

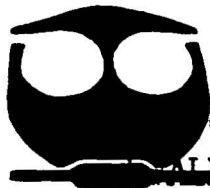


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACION DEL CONTENIDO DE TANINOS EN GRANOS
DE SORGO SIN REVENTAR Y REVENTADOS APLICANDO
DOS METODOS ANALITICOS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
SONIA RODRIGUEZ VELAZQUEZ



**TESIS CON
CALIFICACION**



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Rodríguez Velázquez
Sonia

FECHA: 29-Sep-02

FIRMA: [Signature]

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

MOC...
MOC... ALJA

Jurado asignado:

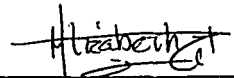
Presidente: Prof. Rodolfo Torres Barrera
Vocal: Prof. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez
Secretario: Prof. Alfredo Salazar Zazueta
1^{er} suplente: Prof. Alfonso Durán Moreno
2^o suplente: Prof. Karla Mercedes Díaz Gutiérrez

Sitio donde se desarrollo el tema:

Laboratorio 201, edificio "B", Facultad de Química. Ciudad Universitaria.
Laboratorio 301, edificio "E", Facultad de Química. Ciudad universitaria.
Laboratorio 4-A, edificio "A", Facultad de Química. Ciudad Universitaria.

Asesor del tema:

M. en C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez



Supervisor técnico:

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa



Sustentante:

Sonia Rodríguez Velázquez



AGRADECIMIENTOS

A la **Facultad de Química** y a todos los profesores que forman parte de ella.

Al proyecto **PAPIME**, claves 96/213, RE201998 y 172019 por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto.

Al programa de **Tecnologías Más Limpias** con clave 2000-12/16-603 por la beca otorgada para la realización del Servicio Social del que formó parte este proyecto.

A MIS ASESORAS:

M. en C. Hilda Elizabeth Calderón Villagómez por el apoyo académico que me brindo y que hizo posible la realización de esta investigación.

Dra. María Del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por la confianza y apoyo profesional que me brindo los cuales fueron fundamentales para la realización de esta tesis.

A MIS PADRES:

FAUSTINO Y GUADALUPE

Por todo el apoyo incondicional que me ofrecieron a lo largo de mis estudios, por la confianza que me han dado, por el amor y cariño que nunca me han faltado y porque siempre han sido un gran ejemplo a seguir.

Gracias por compartir conmigo este momento que se debe, en gran parte, a ustedes y porque sé que estaremos juntos en todo momento.

A MIS HERMANOS

**Leopoldo, Luz María, Jorge, Martín, Nely, Ricardo, Orlando,
Viridiana y Nancy**

Por estar conmigo en todo momento, por creer en mi y por la disposición que siempre han tenido para apoyarme, lo cual ha sido básico para lograr mis objetivos.

A JUAN MANUEL

Por el apoyo, la confianza y el cariño que has depositado en mi y que han sido fundamentales para lograr pasos tan importantes como este.

Espero seguir compartiendo y disfrutando juntos todos los momentos especiales y continuar en la búsqueda de un mejor porvenir.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Un agradecimiento muy especial por haberme dado la oportunidad de ser parte de ti.

ÍNDICE GENERAL

Página

ÍNDICE DE CUADROS, GRÁFICAS Y FIGURAS

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 SORGO	1
I.1.1 SITUACIÓN DEL SORGO EN MÉXICO	2
I.1.2 IMPORTACIÓN DE CEREALES BÁSICOS	4
I.1.3 USOS Y CONSUMOS DEL SORGO EN NUESTRO PAÍS	5
I.2 PROPUESTAS DE SOLUCIÓN	7
I.3 OBJETIVOS	8
II. ANTECEDENTES	9
II.1. SORGO	9
II.1.1 GENERALIDADES	9
II.1.2 ORIGEN	10
II.1.3 VARIEDADES	11
II.1.4 ESTRUCTURA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	11
II.1.4.1 Pericarpio	12
II.1.4.2 Testa	13
II.1.4.3 Endospermo	13
II.1.4.4 Germen	15
II.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO	15
II.1.5.1 Carbohidratos	17
II.1.5.2 Proteínas	18
II.1.5.3 Grasa	19
II.1.5.4 Minerales	20
II.1.5.5 Vitaminas	20
II.1.5.6 Fibra	21
II.1.6 POLIFENÓLES Y TANINOS; EFECTO EN LA CALIDAD DEL SORGO Y VALOR NUTRIMENTAL	22
II.2. TANINOS	24
II.2.1 GENERALIDADES	24
II.2.2 PROPIEDADES	27
II.2.3 CLASIFICACIÓN	28
II.2.3.1 Taninos hidrolizables	29
II.2.3.2 Taninos condensados	32
II.2.4 INTERACCIÓN Y ASPECTO NUTRITIVO RELACIONADO CON LAS PROTEÍNAS DE LOS ALIMENTOS	36
II.2.5 DOSIS DIARIA ADMITIDA (DDA)	37
II.2.6 ABUNDANCIA EN LA NATURALEZA Y ALIMENTOS	38
II.2.6.1 Taninos en frutas	38

II.2.6.2 Taninos en vino	38
II.2.6.3 Taninos en el té	39
II.2.6.4 Taninos en forrajes	39
II.2.6.5 Importancia industrial	40
II.3. MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TANINOS	40
II.3.1 GENERALIDADES	40
II.3.2 ASPECTOS IMPORTANTES	41
II.3.3 MÉTODOS	42
II.3.3.1 Métodos para taninos condensados	42
II.3.3.2 Métodos de óxido-reducción	42
II.3.3.3 Métodos por precipitación de proteínas	49
II.4. HORNOS DE MICROONDAS	49
II.4.1 HISTORIA	49
II.4.2 PROCESO DE CALENTAMIENTO	50
II.4.3 LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA	51
II.4.4 GENERACIÓN DE MICROONDAS. HORNOS DOMÉSTICOS	52
II.4.5 ¿CÓMO CALIENTAN LA COMIDA LOS HORNOS DE MICROONDAS?	54
II.4.5.1 Funcionamiento	55
II.4.6 VENTAJAS DE LOS HORNOS DE MICROONDAS	56
II.4.7 APLICACIÓN DE LAS MICROONDAS EN LA INDUSTRIA	57
III. METODOLOGÍA Y EQUIPO UTILIZADO	59
III.1. METODOLOGÍA	59
III.2. DISOLVENTES PARA LA EXTRACCIÓN DE TANINOS	63
III.2.1 MÉTODO ISO 9648: 1988: DIMETILFORMAMIDA	63
III.2.2 MÉTODO VAINILLINA-HCl: METANOL AL 80% EN HCl AL 1%	64
III.3 ELABORACIÓN DE LA CURVA PATRÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE TANINOS	65
III.3.1 MÉTODO ISO 9648: 1988	65
III.3.2 MÉTODO VAINILLINA-HCl	66
III.4. EQUIPO UTILIZADO	67
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
IV.1. DETERMINACIÓN DE TANINOS	68
IV.1.1 MÉTODO ISO 9648: 1988	68
IV.1.2 MÉTODO VAINILLINA-HCl	71
IV.2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL	75
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
V.1. CONCLUSIONES	78
V.2. RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXO	85

INDÍCE DE CUADROS, GRÁFICAS Y FIGURAS

	Página
Gráfica I.1 Principales cultivos en el año agrícola 1998	3
Cuadro I.1 Avance de siembras y cosechas. Año agrícola 2001	5
Figura II.1 Sección longitudinal del grano de sorgo	12
Cuadro II.1 Contenido de nutrientes del grano de sorgo entero y sus fracciones	16
Cuadro II.2 Composición de nutrientes del sorgo y de otros cereales	16
Cuadro II.3 Composición de aminoácidos esenciales de las proteínas del sorgo y del maíz	18
Cuadro II.4 Métodos utilizados para la determinación de taninos en granos de sorgo	25
Cuadro II.5 Contenido de taninos en diferentes muestras de sorgo	26
Figura II.2 Estructura de un galotanino y sus constituyentes	30
Figura II.3 Algunos galotaninos encontrados en la naturaleza	31
Figura II.4 Lactonización del ácido hexadihidroxidifenol	31
Figura II.5 Estructura de un elagitanino	32
Figura II.6 Algunas catequinas naturales	34
Figura II.7 Producción de cianidina a partir de una leucocianidina	35
Figura II.8 Estructura de un tanino condensado del grano de sorgo	35
Figura II.9 Posible mecanismo de la formación del complejo tanino-proteína	37
Cuadro II.6 Contenido de taninos en algunas frutas	38
Figura II.10 Las tres estructuras limitantes del anillo bencénico	43
Figura II.11 Condensación de un aldehído con núcleos aromáticos del anillo fenólico	44
Figura II.12 Reacciones de condensación de la vainillina con flavanes	45

Figura III.1	Diagrama general de la investigación	59
Cuadro III.1	Equipo utilizado en la investigación	67
Cuadro IV.1	Curva patrón de ácido tánico	68
Figura IV.1	Regresión lineal entre absorbancia y concentración de ácido tánico	68
Cuadro IV.2	Resultados obtenidos del análisis de taninos en sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado por el método ISO; 9648	69
Cuadro IV.3	Curva patrón de (+)-Catequina	71
Figura IV.2	Regresión lineal entre absorbancia y concentración de (+)-Catequina	71
Cuadro IV.4	Resultados obtenidos del análisis de taninos en sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado por el método Vainillina-HCl	72
Cuadro IV.5	Resultados obtenidos del análisis químico proximal en sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado	76
Cuadro A.I	Reacción en los tubos de ensayo para la elaboración de la curva patrón de ácido tánico	91
Cuadro C.I	Análisis de varianza para la determinación de taninos por el método ISO: 9648 antes y después del reventado	93
Cuadro C.II	Análisis de varianza para la determinación de taninos por el método Vainillina-HCl antes y después del reventado	94
Cuadro D.I	Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo blanco (SB) antes y después del reventado	94
Cuadro D.II	Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo mezclado (SM) antes y después del reventado	95
Cuadro D.III	Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo rojo (SR) antes y después del reventado	95

RESUMEN

El sorgo es el segundo cultivo más sembrado en nuestro país siendo el principal componente de las raciones para animales. El sorgo posee características nutritivas y organolépticas muy similares a las del maíz, pero un inconveniente para aprovechar dichas características es la presencia de compuestos fenólicos llamados taninos. Existen dos grupos de taninos; los hidrolizables, que se encuentran en todas las clases de sorgo y los taninos condensables, que existen solo en los sorgos pigmentados (sorgo rojo). Los taninos condensables son los que forman un complejo con las proteínas impidiendo así el aprovechamiento de éstas y formando compuestos de colores y sabores indeseables en los productos elaborados con este grano, pero sobre todo, afectando negativamente el valor nutritivo del sorgo. En esta investigación se evaluó el contenido de taninos en granos de sorgo aplicando un método térmico para su disminución. Este método, que revienta los granos en forma de "palomitas", se realizó en un horno de microondas casero. Las condiciones de operación fueron: Una humedad promedio del sorgo del 13% y un tiempo de calentamiento de 2 min (se reventó con la tecla marcada en el horno para "Pop-corn") y el recipiente fue una bolsa de papel de estraza. La evaluación del contenido de taninos se hizo por medio de dos métodos analíticos: El método ISO 9648 (que determina fenoles totales) y el método de Vainillina-HCl (que determina taninos condensados). Las muestras de sorgo fueron de dos procedencias: El primero de la Central de Abastos de la Ciudad de México, los cuales fueron una mezcla de granos pues había granos blancos, ligeramente rojizos y rojos y, el segundo, de una productora de semillas, PRONASE, ubicada en Cuautla, Mor., los cuales fueron de dos tipos: Sorgo blanco y sorgo rojo. La finalidad de trabajar con granos de distinta procedencia fue la de comparar el sorgo comercial, con el obtenido directamente de una productora de semillas. Los resultados generados por el método ISO 9648 antes del reventado, fueron de 6.108 a 13.436 mg ácido tánico/100 g muestra y después del reventado, de 8.398 a 21.276 mg ácido tánico/100 g muestra. Estadísticamente, se encontraron diferencias significativas a niveles del 1 y 5%

antes y después del reventado. Por el método de Vainillina-HCl los resultados fueron desde cero hasta 6.432 mg (+)-Catequina/100 g muestra antes del reventado y, después del reventado, de cero a 7.202 mg (+)-Catequina/100 g muestra. Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas a niveles del 1 y 5% antes y después del reventado. Para analizar el efecto que tiene el reventado de los granos sobre sus componentes nutrimentales, se realizó un análisis químico proximal a cada tipo de grano, antes y después del reventado y, posteriormente, se evaluaron los datos estadísticamente, encontrándose diferencias significativas al 1 y 5%, principalmente en el contenido de cenizas y de carbohidratos.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 SORGO

El sorgo es uno de los principales granos básicos del país, su crecimiento se ubica en la década de los sesenta, cuando se produce un cambio en el patrón de cultivos no sólo de México, sino de América Latina; llegando a formar parte de la cadena de producción que permite suministrar al mercado de alimentos, proteína de origen animal (Claridades Agropecuarias, 1999).

México ha sido en los últimos 30 años uno de los países con tasas de crecimiento demográfico más elevadas. Paralelamente, se tiene la problemática en la fase de producción del maíz, que se presenta agudamente en todo el territorio mexicano. La insuficiencia de producción nacional con respecto a consumo de este grano se debe en parte, a la crisis económica, a la sustitución de campos dedicados al cultivo maicero por cultivos más redituables como el del sorgo, por lo cual ha sido necesario importar maíz para consumo humano. El sorgo representa el segundo cultivo a nivel nacional, el cual se usa exclusivamente para alimento de ganado, ya que sus características químicas dificultan su uso directo en la dieta humana. Desde la década de los años setenta, diversos investigadores vienen estudiando la utilización del grano para diversas preparaciones culinarias, tendientes a utilizar este cereal como alimento para la población, complementando al maíz como fuente de energía (Betanzos, 1970).

Para una comprensión rápida, comparándolo con otro cereal, se sabe que, en general, el sorgo tiene más proteínas y menos grasa que el maíz, lo cual se traduciría en un contenido de energía metabolizable ligeramente inferior. La diferencia más significativa entre el sorgo y el maíz, es la carencia en los sorgos de los pigmentos carotenoides.

Todos los granos de sorgo (independientemente de su color), como constituyentes de sus granos, poseen sustancias tánicas hidrolizables (ácido gálico y ácido elágico) y éstas no representan un factor negativo al considerar su valor nutritivo. Sólo los sorgos con su cubierta seminal (la testa) pigmentada (sorgo rojo), poseen taninos condensados (catequinas, flavonoides y leucoantocianidinas).

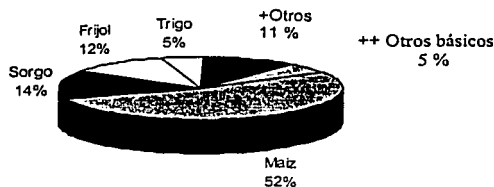
Los taninos condensados son compuestos que afectan negativamente el valor nutritivo del sorgo, pues fijan las proteínas del grano reduciendo su disponibilidad y, así mismo, inhiben la acción de la amilasa (enzima importante durante el proceso de digestión de los granos), causando una disminución del 10 al 30% y más en la eficiencia alimentaria, en comparación con los sorgos que no poseen estos compuestos. En algunos granos, existe suficiente cantidad de taninos condensados como para precipitar, o fijar, más proteína de la existente en los mismos (Sánchez, 2000).

1.1.1 SITUACIÓN DEL SORGO EN MÉXICO

El sorgo es el segundo cultivo más sembrado en nuestro país, después del maíz y seguido por el frijol y el trigo (Gráfica 1.1) y es el principal componente de las raciones para animales. Existen ventajas comparativas como: Zonas aptas para el cultivo, materiales genéticos aceptables, experiencia en producción de semilla, uso de maquinaria de otros cultivos y una alta demanda insatisfecha de grano. Sin embargo, todavía persisten rendimientos relativamente bajos, que se deben superar para lograr que un productor sea exitoso en su actividad y, a su vez, se pueda disminuir la dependencia del sorgo importado.

Desde su inicio, el Programa de Apoyos Directos al Campo (Procampo) ha otorgado subsidios para los predios sembrados con sorgo. En los últimos años agrícolas 1995 a 1997, el grano significó, en promedio, el 13% de la extensión total

que cubrió el Programa en todo el país. En el año agrícola 1998, su peso relativo en la operación fue del 15%.



Gráfica I.1 Principales cultivos en el año agrícola 1998 (Claridades Agropecuarias, 1999)

+ Comprende a los cultivos de cebada, algodón, cártamo, soya y arroz.

++ Comprende a otros 256 cultivos que apoya el Programa de entre los que destacan avena, alfalfa, granos forrajeros y chile

En 1998, a través de Procampo, se canalizaron recursos para el sorgo por un monto de 1,195 millones de pesos, con lo que se dio cobertura a una superficie de 2 millones de ha (54%) que fueron apoyadas en el ciclo primavera-verano 1998, mientras que en el otoño-invierno 1997/1998 se acreditaron las otras 919 mil, con una cuota autorizada por hectárea en cada ciclo de \$ 626 y de \$ 556 millones de pesos, respectivamente. Con relación a la distribución geográfica del apoyo, en una visión de conjunto, Tamaulipas, Sinaloa, Guanajuato, Michoacán y Jalisco aglutinaron el 84%, en promedio, de lo que se otorgó en los cuatro años agrícolas últimos.

Dé entre los principales estados productores de esta gramínea, en el ciclo otoño-invierno está Tamaulipas que, para este último ciclo, participó con el 89.3% del total nacional. En cambio las entidades federativas con menor importancia productiva son Nayarit con el 1.6%, Nuevo León con el 1.1% y el 3.5% restante lo aportan Campeche, Colima, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, San

Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco y Veracruz, estados cuya mínima producción se destina principalmente al autoconsumo (Claridades Agropecuarias, 1999).

En nuestro país se cultivan dos variedades de sorgo, clasificación orientada principalmente por el uso que se le da:

a) Sorgo escobero; es aquella variedad que tiene una mayor precocidad y resistencia, y cuya espiga es utilizada para la elaboración de las escobas. La entidad que destaca en la producción de esta variedad es Coahuila con cerca del 60% del total nacional durante el año agrícola de 1995, seguido por Michoacán y Durango.

b) Sorgo forrajero; son aquellas variedades sacarinas, las cuales están consideradas como uno de los forrajes más nutritivos, sobre todo cuando están verdes (Claridades Agropecuarias, 1997).

Los avances de las siembras y cosechas al mes de noviembre del año 2001, reportados por SAGARPA, se señalan en el Cuadro I.1.

I.1.2 IMPORTACIÓN DE CEREALES BÁSICOS

Las importaciones de cereales básicos han ido en aumento, debido a la falta de financiamiento para su cultivo, siendo la importación la única alternativa para abastecer a la población en continuo crecimiento. Existen algunos factores, como son el clima adverso en algunas zonas productoras, que han provocado disminuciones en sus áreas cultivadas. Tal es el caso del trigo y el maíz que se han visto afectadas por inundaciones. Dicho exceso de agua ha provocado, por un lado, que la calidad de los productos se vea deteriorada y, por otro lado, que los rendimientos en algunos productos se vean mermados (Claridades Agropecuarias, 1999).

Cuadro I.1 Avance de siembra y cosechas. Año agrícola 2001 (www.sagarpa.gob)

CULTIVO	SUPERFICIE SEMBRADA (ha)	SUPERFICIE COSECHADA (ha)	PRODUCCION OBTENIDA (kg/ha)	RENDIMIENTO OBTENIDO (ton/ha)
Maíz	8,477,436	3,720,369	10,584,841	2.845
Trigo	691,796	631,921	3,184,551	5.039
Arroz	61,477	29,576	153,187	5.179
Algodón	91,873	74,907	137,369	1.834
Ajonjolí	74,966	32,867	20,342	0.619
Soya	75,234	31,278	58,571	1.873
Cártamo	136,094	112,946	111,458	0.987
Sorgo	2,207,211	1,398,880	6,612,220	3.669
Cebada	331,367	272,547	690,449	2.533
Frijol	1,961,863	1,376,292	910,548	0.662

I.1.3 USOS Y CONSUMO DEL SORGO EN NUESTRO PAÍS

El consumo nacional de granos forrajeros en nuestro país está integrado por diversos granos como sorgo, cebada, trigo y maíz; sin embargo, el sorgo se ha constituido como el grano forrajero por excelencia, hecho que contrasta con otros países como EE.UU.A., en donde las formulaciones de alimentos balanceados están basadas prácticamente en maíz. De esta forma, la demanda del sorgo se compone de la siguiente manera: 92% está destinada al consumo animal, es decir sector pecuario, 7% se constituye por mermas y 1% es utilizado como semillas para siembra. Ahora bien, analizando los datos de granos forrajeros que son destinados al sector pecuario, encontramos algunos rasgos que no son nuevos, pero que será necesario tenerlos en cuenta para comprender el problema que enfrenta la producción de sorgo, así como el de la industria que está relacionada directamente a éste:

a) El total de granos forrajeros es consumido prácticamente por dos grupos. Los fabricantes comerciales de alimento balanceado consumen de acuerdo a datos reportados por el Centro de Estadística Agropecuaria de SAGARPA, 20% del total de granos. Por otro lado, el 80% de los granos es consumido por productores pecuarios integrados, entendiendo a éstos como aquellos productores que elaboran su propio alimento balanceado a través de revolventoras y sistemas de transporte de materias primas relativamente sencillos y que, en muchas ocasiones, resultan ser más eficientes respecto al costo de producción por kilogramo de alimento balanceado.

b) Prácticamente el total de granos consumidos por el sector de productores integrados, es destinado a la avicultura productora de carne y huevo, aunque también, pero en menor proporción, a otro tipo de ganado.

c) El consumo de insumos forrajeros por parte de los fabricantes comerciales se divide de la siguiente forma: El 62% se constituye de granos forrajeros, el 15% de pasta de soya y el 23% de otros ingredientes (harina de pescado, etc.), situación que evidencia el grado de dependencia de esta industria a los granos forrajeros y al sorgo específicamente. Pero bastaría con señalar que, de los costos de producción para los alimentos balanceados, las materias primas representan el 85.9%, mientras que el restante se divide en envases 3.0% y mano de obra 1.0%.

d) Finalmente, faltaría señalar que la producción de alimentos balanceados por parte de la industria, es muy similar al comportamiento mostrado por los productores llamados integrales, nada más que en una proporción distinta; de tal forma que el sector de aves constituye 42.19%, cerdos 27.24%, ganado bovino 26.72% y otro tipo de ganado (en el cual se incluiría a caballos, conejos, etc.) 3.85% (Claridades Agropecuarias, 1999).

I.2 PROPUESTAS DE SOLUCIÓN

En medio de la crisis económica, se debería aprovechar la elevada potencialidad que tiene el cultivo de sorgo en México, el cual posee características nutricias y organolépticas muy similares al maíz, ya que crece en zonas áridas y semiáridas y no requiere de fertilizantes ni sistemas de riego sofisticados. Además se deben buscar alternativas de proceso y elaboración de nuevos productos basándose en sorgo, para obtener alimentos destinados para consumo humano, pues como se mencionó anteriormente la mayor producción de sorgo se destina a la alimentación animal, lo que debería de igual manera, destinarse a la alimentación humana, sobre todo por la gran crisis económica por la que atraviesa nuestro país y a la gran dependencia del grano de maíz importado que se destina al consumo humano debido a la grave problemática por la que pasa la producción de maíz en nuestro país, importando maíz de calidad pecuaria y no para consumo humano directo.

Estas razones son las que se deben considerar para investigar diferentes alternativas que puedan satisfacer el consumo humano de grano de sorgo.

Por dichas razones, un objetivo global de este trabajo es el de contribuir a dichas investigaciones proponiendo el reventado de granos de sorgo en horno de microondas como una posible alternativa de mejorar su calidad nutritiva para generalizar su consumo.

I.3 OBJETIVOS

- Reventar los granos de sorgo a través de un horno de microondas para evaluar su efecto en el contenido de taninos presentes en el grano.
- Investigar, seleccionar y aplicar dos métodos analíticos para la cuantificación de taninos en muestras de sorgo.
- Evaluar los métodos para la determinación de taninos en granos de sorgo antes y después del reventado.
- Evaluar el contenido de taninos en los granos de sorgo antes y después del reventado.
- Comparar la composición química de las muestras de sorgo antes y después del reventado para observar si existe algún cambio en su composición.

II. ANTECEDENTES

II.1 SORGO

II.1.1 GENERALIDADES

El sorgo (Sorghum bicolor L. Moench) es el principal cereal de importancia en muchas partes del mundo por su resistencia a la sequía y a altas temperaturas (Manual técnico y de producto: Sorgo, 2001).

El sorgo se conoce bajo varios nombres: Mijo grande y maíz de Guinea en África occidental, kafir en África austral, duró en el Sudán, mtama en África oriental, iowar en la India y Kaoliang en China. En los Estados Unidos se suele denominar milo o milo-maíz.

El sorgo pertenece a la tribu Andropogonae de la familia herbácea Poaceae. La caña de azúcar (Saccharum officinarum) forma parte de esta tribu y es pariente próximo del sorgo. El género Sorghum se caracteriza por espiguillas que nacen a pares. El sorgo es una planta anual, aunque es hierba perene y en los trópicos puede cosecharse varias veces al año.

El grano de sorgo < maíz de Guinea > parece haber llegado a América desde el África occidental con los tratantes de esclavos a mediados del siglo XIX. Aunque este cereal llegó a América Latina a través del comercio de los esclavos y por obra de navegantes que hacían la ruta comercial Europa-Africa-América Latina en el siglo XVI, su cultivo no llegó a adquirir importancia hasta el siglo actual. Lo propio ocurre con Australia (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

El sorgo se ha propuesto en muchos países para la preparación de harinas compuestas como fuente calórica proteica de bajo costo para la alimentación humana (Arteaga y Ortiz-De-B., 1989).

La mayor producción de sorgo en el mundo se da en Asia y África (47% de la producción total) y en los Estados Unidos, que es cerca del 32%. La producción de EE.UU.A. está concentrada en Kansas, Texas, Nebraska y Missouri.

El sorgo es el mayor alimento en muchos países de África y la India, en donde, las condiciones para la agricultura son desfavorables para otros cereales. En América Latina el sorgo es muy utilizado para la fabricación de cerveza. El sorgo es muy limitado como alimento humano, sin embargo en algunas áreas de México y América central se consume en tortillas (Lorenz y Kulp, 1990).

El sorgo tiene propiedades nutrimentales de gran valor; sin embargo, muchos de los cultivos de sorgo híbrido poseen pigmentos fenólicos conocidos como taninos. De entre los taninos destaca por su persistencia en el sorgo y por sus efectos tóxicos, el grupo denominado leucoantocianidinas. Este grupo inhibe a múltiples enzimas por unión con la fracción proteica e induce astringencia por precipitación de las proteínas de la saliva (Fernández-Mejía *et al.*, 1985).

II.1.2 ORIGEN

El sorgo es originario de África y Asia en donde ha sido cultivado por más de 2000 años.

El sorgo se introdujo a los EE.UU.A. a mediados del siglo pasado y fue el primer grano cultivado en la costa del Atlántico. Por el año de 1900, el sorgo se produjo en extensas áreas del sudoeste de California. El gran descubrimiento de sorgos híbridos en los años 50, incrementó la producción en los Estados Unidos, Argentina y México, en donde el sorgo es el segundo cereal más importante. La producción de híbridos de sorgo ha sido muy competida con el maíz, sobre todo en lugares en donde hay escasez de agua (Sánchez, 2000).

II.1.3 VARIEDADES

Los sorgos por su aplicación pueden reunirse en cuatro grandes grupos:

- **Sorgos para granos:** dentro de los cuales se encuentran los sorgos enanos, ya que contienen granos más grandes, con glumas alargadas y de corta estatura, usualmente de 0.6 a 1.5 m de altura. Las variedades principales son: Milo enano, kaffir enano, kaffir colorado, blackhull, feteretia y koaling.
- **Sorgo dulce para jarabe.** Tiene panojas compactas o sueltas, así como tallos jugosos y dulces, cuyo jugo contiene un 12% de azúcar. En algunos casos son utilizados como adjuntos en la industria cervecera.
- **Sorgo escobero.** La característica principal de estos sorgos escoberos, es la de tener panojas sueltas y con pediceleos largos, con los cuales fabrican escobas.
- **Sorgo forrajero.** Estos tallos son delgados y tienen hojas estrechas y numerosos retoños que los hacen importantes para paja o forraje para animales (Alarcón, 1985).

II.1.4 ESTRUCTURA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

El grano de sorgo varía en el color que va desde el blanco hasta tonalidades oscuras de rojo y pardo, pasando por el amarillo pálido, hasta pardo púrpura profundo. Los colores más comunes son el blanco, el bronce y el pardo. Los granos por lo general son esféricos, pero varían en dimensión y forma. Los granos de sorgo son del tipo cariopsis, en el que el pericarpio está totalmente unido al endospermo. La cariopsis puede ser redondeada y con puntas romas, de 4-8 mm de diámetro. El peso de 1000 granos de sorgo tiene un amplio margen de variación, de 3 a 80 g, pero la mayoría de las variedades va de 25 a 30 g. El grano

esta cubierto parcialmente de glumas. Para el consumo humano se suelen preferir los granos largos con endospermo córneo. El endospermo amarillo con caroteno y xantofila aumenta el valor nutritivo del cereal (Salunkhe *et al.*, 1989).

El grano de sorgo está dividido en tres partes: Cubierta o revestimiento del grano, endospermo y embrión o germen. El peso medio de la cubierta del grano es del 6%, el del endospermo del 84% y el del germen del 10%. La cubierta del grano está dividida a su vez en dos partes, pericarpio y testa (Figura II.1) (Lorenz y Kulp, 1990).

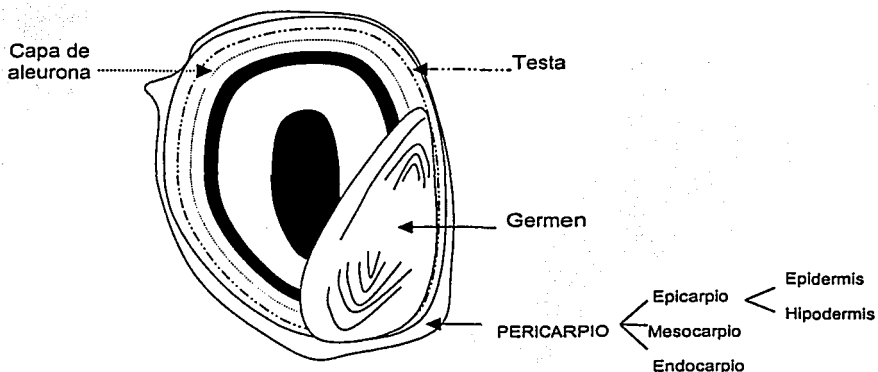


FIGURA II.1 Sección longitudinal del grano de sorgo (Salunkhe *et al.*, 1989)

II.1.4.1 Pericarpio

El pericarpio es el elemento estructural más externo de la cariopsis y se compone de tres subcapas, a saber, el epicarpio, el mesocarpio y el endocarpio. El epicarpio se subdivide en epidermis e hipodermis. En la cariopsis del sorgo, la epidermis se compone de células gruesas alargadas y rectangulares que tienen un

revestimiento cutínico en la superficie exterior. En la epidermis está presente a menudo un pigmento. La hipodermis se compone de células ligeramente más pequeñas que la epidermis y tiene de una a tres capas de células de espesor. El mesocarpio y la parte media son la capa más gruesa del pericarpio del sorgo pero su espesor varía mucho entre los distintos genotipos. La resistencia del sorgo al moho está asociado con un mesocarpio delgado: Los granos con mesocarpio grueso con un endospermo duro se prefieren para el descascarado en el machacado manual. El endocarpio, que es la subcapa más interna del pericarpio se compone de células transversales y de una capa de células tubulares que transportan la humedad del grano. En la molturación del sorgo en seco, el rompimiento se verifica en las capas de las células transversales y tubulares (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.4.2 Testa

Debajo del endocarpio está la capa de la testa o revestimiento de la semilla. En algunos genotipos de sorgo la testa está muy pigmentada. El color y el pigmento son una característica genética. El espesor de la capa de testa no es uniforme. Es espesa cerca de la zona de la corona del grano y delgada cerca de la parte del embrión. En algunos genotipos, hay una testa parcial mientras que en otros no se ve a simple vista o no la hay (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.4.3 Endospermo

El mayor componente del grano es el endospermo, que es un importante tejido de almacenaje. Se compone de una aleurona y de zonas periféricas de textura córnea y harinosa. En todos los sorgos, la aleurona es la única capa que está inmediatamente debajo del revestimiento de la semilla o testa. Las células de la

aleurona son ricas en minerales, vitamina B, aceite y también contienen algunas enzimas hidrolizantes.

El endospermo periférico se caracteriza por sus células rectangulares largas, que son muy compactas y que contienen gránulos amiláceos y sustancias proteínicas dentro de la matriz proteínica. El almidón contenido en estas células no está, por lo tanto, fácilmente disponible para la digestión enzimática, a menos que la proteína que lleva asociada también se reduzca.

La matriz proteínica es, en general, una glutelina alcalina soluble y las sustancias proteínicas son prolaminas solubles en alcohol, que constituyen la mayor proporción de la proteína total del grano. En el endospermo se hallan presentes sustancias proteínicas que son de forma esférica, y cuyas dimensiones varían según las especies e incluso dentro del endospermo de un mismo grano. En el sorgo, el número de sustancias proteínicas baja a medida que aumenta su contenido amiláceo desde la zona periférica al núcleo central donde se halla localizado el endospermo harinoso. Las proteínas del sorgo también contienen fósforo calcio, potasio y magnesio. En el endospermo córneo, los gránulos amiláceos y su tamaño es relativamente mayor que el de los gránulos amiláceos de la zona córnea. El almidón de la zona harinosa se presta más a la digestión enzimática.

La textura del grano muestra una amplia variación, que va de un endospermo muy blando todo harinoso a un endospermo vítreo o muy duro enteramente córneo. La textura del grano es uno de los parámetros más importantes que determina la calidad de elaboración y alimentaria del sorgo. El sorgo de endospermo duro cuando se descortezado da menos granos quebrados y más llenos que el sorgo de endospermo más blando.

En un proceso de molturación en seco, el rendimiento en harina es superior en los tipos córneos que en los harinosos blandos. En cambio, en la molturación en

húmedo, el rendimiento amiláceo es superior en los genotipos de endospermo blando (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.4.4 Germen

Las dos partes principales del germen son el eje embrionario y el escuelo. El escuelo es un tejido de almacenamiento, rico en lípidos, proteínas, enzimas y minerales. El aceite presente en el germen de sorgo es rico en ácidos grasos poliinsaturados y análogo al aceite de maíz (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO

En el Cuadro II.1 aparece la composición de las fracciones del sorgo. El salvado de sorgo es bajo en proteína y ceniza y rico en componentes fibrosos. La fracción del germen del sorgo es rica en ceniza, proteína y aceite pero muy pobre en almidón. Más del 68% de la materia mineral total y del 75% del aceite del grano entero se halla localizado en la parte del germen. Su aportación a la proteína del grano es solo del 15%. El germen del sorgo también es rico en vitaminas B. El endospermo, que es la parte más abundante del grano, es relativamente pobre en minerales, ceniza y contenido oleaginoso; en cambio, es un gran aportador de otros componentes pues contribuye al 80% de la proteína, al 94% del almidón y al 50-75% de las vitaminas B del grano entero.

El sorgo tiene en común con otros cereales que son predominantemente amiláceos. El contenido de proteína es casi igual y comparable al mijo, al trigo y al maíz (Cuadro II.2) (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

Cuadro II. 1 Contenido de nutrientes del grano entero y sus fracciones. Las cifras entre paréntesis representan el porcentaje del valor del grano entero (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995)

Fracción del grano	Peso en el grano %	Proteína *	Ceniza %	Aceite %	Almidón %	Niacina mg/100 g	Riboflavina mg/100 g	Piridoxina mg/100 g
Grano entero	100	12.3	1.67	3.6	73.8	4.5	0.13	0.47
Endospermo	82.3	12.3	0.37	0.6	82.5	4.4	0.09	0.40
		(80)	(20)	(13)	(94)	(76)	(50)	(76)
Germen	9.8	18.9	10.4	28.1	13.4	8.1	0.39	0.72
		(15)	(69)	(76)	(20)	(17)	(28)	(16)
Salvado	7.9	6.7	2.0	4.9	34.6	4.4	0.40	0.44
		(4.3)	(11)	(11)	(4)	(7)	(22)	(8)

* N X 6.25

Cuadro II. 2 Composición de nutrientes del sorgo y de otros cereales por 100 g de porción comestible y 12% de humedad (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995)

Cereal	Proteína (g)	Grasa (g)	Ceniza (g)	Fibra cruda (g)	Carbohidratos (g)	Energía (kcal)	Calcio (mg)	Hierro (mg)	Tiamina (mg)	Riboflavina (mg)	Niacina (mg)
Arroz	7.9	2.7	1.3	1.0	76	362	33	1.8	0.41	0.04	4.3
Trigo	11.6	2.0	1.6	2.0	71	348	30	3.5	0.41	0.10	5.1
Maiz	9.2	4.6	1.2	2.8	73	358	26	2.7	0.38	0.20	3.6
Mijo	11.8	4.8	2.2	2.0	67	363	42	11	0.38	0.21	2.8
Sorgo	10.4	3.1	1.6	2.3	70.7	329	25	5.4	0.38	0.15	4.3

II.1.5.1 Carbohidratos

El almidón es la principal forma de almacenaje de carbohidratos en el sorgo. El almidón del sorgo consiste en amilopectina, un polímero de cadena ramificada de la glucosa y de la amilosa, un polímero de cadena lineal.

La digestibilidad del almidón en el grano de cereal determina el contenido energético disponible del grano, lo que depende de su hidrólisis por las enzimas pancreáticas. En la elaboración del grano con métodos como la cocción con agua o a presión, la exfoliación en hojuelas, su inflamiento o la micronización del almidón, aumenta la digestibilidad del almidón del sorgo.

Esto se atribuye a una liberación de granos amiláceos sin la matriz proteica pero que los hace más susceptibles a la digestión enzimática.

Con unos valores que van del 56 al 73%, el contenido medio de almidones del sorgo es del 69.5%. Alrededor del 70-80% del almidón del sorgo es amilopectina mientras que el restante 20-30% es amilosa. Factores, tanto genéticos como ambientales, influyen en el contenido de amilosa del sorgo. El sorgo ceroso o glutinoso es muy pobre en amilosa y su almidón consiste prácticamente en un 100% de amilopectina. Ahora bien, en el sorgo azucarado el contenido de amilosa del almidón es de 5 a un 15% superior al del sorgo normal. El contenido total en carbohidratos del sorgo azucarado era, sin embargo, normal pues contenía unos niveles extraordinariamente elevados de polisacáridos hidrosolubles (29.1%). Para el almidón aislado de cultivares de sorgo, los valores del almidón digestible oscilaban del 33 al 48% frente al 53 al 58% de los almidones de maíz. La naturaleza química del almidón, especialmente el contenido de amilopectina y de amilosa, es también otro factor que repercute en la digestibilidad del almidón. La presencia de taninos en el grano, es otro factor que contribuye a la mala digestibilidad en algunas variedades de sorgo (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.5.2 Proteínas

El segundo componente más importante del sorgo es la proteína. Los factores tanto genéticos como ambientales antes analizados repercuten en el contenido de la proteína del sorgo. La variabilidad es grande a primera vista debido probablemente a que este cereal se cultiva en situaciones agroclimáticas diversas que influyen en la composición del grano. Las fluctuaciones en el contenido proteínico del grano van acompañadas por lo general de cambios en la composición aminoácida del grano y su proteína. La calidad de la proteína está en función primordialmente de su composición en aminoácidos esenciales. La composición de aminoácidos del sorgo es muy similar a la del maíz (Cuadro II.3).

Cuadro II.3 Composición de aminoácidos esenciales de las proteínas del sorgo y del maíz (mg/g de proteína) (Enciclopedia de la Ciencia y de la Tecnología, 1971)

AMINOÁCIDOS ESENCIALES	SORGO	MAÍZ	PATRÓN DE PROTEÍNA (CASEÍNA DE LA LECHE)
Isoleucina	40	38	42
Leucina	129	133	70
Lisina	22	27	51
Metionina	30	41	26
Fenilalanina	86	92	73
Tirosina	82	93	72
Treonina	33	37	35
Triptofano	13	9	11
Valina	47	46	48

Para analizar la calidad de la proteína han introducido el concepto de puntuación química. Según esta idea, el porcentaje de un aminoácido esencial que se halla en un déficit máximo frente a la cantidad presente en una proteína normal o de referencia se denomina puntuación de aminoácidos o química de una proteína. La proteína del huevo o de la leche materna por su elevado valor biológico, se considera como tipo de referencia.

Las proteínas de los granos según sus características de solubilidad se clasifican generalmente en cuatro fracciones, la albúmina, que es hidrosoluble, la globulina, que es soluble en una solución salina diluida, la prolamina, soluble en alcohol y la glutelina, que es extraíble en una solución alcalina o ácida diluida (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

Aparte de su perfil de aminoácidos esenciales, la fácil digestibilidad es una característica importante de una buena proteína. La evaluación de la calidad de la proteína mediante una puntuación química no tiene en cuenta la digestibilidad de la misma y los aminoácidos disponibles. Los métodos biológicos basados en mediciones del crecimiento y de la retención de N valoran la calidad nutricional general de la proteína. Estos métodos comprenden la determinación de la relación de eficiencia de las proteínas (REP), la utilización neta de proteínas (UNP), el valor biológico (VB) y la digestibilidad real de la proteína. En algunas variedades de sorgo, los polifenoles condensados con los taninos presentes en los granos constituyen otro factor que influye desfavorablemente en la digestibilidad de la proteína y aminoácidos disponibles (Lorenz y Kulp, 1990).

II.1.5.3 Grasa

El contenido de grasa cruda es del 3%, que es superior al del trigo y arroz pero inferior al del maíz. Las capas de germen y aleurona son los principales determinantes de la fracción de lípidos. El germen aporta un 80% de la grasa total.

Como la grasa del grano se encuentra mayormente localizada en el germen, en los mutantes del sorgo con la fracción del embrión, el contenido de grasa es superior (5.8 a 6.6%) al normal. Las variaciones en el contenido de grasa del grano se atribuyen en parte a los diferentes sistemas de solventes que se habían utilizado para su extracción. La composición de ácidos grasos de la grasa de sorgo (49% de ácido linoleico, 31% de oleico, 14% de palmítico, 2.7% de linolénico y 2.1% de esteárico) es análoga a la del maíz pero es mas insaturada (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.5.4 Minerales

La composición mineral de los granos de sorgo es muy variable (Cuadro II.4). Mas que los factores genéticos, son mas bien las condiciones ambientales que predominan en la región de cultivo las que determinan su contenido de minerales.

En el grano de sorgo, la materia mineral está distribuida desigualmente y se halla más concentrada en el germen y en el revestimiento de la semilla. Se ha demostrado que en las harinas de sorgo se verifica una reducción progresiva en los contenidos de minerales como fósforo, hierro, zinc y cobre con relación a los índices cada vez más bajos de extracción. El descascarillado aumenta la disponibilidad de hierro porque la cáscara es rica en fitato, un compuesto que ligándose al hierro y a otros minerales impide su biodisponibilidad (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.5.5 Vitaminas

El sorgo es, en general, una fuente muy rica de vitaminas B. Algunas variedades de endospermo amarillo de sorgo contienen beta-caroteno, que podría ser convertido en vitamina A por el cuerpo humano.

En el grano de sorgo también se han encontrado cantidades detectables de otras vitaminas liposolubles, a saber, D, E y K. El sorgo tal como se consume comúnmente no es fuente de vitamina C. Al germinar, se sintetiza una cierta cantidad de vitamina C en el grano y al fermentar se produce un ulterior aumento del contenido de esta vitamina.

Entre las vitaminas B, las concentraciones de tiamina, riboflavina y niacina que hay el sorgo son comparables a las del maíz (Cuadro II.1). Otras vitaminas B presentes en el sorgo en cantidades notables por 100 g son las vitaminas B₆ (0.5 mg), la folacina (0.02 mg), el ácido pantoténico (1.25 mg) y la biotina (0.042 mg) (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

II.1.5.6 Fibra

Se emplea la expresión fibra dietética para describir una variedad de polisacáridos vegetales indigeribles, en particular la celulosa, las hemicelulosas, las pectinas, los oligosacáridos, las gomas y varios compuestos lignificados. En cualquier material de semilla hay dos fuentes de fibra alimentaria, a saber: La cáscara o el pericarpio y los componentes estructurales de la pared celular (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

La fibra cruda está presente en el pericarpio y endospermo de la pared celular. La fibra está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y pequeñas cantidades de lignina. Esta fracción está generalmente asociada con compuestos fenólicos como ácidos ferúlico y cafeico (Lorenz y Kulp, 1990).

II.1.6 POLIFENOLES Y TANINOS: EFECTOS EN LA CALIDAD DEL SORGO Y VALOR NUTRIMENTAL

El contenido de fenoles en el grano de sorgo ha sido muy estudiado por diversos investigadores.

Los polifenoles que se hallan ampliamente distribuidos en las plantas, no intervienen directamente en ningún proceso metabólico y, por lo tanto, se consideran como metabolitos secundarios. Algunos compuestos polifenólicos desempeñan una función como productos químicos de defensa y protegen a la planta contra los ataques predadores de herbívoros, hongos patogénicos y hierbas parasitarias. La presencia de polifenoles en los granos impiden también las pérdidas de granos por germinación precoz y daños debidos al enmohecimiento del grano. Se ha observado que los polifenoles tienen la propiedad de proteger a las plántulas contra insectos (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

Todos los tipos de sorgo contienen fenoles, con efecto en el color, apariencia y calidad nutrimental del grano. Los compuestos fenólicos pueden ser subdivididos dentro de tres grupos; ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. Todos los sorgos contienen ácidos fenólicos y muchos contienen flavonoides, pero solamente los sorgos pardos contienen taninos condensados (Salunkhe *et al.*, 1989).

Durante la maduración, el grano de sorgo pardo resulta astringente lo que le da resistencia contra el ataque de aves y el enmohecimiento del grano. Esta cualidad es importante en regiones áridas y semiáridas donde fallan otros cultivos. En algunas de esas regiones, las pérdidas anuales en la producción de grano han llegado a ser de hasta un 75% o a veces más (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

La presencia de taninos aunque ofrecen la ventaja agronómica de hacer a la planta resistente a las aves, repercuten desfavorablemente en la calidad

nutrimental del grano. Los taninos se combinan con proteínas exógenas y endógenas, inclusive con enzimas del tracto digestivo y, por lo tanto, afectan la utilización de las proteínas (Salunkhe *et al.*, 1989).

El contenido de taninos y de almidón en el grano de sorgo están relacionados íntimamente, ya que las variedades de sorgo con altas concentraciones de taninos y polifenoles, contiene menos almidón, lo que contribuye a un valor energético menor.

Los taninos y polifenoles asociados se concentran en la testa o revestimiento de la semilla por debajo del pericarpio del grano de sorgo (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995).

Todos los sorgos (independientemente de su color), como constituyentes de sus granos, poseen sustancias tánicas hidrolizables (ácido gálico y ácido elágico) y éstas no representan un factor negativo al considerar su valor nutritivo.

Sólo los sorgos con su cubierta seminal (la testa) pigmentada, poseen taninos condensados (catequinas, flavonoides y leucoantocianinas). Sólo allí, en la testa, estarán localizados estos compuestos.

Los taninos condensados, son compuestos que afectan negativamente el valor nutritivo del sorgo, pues fijan las proteínas del grano reduciendo su disponibilidad y, asimismo, inhiben la acción de la amilasa (enzima importante durante el proceso de digestión de los granos), causando una disminución del 10 al 30% y más en la eficiencia alimentaria, en comparación con los sorgos que no poseen estos compuestos. En algunos granos, existe suficiente cantidad de taninos condensados como para precipitar o fijar más proteína de la existente en los mismos.

Se han reportado diferentes contenidos de taninos en el grano de sorgo que va de 3.6 a 10.2, 4.8 a 8.2 y 2.69 a 6.88% de catequina equivalente. Mcmilliam (citado por Salunkhe *et al.*, 1989), observó un contenido de taninos de 0.1 a 8% de catequina equivalente en una amplia variedad de sorgo.

El contenido de taninos estimado en equivalentes a ácido tánico varía de 0.31 a 1.5, 0.37 a 1.57, 0.33 a 1.41 y 0.15 a 0.77%. Existen diferentes métodos para la determinación de taninos dependiendo del estándar utilizado, pues al ser diferente el estándar, resulta difícil hacer una comparación (Cuadro II.4). De cualquier modo, por simplicidad, el análisis de la vainilla-HCl es más rutinario para la determinación de los niveles relativos de taninos condensados en muestras de sorgo rojo o pardo.

En el Cuadro II.5 se presentan diferentes contenidos de taninos en muestras de sorgo (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2 TANINOS

II.2.1 GENERALIDADES

Es difícil considerar una definición completa de la palabra "tanino". El término "tanino", comúnmente utilizado para los compuestos fenólicos de cereales y leguminosas, ha sido muy cuestionado por varios investigadores. Originalmente esta palabra, describe la sustancias presentes en los extractos de vegetales los cuales, son responsables de convertir la piel animal en un producto más estable (Salunkhe *et al.*, 1989).

Los taninos no son idénticos en todos los vegetales. Difieren en cuanto a su composición y a sus propiedades químicas especiales según el género botánico donde se encuentren (Curtido, 2000).

Los polifenoles con un peso molecular entre 500 y 3000 D, que contienen un cierto número de hidroxilos fenólicos, pueden formar enlaces cruzados efectivos entre proteínas y otras macromoléculas. Los compuestos fenólicos de bajo peso molecular no forman enlaces cruzados con proteínas (Salunkhe *et al.*, 1989).

Cuadro II.4 Métodos utilizados para la determinación de taninos en granos de sorgo (Salunkhe *et al.*, 1989)

MÉTODO	ESTÁNDAR	REACTIVO	MÉTODO DE EXTRACCIÓN	TIEMPO DE EXTRACCIÓN	COMPUESTO QUE SE MIDE
Vainillina	Catequina	4% HCl, 1% en metanol	Metanol 1% HCl en metanol	24 h 20 min	Leucoantocianidinas Proantocianidinas (taninos)
Azul de Prusia	Catequina	FeCl ₃ en HCl	Metanol	1 min	Fenoles totales
Precipitación de proteínas	Ácido tánico	FeCl ₃ , detergente alcalino	Metanol	20 min	Proantocianidinas (taninos)
Folin-Ciocalteu	Catequina o ácido gálico	Folin-Ciocalteu	Metanol, 1% HCl en metanol, Dimetilformamida	1h 2h	Fenoles totales
Relativa degradación de polimerización	--	4% HCl, 0.5% vainillina en ácido acético, 4% HCl en ácido acético	Metanol	20 min	Antocianidinas, proantocianidinas leucoantocianidinas

Bate-Smith y Swain (citados por Salunkhe *et al.*, 1989) definen a los taninos como compuestos fenólicos solubles en agua que tienen peso molecular entre 500 y 3000 D. Por otra parte, tienen propiedades típicas de reacciones de fenoles como es la habilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas (Salunkhe *et al.*, 1989).

Cuadro II.5 Contenido de taninos en diferentes muestras de sorgo (Salunkhe *et al.*, 1989)

MUESTRA	MÉTODO	ESTÁNDAR DE REFERENCIA	TANINOS (%)
SC 301	Maxson y Rooney	Catequina	0.18
GA 615	Folis-Denis	Ácido tánico	8.64
GA 615	Burns	Catequina	3.10
BR 54	Swain y Hills (Vainillina-H ₂ SO ₄)	Catequina	0.19
AR 3005	Método de coloración de cianidina	Cianidina-HCl	1.38
AR 3005	Hagerman y Butler	Ácido tánico	3.02
Variedad blanca	Burns	Catequina	0.077
Variedad roja	Burns	Catequina	0.13

Su principal función química está representada por el hidroxilo (OH) unido a un anillo bencénico, lo que le confiere un carácter ácido débil. Los taninos están compuestos por grandes moléculas cuyas soluciones acuosas son coloidales y tienen tendencia a enturbiarse (flocular) y dar precipitados (Curtido, 2000).

Gupta y Hastam adicionan a la definición mencionada arriba, el hecho de que los taninos vegetales son producto del metabolismo normal y no son productos formados por una transformación química *in vitro* o de alguna otra manera. La nomenclatura precisa es, por lo tanto, esencial para describir los polifenoles que precipitan a las proteínas (Salunkhe *et al.*, 1989).

La presencia de estos polifenoles en los alimentos de origen vegetal determina una disminución de su valor biológico debido, en gran parte, a una interferencia con la utilización digestiva de las proteínas. Por ello, resultan un mecanismo de defensa de la planta hacia sus depredadores, que no la consumen por ser "antinutritiva".

Numerosos trabajos muestran, en efecto, la acción antinutritiva de los taninos presentes en los alimentos (cacao, bananas, habas, sorgo), que se confirma por

experimentos de adición de taninos purificados a reacciones alimentarias equilibradas de animales de laboratorio (Darache, 1990).

La habilidad de los taninos vegetales para formar complejos con las proteínas es a través de puentes de hidrógeno, enlaces covalentes e interacciones hidrofóbicas.

La interacción de los taninos con las proteínas y glucoproteínas de la saliva de la boca produce un sabor astringente al degustar ciertas frutas que contienen taninos como son: Zarcamora, fresa, arándano y manzana, entre otras que, psicológicamente, el humano acepta. Por lo tanto, estas propiedades entre los enlaces de taninos y proteínas son muy importantes en el proceso de alimentos, de frutas y tecnología de vinos. Se cree que cambios en la palatabilidad de muchas frutas que ocurren durante su maduración son asociados con cambios concomitantes en las formas químicas de fenoles presentes en frutas (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2.2 PROPIEDADES

A pesar de su constitución química muy variable, los taninos presentan un cierto número de propiedades comunes:

1. La mayor parte son compuestos incristalizables, de naturaleza coloidal y dotados de propiedades astringentes.
2. Son solubles en agua y alcohol; sus soluciones acuosas tienen carácter ligeramente ácido.
3. Forman con las proteínas combinaciones insolubles e imputrescibles, particularidad que es usada en la industria de curtidos.
4. Producen, en contacto con sales de hierro, combinaciones fuertemente coloreadas en azul o verde oscuros y más o menos solubles en agua.

5. Sus soluciones son precipitadas por muchas sales metálicas (hierro, cobre, plomo, estaño, mercurio, etc.) y forman compuestos pardos con soluciones de bicromato de potasio y ácido crómico.
6. Sus soluciones son precipitadas por diversas sustancias básicas tales como colorantes orgánicos básicos, el agua de cal, el agua de barita, los alcaloides, etc.
7. Las soluciones de tanino expuestas al aire absorben el oxígeno oxidándose, tomando rápidamente tintes oscuros y perdiendo parcialmente sus cualidades curtientes. La tendencia a la oxidación de los taninos se manifiesta cuando el pH sube por encima de 6. Esta es la razón por la cual el curtido en licores básicos no ha respondido a las esperanzas que se habían fundado en ese proceso. La oxidación se manifiesta netamente sobre el cuero en el momento en que se expone al aire. Después de poco tiempo de curtida la piel, la oxidación es mayor, aumentando con la concentración de los taninos y disminuyendo con la concentración de no taninos (Curtido, 2000).

II.2.3 CLASIFICACIÓN

Los taninos han sido clasificados por Freudenberg (citado por Salunkhe *et al.*, 1989) dentro de dos grupos basados en su tipo de estructura:

1. Taninos hidrolizables y
2. Taninos condensados

Esta ha sido la clasificación más aceptada que se ha propuesto. De los dos grupos, los taninos condensados son los más ampliamente distribuidos en la naturaleza (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2.3.1 Taninos hidrolizables

Estos taninos contienen un anillo central de alcohol polihídrico, azúcar como glucosa y grupos hidroxilos los cuales están esterificados parcial o completamente por ácido gálico (galotaninos) o ácido hexahidroxidifenil (elagitaninos). Estos tipos de taninos son hidrolizados por ácidos, bases o ciertas enzimas. En la hidrólisis se producen glucosa, algún alcohol polihídrico y ácido gálico o ácidos fénolicos relativos (Salunkhe *et al.*, 1989).

- **Galotaninos**

El conocimiento de la estructura de los galotaninos está basado en el trabajo original de Emil Fischer y Karl Freudenberg sobre tanino chino y turco. El galotanino chino (ácido tánico) contiene una glucosa y ácido gálico, en donde cada molécula de glucosa está ligada a un promedio de 9 o 10 residuos de ácido elágico. Una posible estructura típica de galotanino se muestra en la Figura II.2.

Se han encontrado en la naturaleza un gran número de galotaninos, incluyendo el "Tanino turco"; aislado del *Quercus infectora* y "Tanino Hamamelis", aislado del avellano (*Hamamelis virginiana*) (Figura II.3), entre otros (Salunkhe *et al.*, 1989).

- **Elagitaninos**

En este tipo de taninos una molécula de ácido hexahidroxidifenil está ligada con glucosa como un diéster en adición con ácido gálico. La hidrólisis del ácido hexahidroxidifenil es sometida a una lactonización para producir ácido elágico (Figura II.4).

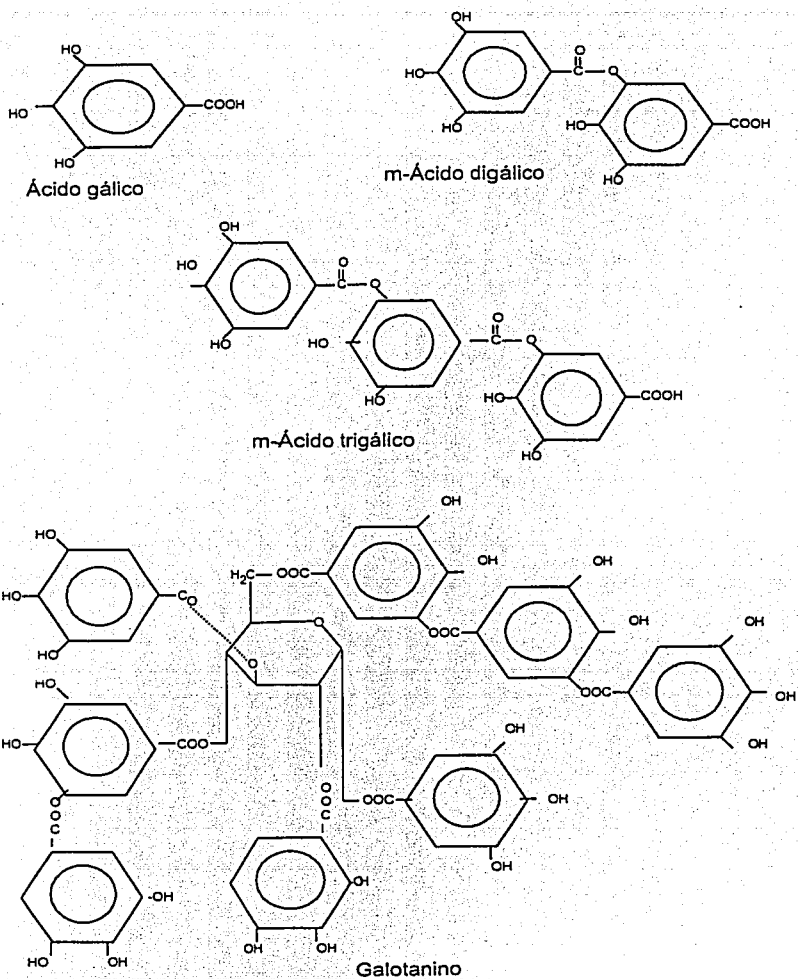


Figura II.2 Estructura de un galotanino y sus constituyentes (Salunkhe *et al.*, 1989)

Un elagitanino simple como Corilagin (Figura II.5) se encuentra presente en *Caesalpinia*, *Coriaria*, *Terminalia chebula*, *Schinopsis species* y *Eucalyptus sieberiana* (Salunkhe *et al.*, 1989).

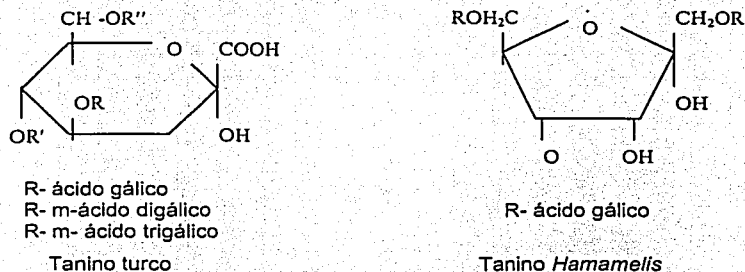


Figura II.3 Algunos galotaninos encontrados en la naturaleza (Salunkhe *et al.*, 1989)

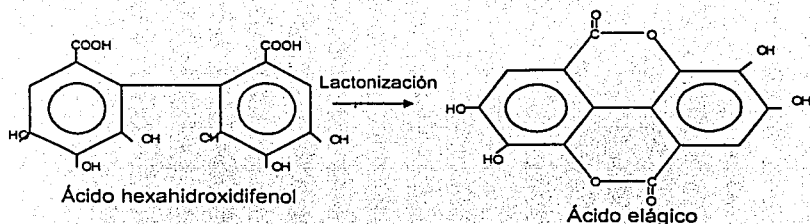


Figura II.4. Lactonización del ácido hexahidroxdifenol (Salunkhe *et al.*, 1989)

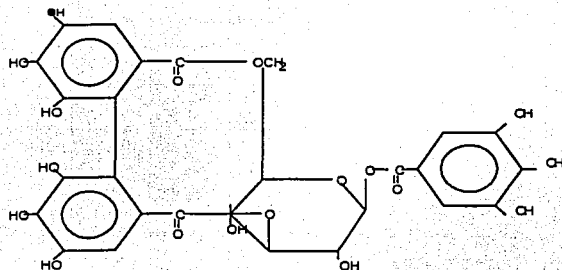


Figura II.5 Estructura de un elagitanino (Salunkhe *et al.*, 1989)

II.2.3.2 Taninos condensados

Este tipo de fenoles poliméricos están presentes en cantidades grandes en muchos dicotiledones y en la más primitiva planta así como en los helechos y gimnospermas. Es el principal tanino presente en el sorgo, leguminosas, en el vino, en algunas frutas y plantas de forraje. Por lo tanto, su estructura, propiedades, biosíntesis, su posible efecto nocivo a animales y al hombre, sus funciones fisiológicas, la tecnología postcosecha para remover estos compuestos, su ubicación en el proceso de alimentos, etc., ha generado una atención considerable de los nutriólogos, biotecnólogos y tecnólogos en alimentos del mundo.

Estructuralmente estos taninos son más complejos y su estructura depende de la fuente y de su determinación. La extracción, aislamiento, purificación y caracterización de monómeros de estos polímeros han sido principalmente productos de flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles, o, mezcla de ambos. Los compuestos de flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles son los comúnmente llamados "taninos condensados" (Salunkhe *et al.*, 1989).

- **Flavan 3-oles**

Los flavan 3-oles son las llamadas "catequinas". La estructura molecular de las diferentes catequinas se exponen en la Figura II.6.

Las moléculas de catequina poseen dos átomos de carbono asimétrico en C-2 y C-3, de los cuales, existen 4 isómeros. Existen (+) y (-) catequina; en donde los grupos 2-fenil y 3-hidroxil son compuestos trans, (+) y (-) epicatequina con estos mismos grupos son compuestos cis. Sólo (+) catequina y (-) epicatequina son comunes en la naturaleza. La (-) epicatequina fue la primera que se aisló de grano del cacao. La (-) epigalocatequina y su 3-galato son los principales compuestos fenólicos del té verde, aunque también han sido encontrados compuestos de (+) galocatequina, (+) catequina, (-) epicatequina y sus 3-galatos (Salunkhe *et al.*, 1989).

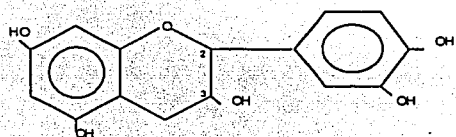
- **Flavan 3,4-dioles**

Estos compuestos son las llamadas "leucoantocianidinas" porque en calentamiento con ácido producen antocianidinas. Por ejemplo, las leucoantocianidinas producen cianidinas (Figura II.7). Una molécula de flavan-3,4-diol posee tres átomos de carbono asimétrico C-2, C-3 y C-4; por lo tanto, hay ocho isómeros posibles.

El término químico "proantocianidina" ha sido usado para el producto natural que se forma a partir del calentamiento en ácido de antocianidina. Los flavan-3-oles y flavan-3,4-oles son también proantocianidinas que están extensamente distribuidas en las plantas.

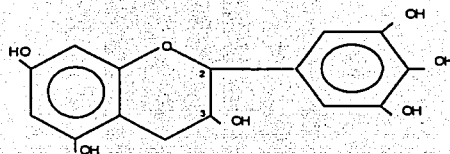
Weiinges (citado por Salunkhe *et al.*, 1989). implica el término "leucoantocianidina" para representar monómeros de flavan-3-oles y proantocianidinas condensados o,

procianidinas por diméros y oligómeros de flavan-3-oles y flavan-3,4-oles. Los taninos condensados también referidos como procianidinas son esencialmente "flavonoides". Los flavonoides son polímeros de flavan-3-oles solos o mezclas de éstos con flavan-3,4-oles (Salunkhe *et al.*, 1989).



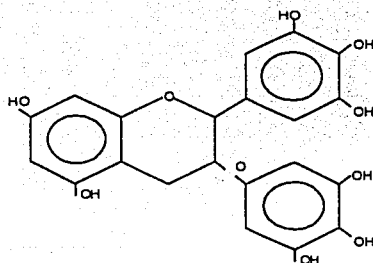
(+) - Catequina (2,3 - trans)

(-) - Catequina (2,3 - cis)



(+) - Galocatequina (2,3 - trans)

(-) - Epigalocatequina (2,3 - cis)



(-) Epigalocatequina -3 - galato

Figura II.6 Algunas catequinas naturales (Salunkhe *et al.*, 1989)

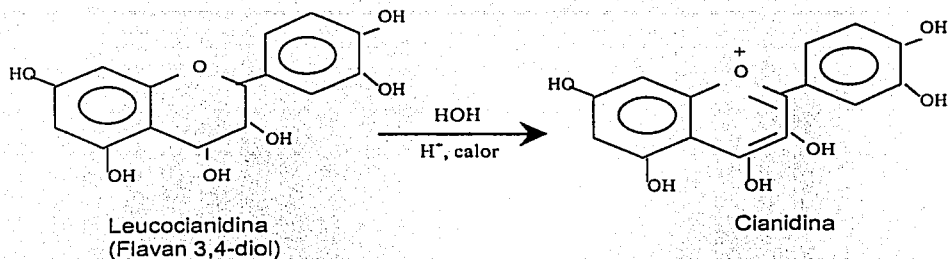


Figura II.7 Producción de cianidina a partir de una leucocianidina (Salunkhe *et al.*, 1989)

Una típica estructura de tanino condensado es el aislado del sorgo (Figura II.8).

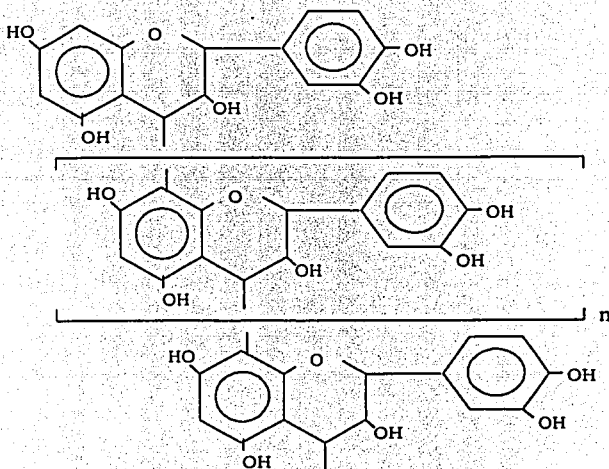


Figura II.8. Estructura de un tanino condensado del grano de sorgo (Salunkhe *et al.*, 1989)

II.2.4 INTERACCIÓN Y ASPECTOS NUTRITIVOS RELACIONADOS CON LAS PROTEÍNAS DE LOS ALIMENTOS

La interacción de los taninos con proteínas consiste en la formación de puentes de oxígeno entre los hidroxilos de los grupos fenólicos y los grupos peptídicos de las fibrillas de colágeno, estableciendo enlaces cruzados entre las cadenas peptídicas vecina. La oxidación de los grupos fenólicos de los taninos a quinonas puede formar enlaces covalentes entre los grupos épsilon de las lisinas y de las argininas en las cadenas péptidicas. Así se precipitan las proteínas.

La unión de los taninos a las enzimas digestivas impide su acción; la unión con las proteínas del alimento dificulta su digestión. La unión con las proteínas de la saliva y de la mucosa provoca el conocido efecto astringente.

Con la maduración de los frutos se polimerizan los taninos y pierden su acción astringente, ya que reaccionan menos con las proteínas. Pierden también su sabor amargo.

Los taninos contenidos en el café y té negro impiden la reabsorción del hierro, con el que forman un complejo difícilmente soluble. También inhiben la absorción del hierro contenido en los alimentos vegetales. Así, es posible una deficiencia de hierro en personas cuya dieta es preferentemente vegetal y que beben mucho té (Linder, 1988).

Los taninos condensados forman puentes de hidrógeno a valores de pH inferiores a 7, por lo que las uniones están formadas entre grupos hidroxifenólicos no ionizados y grupos amino de la proteína y los hidrolizables presentan estas uniones más fuertes a valores de pH 3-4 y se debilitan con valores de pH 5 en adelante. Es probable que mediante este mecanismo (Figura II.9) se forme el complejo tanino-proteína con enlaces transversos, lo que limita la disponibilidad de las proteínas del sorgo (Reyes, 1985).

II.2.5 DOSIS DIARIA ADMITIDA (DDA)

La presencia de taninos en los alimentos determina una disminución del valor biológico de éstos, debido, en gran parte, a una interferencia con la utilización digestiva de las proteínas.

Numerosos trabajos muestran, en efecto, la acción antinutritiva de los taninos presentes en los alimentos (cacao, habas, sorgo, té, etc.), que se confirma por experimentos de adición de taninos purificados a reacciones alimentarias equilibradas de animales de laboratorio.

Su dosis diaria admitida (DDA) es de 500 mg/día (Darache, 1990).

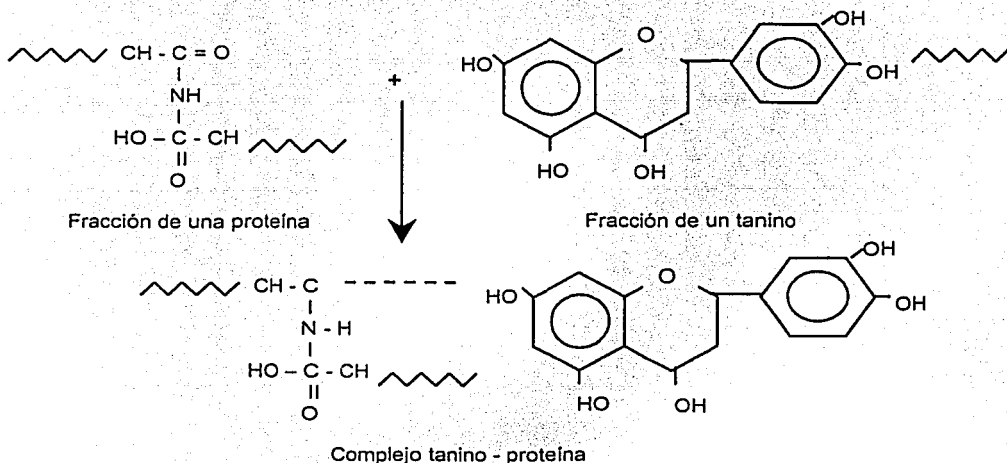


FIGURA II.9 Posible mecanismo de la formación del complejo tanino-proteína (Reyes, 1985)

II.2.6 ABUNDANCIA EN LA NATURALEZA Y ALIMENTOS

II.2.6.1 Taninos en frutas

Una gran variedad de compuestos fenólicos se encuentran en las frutas. Éstos son los principales responsables del color y olor de las frutas. El nivel de cada compuesto fenólico en las frutas varía de cada especie, variedad, temporada y localización. Los compuestos comúnmente encontrados en las frutas son (+) catequina y (-) epicatequina. Los flavan-3,4-oles no han sido encontrados en frutas. El Cuadro II.6 muestra el contenido de fenoles totales de algunas frutas (Salunkhe *et al.*, 1989).

Cuadro II.6 Contenido de taninos en algunas frutas (Salunkhe *et al.*, 1989)

FRUTA	CONTENIDO DE FENOLES (Fenoles totales)
Manzana	0.1-1 g / 100 g peso fresco
Plátano	0.53 g / 100 g peso fresco
Cereza	0.2 g / 100 g peso fresco

II.2.6.2 Taninos en vino

La mayor producción de vino en el mundo se produce a partir de las uvas. Las uvas son ricas en una gran variedad de compuestos fenólicos, incluyendo taninos condensados.

Las antocianinas y taninos son los compuestos responsables del color y sabor de los vinos rojos. Pero cuantitativamente y cualitativamente los cambios ocurren durante la fermentación, proceso y maduración.

Básicamente a la red de taninos (taninos que se unen formando estructuras coloidales uniformes) se han asociado pigmentos (que otorgan color), materias aromáticas, alcohol y ácidos. Toda esta estructura, infinitamente concentrada y diluida en agua, conforma el vino. Cuanto mayor extracto de estos elementos se haya asociado, mayor será la complejidad del mosto fermentado, y cuanto mayor sea la concentración tánica, mayor "estructura" tendrá el vino (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2.6.3 Taninos en el té

El té es la bebida más popular en el mundo. Proporciona esencialmente minerales y vitaminas, y probablemente ha sido evaluada como un producto terapeuta en la prevención de caries dental y profilaxis y en el tratamiento de desorden vascular y coronario, incluyendo la arteriosclerosis. Los mayores constituyentes químicos del té son compuestos fenólicos, amino ácidos y cafeína.

Diferentes compuestos fenólicos están presentes en el té. Entre ellos están los flavonoides, como es la (-)-epicatequina, (-)-epicatequina galato, (-)-epigallocatequina y (+)-catequina (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2.6.4 Taninos en forrajes

Los forrajes son uno de los componentes importantes de la dieta alimentaria de animales.

Leguminosas herbáceas como es la alfalfa (*Medicago sativa* L.), comida para pájaros, comida para conejos, etc., contienen diferentes compuestos fenólicos como son los taninos.

Algunas otras especies contienen algunas proantocianidinas (taninos condensados); algunos contienen taninos condensados y taninos hidrolizables (galotaninos) y otras contienen algunas leucoantocianidinas (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.2.6.5 Importancia industrial

Por sus propiedades intrínsecas los taninos se utilizan como tintes (café, amarillo, rojo) para plásticos, conservadores de pesca y principalmente para curtir pieles de animales. En curtiduría se protegen las fibras proteicas de ataques microbianos y en general se da al producto gran estabilidad al agua, calor y abrasión; durante este proceso la piel puede absorber arriba de la mitad de su peso en taninos (Curtido, 2000).

II.3 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TANINOS

II.3.1 GENERALIDADES

Los métodos para la determinación de compuestos fenólicos son basados en la polaridad de los grupos hidroxilos. Algunos métodos estiman todos los grupos fenólicos, otros métodos son usados para determinar sustancias o clases de fenoles. La acidez del grupo hidroxilo es usada para la separación de los constituyentes fenólicos. La actividad del anillo bencénico con sus diferentes constituyentes produce coloraciones específicas. Los fenoles también absorben luz en la región UV. Markham (citado por Salunkhe *et al.*, 1989), ha descrito técnicas para el aislamiento de flavonoides usando métodos cromatográficos. Compuestos fenólicos completamente esterificados, eterificados o glucosilados son usualmente solubles en solventes polares. Estos compuestos pueden ser disueltos en soluciones de hidróxido de sodio y carbonato de sodio, pero solo

algunos son solubles en bicarbonato. Algunos glucósidos fenólicos son solubles en agua, pero en su correspondiente aglicona son generalmente insolubles. El butanol y metanol son generalmente usados como solventes, algunos fenoles con algunos grupos hidroxilos son solubles en solventes no polares. Como el éter, benzeno, cloroformo y etil acetato. (Salunkhe *et al.*, 1989).

En esta sección solo se mencionan los métodos más comúnmente utilizados para la determinación de taninos.

1.3.2 ASPECTOS IMPORTANTES

Los taninos forman soluciones coloreadas y precipitados con el hierro y otros metales. Estos compuestos poseen la habilidad de formar precipitados insolubles e imputrescibles con albúmina, gelatina, colágeno y otras proteínas. Éstas pueden precipitar por alcaloides, piridinas y quinonas. Todas estas propiedades son utilizadas para el análisis de taninos. Los taninos son insolubles en solventes no polares como el éter, cloroformo y benzeno y parcialmente soluble en etil acetato. La presencia de un largo número de grupos polares de los taninos pueden ser realmente solubles en agua y alcohol y formar compuestos coloidales. La extracción de taninos por mezclas acuosas de solventes polares depende de los puentes individuales del sustrato o el sitio de competencia sobre la molécula del solvente.

Los taninos son fácilmente oxidables por fenolasas presentes en las plantas dentro de compuestos altamente coloreados. Esta tendencia causa problemas prácticos durante la preparación de las muestras y su extracción.

Schanderl (citado por Salunkhe *et al.*, 1989), clasificó los métodos de análisis de taninos basados en sus propiedades químicas y físicas de la siguiente forma:

1. Precipitación por reactivos inorgánicos. Por ejemplo: Acetato de cobre, sales de amonio, zinc, plomo y cobre.
2. Precipitación por reactivos orgánicos. Por ejemplo: Gelatina y formaldehído.
3. Formación de productos coloridos. Por ejemplo: Reactivo alcalino fosfotugstato-fosfomolibdato (Folin-Denis), cloruro férrico, ácido vainillina, p-nitrianiilina-diazotizada y ácido nitroso.
4. Oxidación con permanganato o ferricianuro en base volumétrica.

Los métodos más comunes para el análisis de taninos en legumbres y cereales, incluyen el método de la vainillina, el del Azul de Prusia y el método de Folin-Denis. Los métodos del Azul de Prusia y Folin Denis se basan en el poder de reducción de los grupos hidroxilo. Estos métodos no son muy específicos y detectan todos los fenoles (ácidos fenólicos, flavonoides y taninos) con una sensibilidad muy variable. El análisis por vainillina es frecuentemente utilizado para la determinación de taninos condensados o sus componentes monoméricos, en plantas (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.3.3 MÉTODOS

II.3.3.1 Métodos para taninos condensados

- **Método de la vainillina**

El método de la vainillina es frecuentemente utilizado como un método para la determinación cuantitativa de taninos condensados (proantocianidinas) en plantas, frutas, granos de sorgo y forrajes. Por conveniencia, la catequina, una unidad monomérica de flavan 3-ol de tanino condensado, es usado como estándar del análisis, aunque esto lleva a una considerable sobre-estimación del contenido de taninos (Magalhães *et al.*, 1999).

El principio básico de la reacción es la sustitución (condensación) del aldehído (vainillina) con un grupo hidroxilo del fenol (tanino) para producir un compuesto de coloración roja. Los fenoles tienen tres estructuras limitantes (Figura II.10) con una densidad de electrones, particularmente alta para la posición *orto* y *para* del hidroxilo fenólico. Los grupos hidroxilos de los fenoles actúan como donadores de electrones; estos incrementan la densidad de electrones en el anillo bencénico y aumenta su habilidad para someterse a reacciones de sustitución (Salunkhe *et al.*, 1989).

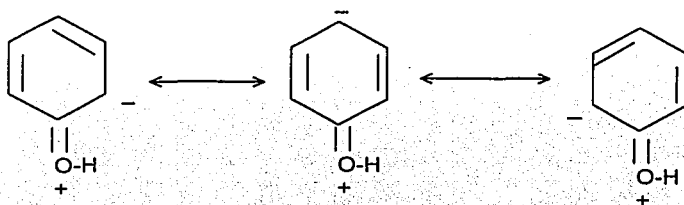


Figura II.10 Las tres estructuras limitantes del anillo bencénico (Salunkhe *et al.*, 1989)

La sustitución de los grupos OH en el anillo A con aldehído (vainillina) ha sido frecuentemente utilizada para análisis cuantitativos y cualitativo de fenoles (Figura II.11). En la presencia de ácidos fuertes, compuestos carbonilos, especialmente aldehídos, la vainillina adquiere un protón para formar un radical electrofílico con la habilidad de atacar los núcleos aromáticos de un fenol para producir un producto de condensación (Salunkhe *et al.*, 1989).

La reacción de vainillina con leucocianidina se expone en la Figura II.12. Esta condensación produce un color rojo con absorbancia máxima de 480 a 550 nm, dependiendo de la máxima absorbancia del ión carbonio formado.

Dentro de las bases de la reacción de la vainillina, Goldstein y Swain (citados por Salunkhe *et al.*, 1989) clasifican los compuestos fenólicos dentro de tres grupos:

1. Aquellos que dan una alta absorbancia valuada a una absorción máxima de 500 nm.
2. Aquellos que dan una baja absorbancia valuada a una absorción máxima de 520 nm.
3. Aquellos que no dan pigmentación como ácido gálico y quercetina.

Dentro de sus ventajas está la determinación de taninos condensados. Sus desventajas son la superestimación del contenido de taninos y que es un poco laborioso.

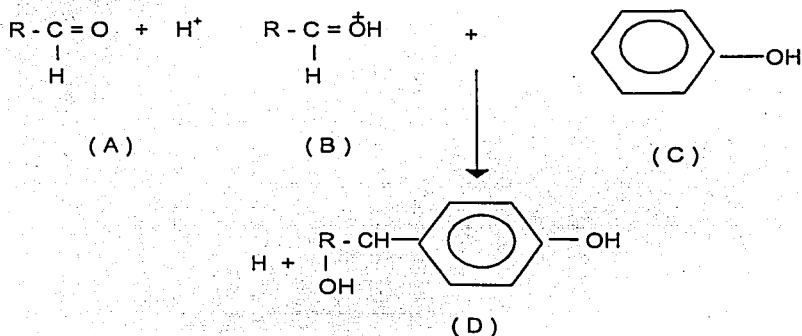


Figura II.11 Condensación de un aldehído con núcleos aromáticos del anillo fenólico: (A) Aldehído, (B) Radical electrofílico de aldehído, (C) Fenol y (D) Producto de condensación (Salunkhe *et al.*, 1989).

- Método Butanol-HCl

Es un método simple, específico para la determinación de proantocianidinas. Este método es considerado el mejor para la determinación de taninos condensados. Se basa en el desdoblamiento oxidativo del enlace interflavan, en soluciones alcohólicas, para obtener la antocianidina. Las condiciones de reacción deben ser

controladas cuidadosamente, por ejemplo, trazas de hierro catalizan la reacción, mientras que la presencia de agua, la inhiben. La respuesta depende de la estructura del tanino. Este método resulta satisfactorio para la determinación de taninos condensados en presencia de taninos hidrolizables. Aunque los fenoles que no son taninos no interfieren en la determinación con este método, las antocianidinas y otros pigmentos, sí pueden hacerlo.

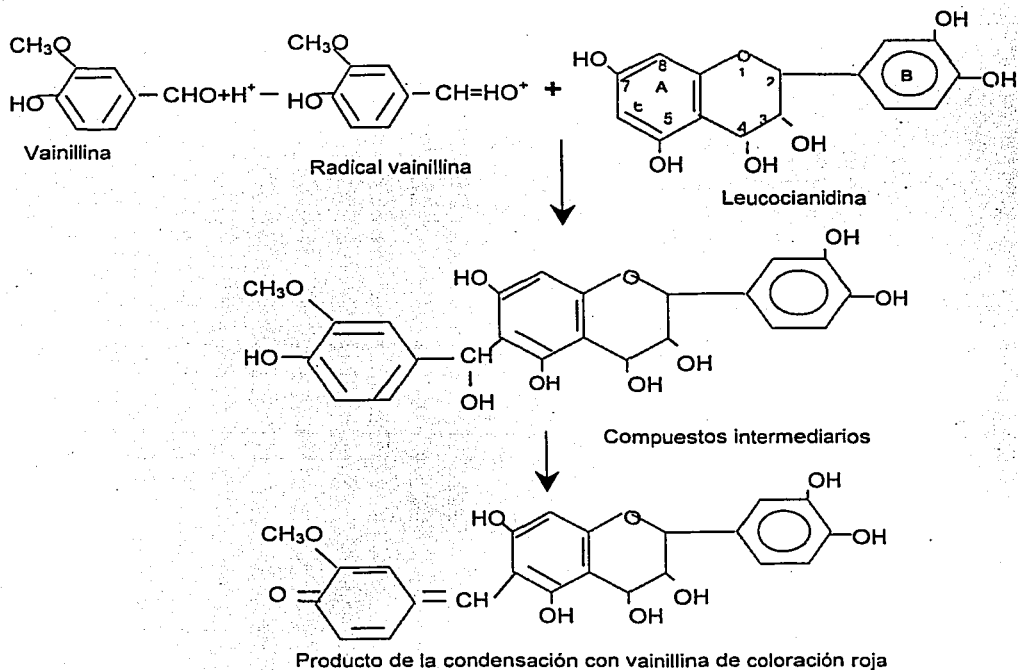


Figura II.12 Reacciones de condensación de la vainillina con flavanes (Salunkhe *et al.*, 1989)

Dentro de sus desventajas está la laboriosidad, alto costo y sobre todo la dificultad de obtener el patrón de referencia ya que éste no es comercializado. Se encuentra en la planta "quebracho", originaria de América Central, por lo tanto, el laboratorio tendría que purificar su propio patrón para utilizarlo como referencia, resultando esto muy laborioso (Magalhães *et al.*, 1999).

II.3.3.2 Métodos de óxido-reducción

Son métodos colorimétricos que se basan en la detección de grupos fenólicos generales involucrando como reacción de óxido-reducción la formación de complejos con iones metálicos (Salunkhe *et al.*, 1989).

- **Método de Folin-Denis**

Este método es el más frecuentemente utilizado para la determinación de fenoles totales en muchas plantas y bebidas. En Estados Unidos este método es oficial para analizar vinos. El método colorimétrico original fue aplicado más tarde para la determinación de tirosina en proteínas y de vainillina en extracto de vainilla.

El ácido fosfomolibdico-fosfotungstínico (reactivo de Folin-Denis) es reducido a un complejo de color azul en una solución alcalina de fenoles. La intensidad del color azul es medida con espectrofotómetro de 725 a 760 nm. El ácido tánico es usado como estándar para calcular la concentración de fenoles en la muestra. El resultado se expresa como equivalentes de ácido tánico. Este método estima los fenoles totales y no distingue entre los diferentes tipos de fenoles (Salunkhe *et al.*, 1989).

Su desventaja es que determina fenoles totales, es decir, determina taninos y fenoles que no son taninos por lo que hay una superestimación de taninos además de que es también un método laborioso (Magalhães *et al.*, 1999).

- **Método del Azul de Prusia**

Este método fue propuesto por Price y Butler (citados por Salunkhe *et al.*, 1989), para la determinación cuantitativa y cualitativa de taninos condensados en granos de sorgo.

El hierro férrico es reducido a hierro ferroso por los taninos y otros fenoles para formar un color ferricianuro-ferroso, un complejo conocido como azul de prusia. La intensidad del color se mide a 720 nm.

El procedimiento es el siguiente: Se toma una alícuota del extracto (usualmente de 6 a 10 mL), se adicionan 3 mL de cloruro férrico 0.1 M en ácido clorhídrico 0.1 N, seguido por la adición de 3 mL del reactivo de ferricianuro de potasio 0.08 M. La densidad óptica es leída a 720 nm después de 10 minutos.

Este método es comúnmente utilizado para el análisis general de fenoles porque es menos susceptible a interferencias de proteínas que el método de Folin-Denis. Sus ventajas son rapidez, simplicidad, reproducibilidad y bajo precio.

Su desventaja consiste en que no diferencia los taninos de otros polifenoles, por ejemplo, grupos no fenólicos como el ácido ascórbico son fácilmente oxidados dando valores no reales (Magalhães *et al.*, 1999).

- **Método del permanganato de potasio (Lowenthal)**

Este método es uno de los más antiguos utilizado para determinar taninos en bebidas. El método oficial de la AOAC del permanganato de potasio es utilizado para la determinación en té, clavo y otras especies.

La determinación está basada en la reducción del permanganato de potasio por los fenoles. Los extractos acuosos de muestras son triturados con una solución de permanganato de potasio (Magalhães *et al.*, 1999).

- **Método de cloruro férrico y citrato de amonio**

Balavoigne (citado por Salunkhe *et al.*, 1989), fué el primero en utilizar cloruro férrico en una solución ácida para determinar taninos en vinos. El cloruro férrico fue sustituido más tarde por citrato férrico de amonio.

Los fenoles son oxidados por el hierro para producir un color violeta. El procedimiento involucra la mezcla del reactivo de hierro con 5 mL de solución amortiguadora de fosfatos (pH 8) y una alícuota de 50 mL del extracto de la muestra. La intensidad del color es leída a 725 nm después de 30 minutos (Salunkhe *et al.*, 1989).

- **Método ISO 9648: 1988**

Este método para la determinación de taninos en sorgo, se basa en la reducción del ión férrico debida a los polifenoles y la formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, cuantificado espectrofotométricamente a 525 nm.

En resumen, el procedimiento consiste en extraer los taninos por agitación con dimetilformamida y posteriormente, centrifugar y adicionar citrato férrico amoniacal y amoniaco a una alcuota de sobrenadante para desarrollar color y leer la absorbancia de la solución obtenida en un espectrofotómetro a 525 nm. Se determina el contenido de taninos usando una curva estándar preparada con ácido tánico (Hidalgo, 1999).

II.3.3.3 Métodos por precipitación de proteínas

Una característica de los taninos es que precipitan las proteínas. Por lo tanto, basados en este punto, diversos métodos para su cuantificación han sido desarrollados dependiendo del tipo de proteína o precipitante utilizado. Estos métodos miden la actividad biológica de los taninos que no puede obtenerse por métodos químicos. Similarmente, pueden medirse sólo los taninos que precipitan proteínas y no los fenoles totales. La gelatina, caseína, albúmina, hemoglobina y diferentes enzimas han sido utilizadas para este método por diferentes investigadores. Las proteínas precipitantes incluyen poliamidas, polivinilpirolidina (PVP), formaldehído-HCl y varios reactivos orgánicos e inorgánicos. La formación del complejo precipitante está formado principalmente por puentes de hidrógeno. El método oficial de la AOAC para los taninos del té está basado en la precipitación de gelatina (Salunkhe *et al.*, 1989).

II.4 HORNO DE MICROONDAS

II.4.1 HISTORIA

En 1945, el ingeniero Percy LeBaron Spencer se encontraba trabajando con un equipo de radar que emitía microondas. Su sorpresa fue cuando se dio cuenta que el chocolate que tenía en su bolsillo se había derretido, además de que

descubrió las posibilidades culinarias de las microondas al preparar con éxito palomitas de maíz.

El primer horno de microondas, descubierto por casualidad, medía casi 1,80 metros de altura y pesaba más de 300 kg. Spencer lo patentó en 8 de octubre de 1945. Años más tarde la compañía Raytheon, para la cual trabajaba, desarrolló un programa de aplicación culinaria para microondas. El resultado fue el modelo pesado, voluminoso y caro denominado "Radarange", que se utilizó en un principio en hospitales, comedores militares y otras instituciones.

En 1967 salen al mercado las primeras versiones de uso doméstico (Cuadrado, 2000).

II.4.2 PROCESO DE CALENTAMIENTO

El incremento de temperatura en los alimentos se logra mediante una de tres formas aunque bien pueden ocurrir simultáneamente:

- **Convección:** Transferencia de calor desde una fuente a través del aire o líquidos hacia el alimento;
- **Conducción:** Transferencia de calor en el nivel molecular dentro del alimento o el recipiente que lo contiene, desde el área de mayor temperatura hacia la de menor temperatura;
- **Radiación:** Absorción de cuantos de energía de una onda electromagnética por el alimento.

En un horno de gas o eléctrico, el exterior del alimento es calentado por convección del aire caliente en el horno. Las paredes calientes y los elementos generadores de calor, irradian ondas infrarrojas de calor; éstas son absorbidas y calientan una capa muy delgada en la superficie del alimento. Su interior es calentado por conducción de la superficie caliente. La conductividad de los alimentos no es alta, por lo que lleva tiempo que el interior alcance temperaturas de cocimiento. Cuando el alimento es calentado por microondas, la energía se deposita en el interior, por lo tanto, se reduce el tiempo de cocción. El aire y el recipiente que contienen al alimento se calientan por conducción del calor desde el alimento. Las microondas no calientan el aire.

En general, el primer paso en la conversión de microondas en energía térmica, es la absorción de las microondas por un sistema absorbente y después la degradación de esta energía en vibraciones térmicas de las moléculas del material absorbente. Para que una molécula absorba un cuanto de energía, la energía de éste debe igualar la diferencia de energía entre el estado presente de la molécula y la energía del otro estado permitido. Para que la energía aparezca como calor, debe transferirse de la molécula que vibra hacia sus alrededores en vez de permanecer como vibración interna. Esta redistribución de la energía se conoce como "efecto de fricción molecular".

La absorción de energía de microondas en un medio depende de la constante dieléctrica y de la conductividad del mismo y como estos valores son altos para el agua, los tejidos y órganos con mayor contenido de humedad serán los más afectados por microondas (Chávez-López, 1990).

II.4.3 LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA

Estamos familiarizados con movimientos ondulatorios cotidianos, como pueden ser las ondas creadas por una piedra lanzada a un estanque o aquella donde una

cuerda vibra al ser pulsada e introduce una onda sonora. Una onda electromagnética no mueve un medio como el agua o la cuerda, sino simplemente, consiste en un campo eléctrico y uno magnético oscilantes.

Las ondas electromagnéticas cubren un intervalo enorme de longitudes de onda y frecuencia. Las hay desde aquellas con λ de varios kilómetros (10^3 m), hasta otras con λ del orden de picómetros (10^{-12} m). Debido a este amplio espectro de radiaciones y a las diferentes aplicaciones de acuerdo con sus frecuencias, se acostumbra clasificar a las ondas electromagnéticas en diversos grupos. La división entre cada grupo no es del todo precisa y cambia ligeramente de texto a texto (Cruz *et al.*, 1987).

Se ha determinado que los rayos gama (γ) y equis (x) poseen energía suficiente para romper la mayoría de los enlaces químicos. Las ondas ultravioleta (UV), de luz visible y probablemente el infrarrojo (IR) tienen energía suficiente para romper enlaces de hidrógeno débiles. Después del IR, ninguna onda posee energía suficiente para romper enlaces químicos. Por lo tanto, las microondas no rompen enlaces químicos. Las ondas electromagnéticas se clasifican en ionizantes y no ionizantes. Las microondas pertenecen a las no ionizantes (Chávez-López, 1990).

II.4.4 GENERACIÓN DE MICROONDAS. HORNOS DOMÉSTICOS

Las microondas son ondas electromagnéticas de la misma naturaleza que las ondas de radio, luz visible o rayos X. Lo que diferencia a cada una de las ondas del espectro electromagnético es su frecuencia (o de forma equivalente su longitud de onda). Así por ejemplo:

- Ondas de radio FM comercial: de 88 MHz a 108MHz
- Ondas de luz visible: de 750 THz (violeta) a 428 THz (rojo)
- Microondas : de 100 MHz a 100 GHz

- Las microondas utilizadas en muchos de los hornos tienen una frecuencia de 2,45 GHz.
- Las comunicaciones y el radar son otras dos aplicaciones de las microondas:
[$M = 10^6$; $G = 10^9$; $T = 10^{12}$] (Chávez-López, 1990).

Las microondas son usualmente generadas por un dispositivo electrónico llamado "magnetron". Un magnetron es un diodo cilíndrico con el cátodo localizado en el centro y el ánodo alrededor de la circunferencia. Cuando es alimentado por corriente, el material del cátodo se excita y comienza a emitir electrones hacia el espacio vacío entre el cátodo y el ánodo. El ánodo está compuesto de cavidades resonantes que actúan como osciladores y generan un campo eléctrico. El campo magnético es generado por un imán que rodea al magnetron. La energía de los electrones es atrapada en el campo y viaja hacia la antena en forma de ondas a través del magnetron. La antena transmite las ondas oscilantes hacia el tubo guía de ondas, de donde viajan hasta la cavidad del horno. Al momento en que las ondas entran, son dispersadas por un molinillo dispersor de ondas para asegurar una distribución pareja de la radiación. Las frecuencias aprobadas para uso en hornos de microondas son de 915 Mhz y 2450 Mhz. Estrictamente hablando, el calentamiento usando 915 es considerado calentamiento dieléctrico y el de 2450 MHz de microondas. El calentamiento dieléctrico se efectúa colocando al alimento entre dos electrodos paralelos que generan un campo eléctrico, cuya polaridad se invierte millones de veces por segundo. En la práctica se habla de uno y de otro como de microondas, aunque existe una tendencia a utilizar exclusivamente 2450 MHz para procesar alimentos.

La cámara del horno tiene paredes metálicas diseñadas especialmente para resonar a la frecuencia de las microondas y reflejarlas uniformemente. Este metal puede ser tanto acero inoxidable o aluminio, como acero o zinc recubiertos con esmalte de acrílico o epóxicos. A unos centímetros del fondo se halla un soporte que permite las reflexiones de las microondas desde el fondo metálico del horno hacia el alimento. El material es generalmente vidrio, cerámica o plástico, todos

emisores de microondas. Las puertas en todos los hornos de microondas simples o de combinación (gas o eléctricos) incorporan ventanas que son opacas a la energía de las microondas pero transparentes a la vista para poder observar el contenido del horno (Giese, 1992).

II.4.5 ¿CÓMO CALIENTAN LA COMIDA LAS MICROONDAS?

Los alimentos, en general, contienen agua en una proporción elevada. El agua está formada por moléculas polares. Esto quiere decir que se puede considerar a la molécula de agua como una estructura con dos polos en los extremos, uno positivo y el otro negativo.

Las microondas son capaces de *tirar* de los polos de las moléculas polares forzándolas a moverse. El sentido en que las microondas *tiran* de las moléculas cambia 2,450,000,000 veces por segundo. Esta interacción entre microondas y moléculas polares provocan el giro de éstas.

Las microondas hacen rotar más o menos eficientemente al resto de moléculas polares que hay en los alimentos además del agua. Las microondas sin embargo no tienen ningún efecto sobre las moléculas apolares (sin polos), por ejemplo, los plásticos. Tampoco ejercen efecto sobre sustancias polares en las que las partículas que las forman no tienen movilidad. En este grupo estaría el agua sólida, la sal común, la porcelana o el vidrio.

Una vez que las moléculas de agua presentes en los alimentos comienzan a girar, pueden transferir parte de esta energía mediante choques con las moléculas contiguas. Este mecanismo hará que, por conducción, todo el alimento acabe calentándose (Giese, 1992).

II.4.5.1 Funcionamiento

Cuando el horno se pone en marcha las microondas se dispersan por toda la superficie de los alimentos, introduciéndose en su interior hasta 2.5 cm de profundidad. En estas zonas es donde se produce la fricción entre las moléculas y un calentamiento muy rápido, el resto del alimento se calienta por contacto.

- **Calentamiento**

Ésta es la función más conocida de los microondas que, en muy poco tiempo, que siempre dependerá de la cantidad y de los tipos de alimentos, es capaz de calentar un plato ya preparado y sacado del frigorífico a la temperatura que se desee, sin tener ningún sabor a recalentado.

- **Descongelación**

Descongelar a través del microondas tiene ventajas importantes: La enorme rapidez, ya que se puede disponer de un alimento ultra-congelado en breves minutos para poder cocinarlo. Como el alimento se descongela tan rápidamente, la flora microbiana no tiene tiempo de reproducirse como en una descongelación lenta.

- **Cocción**

Una característica muy importante de estos hornos es que para cocer los alimentos no se necesita agua porque aprovechan la que está contenida en los mismos alimentos (Giese, 1992).

II.4.6 VENTAJAS DE LOS HORNOS DE MICROONDAS

- **Rapidez**

Las recetas las realiza en un tiempo mucho más corto del que se necesita con el horno tradicional.

- **Alimentos más sanos**

Como los alimentos se cuecen en su propio contenido en agua y a menos de 100 °C de temperatura, se pierden menos sales y se destruyen menos vitaminas.

- **Sabores más naturales**

Al cocerse los alimentos con su propia agua, no pierden ninguno de sus componentes y presentan sabores más naturales.

- **Comodidad**

Se elimina la utilización de ollas o cazuelas ya que se cocina en los mismos utensilios con los que después se puede comer. Por otra parte, limpiar el horno de microondas sólo requiere pasar un paño húmedo por las paredes.

- **Ahorro de energía**

En los hornos de microondas se distinguen dos tipos de potencia, la potencia absorbida que es la que consume la red cuando se enciende y la potencia de salida que es la energía eléctrica que se convierte en energía calorífica. La relación entre las dos suele ser del 50%; por lo tanto, supone un rendimiento más alto que el de los sistemas tradicionales como el horno eléctrico o las placas de cocción.

- **Potencia**

La potencia es directamente proporcional a la rapidez de transferencia de energía en el horno donde se harán los alimentos.

- **Niveles de potencia**

En cada horno comercial se puede encontrar unos símbolos que determinan el nivel de potencia que se necesita para las distintas funciones, por ejemplo, para descongelar, calentar o cocinar al 100% de potencia pueden realizarse estas funciones rápidamente (Cuadrado, 2000).

II.4.7 APLICACIÓN DE MICROONDAS EN LA INDUSTRIA

Con muchos procesos industriales se ha investigado la posibilidad de usar microondas, aunque no en todos se ha llegado a aplicar, por diversos motivos. La aplicación de microondas en la industria va en aumento, pero lentamente.

Algunos de los procesos industriales en los que se aplican las microondas son:

- Esterilización
- Pasteurización
- Escaldado
- Temperado y descongelado
- Secado
- Liofilización
- Panificación
- Productos cárnicos

En cuanto a costos, la inversión inicial puede ser alta, pero considerando que el ahorro de energía, de tiempo (mayor productividad y mayor variedad), y el posible valor agregado del producto final (mejor calidad, mayor vida de anaquel sin conservadores, etc.), menos mantenimiento y mayor facilidad de operación, esa inversión se recupera en poco tiempo (Giese, 1992).

Con base en estos antecedentes, se utilizará la energía de microondas para reventar granos de sorgo con la finalidad de disminuir los compuestos tánicos presentes en éstos. También se aplicarán dos de los métodos más utilizados para la determinación de taninos con el fin de evaluar el contenido de éstos antes y después del tratamiento aplicado así como un análisis químico proximal en granos reventados y sin reventar para evaluar el efecto del tratamiento sobre sus componentes.

En el siguiente capítulo se describe la metodología que se siguió y el equipo utilizado para esta investigación.

III. METODOLOGÍA Y EQUIPO UTILIZADO

III.1 METODOLOGÍA

En la Figura III.1 se muestra el diagrama general de la investigación para visualizar gráficamente las actividades realizadas en este trabajo y, posteriormente, se describe cada paso, presentado en la figura con números romanos.

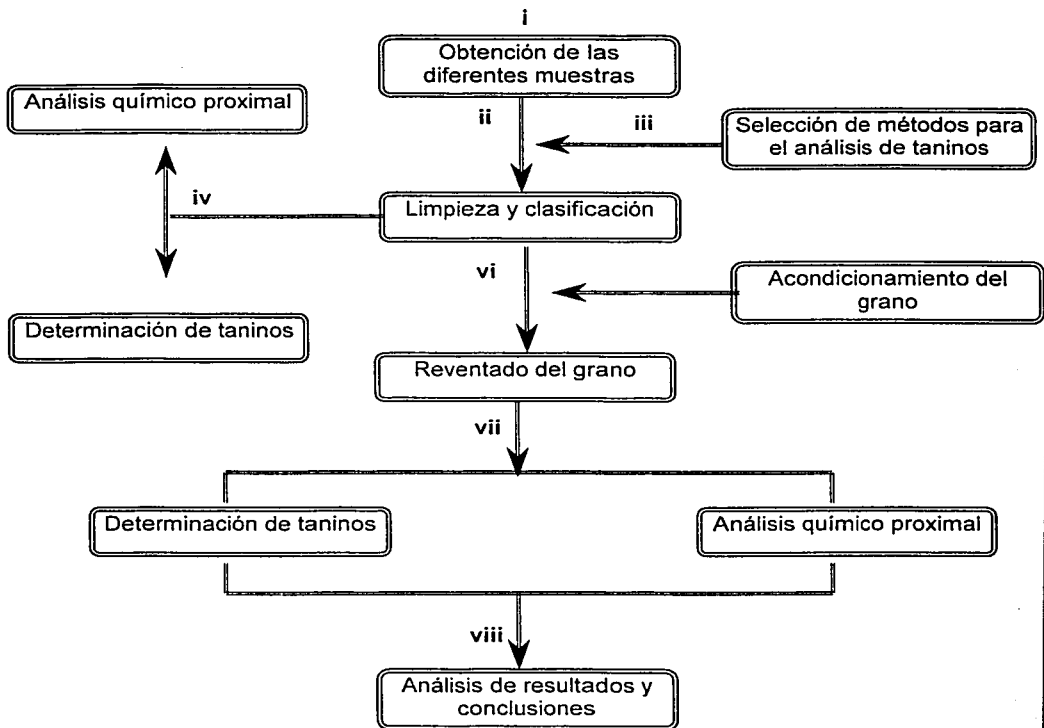


Figura III.1 Diagrama general de la investigación

i. SELECCIÓN DE LAS DIFERENTES MUESTRAS

Las muestras seleccionadas se obtuvieron de dos fuentes:

1) Central de Abastos. Se acudió a la Central de Abastos de la Ciudad de México, para adquirir el grano de sorgo. Los sorgos que se adquirieron eran de dos tipos: Rojo y blanco con la finalidad de comparar los niveles de taninos en ambos, pues se sabe que el sorgo blanco contiene bajos niveles de taninos, pero sólo se logró conseguir una mezcla de ambos granos. Por otra parte, también se les preguntó a los proveedores si sabían la procedencia del grano, a lo que respondieron que no lo sabían ya que les llegaba de diferentes estados de la República Mexicana.

2) PRONASE (Productora Nacional de Semillas), ubicada en Cuautla, Mor. En esta empresa se obtuvieron tanto sorgo blanco como sorgo rojo, ambos rotulados con la siguiente clave:

Sorgo rojo: RB-3030

Sorgo blanco: B-080

Para mayor facilidad, a las muestras obtenidas se les mencionará de la siguiente manera:

Sorgo blanco proveniente de PRONASE: SB

Sorgo mezclado proveniente de la Central de Abastos: SM

Sorgo rojo proveniente de PRONASE: SR

ii. LIMPIEZA Y CLASIFICACIÓN

La limpieza de los granos de sorgo se aplicó solamente en los granos obtenidos de la Central de Abastos, ya que presentaban una gran cantidad de materia

extraña que resaltaba a simple vista. Consistió en quitar tanto manualmente como con la ayuda de un tamiz, la materia extraña que consistió básicamente en: Piedras, paja y restos del costal. También presentaban una pequeña gluma alrededor del grano la cual también fue retirada manualmente. Se encontraron granos enteros y granos quebrados por lo que se seleccionaron sólo los enteros. También se observó que los granos no poseían un color homogéneo, es decir, había granos blanquiscos o amarillentos, ligeramente rojizos y rojos (en proporciones iguales). En este caso, por la cantidad de granos, no se seleccionó un color en específico ya que el objetivo era estudiar el grano tal como se comercializa.

Los granos obtenidos de PRONASE, se encontraron en buen estado, es decir, libres de cualquier materia extraña, glumas, enteros y de color homogéneo (rojo).

iii. SELECCIÓN DE MÉTODOS PARA EL ANÁLISIS DE TANINOS

De acuerdo a la bibliografía consultada, los principales taninos presentes en el grano de sorgo son los taninos condensados (Salunkhe *et al.*, 1989). Estos autores desarrollaron un método para su determinación, que es el método de la Vainillina-HCl.

Para evaluar la composición de taninos, también se eligió un método comúnmente utilizado, que es el método ISO 9648:1988 "Determinación de taninos en granos de sorgo" que determina fenoles totales (Hidalgo-Arroyo, 1999).

Cabe mencionar que se eligieron estos métodos para evaluar el contenido de taninos antes y después del tratamiento térmico aplicado. Los compuestos de interés son los que tienen impacto con la nutrición, es decir, los taninos condensados, pero sin dejar de evaluar la cantidad de compuestos fenólicos que contenga.

iv. DETERMINACIÓN DE TANINOS Y ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

Para estos análisis en granos sin reventar y reventados se tomó una muestra aleatoria de aproximadamente 1.5 kg (de cada tipo de grano), se sometió a molienda y, posteriormente, a tamizado.

De las harinas obtenidas se tomó una muestra representativa para realizar la caracterización del grano a través de un análisis químico proximal. Las determinaciones que se hicieron fueron las siguientes: Humedad, cenizas, proteína, grasa, fibra cruda y carbohidratos asimilables, todos basados en los métodos AOAC (1984) y todos por triplicado. Las metodologías de estas determinaciones se exponen en el Anexo "A".

De la misma harina se tomó de igual manera una muestra representativa para la determinación de taninos. La determinación se hizo por los dos métodos seleccionados y para cada tipo de muestra. La determinación fue por triplicado para cada caso. La descripción de los análisis de taninos se describen en el Anexo "B" y en el punto III.3 se describe la metodología para la curva patrón.

v. ACONDICIONAMIENTO DEL GRANO

Se realizaron diferentes pruebas preliminares para evaluar contenidos de humedad, tiempo de reventado y recipientes para el reventado que permitieran programar las mejores condiciones de operación.

Como resultado de estas pruebas preliminares, las condiciones en que se operó fueron: 13% de humedad, tiempo de 2.5 minutos (tiempo para preparar palomitas de maíz) y el recipiente adecuado fue una bolsa de papel de estraza.

vi. REVENTADO DEL GRANO

Se utilizaron aproximadamente 2 kg de cada grano. El reventado de los granos consistió, básicamente, en introducir lotes de granos (de 4 a 5 g) en una bolsa de papel de estraza. Posteriormente, se cerró la bolsa y se metió al horno de microondas a tiempo y potencia previamente determinados. Al término de éste, se clasificaron los granos, es decir, se separaron los granos que no reventaron y los granos reventados. Estos últimos fueron usados para estudiar el efecto del proceso de reventado.

vii. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

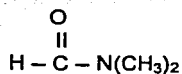
Se analizaron todos los resultados obtenidos empleando los métodos estadísticos clásicos para, posteriormente, obtener conclusiones y dar algunas recomendaciones.

III.2 DISOLVENTES PARA LA EXTRACCIÓN DE TANINOS

La extracción de los taninos es un paso muy importante para su cuantificación, sobre todo por el tipo de disolvente utilizado. A continuación se exponen las características de éstos para la extracción de taninos por cada método aplicado.

III.2.1 MÉTODO ISO 9648; 1988: DIMETILFORMAMIDA

La dimetilformamida al 75% se utiliza para la determinación de taninos, de acuerdo al método que se expone en la ISO 9648-1988 (International Standard Organization), y posee la siguiente estructura:



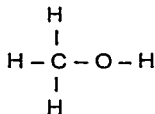
Dimetilformamida

Es un disolvente muy polar con una constante dieléctrica alta, aprótico, es decir, no tiene grupos OH, ni hidrógenos no ácidos y, lo más importante, es que la polaridad de este disolvente deja que éste y el compuesto orgánico, estén juntos en una mezcla de reacción homogénea. Extrae fenoles totales, es decir, taninos hidrolizables y condensados (Makkar y Becher, 1993).

III.2.2 MÉTODO VAINILLINA-HCl: METANOL AL 80% EN HCl AL 1%

Los taninos se extraen usando disolventes acuosos y orgánicos, principalmente metanol y acetona (Makkar y Becher, 1993).

Químicamente, el metanol es un disolvente orgánico de bajo peso molecular, con la propiedad de disolver azúcares, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos de bajo peso molecular.



Metanol

El metanol se ha usado de varias formas: Como metanol puro y metanol al 80% en HCl al 1%. Con metanol al 100% no existe un incremento en los taninos extraídos conforme aumenta el tiempo, mientras que con metanol al 80% en HCl al 1% se obtienen mejores rendimientos en su extracción, en comparación con el

mismo tiempo para metanol al 100% pero, su desventaja consiste en que si aumenta el tiempo de extracción (tiempo promedio), puede haber destrucción de taninos, debido a la presencia de HCl, es por eso que se considera que los taninos no son muy estables por largos periodos en este tipo de soluciones (Carmona *et al.*, 1991).

Una consideración importante para una buena extracción, es que los extractos, deben estar recién preparados, para evitar cambios en los taninos debido a que sí, se encuentran en soluciones viejas, el cambio más evidente es la oxidación (Makkar y Becher, 1993).

III.3 ELABORACIÓN DE LA CURVA PATRÓN PARA LA DETERMINACIÓN DE TANINOS

III.3.1 MÉTODO ISO 9648; 1988: DIMETILFORMAMIDA

La curva patrón se elaboró de acuerdo a la metodología descrita en el Anexo B.1.

De acuerdo al procedimiento seguido, la concentración de ácido tánico de referencia es de 0.2 g / 100 mL de solución, de la cual se toman 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mL y se aforan en un matraz de 25 mL. La escala así obtenida corresponde a 2, 4, 6, 8, 10, y 12 mg de ácido tánico:

$$0.2 \text{ g}/100 \text{ mL} \times 1 \text{ mL} = 2 \text{ mg ácido tánico}$$

Al aforar se tiene que:

$$0.2 \text{ g} / 100 \text{ mL} \times 1 \text{ mL} / 25 \text{ mL} = 0.00008 \text{ g} / \text{mL} \longrightarrow 80 \text{ } \mu\text{g} / \text{mL}$$

El intervalo obtenido es de 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a 560 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ácido tánico.

Con el resultado obtenido de la muestra se extrapola en la curva de regresión lineal de la curva patrón, para obtener la cantidad de ácido tánico presente:

Valor obtenido de absorbancia en la muestra: 0.085
valor obtenido al extrapolar en la curva: 43.041 μg
peso de la muestra: 1.011 g
por lo tanto:

$$(43.041 \text{ mg } \acute{\text{a}}\text{c. t}\acute{\text{a}}\text{nico} \times 100 \text{ g muestra}) / (1.011 \text{ g muestra}) = 4257.27 \text{ } \mu\text{g } \acute{\text{a}}\text{c. t}\acute{\text{a}}\text{nico} \\ \text{en } 100 \text{ g muestra}$$

$$4257.27 \text{ } \mu\text{g} \times 1 \text{ mg} / 1000 \text{ } \mu\text{g} = 4.257 \text{ mg } \acute{\text{a}}\text{c. t}\acute{\text{a}}\text{nico en } 100 \text{ g muestra}$$

Se realizó esta conversión para reportar los resultados de ambos métodos en las mismas unidades y así poder compararlos.

III.3.2 MÉTODO VAINILLINA-HCl

La curva patrón se elaboró de acuerdo a la metodología descrita en el Anexo B.2.

De acuerdo al procedimiento seguido, la concentración de (+)-Catequina de referencia es de 200 mg / 200 mL de solución, de la cual se toman 5, 10, 25 y 50 mL y se aforan en un matraz de 100 mL. La escala así obtenida corresponde a 5, 10, 25 y 50 mg de (+)-Catequina:

$$200 \text{ mg} / 200 \text{ mL} \times 5 \text{ mL} = 5 \text{ mg (+)-Catequina}$$

Al aforar se tiene que:

$$200 \text{ mg} / 200 \text{ mL} \times 5 \text{ mL} / 100 \text{ mL} = 0.05 \text{ mg /mL (+)-Catequina}$$

De igual manera que en el método anterior se interpola el valor obtenido de absorbancia de la muestra, se obtiene la concentración correspondiente en mg/mL y se hace la relación a 100 g de muestra.

III.4 EQUIPO UTILIZADO

El equipo utilizado en esta investigación se describen en el Cuadro III.1.

Cuadro III.1. Equipo utilizado en la investigación

EQUIPO	MODELO / MARCA
Horno de microondas	Panasonic
Espectrofotómetro	Spectronic 21
Mufla	Lindberg
Termobalanza	Ohaus
Molino	Brabender No. 175QE
Balanza analítica	Mettler Toledo
Centrifuga	Eppendorf refrigerada 5810R

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 DETERMINACIÓN DE TANINOS

IV.1.1 MÉTODO ISO 9648: 1988

En el Cuadro II. IV.1 se presentan los resultados de la curva patrón de ácido tánico, los cuales son el promedio de los análisis que se realizaron por triplicado. En la Figura IV.1 se muestra, tanto la gráfica como la regresión lineal, de la curva patrón de ácido tánico.

Cuadro IV.1 Curva patrón de ácido tánico

$\mu\text{g/mL}$ de ácido tánico	Absorbancia (525 nm)	Desviación estándar
0	0	0
80	0.109	± 0.0558
160	0.244	± 0.0148
240	0.324	± 0.0360
320	0.397	± 0.0374
400	0.501	± 0.1117
480	0.657	± 0.0042
560	0.754	± 0.0311

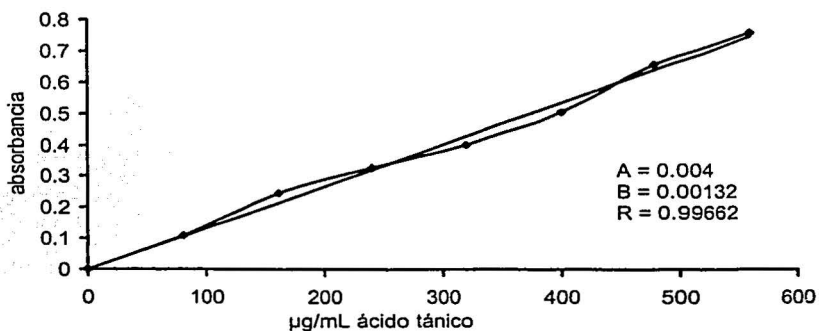


Figura IV.1. Regresión lineal entre absorbancia y concentración de ácido tánico

La Figura IV.1 muestra una regresión lineal que indica que, en el intervalo de concentraciones considerada de 0 a 600 µg de ácido tánico/mL, puede obtenerse la concentración de taninos a partir de una relación lineal ya que se tiene un coeficiente de correlación de 0.99662.

Los datos sobre el contenido de taninos de los granos de sorgo sin reventar y reventados evaluados por este método se presentan en el Cuadro IV.2.

Cuadro IV.2. Resultados obtenidos del análisis de taninos en sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado por el método ISO 9648: 1988

		SIN REVENTAR		REVENTADO		% DE REMOCIÓN POR REVENTADO
Tipo de sorgo	Ensayo	Absorbancia	mg/ác. tánico/100g muestra	Absorbancia	mg/ác. tánico/100g muestra	
SB	1	0.117	8.398	0.085	6.109	
	2	0.115	8.254	0.085	6.108	
	3	0.116	8.280	0.069	4.969	
	\bar{x}		8.310		5.728	31.071
	D. E.		± 0.0767		± 0.6578	
SM	1	0.190	13.690	0.098	6.705	
	2	0.211	15.575	0.100	7.509	
	3	0.213	15.723	0.099	6.773	
	\bar{x}		14.996		6.995	53.35
	D. E.		± 1.1334		± 0.4458	
SR	1	0.298	21.462	0.171	12.503	
	2	0.285	21.089	0.129	9.477	
	3	0.281	21.276	0.181	13.438	
	\bar{x}		21.275		11.806	44.50
	D. E.		± 0.1865		± 2.0704	

De los granos sin reventar el SB fue el grano que tuvo la menor cantidad de taninos (8.310 mg ácido tánico/mL), en los que se encuentran los taninos hidrolizables que son los que se cuantifican por este método. El SM presentó mayor cantidad de taninos (14.996 mg ácido tánico/mL) que el SB, pero menor que el SR (21.275 mg ácido tánico/mL). De igual forma, después del reventado, el SB presentó la menor cantidad de taninos (5.728 mg ácido tánico/mL) y el SM estuvo entre el SB (6.995 mg ácido tánico/mL) y el SR (11.806 mg ácido tánico/mL).

Estos resultados muestran que todos los granos, independientemente del color de su testa, contienen, por lo menos, taninos hidrolizables además de otros compuestos fenólicos.

Debe mencionarse que se están cuantificando también compuestos fenólicos que no pertenecen al grupo de taninos y que pueden ser compuestos fenólicos resultado de la caramelización de azúcares durante el reventado.

Después del reventado, se observa una disminución de taninos en todos los casos (31.07% para SB, 53.35% para SM y 44.50% para SR) lo que indica que el tratamiento sí está afectando a los compuestos fenólicos. No puede, sin embargo, hacerse un análisis comparativo entre taninos antes y después del reventado ya que pudiera estarse disminuyendo la cantidad de compuestos fenólicos que no pertenecen al grupo de taninos.

En la Tabla C.I del Anexo, se muestra un análisis estadístico en el que se busca observar si existe alguna diferencia significativa en el contenido de taninos antes y después del reventado en cada tipo de sorgo. Para los tres casos, sí existen diferencias significativas para las muestras antes y después del reventado al 1 y 5%, lo que indica que el tratamiento está afectando significativamente, tanto a los taninos como a los otros compuestos fenólicos y, en este caso, los está disminuyendo.

IV.1.2 MÉTODO VAINILLINA-HCL

En el Cuadro IV.3 se presentan los resultados de la curva patrón (+)-Catequina los cuales, son el promedio de tres análisis que se realizaron y, en la Figura IV.2, se muestra tanto la gráfica como la regresión lineal de la curva patrón de (+)-Catequina.

Cuadro IV. 3. Curva patrón de (+)-Catequina

mg/mL (+)-Catequina	Absorbancia	Desviación estándar
0	0	0
0.05	0.0145	± 0.0106
0.1	0.043	± 0.0014
0.25	0.1325	± 0.0346
0.5	0.286	± 0.0721

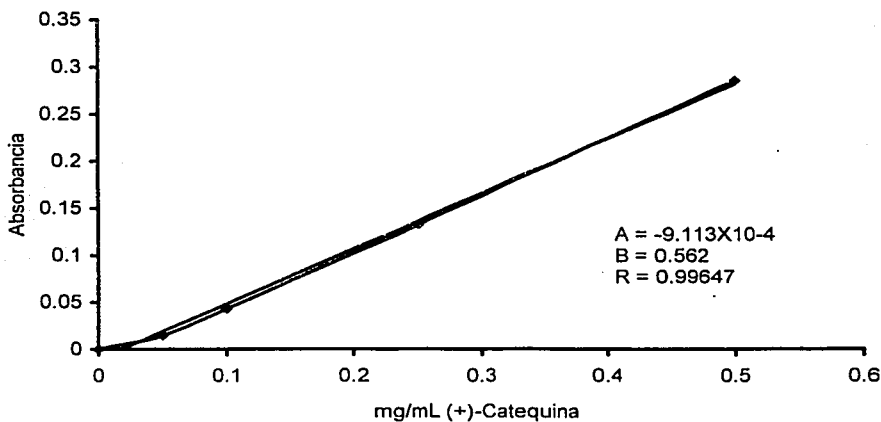


Figura IV.2. Regresión lineal entre absorbancia y concentración de (+)-Catequina

La Figura IV.2 incluye una región lineal que indica que, en el intervalo de concentraciones considerada, de 0 a 0.5 mg de (+)-Catequina/mL, puede obtenerse directamente la concentración con la absorbancia corroborándose con el coeficiente de correlación, el cual es de 0.99647, que son linealmente dependientes.

El contenido de taninos en granos de sorgo sin reventar y reventados se presenta en el Cuadro IV.4.

Cuadro IV.4. Resultados obtenidos del análisis de taninos en sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado por el método Vainillina-HCl

		SIN REVENTAR		REVENTADO		% DE REMOCIÓN POR REVENTADO
Tipo de sorgo	Ensayo	Absorbancia	mg/(+)-catequin a 100g muestra	Absorbancia	mg/(+)-catequina 100g muestra	
SB	1	0.00001	--	0.00001	--	
	2	0.00005	--	0.00005	--	
	3	0.00009	--	0.00001	--	
	\bar{x}		--		--	0
	D. E.		--		--	
SR		0.0055	3.908	0.0047	3.340	
		0.0049	3.482	0.0031	2.204	
		0.0045	3.096	0.0049	3.482	
	\bar{x}		3.495		3.008	13.93
	D. E.		± 0.4061		± 0.7004	
SR		0.013	6.247	0.013	6.260	
		0.016	7.203	0.015	6.752	
		0.016	7.202	0.014	6.432	
	\bar{x}		6.884		6.481	5.85
	D. E.		± 0.5516		± 0.2496	

Nuevamente, el contenido de taninos condensados en granos sin reventar y reventados fue aumentando desde SB hasta SR, con valores intermedios para el SM.

Estos resultados se dan en relación de la pigmentación del grano ya que, como se menciona en la bibliografía (Salunkhe *et al.*, 1989), el contenido de taninos condensados está en función del color de la testa del grano, es decir, a mayor pigmentación, mayor contenido de taninos y, en este caso, el sorgo pigmentado (SR) es el que contiene la mayor cantidad (6.481 mg(+)-Catequina). En contraste, el SB, el cual, no tiene la testa pigmentada, no presentó taninos condensados.

Después del reventado, el contenido de taninos condensados no se ve tan afectado, lo que indica que estos compuestos son resistentes al calor ya que disminuyen en 13.93% para SM y 5.85% para SR.

En el Cuadro C.II del Anexo se presenta un análisis estadístico para SM y SR antes y después del reventado en el que se observa que no hay diferencias en el contenido de taninos condensados a un nivel de de significancia del 1 y 5%; es decir, que el tratamiento no afecta significativamente el contenido de taninos condensados presentes en el sorgo.

Evaluando los dos métodos utilizados se puede decir que, el contenido de taninos, medidos por el método ISO, es mayor. De estos compuestos, no todos afectan negativamente el valor nutricional del sorgo. Por lo tanto, es difícil determinar el tipo de compuestos se están eliminando o disminuyendo. El método Vainillina-HCl determina taninos condensados, que son los que se desean disminuir para evitar el efecto negativo nutricional de los granos. Estos compuestos se encontraron en menor cantidad que los cuantificados por el método anterior. Los valores obtenidos resultaron bajos en comparación con los reportados por Salunkhe *et al.* (1989), que encontraron valores entre 3.6 y 6.8%.

Deben considerarse las probables interferencias que hay al analizar las muestras aunque, durante el desarrollo del análisis, no se presentó ninguna a simple vista; es decir, cambio de color, turbiedad en las muestras, etc. Sin embargo, puede haber interferencias que dependen de la naturaleza de los compuestos fenólicos, el método de extracción, el tamaño de partícula de la muestra, la localización de los taninos en el grano, el efecto del almacenamiento, la selección del estándar de referencia así como la caramelización de azúcares después del tratamiento térmico de reventado.

También se buscó minimizar el efecto del tiempo en el uso de los reactivos, ya que se prepararon minutos antes de utilizarlos como lo requería el procedimiento. Las muestras también se evaluaron inmediatamente después del tratamiento.

Este estudio muestra que los granos utilizados comercialmente, provenientes de la Central de Abastos de la Ciudad de México, presentaron bajo contenido de taninos. Debe recordarse que contenían granos con la testa ligeramente amarilla, ligeramente roja así como testa roja por lo que, aunque presentaron taninos hidrolizables, taninos condensados y demás compuestos fenólicos, su concentración es relativamente baja y, aunque están destinados principalmente a la alimentación de ganado (sorgo forrajero), nutrimentalmente, resultaron similares a las muestras de la literatura.

La muestra de sorgo blanco, proveniente de la productora de semillas, PRONASE, presentó sólo taninos hidrolizables y compuestos fenólicos. El sorgo rojo presentó estos compuestos, además de taninos condensados. Esto indica que, si se deseara, el grano blanco podría ser usado para consumo humano directo.

En cuanto a los métodos analíticos utilizados, el método ISO 9648 es un método muy utilizado para determinar taninos en sorgo; sin embargo, tiene como desventaja que sobreestima el contenido de éstos. El método Vainillina-HCl determina taninos condensados y, aunque es también utilizado, su empleo es más restringido que el método anterior, ya que su costo es un poco más elevado.

IV.2 ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL EN LAS DIFERENTES MUESTRAS DE SORGO SIN REVENTAR Y REVENTADOS

No se puede dejar de considerar la composición nutrimental del grano de sorgo y, en especial, la disponibilidad de proteína la cual puede ser afectada por el tratamiento aplicado. Por lo tanto, es importante verificar por medio de un análisis proximal el grado de afectación en el grano, por lo que se verifica el contenido de cenizas, proteína, grasa, fibra cruda y carbohidratos antes y después del tratamiento. Estos resultados se muestran en el Cuadro IV.5, reportados en base seca.

Para el análisis químico proximal en granos sin reventar se observa que en todos los casos su composición química es muy similar a la reportada en la bibliografía (El sorgo y el mijo en la nutrición humana, 1995) (Cuadro II.1), no habiendo aquí mayores diferencias en cuanto al tipo de sorgo.

Para evaluar el efecto del tratamiento sobre la composición nutrimental se realizó un análisis estadístico para comparar cada componente antes y después del reventado, el cual se presenta en la Tabla D.I del Anexo.

El contenido de cenizas, para SB y SR muestra una diferencia significativa al 1 y 5% y esto se puede justificar por el hecho de que al reventar el grano se separa una parte de éste, principalmente la capa externa, que es donde se concentran gran parte de los minerales (Salunkhe *et al.*, 1989).

El contenido de proteína muestra que no hay diferencia significativa entre sorgo sin reventar y reventado lo que indica que el tratamiento no afectó a este componente, el cual, es muy importante para la valoración nutrimental del sorgo. Después del reventado se muestra un leve aumento, tal vez, por la disminución de algunos compuestos fenólicos y taninos, los cuales interaccionan con las proteínas.

Cuadro IV.5. Resultados obtenidos del análisis químico proximal de sorgo blanco (SB), sorgo mezclado (SM) y sorgo rojo (SR) antes y después del reventado, en mg/g de muestra

Análisis	SB		SM		SR	
	Sin reventar	Reventado	Sin reventar	Reventado	Sin reventar	Reventado
Cenizas	19.31	17.64	14.55	16.34	18.23	10.30
<i>D. E.</i>	± 0.0168	± 0.0367	± 0.0474	± 0.0562	± 0.0710	± 0.0035
Grasa	34.227	34.166	34.10	34.303	37.91	37.602
<i>D. E.</i>	± 0.0942	± 0.0505	± 0.0721	± 0.2589	± 0.0132	± 0.5332
Proteína	101.810	102.066	99.60	99.819	99.61	99.878
<i>D. E.</i>	± 0.1009	± 0.0492	± 0.0080	± 0.0395	± 0.0856	± 0.2367
Fibra cruda	42.230	42.056	35.15	39.45	37.540	37.843
<i>D. E.</i>	± 0.2209	± 0.2168	± 0.0888	± 0.0450	± 0.0645	± 0.0247
Carbohidratos	802.421	804.070	847.325	840.959	806.638	814.375
<i>D. E.</i>	± 0.1550	± 0.2746	± 0.1809	± 0.0457	± 0.0517	± 0.7241

El contenido de grasa es muy similar en los tres tipos de granos sin reventar y reventados. Esto se pudiera deber a que la mayor parte de la grasa se encuentra, principalmente, en el germen y aleurona (Salunkhe *et al.*, 1989) que no se separan con el reventado. Estadísticamente, no se presentaron diferencias significativas antes y después del reventado para los tres tipos de sorgo lo que, de igual forma, muestra que el tratamiento no afectó a este componente.

La fibra cruda muestra variabilidad en su composición antes y después del reventado. Para el caso de SB no muestra diferencia significativa al 1 y 5%. Para SM sí la hay en ambos casos y, para SR, sólo la hay al 1%. La fibra cruda, que se encuentra principalmente en el pericarpio y endospermo (Salunkhe *et al.*, 1989),

debería disminuir en todos los casos pues, al reventar el grano, la cáscara o pericarpio podría perderse, sin embargo, no ocurre así en los tres casos.

Por otra parte, se mencionó en la metodología que, para el reventado, se acondicionaron los granos aumentando su humedad para facilitar así el reventado. El rendimiento de reventado fue de 62% para SB, de 60% para SM, y de 55% para SR, medido como % de granos reventados con respecto al total introducido al horno.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

V.1 CONCLUSIONES

Con base en este estudio sobre el contenido de taninos en granos de sorgo sin reventar y reventados se puede concluir lo siguiente:

- Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se encontró que, el contenido de taninos de las muestras en estudio depende de la coloración de su testa, así como de su procedencia.
- El contenido de taninos cuantificados en los granos de sorgo se encuentran en cantidades bajas en comparación con los reportados por Salunkhe *et al.*, (1989).
- Independientemente de su color, todos los granos de sorgo en estudio, contienen compuestos fenólicos y los granos que presentan pigmentos rojos presentaron compuestos tánicos condensables.
- El método ISO demuestra que el reventado de granos está disminuyendo algunos compuestos fenólicos que pueden o no, ser compuestos tánicos.
- El método ISO presenta diferencia significativa en el contenido de taninos entre sorgos reventados y sorgos sin reventar.
- El método Vainillina-HCl muestra que los taninos condensados no disminuyen significativamente con el reventado de granos; por lo tanto, este tratamiento térmico no es adecuado para evaluar taninos condensados.
- Los resultados del análisis químico proximal muestran que existen diferencias significativas a un nivel del 1 y 5%, principalmente, en el contenido de cenizas,

de fibra cruda y de carbohidratos después del reventado. Para las proteínas y grasas no la hay.

- En cuanto al tratamiento aplicado, éste presentó el inconveniente de que su rendimiento es muy bajo, es decir, el grano de sorgo, al ser de pericarpio o cáscara muy resistente, es muy difícil que reviente, por lo que, del 100% de granos que se sometieron al reventado, aproximadamente el 50% son los que reventaron.

V.2 RECOMENDACIONES

Con base en los resultados obtenidos se pueden sugerir las siguientes recomendaciones:

- El reventado de granos disminuye el contenido de algunos taninos (sobre todo hidrolizables) y de algunos otros compuestos fenólicos lo que puede contribuir positivamente en los sabores y colores indeseables para la elaboración de algunos productos alimenticios, es decir, se puede utilizar este tratamiento cuando se desee conseguir una eliminación parcial de los taninos presentes en el sorgo.
- Para seguir haciendo estudios relacionados con este tema, será necesario seguir investigando métodos de cuantificación de taninos más específicos y que presenten el menor número de desventajas.
- Será necesario investigar métodos o tratamientos más factibles para eliminar taninos condensados, que son los que mayormente afectan su valor nutrimental y que se encuentran, sobre todo, en el sorgo rojo.

- El sorgo blanco procedente de PRONASE (que es relativamente fácil de obtener), presentó bajo contenido de taninos condensados. Por lo tanto, se podría estudiar más a fondo su contenido de taninos, haciendo quizá pruebas biológicas para determinar más específicamente su valor nutrimental para consumo humano directo.
- De manera similar, el sorgo de la Central de Abastos, puede evaluarse con necesario realizar pruebas biológicas para determinar el valor nutrimental de sus proteínas ya que, como se mencionó antes, su contenido de taninos condensados es relativamente bajo, lo que pudiera beneficiar o no afectar considerablemente su valor nutrimental.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Alarcón, L. 1985. Evaluación biológica en tortillas elaboradas con mezclas de maíz-sorgo. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México, D. F. México.
2. Arteaga, J. y Ortiz-De-B., L. 1989. Evaluación nutricional de la proteína de seis cultivares de sorgo (Sorghum bicolor (L.) Moench). Fac. Agronomía UCV. Apdo. 4579 Maracay-2101-Aragua. Venezuela.
3. AOAC, 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 14^a Ed. William Byrd Press Inc. Arlington Virginia, EE.UU.A.
4. Betanzos, E. 1970. El sorgo en la alimentación humana. Perspectivas para México. Informe interno de investigación, Pub. INIA, Chapingo, México. México.
5. Carmona, A., Seidi, D. y Jafflé, W. 1991. Comparison of extraction methods and assay procedures of the determination of the apparent tannin content of common beans. J. Sci. Food Agric. 56: 291-301.
6. Claridades Agropecuarias. 1997. Sorgo. No. 46. Junio. www.infoaserca.gob
7. Claridades Agropecuarias. 1999. Ajo y Sorgo. No. 68. Abril. www.infoaserca.gob
8. Cruz, D., Chamizo, J. y Garritz, A. 1987. Estructura atómica. Editorial Addison-Wesley Iberoamericana, pp. 81-90. México D. F. México.
9. Cuadrado, J. C. 2000. Horno de microondas. www.ciencianet.com/microondas.html
10. Curtido. 2000. Flujoograma del proceso del cuero. www.cueronet.com/flujoograma/curtido_vegetal2.htm

11. Chávez-López, M. 1990. Aplicación de la energía de microondas en la industria de alimentos. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México D. F. México.
12. Darache, R. 1990. Toxicología y seguridad de los alimentos. Editorial Omega, Pp. 120-121, 234-247. Barcelona, España.
13. El sorgo y el mijo en la nutrición humana. 1995. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. www.fao.org/docrep/T0818S/T0818S0i.htm - 36k -
14. Enciclopedia de la ciencia y de la tecnología. 1971. Tomo II, Editorial Océano-Danae. Pp. 601. Barcelona, España.
15. Fernández-Mejía, J. C., Rosiles-Martínez, R., y González-Pérez, A. 1985. Cuantificación de taninos en muestras de sorgo (*Sorghum vulgare*) procedentes de 5 estados de la República Mexicana. Veterinaria 16: 1985. UNAM, México D. F. México.
16. Giese, J. 1992. Advances in microwave food processing. Special report, Food Technology, Sep.
17. Hidalgo-Arroyo, G. 1999. Adaptación y validación de métodos cuantitativos para determinar nitratos y taninos en muestras vegetales. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México D. F. México.
18. Linder, E. 1988. Toxicología de alimentos. 4ª edición. Editorial Acribia. Pp. 82-84, 176-184. México.
19. Lorenz, K. y Kulp, K. 1990. Handbook of cereal science and technology. Marcel Dekker Inc. Pp. 233-265. Barcelona, España.

20. Magalhães, C., Alvarenga, W. y Durães, F. 1999. Tanino no grão de sorgo. Bases fisiológicas e métodos de determinação.
www.cnpms.embrapa.br/circu27.html - 80k
21. Makkar, H. y Becher, K. 1993. Vainillin-HCl Method for condensed tannins: Effect of organic solvents used for extraction of tannins. J. Chemical Ecology, vol: II. Pp. 613-622.
22. Manual técnico y de producto: Sorgo. 2001.
www.viarural.com
23. Mena, H., Fuenmayor F., López, M., González, T., Georges E., y Jiménez, R. 1998. Híbridos tropicales, factores bióticos y abióticos como promotores de productividad en sorgo.
www.ceniap.gov.ve/jornadas/web/hmena.htm-9k
24. Reyes, E. 1985. Correlación entre el color de grano, contenido de taninos y la tolerancia al frío en sorgo. Tesis profesional, Universidad de Chapingo, Chapingo, México. México.
25. Salunkhe, K., Chavan, K. y Kadam, S. 1989. Dietary tannins: Consequences and remedies. CRC Press, Inc. Pp 10-15, 31-39, 55-68, 77-89.
26. Sánchez, M. 2000. Cultivo del Sorgo Granífero. Trabajo Práctico sobre sorgo.
www.monografias.com/trabajos/sorgo/sorgo.shtml - 101k -

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Diccionario de alimentos. 1990. 2ª Edición. Editorial Editia Mexicana, pp. 618. Barcelona, España.
2. Fennema, R. Food Chemistry 3a Edición. Dekker.
3. Gil-Franco, M. 2000. Efecto de los taninos del frijol negro en la mucosa intestinal de rata a nivel ultraestructural. Tesis profesional. UNAM, México D. F. México.
4. González-Pérez, M. 1987. Estudio comparativo de tres técnicas para la determinación de taninos y dos métodos viables para su eliminación en sorgo. Tesis profesional. UNAM, México D. F. México.
5. Gutiérrez, Y., Miranda, M., Varona, N. y Rodríguez, A. 2000. Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en Psidium guajaba. L. Revista Cubana Farm. 34(1): 50-5. www.bvs.sld.cu/revista/pla/vol34_1
6. Jaramillo, M., Peña, M., Angulo, I., León, A. Y Obispo, N. 1999. Valor nutricional de cultivares de sorgo granífero (*Sorghum Bicolor (L) Moench*) altos en taninos producidos en Venezuela. Zootecnia Tropical, Vol. XI N° 2.
7. Lastra, H., Rodríguez, E., Ponce de León, H., González, M. 2000. Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. Revista Cubana Plant Med. Vol. 5(1): 17-22. www.bvs.sld.cu/revista/pla/vol5_1
8. Sánchez, A., Register, U., Blankenship y Charles, C. 1981. Effect of microwave heating of soybeans on protein quality. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, XXXI (1) pp. 45-51.
9. Supercampo. 2001. De la huerta a la estancia. Año VII No. 82, Julio. www.supercampo.uol.com.ar/edicion_0082/nota_04.htm - 35k -

ANEXO

A. DETERMINACIÓN DEL ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

A.1 HUMEDAD

- Método de secado en la estufa

Pesar de 2 a 3 gramos de muestra preparada en un pesafiltro con tapa, que ha sido previamente pesado después de ponerlo a peso constante 2 horas aproximadamente a 130° C. Secar la muestra 2 horas a la estufa a 100 - 110°C. Retirar de la estufa, tapar y dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir las operaciones de secado hasta peso constante.

Calcular el porcentaje de humedad reportándolo como pérdida de peso por secado a 130°C.

$$\% \text{ de Humedad} = (A - B) \times 100 / m$$

donde:

A = peso de pesafiltro con muestra

B = peso de pasafiltro con muestra secada en estufa

m = peso de la muestra

A.2 CENIZAS (AOAC, 1980)

Pesar de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente pesado, después de ponerlo a peso constante 2 horas aproximadamente en la mufla a 600°C. Calcinar la muestra, primeramente con un mechero en la campana hasta que no se desprendan humos y

posteriormente meter a la mufla 2 horas. Cuidando que la temperatura no pase de 550 °C. Repetir la operación anterior si es necesario hasta conseguir unas cenizas blancas o ligeramente grises y homogéneas. Enfriar en desecador, pesar y calcular el porcentaje de cenizas por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = (A - B) \times 100 / m$$

donde:

A = peso del crisol con ceniza

B = peso de la cápsula vacía

m = peso de la muestra

A.3 GRASA CRUDA

• Método de Goldfisch

Poner a peso constante un vaso Goldfisch, en estufa a 100°C durante 2 horas con 2 o 3 perlas de vidrio.

Pesar de 4 a 5 gramos de muestra sobre un papel poroso, enrollarlo y colocarlo en un cartucho de celulosa, tapar con algodón. Ubicar el cartucho en un sostén o recipiente con el fondo perforado y colocarlo en el sostenedor del equipo.

Adicionar en el vaso Goldfisch aproximadamente 40 mL de éter etílico y colocarlo en el equipo mediante un anillo metálico con empaque. Subir la parrilla. Calentar hasta la completa extracción de la grasa. Quitar el vaso del equipo, secar en estufa a 100°C por 30 min, enfriar, pesar y recuperar el éter que se ha utilizado.

A.4 FIBRA CRUDA (AOAC, 1984)

Poner a peso constante dos crisoles Goosh con fibra de vidrio preparada, calentando a 600°C durante 30 min. Colocar 2 g de fibra de muestra (con un contenido de grasa < 1%) en un vaso especial de digestión de 600 mL, evitando cualquier contaminación con papel. Adicionar 1.5 - 2.0 g de fibra de vidrio preparada, 200 mL de una solución de ácido sulfúrico 1.25% caliente y unas gotas de antiespumante, así como piedras de ebullición. Realice el mismo procedimiento solamente con la fibra de vidrio, a manera de blanco. Coloque el vaso en el aparato de digestión con refrigerante, en el que la placa de calentamiento se encuentre preajustada (tal que 200 ml de agua deberán pasar de 25°C a ebullición en 15± 2 min). Deje hervir exactamente 30 min, rotando el vaso periódicamente para evitar que los sólidos se adhieran a las paredes. Remover el vaso del equipo y filtrar en un embudo buchner con vidrio poroso, enjuagar el vaso con 50 - 75 mL de agua caliente, usando succión ligera. Eliminar el exceso de agua por succión. Recuperar cuantitativamente el material del embudo y colocarlo de nuevo en el vaso de digestión. Adicionar 200 mL de solución de hidróxido de sodio 1.25% caliente y coloque en el aparato de digestión con refrigerante. Dejar hervir exactamente 30 min. Retirar el vaso del equipo. Filtrar con succión sobre el crisol Goosh con fibra de vidrio, a peso constante. Lavar con 25 mL de solución de ácido sulfúrico 1.25% caliente y con 3 porciones de 50 mL de agua. Deshidratar parcialmente con 25 mL de alcohol al 95%. Someter a secado en estufa a 130±2°C durante 2 horas, dejar enfriar en un desecador y pesar. Colocar en una mufla a 600±15°C durante 30 min, dejar enfriar en desecador y pesar de nuevo.

Calcular el porcentaje de fibra cruda como el material orgánico que resistió los tratamientos ácidos y básicos, en las condiciones descritas, después de corregir los valores con el tratamiento blanco.

$$\% \text{ Fibra} = (A - B) / m$$

donde:

A = peso del crisol Gooch después de 2 horas a 130°C menos el peso después de calcinar 30 min a 600°C

B = peso perdido en la determinación del blanco

m = peso de la muestra

A.5 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

• Método Kjeldahl

Se pesan de 0.5 a 1 g de muestra en un papel delgado, con todo y papel se introduce en un matraz Kjeldahl de 800 mL, se agregan 0.3 g de sulfato de cobre pentahidratado, 5 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 15 mL de ácido sulfúrico concentrado y se añaden perlas de vidrio. Se coloca el matraz en el digestor del equipo Kjeldahl y calentar hasta total destrucción de la materia orgánica, es decir, hasta que el líquido quede transparente. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente, diluir con 350 mL de agua destilada fría y enfriar sobre hielo.

En un matraz Erlenmeyer de 500 mL adicionar 50 mL de HCL 0.1 N y unas gotas de indicador (rojo de metilo). Colocar el matraz en el aparato de destilación cuidando de introducir la alargadera hasta el fondo de la solución.

Añadir lentamente y resbalando por la pared del matraz Kjeldahl 40 mL de una solución concentrada de hidróxido de sodio (1:1) que también ha sido enfriada sobre hielo. Adicionar polvo de zinc, conectar inmediatamente el matraz a la trampa de Kjeldahl y agitar hasta mezclar las dos capas.

Destilar aproximadamente hasta un volumen de 150 mL, Retirar el Erlenmeyer, lavar la alargadera recoger sobre el destilado las aguas de lavado. Titular el exceso de ácido con una solución de NaOH 0.1 N.

Efectuar una prueba en blanco empleando la misma cantidad de papel.

Calcular el % de proteína con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{mL blanco} - \text{mL problema}) \times N (\text{NaOH}) \times 0.014 \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

m

El % de proteína cruda se obtiene multiplicando el valor obtenido de % de Nitrógeno por el factor 6.25.

B. MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE TANINOS

B.1 MÉTODO DIMETILFORMAMIDA (DMF)

- Preparación de la curva patrón

1. Preparar 7 matraces volumétricos de 25 mL y añadir con micropipetas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mL respectivamente, de una solución estándar de ácido tánico 0.2 g / 100 mL, llevado a la marca de aforo con la solución de dimetilformamida.

2. Rotular 8 tubos de ensaye, el # 1 corresponde al blanco, al cual se le adiciona 1 mL de la solución de dimetilformamida.

3. A los restantes se les adicionan respectivamente 1 mL de las soluciones de ácido tánico previamente preparadas. El intervalo obtenido es de 80 μg a 560 μg de ácido tánico.

4. Añadir 5 mL de agua a cada tubo y mezclar. Después añadir 1 mL de solución de citrato férrico amoniacal 0.35 g / 100 ml, mezclar y posteriormente añadir 1 mL de solución de amoniaco 0.232 g / 100 mL.

5. Después de la última adición, agitar e introducir en baño de agua a temperatura controlada ($30 \pm 1^\circ\text{C}$) y mantenerlo 10 minutos para permitir el desarrollo óptimo de color.

6. Transcurrido el tiempo, transferir a celdas de medición y leer en el espectrofotómetro a 525 nm.

7. Trazar gráfica de absorbancia vs concentración de ácido tánico expresada como μg de ácido tánico.

- **Extracción de taninos**

1. Pesar de 0.3 a 1 g de muestra en vaso de precipitado de 50 mL.

2. Disolver con 20 mL de dimetilformamida medidos con probeta y agitar moderadamente en agitador magnético durante 60 minutos \pm 3 min.

3. Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 mL, enjuagando el vaso y magneto 3 veces con porciones de 1 mL de la solución de dimetilformamida. Llevar a la marca de aforo con el mismo reactivo y homogeneizar.

4. Transferir a un tubo de centrifuga de 50 mL, tapan el tubo y centrifugar a 2700 rpm, por 10 minutos \pm 1 min.

5. Decantar el sobrenadante en un vaso de precipitado y homogenizarlo.

• **Determinación (realizarla mínimamente por duplicado)**

1. Una vez obtenido el extracto de la muestra problema, rotular como mínimo 3 tubos de ensaye (uno corresponde al blanco y los restantes al problema).

2. Añadir los diferentes reactivos, en el orden presentado en el Cuadro A.1.

3. Mezclar perfectamente en un vórtex el contenido de los tubos después de cada adición.

4. Después de la última adición, agitar e introducir en baño de agua a temperatura controlada ($30 \pm 1^\circ\text{C}$) y mantenerlo 10 minutos para permitir el desarrollo óptimo de color.

5. Transferir a celdas de medición y leer en espectrofotómetro a 525 nm.

6. Mediante la ecuación de la línea recta obtenida con los datos de la curva patrón, determinar el contenido de taninos y reportar como % de ácido tánico.

Cuadro A.1. Reacción en los tubos de ensayo

Tubo	Muestra (mL)	H ₂ O (mL)	Citrato férrico amoniacal (0.35g/100 mL) (mL)	Amoniaco (0.232g /100 mL)
1 (Blanco)	1	6	1	-----
2	1	5	1	1
3	1	5	1	1

B.2 MÉTODO DE VAINILLINA-HCl

- **Preparación de la curva patrón**

1. Pesar 200 mg de catequina y transferirlos a un matraz aforado de 200 mL, llevar a la marca de aforo con metanol.

2. Tomar alícuotas de 5, 10, 25 y 50 mL de la solución y aforar a 100 mL con metanol.

3. Colocar 1 mL de cada una de las muestras anteriores en un tubo de ensayo de ± 15 mL.

4. Adicionar 5 mL de la solución de vainillina-HCl lentamente (en intervalos de 1 minuto hasta completar 20 minutos).

5. Preparación del control: Adicionar 1 mL de la muestra en un tubo de ensayo y agregar 5 mL de HCl al 4% en metanol, en intervalos de 1 minuto y posteriormente homogenizar.

6. Leer en el espectrofotómetro a 500 nm.

** Solución de vainillina-HCl resulta de la mezcla de HCl al 8 % en metanol y vainillina al 2% en metanol la cual debe ser preparada unos minutos antes de su uso.

- **Extracción de taninos**

1. Moler 10 g de sorgo lo más finamente posible.

2. Pesar 0.5 g de muestra y transferirlo a tubos de ensayo de 15 mL.
3. Adicionar 10 mL de HCl al 1% en metanol, tapar y agitar en vort x por 20 minutos.
4. Centrifugar a 1000 rpm por 8 minutos aumentando gradualmente (200, 400, 600, 800, 1000 rpm).

• **Determinación**

1. Tomar 1 mL de extracto y colocarlo en un tubo de ensayo de 15 mL.
2. Seguir el mismo procedimiento para la curva patrón desde el punto.
3. Determinar el contenido de taninos por medio de la curva patrón.

C. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS DE LA DETERMINACIÓN DE TANINOS POR EL MÉTODOS ISO 9648 ANTES Y DESPUÉS DEL REVENTADO

CUADRO C.I Análisis de varianza para la determinación de taninos por el método ISO, antes y después del tratamiento

	FV	SC	G.L.	M. C.	F _{CALCULADA}	F _{T�ORICA}
SB	Taninos	10.001	1	10.001	45.651	F _{1,4 (0.05) = 7.71}
	Error	0.876	4	0.219		
	Total	10.878	5			
SM	Taninos	96.008	1	96.008	129.565	F _{1,4 (0.01) = 21.20}
	Error	2.966	4	0.741		
	Total	98.974	5			
SR	Taninos	134.511	1	134.511	62.25	
	Error	8.642	4	2.160		
	Total	143.153	5			

+ Si $F_c > F_{teórica}$ existe diferencia significativa en el contenido de taninos por el método ISO 9648: 1988

CUADRO C.II Análisis de varianza para la determinación de taninos por el método Vainillina-HCl, antes y después del reventado

	FV	SC	G.L.	M. C.	F _{CALCULADA}	F _{TEÓRICA}
SM	Taninos	0.355	1	0.355	1.083	F _{1,4 (0.05) = 7.71}
	Error	1.311	4	0.327		
	Total	1.666	5			
SR	Taninos	0.122	1	0.122		F _{1,4 (0.01) = 21.20}
	Error	3.28	4	0.0305		
	Total	3.403	5			

+ Si $F_c > F_{teórica}$ existe diferencia significativa en el contenido de taninos por el método Vainillina-HCl

D. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS PROXIMAL EN SORGO ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

CUADRO D.I Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo blanco (SB) antes y después del reventado

FV	SC	G.L.	M. C.	F _{CALCULADA}	F _{TEÓRICA}
Cenizas	4.188	1	4.188	5584	F _{1,4 (0.05) = 7.71}
Error	0.0004	4	0.00075		
Total	4.191	5			
Grasa	0.00558	1	0.00558	3.91	F _{1,4 (0.01) = 21.20}
Error	0.0228	4	0.0057		
Total	0.0284	5			
Proteína	0.094	1	0.094	12.533	
Error	0.03	4	0.0075		
Total	0.124	5			
Fibra cruda	0.045	1	0.045	0.942	
Error	0.199	4	0.047		
Total	0.236	5			
Carbohidratos	4.078	1	4.078	82.3	
Error	0.1982	4	0.04955		
Total	4.277	5			

CUADRO D.II Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo mezclado (SM), antes y después del reventado

FV	SC	G.L.	M. C.	F _{CALCULADA}	F _{TEÓRICA}
Cenizas	4.806	1	4.806	1922.4	F _{1,4 (0.05)} = 7.71
Error	0.01	4	0.0025		
Total	4.816	5			
Grasa	0.00129	1	0.00129	5.019	F _{1,4 (0.01)} = 21.20
Error	0.00103	4	0.000257		
Total	0.00232	5			
Proteína	0.0719	1	0.0719	4.96	
Error	0.0579	4	0.0144		
Total	0.0751	5			
Fibra cruda	27.735	1	27.735	626.779	
Error	0.177	4	0.0442		
Total	27.912	5			
Carbohidratos	60.782	1	60.782	3473.25	
Error	0.07	4	0.0175		
Total	60.852	5			

CUADRO D.III Análisis de varianza para el análisis proximal en sorgo rojo (SR), antes y después del tratamiento

FV	SC	G.L.	M. C.	F _{CALCULADA}	F _{TEÓRICA}
Cenizas	94.327	1	94.327	2286.71	F _{1,4 (0.05)} = 7.71
Error	0.165	4	0.0412		
Total	94.495	5			
Grasa	0.141	1	0.141	0.991	F _{1,4 (0.01)} = 21.20
Error	0.569	4	0.142		
Total	0.710	5			
Proteína	0.108	1	0.108	3.42	
Error	0.126	4	0.0315		
Total	0.234	5			
Fibra cruda	0.157	1	0.157	16.97	
Error	0.037	4	0.00925		
Total	0.194	5			
Carbohidratos	89.784	1	89.784	311.2	
Error	1.154	4	0.288		
Total	90.838	5			

+ Si $F_o > F_{teórica}$ existe diferencia significativa en los componentes del sorgo antes y después del reventado