.
- Beta, T., Obilana, A. B., & Corke, H. (2001). Genetic diversity in properties of starch from Zimbabwean sorghum landraces. *Cereal Chem.*, 78, 583-589.
- Boniface, O. O., & Gladys, M. E. (2011). *Effect of Alkaline Soaking and Cooking on the Proximate, Functional and Some Anti-Nutritional Properties of Sorghum Flour*. 14(3), 210–216.
- Branlard, G., & Bancel, E. (2006). Grain protein extraction. Plant proteomics, methods and protocols. *Methods in Mol Ecular Biology*, 355(January 2006), 15–25.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>
- Cabrera-Ramírez, A. H., Luzardo-ocampo, I., Ramírez-jiménez, A. K., & Morales-sánchez, E. (2020). Effect of the nixtamalization process on the protein bioaccessibility of white and red sorghum flours during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 134(April), 109234. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109234>
- Campechano Carrera, E. M., de Dios Figueroa Cárdenas, J., Arámbula Villa, G., Martínez Flores, H. E., Jiménez Sandoval, S. J., & Luna Bárcenas, J. G. (2012). New ecological nixtamalisation process for tortilla production and its impact on the chemical properties of whole corn flour and wastewater effluents. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(3), 564–571.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02878.x>

- Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., & Oomah, B. D. (2015). Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Research International*, *77*, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.024>
- Cappato, L. P., Ferreira, M. V. S., Guimaraes, J. T., Portela, J. B., Costa, A. L. R., Freitas, M. Q., Cunha, R. L., Oliveira, C. A. F., Mercali, G. D., Marzack, L. D. F., & Cruz, A. G. (2017). Ohmic heating in dairy processing: Relevant aspects for safety and quality. *Trends in Food Science and Technology*, *62*, 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.01.010>
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. (2002). Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric and Food Chem*, *50*(24), 6975–6980.
- Cardoso, L. de M., Pinheiro, S. S., de Carvalho, C. W. P., Queiroz, V. A. V., de Menezes, C. B., Moreira, A. V. B., de Barros, F. A. R., Awika, J. M., Martino, H. S. D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2015). Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. *Journal of Cereal Science*, *65*, 220–226. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.015>
- Castro-Muñoz, R., Cerón-Montes, G. I., Barragán-Huerta, B. E., & Yáñez-Fernández, J. (2015). Recovery of Carbohydrates From Nixtamalization Wastewaters (Nejayote) By Ultrafiltration Recuperac on De Carbohidratos De Las Aguas Residuales De La Nixtamalizac on (Nejayote) Por Ultrafiltrac on. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *14*(3), 735–744.
- Chaidez-Laguna, L. D., Torres-Chavez, P., Ramírez-Wong, B., Marquez-Ríos, E., Islas- Rubio, A. R., & Carvajal-Millan, E. (2016). Corn proteins solubility changes during extrusion and traditional nixtamalization for tortilla processing: A study using size exclusion chromatography. *Journal of Cereal Science*, *69*, 351–357.

- Coneval. (2018). *No Title.*
<https://www.coneval.org.mx/medicion/MP/Paginas/Lineas-de-Bienestar-y-Canasta-Basica.aspx>.
- Correia, I., Nunes, A., Saraiva, J. A., Barros, A. S., & Delgadillo, I. (2011). High pressure treatments largely avoid/revert decrease of cooked sorghum protein digestibility when applied before/after cooking. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 1245–1249. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.021>
- Cota López, R. (2017). *Biodisponibilidad de proteína y calcio en harinas de maíz nixtamalizadas por calentamiento óhmico.* <https://doi.org/dfgdfg>
- Coulibaly, A., Kouakou, B., & Chen, J. (2011). Phytic Acid in Cereal Grains: Structure, Healthy or Harmful Ways to Reduce Phytic Acid in Cereal Grains and Their Effects on Nutritional Quality. *American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology*, 1, 1–22.
- Cullen, P. J., Tiwari, B. K., & Valdramidis, V. P. (2012). Status and Trends of Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. In *Novel Thermal And Non-Thermal Technologies For Fluid Foods.* Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00001-3>
- D'Antuono, I., Garbetta, A., Linsalata, V., Minervini, F., & Cardinali, A. (2015). Polyphenols from artichoke heads (*Cynara cardunculus* (L.) subsp. *scolymus* Hayek): In vitro bio-accessibility, intestinal uptake and bioavailability. *Food and Function*, 6(4), 1268–1277. <https://doi.org/10.1039/c5fo00137d>
- de Mesa-Stonestreet, N. J., Alavi, S., & Bean, S. R. (2010). Sorghum proteins: The concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. *Journal of Food Science*, 75(5). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01623.x>
- Díaz-González, D., Morawicki, R., & Mauromoustakos, A. (2019). *Effect of nixtamalization treatment of three varieties of grain sorghum on the reduction of total phenolics and their subsequent enzymatic hydrolysis.* February, 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14067>
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Barro, C., Traore, A. S., Van Berkel, W. J. H., & Voragen,

- A. G. J. (2005). Impact of phenolic compounds and related enzymes in sorghum varieties for resistance and susceptibility to biotic and abiotic stresses. *Journal of Chemical Ecology*, 31(11), 2671–2688. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-7619-5>
- Duodu, K.G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B. R. (2003). Factors Affecting Sorghum Protein Digestibility. *Journal of Cereal Science*, 38, 117–131.
- Duodu, Kwaku G., & Awika, J. M. (2019). Phytochemical-Related Health-Promoting Attributes of Sorghum and Millets. In *Sorghum and Millets*. AACCI. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811527-5.00008-3>
- Dykes, L., & Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Cereal Science*, 44, 236–251.
- Dykes, L., Seitz, L. M., Rooney, W. L., & Rooney, L. W. (2009). Flavonoid composition of red sorghum genotypes. *Food Chemistry*, 116, 313–317.
- Dykes, Linda, Rooney, L. W., Waniska, R. D., & Rooney, W. L. (2005). Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6813–6818. <https://doi.org/10.1021/jf050419e>
- El Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N., & Maroun, R. (2013). Extraction of Polyphenols from Red Grape Pomace Assisted by Pulsed Ohmic Heating. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1281–1289. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0869-7>
- Elmaki, H. B., Babiker, E. E., & El Tinay, A. H. (1999). Changes in chemical composition, grain malting, starch and tannin contents and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. *Food Chemistry*, 64(3), 331–336. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00118-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00118-6)
- Escalante-Aburto, A., Mariscal-Moreno, R. M., Santiago-Ramos, D., & Ponce-García, N. (2019). An Update of Different Nixtamalization Technologies, and Its Effects on Chemical Composition and Nutritional Value of Corn Tortillas. *Food Reviews International*, 0(0), 1–43. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1649693>

- FAOSTAT. (2018). *Cultivos*. <http://www.fao.org/faostat/es/?#data/QC/visualize>
- Feher, J. (2017). Digestion and Absorption of the Macronutrients. In *Quantitative Human Physiology* (2nd ed., pp. 821–833). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800883-6.00081-1>
- Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., Acosta-Gallegos, J. A., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(18), 8737–8744. <https://doi.org/10.1021/jf8007162>
- FIRA. (2015). Panorama Agroalimentario. *Dirección de Evaluación y Evaluación Económica y Sectorial*, 0–39. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/61947/Panorama_Agroalimentario_Az_car_2015.pdf
- FIRA. (2019). Panorama Agroalimentario. *Dirección de Evaluación y Evaluación Económica y Sectorial*.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>
- Fombang, E. N., Taylor, J. R. N., Mbofung, C. M. F., & Minnaar, A. (2005). Use of γ -irradiation to alleviate the poor protein digestibility of sorghum porridge. *Food Chemistry*, *91*(4), 695–703. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.042>
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- García-Zamora, J. L., Sánchez-González, M., Lozano, J. A., Jáuregui, J., Zayas, T., Santacruz, V., Hernández, F., & Torres, E. (2015). Enzymatic treatment of wastewater from the corn tortilla industry using chitosan as an adsorbent reduces

- the chemical oxygen demand and ferulic acid content. *Process Biochemistry*, 50(1), 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.10.012>
- Gaytán-Martínez, Cabrera-Ramírez, Morales-Sánchez, Ramírez-Jiménez, Cruz-Ramírez, Campos-Vega, Velazquez, Loarca-Piña, & Mendoza. (2017). Effect of nixtamalization process on the content and composition of phenolic compounds and antioxidant activity of two sorghums varieties. *Journal of Cereal Science*, 77, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.014>
- Gaytán-Martínez, M., Figueroa, J. D. C., Vázquez-Landaverde, P. A., Morales-Sánchez, E., Martínez-Flores, H. E., & Reyes-Vega, M. L. (2012). Caracterización fisicoquímica, funcional y química de harinas nixtamalizadas de maíz obtenidas por calentamiento óhmico y proceso tradicional. *CYTA - Journal of Food*, 10(3), 182–195. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.606478>
- Gaytán-Martínez, Marcela, Figueroa-Cárdenas, J. D. D., Reyes-Vega, M. D. L., & Rincón-Sánchez, E. M.-S. F. (2013). *MAIZE LANDRACES SELECTION FOR INDUSTRIAL END-USE BASED ON THEIR ADDED VALUE*. 36, 339–346.
- Getachew, G., Putnam, D. H., De Ben, C. M., & De Peters, E. J. (2016). Potential of Sorghum as an Alternative to Corn Forage. *American Journal of Plant Sciences*, 07(07), 1106–1121. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.77106>
- Hama, F., Icard-Vernière, C., Guyot, J. P., Picq, C., & Diawara, B. (2011). Changes in micro-and macronutrient composition of pearl millet and white sorghum during in field versus laboratory decortication. *Cereal Science*, 54, 425–433.
- Henley, E. C., Taylor, J. R. N., & Obukosia, S. D. (2010). The importance of dietary protein in human health: combating protein deficiency in sub-Saharan Africa through transgenic biofortified sorghum. *Adv. Food Nutr. Res.* 60, 21e52.2010. The importance of dietary protein in human health: combating protein defici. *Food Nutrition*, 60, 21–52.
- Horwitz, W., & AOAC International. (2002). *Official methods of analysis of AOAC International (17th ed.)*. Arlington, VA: Association of Official Analysis Chemists International, AOAC.

- Huang, R. T., Lu, J. F., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2015). Determination of phenolic acids and flavonoids in *Rhinacanthus nasutus* (L.) kurz by high-performance-liquid-chromatography with photodiode-array detection and tandem mass spectrometry. *Journal of Functional Foods*, 12, 498–508. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.002>
- Hubatsch, I., Ragnarsson, E. G. E., & Artursson, P. (2007). *Determination of drug permeability and prediction of drug absorption in Caco-2 monolayers*. 2(9), 2111–2119. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.303>
- Janve, B., Yang, W., Kozman, A., Sims, C., & Teixeira, A. (2013). Enhancement of corn nixtamalization by power ultrasound. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1269–1280.
- Jimoh, W. L. O., & Abdullahi, M. S. (2017). PROXIMATE ANALYSIS OF SELECTED SORGHUM CULTIVARS. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(1), 285–288.
- Koch, W., Baj, T., Kukula-Koch, W., & Marzec, Z. (2015). Dietary intake of specific phenolic compounds and their effect on the antioxidant activity of daily food rations. *Open Chem*, 13 (1).
- Lassoued, M. A., Khemiss, F., & Sfar, S. (2011). Comparative study of two in vitro methods for assessing drug absorption: Sartorius SM 16750 apparatus versus Everted Gut Sac. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences : A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société Canadienne Des Sciences Pharmaceutiques*, 14(1), 117–127. <https://doi.org/10.18433/j3gc7r>
- Lemlioglu-Austin, D., Turner, N. D., McDonough, C. M., & Rooney, L. W. (2012). Effects of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) moench] crude extracts on starch digestibility, estimated glycemic index (EGI), and resistant starch (RS) contents of porridges. In *Molecules* (Vol. 17, Issue 9, pp. 11124–11138). <https://doi.org/10.3390/molecules170911124>
- Li, M., Xu, T., Zheng, W., Gao, B., Zhu, H., Xu, R., Deng, H., Wang, B., Wu, Y., Sun, X., Zhang, Y., & Yu, L. (Lucy). (2021). Triacylglycerols compositions, soluble and

- bound phenolics of red sorghums, and their radical scavenging and anti-inflammatory activities. *Food Chemistry*, 340(September 2020), 128123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128123>
- Liu, G., Gilding, E. K., Kerr, E. D., Schulz, B. L., Tabet, B., Hamaker, B. R., & Godwin, I. D. (2019). Increasing protein content and digestibility in sorghum grain with a synthetic biology approach. *Journal of Cereal Science*, 85, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.11.001>
- Llopart, E. E., & Drago, S. R. (2016). Physicochemical properties of sorghum and technological aptitude for popping. Nutritional changes after popping. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 316–322. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.006>
- Luna-Vital, D. A., Gonzáles de Mejía, E., Mendoza, S., & Loarca-piña, G. (2015). *Function Peptides present in the non-digestible fraction of common beans (Phaseolus vulgaris L .) inhibit the angiotensin-I converting enzyme by interacting.* 1470–1479. <https://doi.org/10.1039/c5fo00190k>
- Luzardo-Ocampo, I., Ramírez-Jiménez, A. K., Cabrera-Ramírez, Á. H., Rodríguez-Castillo, N., Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Gaytán-Martínez, M. (2020). Impact of cooking and nixtamalization on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phenolic compounds from two sorghum varieties. *Food Chemistry*, October. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125684>
- Macáková, K., Kolečkář, V., Cahlíková, L., Chlebek, J., Hošťálková, A., Kuča, K., Jun, D., & Opletal, L. (2014). Tannins and their Influence on Health. In *Recent Advances in Medicinal Chemistry* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803961-8.50006-3>
- Mauricio, S. R. A., Figueroa, J. D. C., Taba, S., L., R. V. M., Rincón., S. F., & Mendoza, G. A. (2004). Caracterización de accesiones de maíz por calidad de grano y tortilla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(3), 213–222.
- Méndez-Albores, A., Martínez-Morquecho, R. A., Moreno-Martínez, E., & Vázquez-Durán, A. (2012). Technological properties of maize tortillas produced by microwave nixtamalization with variable alkalinity. *African Journal of*

Biotechnology, 11(85), 15178–15187. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2098>

- Ménera-López, I., Gaytán-Martínez, M., Reyes-Vega, M. L., Morales-Sánchez, E., & Figueroa, J. D. C. (2013). Physico-chemical properties and quality assessment of corn flour processed by a continuous ohmic heating system and traditional nixtamalization. *CYTA - Journal of Food*, 11(SUPPL.1), 8–14. <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.762692>
- Mercado-Pedraza, E. B., Morales-Sanchez, E., Reyes-Vega, M., Gaytán-Martínez, M., & Ortega Moody, J. A. (2014). Effects of a low-shear transport system on the physico-chemical characteristics of nixtamal corn flour. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 1330–1338.
- Mun, S., Park, S., Kim, Y. R., & McClements, D. J. (2016). Influence of methylcellulose on attributes of β -carotene fortified starch-based filled hydrogels: Optical, rheological, structural, digestibility, and bioaccessibility properties. *Food Research International*, 87, 18–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.008>
- Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M., & Zhang, H. Y. (2004). Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS^{•+} Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4669–4674.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.* (2011). NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- NORMA Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.* (2002). <https://doi.org/10.16309/j.cnki.issn.1007-1776.2003.03.004>
- Omoruyi, F. O., Budiaman, A., Eng, Y., Olumese, F. E., Hoesel, J. L., Ejilemele, A., & Okorodudu, A. O. (2013). The potential benefits and adverse effects of phytic acid supplement in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advances in Pharmacological*

Sciences, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/172494>

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, & Fundación Iberoamericana de Nutrición. (2017). *Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en nutrición humana*.
- Paredes López, O., Guevara Lara, F., & Bello Pérez, L. (2009). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias*, 92(092).
- Pontieri, P., Mamone, G., De Caro, S., Tuinstra, M. R., Roemer, E., Okot, J., De Vita, P., Ficco, D. B. M., Alifano, P., Pignone, D., Massardo, D. R., & Del Giudice, L. (2013). Sorghum, a healthy and gluten-free food for celiac patients as demonstrated by genome, biochemical, and immunochemical analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(10), 2565–2571. <https://doi.org/10.1021/jf304882k>
- Price, P. B., & Parsons, J. G. (1975). Lipids of seven cereal grains. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 52(12), 490–493. <https://doi.org/10.1007/BF02640738>
- Proietti, I., Frazzoli, C., & Mantovani, A. (2015). Exploiting Nutritional Value of Staple Foods in the World's Semi-Arid Areas: Risks, Benefits, Challenges and Opportunities of Sorghum. *Healthcare*, 3(2), 172–193. <https://doi.org/10.3390/healthcare3020172>
- Quintanar Guzmán, A., Jaramillo Flores, M. E., Mora Escobedo, R., Chel Guerrero, L., & Solorza Feria, J. (2009). Changes on the structure, consistency, physicochemical and viscoelastic properties of corn (*Zea mays* sp.) under different nixtamalization conditions. *Carbohydrate Polymers*, 78(4), 908–916. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.024>
- Ralph, D., Wanisk, & Rooney, L. W. (2000). Structure and chemistry of the sorghum caryopsis. Ch. 4. In *Sorghum: Origin, Histroy, Technology and Production*.
- Ramírez-Araujo, H., Gaytán-Martínez, M., & Reyes-Vega, M. L. (2019). Alternative technologies to the traditional nixtamalization process: Review. *Trends in Food Science and Technology*, 85(August 2018), 34–43.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.007>

Ramírez-Jiménez, A. K., Reynoso-Camacho, R., Mendoza-Díaz, S., & Loarca-Piña, G. (2014). Functional and technological potential of dehydrated *Phaseolus vulgaris* L. flours. *Food Chemistry*, *161*, 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.008>

Ramírez-Jiménez, Aurea K., Rangel-Hernández, J., Morales-Sánchez, E., Loarca-Piña, G., & Gaytán-Martínez, M. (2019a). Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food Chemistry*, *276*, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.166>

Rao, S., Santhakumar, A. B., Chinkwo, K. A., Wu, G., Johnson, S. K., & Blanchard, C. L. (2018a). Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. *Journal of Cereal Science*, *84*(July), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.013>

Rao, S., Santhakumar, A. B., Chinkwo, K. A., Wu, G., Johnson, S. K., & Blanchard, C. L. (2018b). Characterization of phenolic compounds and antioxidant activity in sorghum grains. *Journal of Cereal Science*, *84*, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.07.013>

Ratnavathi, C. V. (2019). Grain Structure, Quality, and Nutrition. *Breeding Sorghum for Diverse End Uses*, 193–207. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101879-8.00012-7>

Ratnavathi, C. V., & Komala, V. V. (2016). Sorghum Grain Quality. In *Sorghum Biochemistry: An Industrial Perspective*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803157-5.00001-0>

Rooney, L. W. (1978). Sorghum and pearl millet lipids. *Cereal Chemistry*, *55*, 584–590.

Sánchez-Nuñez, V. M. (2014). *Obtención de harinas instantáneas de sorgo blanco por extrusión para la elaboración de tortillas*.

Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Mariscal-Moreno, R. M.,
72

- Escalante-Aburto, A., Ponce-García, N., & Véles-Medina, J. J. (2018). Physical and chemical changes undergone by pericarp and endosperm during corn nixtamalization-A review. *Journal of Cereal Science*, *81*, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.04.003>
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., & Véles-Medina, J. J. (2018). Viscoelastic behaviour of masa from corn flours obtained by nixtamalization with different calcium sources. *Food Chemistry*, *248*(November 2017), 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.041>
- Santiago-Ramos, D., Figueroa-Cárdenas, J. de D., Véles-Medina, J. J., & Salazar, R. (2018). Physicochemical properties of nixtamalized black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *Food Chemistry*, *240*(February 2017), 456–462. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.156>
- Sarang, S., Sastry, S. K., & Knipe, L. (2008). Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating. *Journal of Food Engineering*, *87*(3), 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.12.012>
- Seckinger, H., & Wolf, M. (1973). Sorghum protein ultrastructure as it relates to composition. *Cereal Chemistry*, *50*(4), 455–465.
- Serna-Saldivar, S., & Rooney, L. . (1995). Structure and chemistry of sorghum and millets. In *Sorghum and Millets: Chemistry and Technology*. (pp. 69-124.).
- Sharma, K., Kumar, V., Kaur, J., Tanwar, B., Goyal, A., Sharma, R., Gat, Y., & Ashwani, K. (2019). Health effects , sources , utilization and safety of tannins : a critical review Kartik Sharma , Vikas Kumar , Jaspreet Kaur , Beenu Tanwar , Ankit Goyal ,. *Toxin Reviews*, *0*(0), 1–13. <https://doi.org/10.1080/15569543.2019.1662813>
- Shawrang, P., Sadeghi, A. A., Behgar, M., Zareshahi, H., & Shahhoseini, G. (2011). Study of chemical compositions, anti-nutritional contents and digestibility of electron beam irradiated sorghum grains. *Food Chemistry*, *125*(2), 376–379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.010>
- Shen, S., Huang, R., Li, C., Wu, W., Chen, H., Shi, J., Chen, S., & Ye, X. (2018).

Phenolic Compositions and Antioxidant Activities Different Applications.
<https://doi.org/10.3390/molecules23051203>

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.

Taleon, V., Dykes, L., Rooney, W.L., Rooney, L. W. (2012). Effect of genotype and environment on flavonoid concentration and profile of black sorghum grains. *Cereal Science*, 56, 470–475.

Taylor, J.R.N., Schüssler, L., & Liebenberg, N. V. D. W. (1985). *Protein Body formation in the starchy endosperm of developing Sorghum bicolor (L.) Moench seeds.* 51, 35–40.

Taylor, John R.N., & Kruger, J. (2019). Sorghum and Millets. In *Sorghum and Millets*. AACCI. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811527-5.00007-1>

Thachil, M. T., Chouksey, M. K., & Gudipati, V. (2014). *Original article Amylose-lipid complex formation during extrusion cooking: effect of added lipid type and amylose level on corn-based puffed snacks.* 309–316.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12333>

Tinoco, A., Rodrigues, R. M., Machado, R., Pereira, R. N., Cavaco-paulo, A., & Ribeiro, A. (2020). Ohmic heating as an innovative approach for the production of keratin fi lms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 150, 671–680.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.122>

Topete-Betancourt, A., Santiago-Ramos, D., & Figueroa-Cárdenas, J. de D. (2020). Relaxation tests and textural properties of nixtamalized corn masa and their relationships with tortilla texture. *Food Bioscience*, 33(November 2019), 100500.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100500>

Truong, H. H., Liu, S. Y., & Selle, P. H. (2016). Starch utilisation in chicken-meat production: The foremost influential factors. *Animal Production Science*, 56(5), 797–814. <https://doi.org/10.1071/AN15056>

Valderrama-Bravo, C., López-Ramírez, Y., Jiménez-Ambriz, S., Oaxaca-Luna, A.,
74

- Domínguez-Pacheco, A., Hernández-Aguilar, C., & Moreno-Martínez, E. (2015). Changes in chemical, viscoelastic, and textural properties of nixtamalized dough with nejayote. *LWT - Food Science and Technology*, 61(2), 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.038>
- Vázquez-Carrillo, M. G., Arellano-Vázquez, J. L., & Santiago-Ramos, D. (2015). *Rendimientos y calidad de grano y tortilla de maíces híbridos de valles altos de México crecidos en riego temporal*.
- Vega-rojas, L. J., Luzardo-ocampo, I., Mosqueda, J., Mar, D., Escobedo-reyes, A., Blanco-labra, A., Escobar-garc, K., & Garc, T. (2021). *Bioaccessibility and In Vitro Intestinal Permeability of a Recombinant Lectin from Tepary Bean (Phaseolus acutifolius) Using the Everted Intestine Assay*.
- Wu, Y., Yuan, L., Guo, X., Holding, D. R., & Messing, J. (2013). Mutation in the seed storage protein kafirin creates a high-value food trait in sorghum. *Nature Communications*, 4, 1–7. <https://doi.org/10.1038/ncomms3217>
- Zareifard, M., Ramaswamy, H., Marcotte, M., & Karimi, Y. (2014). The Electrical Conductivity of Foods. In *Ohmic Heating in Food Processing CRC Press*. (pp. 37–52).

9. ANEXOS

Anexo I



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Posgrado de Alimentos, Facultad de Química

“CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN”

Título del protocolo:

**“EVALUACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNAS DE TORTILLAS
OBTENIDAS A PARTIR DE HARINA DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench)
NIXTAMALIZADA POR CALENTAMIENTO ÓHMICO”**

Investigador principal: Dra. Marcela Gaytán Martínez

Sede donde se realizará el estudio: Departamento de Investigación y
Posgrado de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

INVITACIÓN

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como *consentimiento informado*. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Las tortillas nixtamalizadas de sorgo son un producto similar a las de maíz, por lo que se busca la inclusión de éstas en la dieta. El sorgo es un cereal que ha demostrado tener efectos positivos en la salud, el cual puede ser empleado para la obtención de una harina saludable para la elaboración de tortillas. Sin embargo, para poder incluir este alimento en la dieta de la población, es necesario dilucidar la digestibilidad y bioaccesibilidad de proteínas para lo cual se llevará a cabo una digestión gastrointestinal *in vitro* para observar su aprovechamiento en el organismo.

Este estudio permitirá conocer la digestibilidad y bioaccesibilidad de las tortillas nixtamalizadas de sorgo para incluirlas como una alternativa a las tortillas de maíz.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Evaluar la digestibilidad de proteínas de tortillas obtenidas a partir de harinas de sorgo, nixtamalizadas por calentamiento óhmico.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

El estudio contribuirá a que en un futuro se tenga la información científica necesaria para sustentar la utilización de las tortillas nixtamalizadas de sorgo como un alimento con beneficios a la salud, e incorporarlo en la alimentación de los mexicanos. Lo anterior permitirá utilizar de manera más eficiente los alimentos generados, dando la oportunidad de tener productos más saludables.

4. SELECCIÓN DE PARTICIPANTES

Serán invitados a participar en esta investigación personas sanas, sin exclusión de género.

5. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Las personas que presenten reacciones alérgicas al sorgo o que presenten alguna enfermedad que limite su participación no podrán ser parte de esta investigación.

6. PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Su participación en esta investigación es **totalmente voluntaria**, por lo que no será remunerada, ni tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio. Puede elegir participar o no, e incluso puede cambiar de parecer durante el transcurso del experimento aun cuando ha firmado con anterioridad este formato de consentimiento informado y no habrá ninguna complicación.

7. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

La presente investigación **no tiene ningún riesgo** a la salud de los participantes, ya que será un producto inocuo, y no se han reportado afectaciones por su consumo. Sin embargo, en el caso extraordinario de presentarse alguna afectación en la salud, se le proporcionará atención médica inmediata.

8. CONFIDENCIALIDAD

La identidad de los panelistas de esta investigación no se compartirá con personas ajenas a la misma y la información requerida solo será la mínima, la cual solo incluye: nombre, edad y sexo. La información recabada del estudio es estrictamente confidencial de acuerdo con los lineamientos estipulados por el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud (Artículos 13 y 16), Ley de Información Estadística y Geográfica (Artículos 38 y 42) y el comité de bioética de la UAQ.

9. PROCEDIMIENTOS

Si usted desea participar en este estudio, deberá presentarse en el laboratorio de análisis sensorial, ubicado en el segundo piso del parque biotecnológico de la UAQ.

En caso de aceptar participar en el estudio usted seguirá el siguiente procedimiento:

1. Usted tendrá que asistir el día y hora señalados, y haber consumido su último alimento al menos 90 minutos antes del inicio del ensayo. Además, deberá cepillarse los dientes, sin pasta dental o cualquier otro producto para el aseo bucal, solamente con agua natural. Antes de iniciar el ensayo, se le pedirá enjuagarse la boca con agua.

2. Se le solicitará que mastique 1 g de muestra de tortilla nixtamalizada de sorgo durante 15 veces por 15 segundos.
3. Las muestras masticadas se recolectarán en un vaso de precipitado al que se añadirán 5 mL de agua destilada.
4. Se simularán las condiciones de la boca colocando la muestra en agitación por 10 minutos a 37 °C. Se realizará mismo procedimiento para el blanco, pero únicamente será utilizada el agua destilada.

10. INFORMACIÓN DE CONTACTO

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, usted puede consultar al médico de su confianza.

En caso de que tenga cualquier pregunta acerca del proyecto o en caso de una emergencia, llame al número 4441754049 con la I.A. Lucía Berenice Vega Vázquez o la Dra. Marcela Gaytán Martínez al 4421598794.

Además, usted podrá ponerse en contacto con el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Querétaro, de la Facultad de Química en el teléfono: Tel. (442) 192-1200 ext. 5323 y 5351.

11. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Su firma, indicará que usted ha decidido participar voluntariamente en este estudio, por lo que **no recibirá ningún tipo de remuneración por su participación**. También indicará que ha leído la información mencionada arriba.

Usted recibirá una copia de este consentimiento firmada para que la tenga consigo. También se le dará una copia de los derechos que tiene al participar en este estudio.

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

12. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo:

Investigador principal:

Sede donde se realizará el estudio:

Nombre del participante: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Opcional)

Nombre del participante

Firma del participante

Fecha

C.U., Querétaro, 27 de mayo de 2020
No. de oficio. CBQ20/055

Dra. Marcela Gaytán Martínez
Facultad de Química Presente

At'n. Lucía Berenice Vega Vázquez

Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado **“Evaluación de la digestibilidad de proteínas de tortillas obtenidas a partir de harina de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) nixtamalizada por calentamiento óhmico”**, del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de **aprobado**.

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.



Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Presidente



M.I.M. David Gustavo García Gutiérrez
Representante investigador

Anexo III

CRONOGRAMA

MES	1				2				3				4				5				6			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Preparación de materia prima	■																							
Obtención de HNT	■	■																						
Obtención y caracterización de TNT			■	■																				
Selección de TNT				■																				
Obtención de HNCO					■	■	■																	
Obtención y caracterización de TNCO								■	■	■														
Selección de TNCO									■	■														
Análisis proximal			■	■	■	■	■	■	■	■														
Determinación de compuestos fenólicos									■	■	■	■	■	■										
Capacidad antioxidante											■	■	■	■										
Digestión <i>in vitro</i>													■	■	■									
Medición de proteínas (BCA)																	■	■	■					
Electroforesis																					■	■		
Interpretación de resultados	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■

HNT: harina nixtamalizada tradicionalmente; HNCO: harinas nixtamalizadas por calentamiento óhmico; TNT: tortillas nixtamalizadas tradicionalmente; TNCO: tortillas nixtamalizadas por calentamiento óhmico.