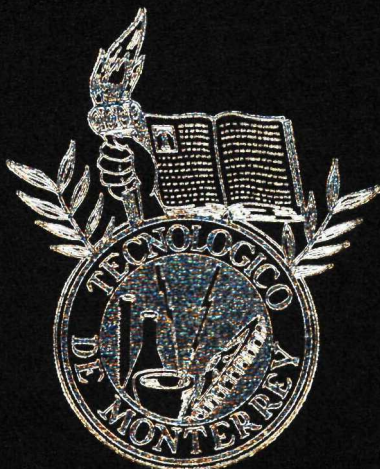


INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS
SUPERIORES DE MONTERREY

CAMPUS MONTERREY

DIVISION DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA
PROGRAMA DE GRADUADOS EN INGENIERIA



EFFECTO HIPOCOLESTEROLEMICO DEL SALVADO DE
SORGO TIPO III EN RATAS DE LABORATORIO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGIA

POR

RAQUEL ZORRILLA TEJADA

**INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE
MONTERREY**

CAMPUS MONTERREY

DIVISIÓN DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

PROGRAMA DE GRADUADOS EN INGENIERÍA



**EFECTO HIPOCOLESTEROLEMICO DEL SALVADO DE SORGO TIPO III EN
RATAS DE LABORATORIO**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
ACADÉMICO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

ESPECIALIDAD EN BIOTECNOLOGÍA

POR:

RAQUEL ZORRILLA TEJADA

MONTERREY, N.L.

DICIEMBRE DE 2002

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme llegar a éste momento

A mi esposo por todo su amor, apoyo, comprensión que siempre me ha brindado, y por fomentar siempre en mí ese espíritu de superación, somos un gran equipo Ricardo!

A mi hijo por todo su amor, su ternura y alegría y por darme toda esa fuerza para querer ser mejor cada día.

A mis padres por el amor y la fe que siempre han tenido en mí, por enseñarme que la educación es la mejor herencia que se puede tener.

A mis hermanos por todo su amor y por ser mi ejemplo a seguir.

Al Dr. Sergio Serna por permitirme formar parte de su grupo de investigación, por confiar en mí, por el apoyo y amistad que siempre me ha brindado.
Doc, tiene usted toda mi admiración y respeto!

A la Dra. Cecilia Rojas por su amistad, por todo su apoyo y sus consejos y por dedicarle tiempo a ésta investigación.

Al Dr. Marco A. Rito por sus consejos y por dedicarle tiempo a ésta investigación.

Al Dr. José Luis Vázquez por su gran ayuda en el trabajo experimental.

A la Ing. Irasema Romo por su invaluable ayuda a lo largo de la elaboración de éste escrito.

A mis compañeros y amigos por compartir conmigo todas las alegrías, tristezas y corajes que se vivieron a lo largo de la maestría Chrissanthy, Diana, Rebeca, Verónica, Gabriel, Alessandra, Janet , a todos ustedes gracias por su cariño y el ánimo que siempre me dieron.

DEDICATORIA

Con todo mi amor a mi esposo y a mi hijo

Con mucho amor a mis padres, hermanos y a toda mi familia

ÍNDICE

	Página
Índice general	I
Índice de tablas	III
Índice de figuras	V
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
LITERATURA REVISADA	8
Sorgo	
Morfología y química	8
Composición química	10
Valor nutrimental del sorgo	14
Utilización del sorgo	15
Compuestos fenólicos	15
Clasificación y propiedades	15
Usos de los compuestos fenólicos	19
Métodos de análisis	20
Colesterol y fracciones lipoproteicas	22
Propiedades y funciones	22
Biosíntesis del colesterol	24
Transporte del colesterol	27
Nivel de colesterol en plasma y enfermedades Cardiovasculares	30

Estudios <i>in vivo</i>	34
MATERIALES Y MÉTODOS	37
Obtención de los salvados	37
Caracterización de la materia prima	37
Composición química proximal	37
Determinación del perfil de compuestos fenólicos	37
Determinación de color	38
Obtención de fracciones de compuestos fenólicos	38
Elaboración de dietas	39
Estudio <i>in vivo</i>	40
Determinación de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo e hígado	42
Análisis estadísticos	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
Análisis de salvado de sorgo	45
Fracciones del salvado de sorgo tipo III	47
Elaboración de dietas	48
Estudio de crecimiento	48
Estudio metabólico	49
Absorción de compuestos fenólicos	50
Determinación de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo e hígado	52
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59

INDICE DE TABLAS

TABLA	Página
1) Composición química proximal del sorgo	9
2) Composición de los aminoácidos de las diferentes partes anatómicas del sorgo	12
3) Disponibilidad de diferentes minerales en el sorgo	14
4) Composición de las dietas utilizadas en los bioensayos expresados en porcentajes	39
5) Caracterización química y de composición de fenólicos de salvado de sorgo blanco ó tipo I y marrón ó tipo III	46
6) Rendimiento de extracción y composición de compuestos fenólicos del salvado de sorgo marrón ó tipo III extraído secuencialmente con diferentes solventes y la composición presente de los diferentes fenólicos en cada fracción.	47
7) Composición química proximal de las dietas utilizadas en los Bioensayos	48
8) Efecto del tipo de salvado y compuestos fenólicos en la digestibilidad de la proteína y de la materia seca	50
9) Porcentaje de absorción de diferentes compuestos fenólicos en el tracto gastrointestinal de las ratas de cuatro tratamientos a lo largo del estudio metabólico (9 días).	51

10) Absorción de diferentes compuestos fenólicos expresados en mg/día de los diferentes tratamientos realizado durante el estudio metabólico.	52
11) Efecto del tipo de salvado en la concentración de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo de ratas de laboratorio	54
12) Efecto del tipo de salvado en la concentración de colesterol total, HDL y LDL hepático determinado en ratas de laboratorio	55

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		Página.
1	Sección longitudinal de un grano de sorgo	9
2	Estructuras del ácido cinámico y ácido benzoico	17
3	Estructura básica de un flavonoide	18
4	Estructura de un tanino condensado	19
5	Estructura de la molécula de colesterol	23
6	Representación de la composición de la membrana celular	23
7	Biosíntesis del colesterol	25
8	Paso crítico en la biosíntesis del colesterol regulado por la HMG-CoA Reductasa	26
9	Representación de HDL y LDL	27
10	Proceso de endocitosis del LDL	29
11	Representación de los pasos 1,2, y 3 de la formación de una placa aterosclerótica en una arteria coronaria	32
12	Progreso de la formación de ateroma en la arteria coronaria	33
13	Formación de trombo o coágulo	33

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue observar los efectos que produce el salvado de sorgo tipo III sobre las fracciones lipoproteicas, principalmente colesterol total y lipoproteínas de baja densidad en suero y en hígado de ratas alimentadas con dietas elaboradas a base de éste salvado. Se establecieron las composiciones de las dietas que fueron isocalóricas, isoproteicas e isofibrosas en cinco tratamientos distintos en donde el contenido de salvado de sorgo tipo III fue variado. Se realizó la caracterización de los salvados de sorgo tipo I y tipo III, entre ellos, la determinación e identificación de grupos de compuestos fenólicos utilizando espectrofotometría ultravioleta, comprobando que existe mayor concentración de polifenoles en el salvado de sorgo tipo III.

Se alimentaron a un total de 35 ratas adultas Wistar divididas en siete bloques de cinco unidades experimentales durante 33 días. Al finalizar el tiempo de alimentación se procedió a sacrificar a las ratas se extrajo el hígado y se obtuvo la mayor cantidad de sangre posible. Se cuantificaron colesterol total y las fracciones lipoproteicas en suero y tejido hepático por un método enzimático.

Se determinó la composición química proximal y perfil de compuestos fenólicos de los dos salvados de sorgo en donde el salvado de sorgo blanco presentó mayor contenido de proteína total y de grasa, esto indicó que el salvado obtenido tuvo contaminación de germen y de endospermo.

El contenido de taninos condensados en el salvado de sorgo tipo III se encontró dentro del rango esperado para éste tipo ó clase de sorgo. Comparativamente el sorgo tipo I contuvo en términos prácticos un valor nulo de concentración de taninos.

Se realizó el fraccionamiento de los compuestos fenólicos en el salvado de sorgo tipo III, los resultados indicaron que la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en el mismo son hidrosolubles.

Después del análisis proximal a las dietas que se utilizaron en el bioensayo se comprobó que fueron isoproteicas, isograsosas e isofibrosas por consiguiente la

fuente de variación entre tratamientos fue la concentración y tipos de compuestos fenólicos.

Después de analizar la cantidad de fenólicos consumidos y los fenólicos excretados, se observó que no existió una diferencia significativa en la absorción de los mismos. En términos generales se absorbieron aproximadamente el 69.1 74.8 y 78.2 % de los fenólicos totales, flavonoles y antocianinas respectivamente de los tratamientos.

En las determinaciones de colesterol total, HDL y LDL en suero no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, en cambio en las mismas determinaciones pero en hígado se observó que el tratamiento de salvado de sorgo tipo III sí ejerció un efecto hipocolesterolémico ($P < 0.05$).

provenientes de los cereales en el mundo (Osagie, 1987). En Africa éste cereal es utilizado para la producción de una cerveza muy peculiar denominada opaca o "Kafir". Así mismo el sorgo es procesado en atoles fermentados y sin fermentar, tortillas, botanas, bebidas alcohólicas y no alcohólicas (Rooney *et al.* , 1980). En Centroamérica es utilizado para la producción de tortillas solas o mezcladas con maíz. Aunque su uso es limitado debido a que produce tortillas descoloridas que no son muy bien aceptadas (Serna *et al.* , 1988). Las condiciones en las cuales crece el sorgo son en zonas secas y de temperaturas cálidas. En México la producción de sorgo se ha ido incrementando, es el segundo cereal de mayor importancia en términos de producción. Se cultiva bajo buenas prácticas agronómicas y en grandes extensiones para abastecer la industria de la alimentación animal. A nivel nacional, se cultiva más del 15 % de las tierras destinadas a los cereales y contribuye con más del 20 % del total de cereales cosechados en el país (Serna, 1996). En el ámbito mundial, México ocupa el tercer lugar en producción de sorgo después de los Estados Unidos y de La India (FAO, 2002). El sorgo se clasifica en tres tipos con base a sus propiedades físicas y/o funcionales, tipo I o blancos, tipo II o rojos y tipo III o marrones. El sorgo tipo III tiene como característica distintiva que contiene taninos y por consiguiente un valor nutritivo menor que las otras clases (Serna, 1996).

En general todos los sorgos contienen compuestos fenólicos, los cuales afectan el color, la apariencia y la calidad nutrimental del grano y de los productos que se elaboren con el mismo (Hahn *et al.* , 1984). Los compuestos fenólicos pueden dividirse en tres grupos: los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. Todos los sorgos contienen ácidos fenólicos y la mayoría contiene flavonoides. Solamente los sorgos marrones ó tipo III, contienen taninos condensados (Hahn *et al.* , 1984).

Los taninos se encuentran concentrados en la testa del grano, tejido altamente pigmentado, con alto contenido de fibra, localizado por debajo del pericarpio y alrededor del endospermo, protegen al grano contra el ataque de insectos y de pájaros, aunque son considerados agentes antinutrimientales por su

capacidad de unirse a proteínas e inhibir la actividad enzimática (Serna y Rooney, 1995). Debido a lo anterior disminuyen la tasa de crecimiento, digestibilidad de la proteína y la eficiencia de conversión alimentaria. Aunque se ha visto que a bajas concentraciones estimulan la actividad enzimática (Maxson *et al.*, 1973). Klopfenstein *et al* (1981) experimentaron con grupos de cobayos alimentándolos con dietas a partir de trigo, avena, mijo y sorgo, observando que el grupo alimentado con la dieta basada en sorgo presentó un nivel de colesterol sanguíneo y hepático significativamente más bajo. En estudios que se realizaron con humanos provenientes de diversos países durante 7 años, Hertog *et al* (1995) concluyeron que la ingesta de flavonoides provenientes de los alimentos puede contribuir a las diferencias en mortalidad asociados con enfermedades coronarias. Así mismo, otros estudios con ratas (Nakamura *et al.* , 2000) señalan que al administrar oralmente flavonoides, tales como quercetina o rutina, no se observaron síntomas toxicológicos. Gorinstein *et al* (2000), trabajaron con ratas Wistar utilizando como tratamientos una dieta con persimonia entero y otra con persimonia libre de compuestos fenólicos. Los animales alimentados con persimonia entero tuvieron los niveles más bajos de colesterol. Chang *et al* (2001), estudiaron el efecto de inhibición de derivados de taninos aislados de hierbas medicinales tradicionales y encontraron un efecto hipolipidémico.

Se ha demostrado también que al alimentar a cobayos con una dieta a base de tomate se reduce el colesterol-LDL plasmático así como la concentración de triglicéridos debido a varios de los componentes de esta hortaliza que pueden actuar de modo aditivo o sinérgico, como son la fibra, proteína, aminoácidos libres, licopeno y otros antioxidantes (Friedman *et al.* , 2000).

Importantes desarrollos han ocurrido para la prevención y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, entre ellos el uso de una clase de medicamentos que disminuyen el colesterol, llamados inhibidores competitivos de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), que es la enzima clave en la biosíntesis del colesterol (Grundy, 1986). Las estatinas son un

grupo de compuestos químicos que se desarrollaron para inhibir la formación de colesterol en el organismo basados en el mecanismo de la inhibición de la HMG-CoA reductasa. Las estatinas, funcionan muy bien en la reducción del colesterol, sin embargo, hay individuos en quienes éste tratamiento no es completamente eficaz, o bien presentan efectos colaterales, como lo son la hepatitis medicamentosa y la rabdomiolisis (inflamación y destrucción de los músculos). Incluso el año pasado (2001), Laboratorios Bayer retiró voluntariamente el medicamento Baycol, del mercado que contiene como principio activo la cerivastatina. Esto debido a que 31 pacientes de los Estados Unidos murieron debido a que consumieron una sobredosis del medicamento (The Wall Street Journal, 2001). Además cabe mencionar el alto costo de estos medicamentos, por lo que no son de fácil acceso para toda la población. Estos datos hacen pensar que los compuestos fenólicos presentes en el salvado de sorgo tipo III puedan funcionar como terapia natural para inhibir a la HMG-CoA reductasa, y así poder formular alimentos nutracéuticos o bien generar nuevos medicamentos con compuestos activos naturales a partir del mismo.

Por lo tanto, el propósito de esta investigación fue el de evaluar si los compuestos fenólicos presentes en el salvado de sorgo tipo III tienen efecto hipolipidémico en suero sanguíneo e hígado de ratas Wistar. Así mismo se plantearon los siguientes objetivos particulares:

- a) Caracterización de dos tipos de salvado de sorgo (tipo I y III) especialmente en términos de composición de los diversos compuestos fenólicos.
- b) Realización de un estudio metabólico para determinar la digestibilidad de la proteína, la digestibilidad del alimento ó materia seca y calcular la absorción de compuestos fenólicos en el tracto gastrointestinal de ratas de laboratorio
- c) Evaluación del crecimiento y eficiencia de conversión alimentaria en ratas Wistar después del tiempo en que se les suministró el alimento.

d) Cuantificación de colesterol total, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero e hígado utilizando un método enzimático para comprobar que efecto ejercieron los salvados de sorgo.

LITERATURA REVISADA

SORGO

Morfología y química

El sorgo es un cereal de cariósida desnuda, aunque algunos tipos africanos retienen a sus glumas después de la cosecha. La cariósida consiste de tres componentes anatómicos distintos, el pericarpio que es la capa que recubre al grano, el germen (embrión) y el endospermo (tejido de reserva) (Serna y Rooney, 1995).

La capa externa denominada botánicamente y comúnmente pericarpio y salvado respectivamente se origina de la pared del ovario de la planta (Glennie *et al.*, 1984) y se divide en tres tejidos histológicos: epicarpio, mesocarpio y endocarpio (Earp y Rooney, 1982).

El epicarpio está cubierto por una delgada capa de cera, y está constituido por células que contienen material pigmentado. El mesocarpio puede contener gránulos de almidón y el endocarpio está constituido por las células tubulares y cruzadas. Cabe mencionar que el sorgo es el único cereal que puede contener gránulos de almidón en el mesocarpio. A estos tipos de sorgos se les denomina de pericarpio grueso. Estos tejidos son funcionales ya que por las células tubulares se conduce el agua durante la germinación y las células cruzadas impiden que el agua se pierda hacia el exterior del grano (Serna y Rooney, 1995). La testa denominada cubierta de la semilla se deriva de las integumentaciones del óvulo y solamente es pigmentada en sorgos tipo II y III que contienen fenólicos compuestos y taninos condensados respectivamente. El endospermo está compuesto de una capa de aleurona y áreas periféricas o de subaleurona, cornea y almidonosa. La estructura del sorgo se presenta en la figura 1.

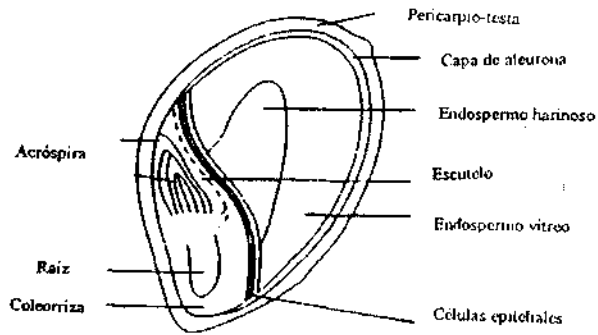


Fig. 1. Sección longitudinal de un grano de sorgo. Palmer (1992).

La composición química de la cariósida varía de acuerdo al medio ambiente donde se halla desarrollado. El pericarpio es rico en fibra, mientras que el germen es alto en proteína, aceite y cenizas. El endospermo contiene la mayoría del almidón y proteína con pequeñas cantidades de grasa y fibra (Serna y Rooney, 1995). La composición de nutrientes en el sorgo se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición Química Proximal del Sorgo ^{a, b}

Cereal	% Proteína (N x 6.25)	% Extracto etéreo	% Fibra cruda	% Cenizas	% ELN ^c	% Almidón
Sorgo	11.0 7.3 –15.6	3.2 0.5-5.2	2.7 1.2-6.6	1.8 1.1-4.5	81.3 68.1-89.9	70.8 55.6-75.2

^a Datos de Jambunathan et al (1984) , Hulse et al (1980), Lorenz (1983), Parvathy y Sadasivam (1982), Pore y Magar (1979). Citados por Serna y Rooney 1995.

^b Todos los valores están expresados en base seca.

^c Extracto Libre de Nitrógeno.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Carbohidratos

Los carbohidratos del sorgo están compuestos de almidón, azúcares solubles, pentosanos, celulosa y hemicelulosa. El almidón es el componente químico más abundante, mientras que los azúcares solubles y la fibra cruda son bajos (Serna y Rooney, 1995).

Almidón

El almidón representa entre un 50 y un 75 % del peso del grano. El almidón existe en gránulos altamente organizados en los cuales las moléculas de amilosa y amilopectina se mantienen unidas por puentes de hidrógeno. El almidón es la principal fuente de energía que se requiere para la germinación. Está compuesto por cadenas lineares de glucosa unidas por enlaces α -1,4 glicosídicos (amilosa) y cadena ramificadas de glucosa unidas por enlaces glicosídicos α -1,4 y α -1,6 (amilopectina). Los sorgos de endospermo regular contienen 75% de amilopectina y 25 % de amilosa mientras que los cerosos más de 95 % de amilopectina.

Azúcares solubles

El contenido de azúcares solubles en el sorgo en su estado maduro llega a ser entre 2.2- 3.8 %, 0.9-2.5 % de azúcares reductores libres y 1.3-1.4 % de azúcares no reductores (Serna y Rooney 1995, Murty *et al.* , 1985). Los azúcares solubles constan de un 75 % de sacarosa (Subramanian *et al.* , 1980). El total de azúcares solubles y azúcares reductores disminuye gradualmente conforme el grano va madurando.

Fibra

En general los cereales son una buena fuente de fibra. La fibra consiste de componentes endógenos de materiales de la planta, que son resistentes a la digestión por enzimas gástricas y pancreáticas presentes en el lumen del tracto gastrointestinal anterior de los monogástricos. Los principales componentes individuales son celulosa, hemicelulosa, lignina, pectinas y gomas, principalmente localizadas en el pericarpio y en las paredes celulares del endospermo donde tienen funciones estructurales y de protección (Serna y Rooney, 1995).

La fibra dietaria está dividida en soluble e insoluble. La mayor parte de la fibra dietaria en el sorgo es insoluble; debido a esto probablemente la fibra del sorgo no reduce el colesterol sanguíneo y la aterosclerosis como lo hace por ejemplo la fibra de la avena (Serna y Rooney, 1995). La alimentación con salvado de sorgo en humanos incrementa significativamente el peso de las heces, disminuye el tiempo de tránsito intestinal, e incrementa la frecuencia de evacuación (Fedail *et al.* , 1984).

Proteínas

El contenido de proteínas varía dependiendo del genotipo, de la disponibilidad de agua, de la fertilidad del suelo, temperatura y las condiciones del medio ambiente durante el desarrollo del grano. Las fracciones proteicas que contiene el sorgo son albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas. Aproximadamente el 80 % de la proteína del sorgo está localizada en el endospermo (prolaminas y glutelinas), 16 % en el germen y 3 % en el pericarpio (Taylor y Schussler, 1996). Las prolaminas son las que se encuentran en mayor cantidad (33.2 %), después siguen las glutelinas (32.8 %); estos dos tipos de proteínas se encuentran dentro de la matriz proteica del endospermo almidonoso (Serna y Rooney, 1995). Las albúminas y globulinas se encuentran principalmente asociadas con el germen. El aminograma típico del sorgo se reporta en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición de los aminoácidos de las diferentes partes anatómicas del sorgo ^a

Aminoácido (g/100 g proteína)	Grano Entero	Endospermo	Germen	Pericarpio
<u>Esencial</u>				
Fenilalanina	3.8 - 4.4	4.4 - 5.5	3.9 - 5.2	4.0 - 5.4
Histidina	1.7 - 2.6	1.7 - 2.5	2.6 - 3.4	1.7 - 2.8
Isoleucina	2.8 - 4.0	4.0 - 4.4	3.5 - 3.8	3.9 - 4.1
Leucina	12.2 - 13.1	14.2 - 13.8	7.8 - 7.5	9.0 - 8.1
Lisina	1.6 - 2.6	1.2 - 1.7	3.8 - 6.7	3.0 - 5.0
Metionina	1.5 - 1.7	1.3 - 1.5	1.0 - 1.3	1.1 - 1.1
Treonina	3.7 - 3.5	3.4 - 3.0	4.5 - 4.1	4.9 - 5.0
Valina	4.3 - 5.6	5.3 - 5.1	6.6 - 6.3	6.4 - 6.4
<u>No esenciales</u>				
Acido Aspártico	6.6 - 7.4	5.6 - 6.9	8.0 - 9.2	8.3 - 9.9
Acido Glutámico	18.6 - 19.7	19.5 - 20.8	14.0 - 14.2	12.4 - 11.9
Alanina	14.4 - 8.8	12.8 - 9.2	10.5 - 6.6	11.3 - 6.8
Arginina	2.6 - 3.6	2.2 - 2.9	6.9 - 8.9	4.1 - 6.8
Cisteína	1.1 - 1.4	0.8 - 1.5	1.1 - 1.7	1.6 - 2.0
Glicina	1.6 - 4.1	1.2 - 2.7	3.8 - 6.6	3.0 - 7.8
Prolina	9.7 - 8.8	9.9 - 9.3	5.2 - 5.1	6.4 - 6.0
Serina	6.5 - 3.9	5.5 - 3.9	7.0 - 5.1	7.2 - 5.6
Tirosina	2.6 - 3.3	2.1 - 3.7	1.8 - 3.5	2.1 - 3.7

^a Datos de Haikerwal y Mathieson (1971) y Taylor y Shusler (1986)

Estudios realizados en ganado así como en animales de experimentación indican que la proteína del sorgo es menos digestible que la de otros cereales (Serna y Rooney, 1995). Un estudio realizado con ratas, mostró que la digestibilidad comparativa entre la proteína del sorgo con endospermo intermedio y maíz que fue de 72 % y 78.5 %, respectivamente (Elmalik et al. ,1986a citado por Serna y Rooney 1995). Hahn et al. (1984) estudió el impacto negativo que tienen los taninos presentes en los sorgos tipo III sobre la digestibilidad *in vitro* de la proteína.

Lípidos

Los lípidos en el sorgo consisten principalmente de lípidos no polares y neutros (93.2 %) (Osagie, 1987). La composición de los lípidos no polares es dominada por los triglicéridos en un 85 % seguida por los diglicéridos. La composición típica de ácidos grasos de un aceite de sorgo es muy similar al de maíz y se encuentran en mayor cantidad los ácidos linoleico (18:2) y oleico (18:1) (Neucere y Sumrell, 1980). El sorgo contiene cerca de 1.5 ppm de carotenoides totales. Los carotenoides más identificados en los genotipos de endospermo amarillo son la zeaxantina, luteína, xantófilas y β -carotenos (Blessin *et al.* , 1962). Heupel *et al* (1986) determinaron que el mayor esteroles en el sorgo es el β -sitosterol seguido por el stigmasterol y dihidrobrasicaterol.

Vitaminas y Minerales

El sorgo es una buena fuente de vitaminas del complejo B, a excepción de la vitamina B12 que sólo se encuentra en fuentes de origen animal y levadura (Gazzaz *et al.* , 1989). Estas vitaminas se encuentran concentradas en la capa de la aleurona y en el germen. Las vitaminas liposolubles están localizadas en el germen. En general los cereales contienen tocoferoles como lo es la vitamina E. La decorticación y molienda para obtención de harinas o *grits* reduce muy significativamente los niveles de vitaminas y minerales.

El sorgo es una importante fuente de minerales. El mineral que se encuentra en mayor cantidad es el fósforo que está en su gran mayoría asociado con el ácido ftico y es indisponible para los monogástricos (Serna y Rooney, 1995). También es una buena fuente de potasio, sin embargo su contenido de calcio y sodio es insignificante. El germen del sorgo contiene un 69 % del total de los minerales en el grano, el endospermo contiene 21 % y el salvado 11% (Hubbard *et al.* , 1950). La disponibilidad de los minerales en el sorgo se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Disponibilidad de diferentes minerales en el sorgo^{a b}

Mineral	Disponibilidad mineral (%)
Fósforo	59.8 b
Calcio	60.0 b
Magnesio	55.6 b
Potasio	62.1 a
Cobre	58.2 b
Zinc	2.6 c
Hierro	4.0 b
Manganeso	42.6 c

^aAdaptada de Nwokolo (1987) y Serna y Rooney, (1995).

^bValores en la columna que no tengan la misma letra son significativamente diferente a $P < 0.05$.

VALOR NUTRIMENTAL DEL SORGO

En general se estima que los cereales aportan más del 50 % del total de las calorías consumidas por la población humana, pero se considera que estos mismos tienen una baja calidad proteica (Serna, 1996). El amino ácido limitante en

el sorgo es la lisina seguido por la treonina. El sorgo aporta aproximadamente el 50 % de la lisina requerida por un niño en edad pre-escolar (Serna, 1996).

Los cereales poseen una buena cantidad y calidad de fibra necesaria para el buen funcionamiento gastrointestinal. Algo que hay que considerar en el valor nutrimental de los cereales es el procesado de los mismos ya que durante la molienda, germinación y cocimiento ácido o alcalino se alteran la composición y la disponibilidad de los nutrientes; los procesos de molienda bajan la cantidad de fibra, vitaminas, y minerales (Serna, 1996). El valor nutrimental del sorgo se puede aumentar, mediante la remoción del pericarpio y testa, incrementando la calidad de las proteínas y disponibilidad del almidón (Rooney *et al.* , 1970).

UTILIZACIÓN DEL SORGO

El sorgo se decortica para utilizarse directamente o se procesa en *grits* o en harina en África y Asia (Serna, 1996). Los alimentos tradicionales alrededor del mundo que están elaborados en base de sorgo son los siguientes: atoles fermentados y sin fermentar (tô, Ogi, Ugali), pan sin fermentar (Roti Hindú), tortilla en Centro América y pan fermentado en Sudán e India. El "Injera" que consiste de un pan fermentado plano es el alimento más consumido en Etiopía. Además existen diversos productos de harina de sorgo cocido, botanas, bebidas alcohólicas y no alcohólicas en África (Rooney *et al.*,1986). En México la producción de sorgo básicamente se destinan para la alimentación animal, especialmente de aves de postura o pollos de crecimiento.

COMPUESTOS FENÓLICOS

Clasificación y Propiedades

El sorgo produce un tipo de compuestos fenólicos poliméricos conocidos como taninos, todos los sorgos contienen fenoles y la mayoría contienen flavonoides, pero solamente los cultivares con testa pigmentada como lo son los sorgos tipo III producen taninos condensados (Serna y Rooney, 1995).

624771

Los taninos protegen al grano contra el ataque de insectos, pájaros y otros agentes bióticos del medio ambiente (Waniska *et al.*, 1989). También los taninos pueden afectar el color, sabor y calidad nutrimental del grano y el de sus productos elaborados (Hahn *et al.*, 1984). Los taninos son considerados agentes antinutrientales ya que se unen fuerte y específicamente a ciertas proteínas formando complejos inactivos e inhiben la actividad enzimática en ensayos *in vitro* (Hagerman y Butler, 1981).

El mayor efecto antinutricional de los taninos en ratas, cobayos, aves y rumiantes son la disminución en la tasa de crecimiento, digestibilidad de la proteína y en la eficiencia de conversión alimentaria (Knabe, 1990).

Los compuestos fenólicos son un grupo de compuestos que estructuralmente poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua. Debido a la naturaleza aromática estos compuestos muestran intensa absorción en el espectro UV (Lock, 1994).

Los compuestos fenólicos se dividen en tres grupos básicos:

*Ácidos fenólicos

*Flavonoides

*Taninos

Los ácidos fenólicos son derivados del ácido benzoico ó ácido cinámico. Las estructuras se presentan en la Figura 2.

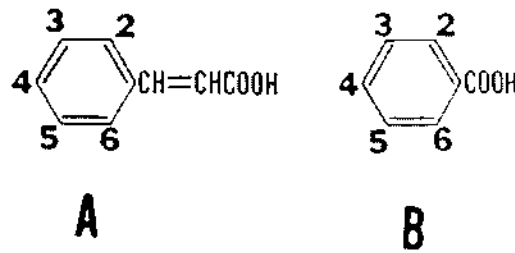


Fig. 2. Estructuras del ácido cinámico (A) y ácido benzoico (B).Hahn et al., (1984).

Los grupos hidroxilos (OH) ó metoxi (OCH₃) son sustituidos en varios lugares en el anillo aromático (Hahn *et al.*, 1984). En los cereales los ácidos fenólicos son ácidos libres, solubles y ésteres insolubles, y se encuentran concentrados en las capas externas del grano (pericarpio, testa y aleurona).

El mayor ácido fenólico unido en el sorgo, es el ácido ferúlico (3-metoxi-4-hidroxi-ácido cinámico), el cual está asociado a la pared celular (Hahn *et al.*, 1984). Los ácidos fenólicos no afectan adversamente la calidad nutrimental del sorgo, pero forman colores indeseables en los productos alimenticios preparados.

Los flavonoides son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales. Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema de C₆-C₃-C₆ (figura 3), en el cual dos anillos aromáticos A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo (Lock, 1994).

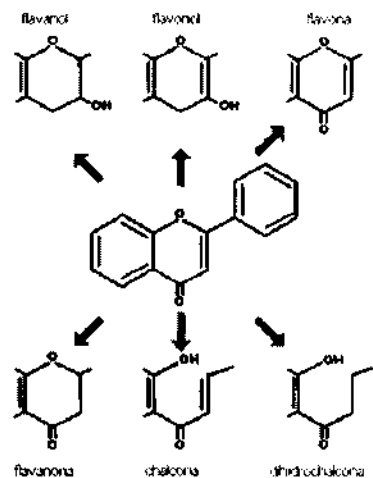


Fig. 3. Estructura básica de un flavonoide con algunas de las sustituciones que se pueden presentar en el anillo central. 2001 A.M. Licensed to About.Inc.

Los tres principales grupos de flavonoides son las flavonas, flavonoles y flavanas; El mayor grupo en el sorgo son las flavanas, y la que se encuentra en mayor cantidad en el mismo es las Flavan-3-en-3-ol, también llamadas antocianidinas. Las antocianidinas se encuentran principalmente en su forma ionizada (Hahn *et al.*, 1984). Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glucósidos, aún de las diferentes clases siendo los glucosidados los más comunes.

Estos compuestos son solubles en agua y en etanol, y poseen una intensa absorción en la región del espectro ultravioleta y visible debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados (Lock, 1994). Los taninos son un grupo de compuestos fenólicos encontrados en muchas plantas, fueron nombrados así debido al proceso de curtido ("tanning") de pieles. Hay dos clases de taninos los hidrolizables y los condensados (Hahn *et al.*, 1984) (Figura 4).

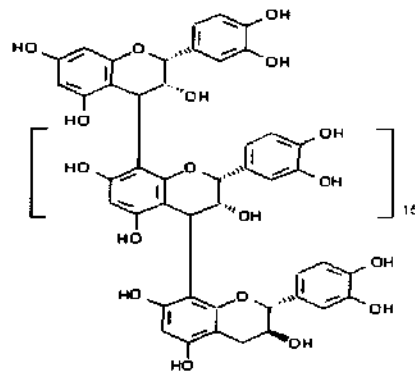


Fig. 4. Estructura de un tanino condensado. Hahn et al., (1984).

Los taninos hidrolizables se rompen en un azúcar y un ácido fenólico cuando se tratan con ácidos, bases o bien enzimas hidrolíticas. Solamente los taninos condensados, resultantes de la unión de unidades de flavan 3-ol se han encontrado en el sorgo. Estos polímeros se conocen como proantocianidinas debido a que se liberan antocianidinas cuando se tratan con ácidos minerales (Hahn et al., 1984).

Los taninos son los compuestos fenólicos más abundantes que se puede extraer del sorgo tipo III, y se encuentran principalmente en la testa y en el pericarpio del grano o cariósido.

Usos de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, específicamente los flavonoides, se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas, otros flavonoides se han utilizado como edulcorantes e insecticidas naturales, etc.

La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades contra la fragilidad capilar, dilatadores de coronarias, espasmolítica, antihepatotóxica, colerética, estrógena y diurética. Hay que

destacar también la actividad antimicrobiana de algunos flavonoides y otros fenoles y fungitóxica de las isoflavonas (Lock, 1994). Asimismo, debido a la afinidad de los taninos con las proteínas son considerados agentes antidiarreicos ó protectores del aparato digestivo. También ejercen un efecto antihemorrágico. reportan que los taninos del persimonio son efectivos agentes detoxificantes contra el veneno de víbora y toxinas bacterianas. Los taninos en altas concentraciones generalmente inhiben la actividad enzimática, pero a bajas concentraciones pueden estimularla (Maxson *et al.*, 1973).

La inhibición de la mutagenicidad de varios carcinógenos por los taninos ha sido parcialmente atribuida a la unión de taninos con esos compuestos. La inhibición de la autooxidación de sustancias coexistentes por los taninos, se ha visto que es debido a la estructura polifenólica que puede producir radicales libres.

Se ha estudiado también el efecto hipocolesterolémico que presentan derivados de compuestos fenólicos provenientes de semillas, frutas, vegetales o hierbas (Wallace *et al.*, 1998; Friedman *et al.*, 2000; Nakamura *et al.*, 2001).

Métodos de Análisis

Para llevar acabo un análisis de compuestos fenólicos, se requiere primeramente de un tratamiento previo para la identificación.

Las técnicas recomendadas son:

1) Técnicas de extracción

Los solventes empleados en la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como el agua y etanol para glucósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como el éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. Así como combinación de solventes polares acidificados obteniendo rendimientos satisfactorios (Ziehl *et al.*, 2002).

2) Técnicas cromatográficas

Existe la cromatografía en papel que es la más antigua y aún sigue siendo utilizada para la identificación de compuestos fenólicos. La cromatografía en capa fina ha sido utilizada en adsorbentes como celulosa, poliamida y gel de sílica en diferentes sistemas de elución de acuerdo al tipo de compuesto que se quiere identificar.

La detección de flavonoides en cromatografía en papel y en capa fina puede hacerse por el color que desarrollan cuando se exponen a la luz visible o ultravioleta apareciendo como manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas, púrpuras y otras. Existe también el uso de cromatografía de líquidos de alta resolución para poder identificar y cuantificar de manera más específica a estos compuestos (Lock, 1994).

3) Ensayos Colorimétricos

*Método Folin-Dennis (método de Folin-Ciocalteu)

La reacción se basa en la reducción del ácido fosfomolibdico por los fenoles en una solución acuosa alcalina. El método determina los grupos fenólicos libres y por lo tanto se determinan los fenólicos totales solubles, el inconveniente de éste método es que no se puede diferenciar entre taninos y la mayoría de los compuestos fenólicos que no lo son, pueden haber interferencias debidas a compuestos como el ácido ascórbico, tirosina y posiblemente la glucosa (Waterman y Mole, 1994).

*Método de Vanillina-HCl

Es una reacción exógena, específica para proantocianidinas o taninos condensados. La vanillina reacciona con el anillo A del flavanol (Hahn *et al.*, 1984) para formar un compuesto cromóforo, el número de flavanoles es proporcional a la absorbancia de la solución. Algunos problemas con ésta técnica

son que los flavanoles de bajo peso molecular sobrerreaccionan y los polímeros largos son subestimados; como la catequina se utiliza como estándar, éste monómero da la máxima densidad óptica a 500 nm generando una subestimación de los polímeros largos (Waterman y Mole, 1994).

*Método de Butanol-HCl

Es específico para taninos condensados. Es una reacción endógena, el método involucra la despolimerización de los taninos condensados por la acción del HCl en butanol para obtener un color rojizo que puede ser detectado espectrofotométricamente en el visible. El grado de polimerización de los taninos puede ser estimado utilizando una combinación de técnicas, la de butanol-HCL y el ensayo de vanillina. El ensayo de butanol ácido mide el número total de residuos de flavonoides presentes y el ensayo de vanillina cuantifica el número de moléculas. Este ensayo también se utiliza para calcular la cantidad de taninos insolubles de residuos de extracción o de residuos de fibra detergente neutra (Waterman y Mole, 1994).

*Método Glories Modificado

Se utiliza para cuantificar el contenido de fenólicos totales, flavonoles, ésteres tartáricos y antocianinas a partir de un mismo análisis. El ensayo se basa en la extracción ácida de los fenólicos en etanol y realizar las lecturas de las absorbancias a 280 nm para la estimación de los fenólicos totales, 320nm para estimar los ésteres tartáricos, 360 nm para estimar los flavonoles y 520 nm para estimar las antocianinas (Mazza *et al.*, 1984).

COLESTEROL Y FRACCIONES LIPOPROTEÍCAS

Propiedades y funciones

El colesterol es un constituyente vital de las membranas celulares y es precursor de las hormonas esteroideas y de los ácidos biliares (Bohinski, 1991),

es un compuesto insoluble en agua y soluble en solventes orgánicos y consta de un total de 27 átomos de carbono arreglados en una estructura formada por varios anillos, como lo muestra la figura 5.

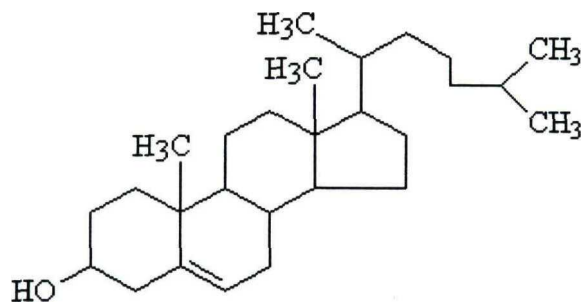


Fig. 5. Estructura de la molécula de colesterol.

El colesterol es requerido por todas las células animales para el crecimiento y mantenimiento, siendo una de sus funciones en las células el de proporcionar cierta rigidez a la membrana celular (Myant, 1990).

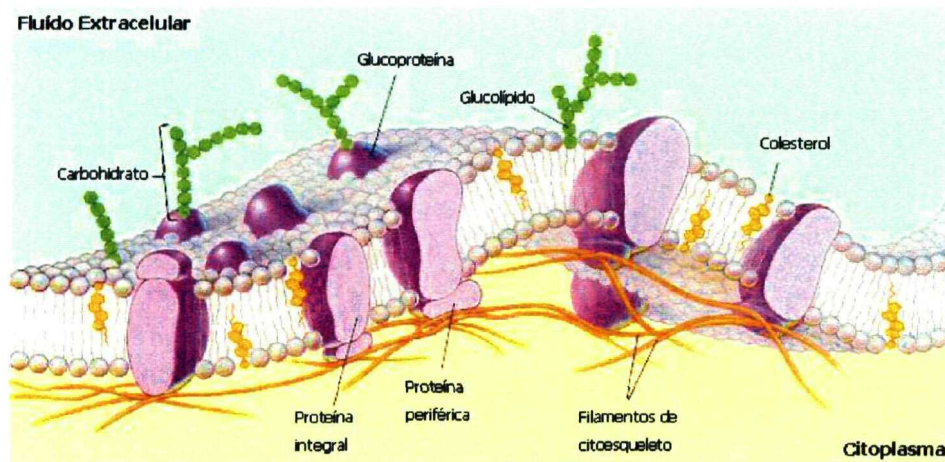
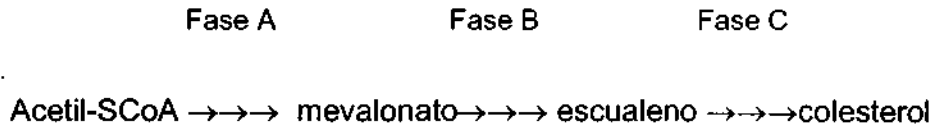


Fig. 6. Representación de la composición de la membrana celular. Chiras (2000).

El colesterol es requerido por el hígado y el intestino como un componente esencial de las lipoproteínas. La forma en la que el colesterol se encuentra en el organismo humano es libre, cerca del 90 % del colesterol total corporal está presente como colesterol libre en las membranas celulares, mielina y en el capa polar de las partículas de lipoproteínas plasmáticas (Myant, 1990).

Biosíntesis del colesterol

La secuencia global de la reacción de acetil-S-CoA → Colesterol se puede dividir en tres fases.



En la fase A se condensan tres unidades de acetil-S-coA para formar ácido mevalónico. En esta fase se forman primero la acetoacetil-S-coA y luego la β -hidroxi- β -metilglutaril-S-coA.

En la Fase B, la β -hidroxi- β -metilglutaril-S-coA es reducida por la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductasa a mevalonato, que es activado primero por un trío de ciclasas dependientes del ATP para formar 3-fosfo-5-pirofosfomevalonato, esta sustancia es muy inestable y después de una descarboxilación y una desfosforilación se convierte en pirofosfato de isopentilo (C5), que se isomeriza para formar dimetilalilpirofosfato (C5). La condensación de estos dos metabolitos intermedios produce pirofosfato de geranilo (C10), el cual se condensa con otra molécula de pirofosfato de isopentilo para formar pirofosfato de farnesilo (C15). Después de una isomerización los dos isómeros de C15 se condensan para formar escualeno (C30) (Bohinski, 1991).

En la última fase de la formación del colesterol a partir del escualeno el mecanismo es muy complejo. Se ve mediado por una serie de reacciones catalizadas por diversas enzimas que van incorporando los carbonos del escualeno, asimismo pérdidas de algunos átomos de carbonos para finalizar la síntesis con la estructura cíclica final del colesterol. Una esquematización condensada de la biosíntesis del colesterol se presenta en la Figura 7.

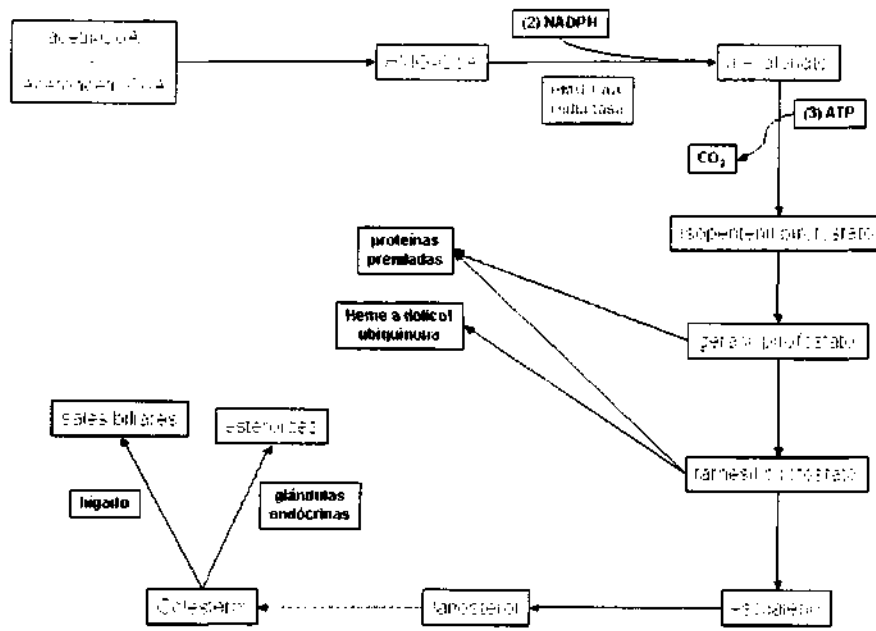


Fig. 7. Biosíntesis del colesterol. King (1996).

Dentro de la biosíntesis del colesterol, está una enzima clave que se mencionó anteriormente y que es la β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa). La síntesis de ésta es aminorada por el propio colesterol como parte de un mecanismo de retroinhibición, así mismo puede considerarse un mecanismo a corto plazo, ya que inhibe la actividad de la reductasa que ya estaba presente (Bohinski, 1991). Los medicamentos que ayudan a controlar o bajar el colesterol sanguíneo se basan en la inhibición de ésta enzima.

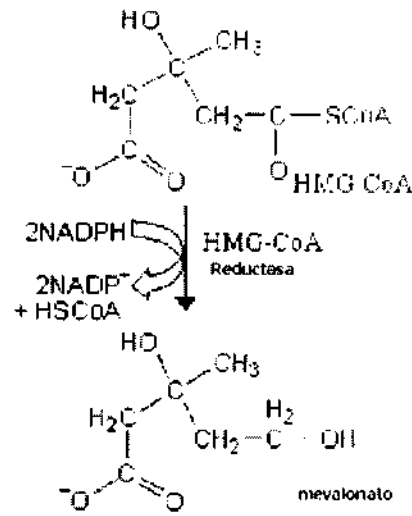


Fig. 8. Paso crítico en la biosíntesis del colesterol regulado por la HMG-CoA reductasa. Diwan (2001).

Un adulto saludable, sintetiza colesterol en una concentración aproximada de 1g/día y consume aproximadamente 0.3g/día. El nivel de colesterol normal en el cuerpo es controlado por el nivel de síntesis *de novo*. La síntesis del colesterol es regulado en gran parte por la ingesta en la dieta (King, 2000). La regulación de la actividad de la HMG-CoA reductasa se lleva a cabo por tres distintos mecanismos:

- Control de la expresión del gen.
- Proporción de la degradación de la enzima.
- Fosforilación y desfosforilación de la enzima.

La HMG-CoA reductasa es más activa cuando se encuentra en su forma no fosforilada, la fosforilación de la misma disminuye su actividad, se ha propuesto que la interconversión de la forma activa a inactiva y viceversa se realiza gracias a una cascada de cinasas de las proteínas, parte de la cual responde a hormonas que actúan mediante AMP cíclico y éste funciona como un mensajero secundario que inhibe la biosíntesis de colesterol (Bohinski, 1991).

Transporte del colesterol

En plasma cerca de dos terceras partes del colesterol se encuentra esterificado; La forma en la que el colesterol viaja en la sangre es en forma de lipoproteínas. Estas partículas contienen en su interior colesterol y triglicéridos y una capa envolvente constituida por proteínas denominadas apoproteínas y fosfolípidos.

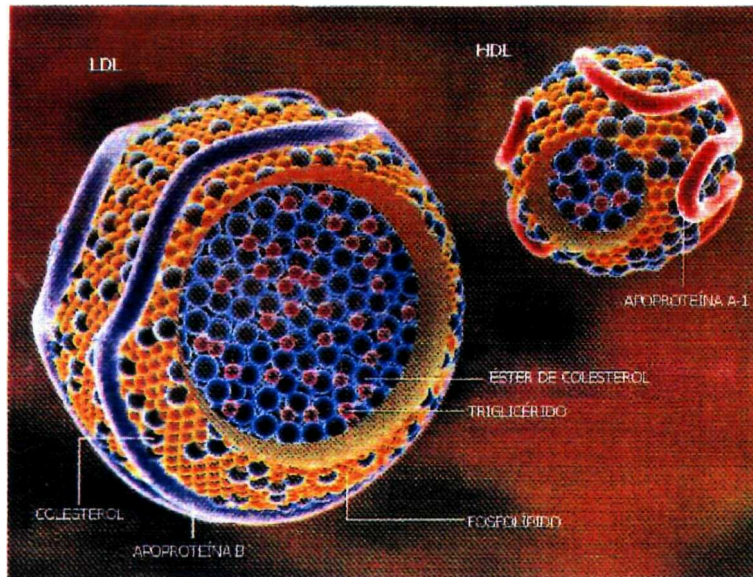


Fig. 9. Representación de HDL y LDL. Libby (2002).

Las lipoproteínas se clasifican en:

- Quilomicrones
- Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)
- Lipoproteínas de baja densidad (LDL)
- Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Los quilomicrones son partículas que se detectan en las primeras horas que siguen después de una comida alta en grasas, y están formados en un 95 % por triglicéridos. Los quilomicrones se forman dentro de las células epiteliales del intestino y tienen un diámetro de 85 a 1000 nanómetros. Su función es la de transportar la grasa de los alimentos desde el intestino hacia el hígado y otros tejidos vía linfática (Rubiés-Prat, 1993).

Las lipoproteínas VLDL son partículas menores que los quilomicrones, son ricas en triglicéridos (60%), se forman en el hígado a partir de triglicéridos remanentes de los quilomicrones así como sintetizados por el mismo hígado, miden entre 25-80 nanómetros; y su función es la de transportar el colesterol y triglicéridos desde el hígado hacia los tejidos donde serán utilizados (Rubiés-Prat, 1993).

Las lipoproteínas de baja densidad son las responsables de llevar el colesterol a todas las células del organismo. Las LDL interaccionan con receptores específicos para ellas y que están en la membrana de todas las células del organismo (Rubiés-Prat, 1993). Los fosfolípidos que forman las LDL están arreglados de tal manera que las cabezas hidrofílicas de los mismos están hacia afuera, lo que permite que la partícula pueda disolverse en la sangre o en fluido intercelular; envolviendo éste recubrimiento hidrofílico se encuentra una proteína clave denominada apoproteína B-100.

La apoproteína B-100 es reconocida y unida por los receptores LDL. La unión se lleva a cabo cuando la LDL tiene una concentración menor de 10^{-9} molar, el receptor une solamente lipoproteínas que contengan la apoproteína B-100 o una proteína similar llamada apoproteína E (Brown y Goldstein, 1984).

La forma en que el LDL entra a la célula se muestra a continuación en la figura 10.

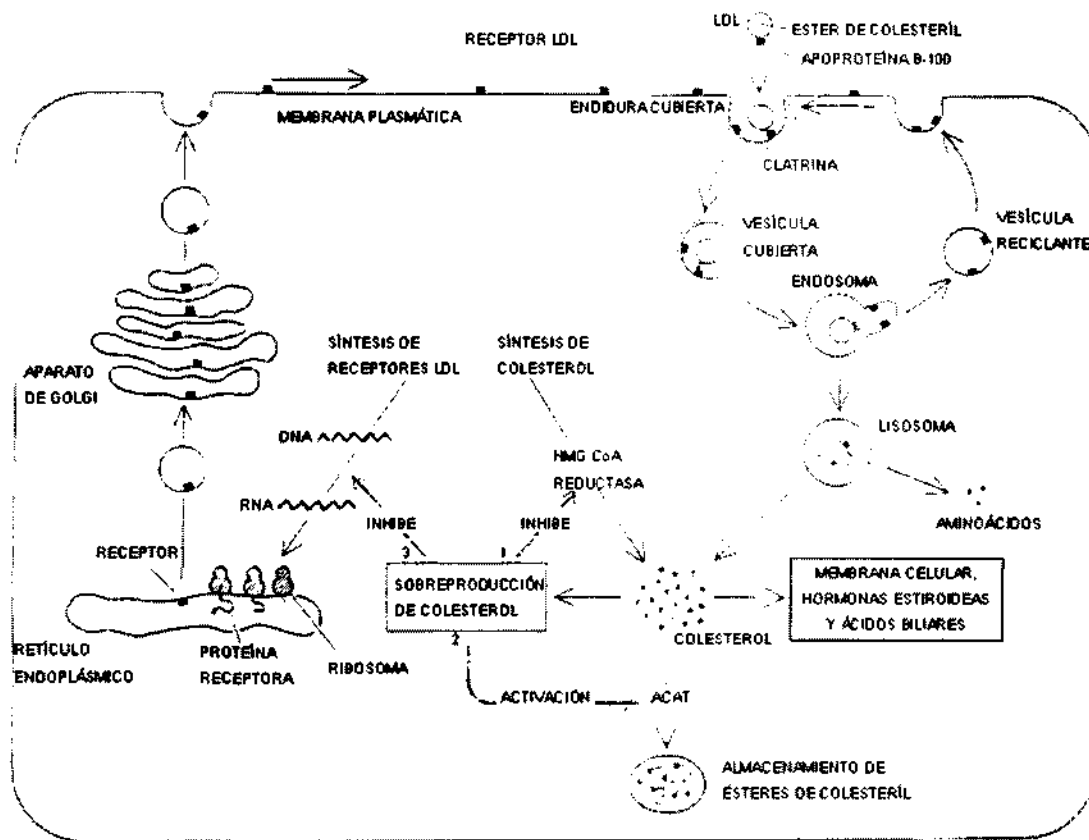


Figura 10. Proceso de endocitosis de LDL. Brown y Goldstein (1984).

EL colesterol entra a la célula por receptores específicos que al unirse la LDL al receptor se invagina y se forma una vesícula, La unión de varias vesículas genera la formación de un endosoma, en el que el medio ácido provoca que el LDL se disocie del receptor, que a su vez se recicla y se posiciona nuevamente en la superficie celular. El LDL es liberado por el lisosoma, en donde las enzimas rompen la apoproteína B-100 y lo transforman en aminoácidos. El nivel de colesterol es autoregulado. Un exceso de colesterol tiene tres efectos metabólicos: Inhibición de la HMG-CoA reductasa la cual controla la síntesis de colesterol; Activación de la enzima ACAT, que

es la que esterifica el colesterol para su almacenamiento e inhibe la formación de nuevos receptores LDL por supresión de la transcripción del gene del receptor hacia el RNA mensajero.

La vida promedio de una partícula LDL en el torrente sanguíneo es de dos días y medio antes de unirse a los receptores en el hígado y otros tejidos (Brown y Goldstein, 1984). Los hábitos dietéticos juegan un papel importante y pueden repercutir en la mayor ó menor actividad de los receptores para las partículas de LDL (Rubiés-Prat, 1993). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tienen un diámetro que oscila entre los 15 y 75 nanómetros, su contenido de colesterol es de aproximadamente 20 % de su total. Se forman en el hígado y en el intestino y su función principal es extraer el colesterol que “sobra” en las células para llevarlo nuevamente al hígado, una vez que ya se encuentra en hígado, este colesterol puede incorporarse a la síntesis de nuevas lipoproteínas ó puede ser utilizado para la síntesis de ácidos biliares (Rubiés-Prat, 1993).

Nivel de colesterol en plasma y enfermedades cardiovasculares

Varios estudios realizados han confirmado que el nivel de colesterol en plasma está correlacionado significativamente con la prevalencia de enfermedades cardiovasculares (Grundy, 1986).

La arterioesclerosis es una alteración degenerativa de las arterias que consiste en un endurecimiento y engrosamiento de sus paredes lo que dificulta el paso de la sangre. Es un proceso fisiológico y forma parte del envejecimiento normal del organismo.

La ateroesclerosis es una forma de arterioesclerosis que se caracteriza por la fijación de lípidos (principalmente colesterol) en el recubrimiento interior de las paredes arteriales dando como resultado la formación de las llamadas placas de ateroma (Rubiés-Prat, 1993).

El desarrollo de la aterosclerosis se presenta a continuación:

La inflamación, ocurre cuando ciertos glóbulos blancos (primera línea de defensa del organismo) invaden y se vuelven activos en un tejido. La Figura 11 muestra el desarrollo de una placa aterosclerótica en una arteria coronaria. Los tres acercamientos mostrados señalan el proceso de inflamación que ocurre cuando en la sangre hay un exceso de LDL y se describen a continuación.

- 1) El exceso de partículas LDL se acumulan en la pared arterial y se ocurren algunas alteraciones químicas. Las LDL's modificadas estimulan las células endoteliales, para la formación de las moléculas de adhesión que atrapan a los monocitos y células T en la sangre (Figura 11).
- 2) En la capa de la arteria llamada íntima, los monocitos maduran a macrófagos activos; estos y las células T producen varios mediadores de la inflamación, incluyendo las citocinas y factores que promueven la división celular. Los macrófagos también forman los llamados receptores excavadores los cuales ayudan a la "ingestión" de las LDL's modificadas (Figura 11).
- 3) Los macrófagos atrapan a las LDL's y empiezan a llenarse con gotas de grasa. Estas células llamadas esponjosas y las células T constituyen el cúmulo de grasa, la forma temprana de la placa aterosclerótica (Figura 11).

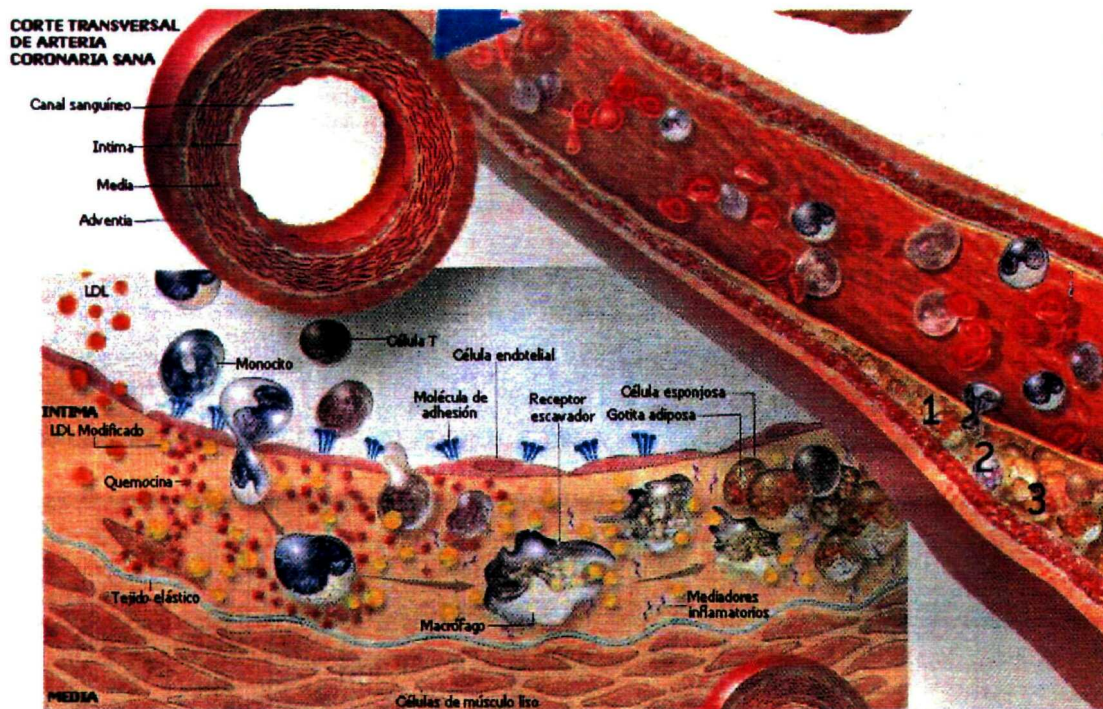


Figura. 11. Representación de los pasos 1,2 y 3 de la formación de una placa aterosclerótica en una arteria coronaria. Kasnot (2002).

4) Las moléculas inflamatorias promueven el crecimiento de la placa y la formación de una capa fibrosa sobre el centro del lípido (Figura 12). Esta capa se desarrolla cuando las moléculas inducen a las células del músculo liso de la media a migrar hacia afuera de la íntima, la multiplicación y producción de una matriz dura fibrosa que pega a las células. La capa añade tamaño a la placa pero aún ésta misma no está en contacto con la sangre.

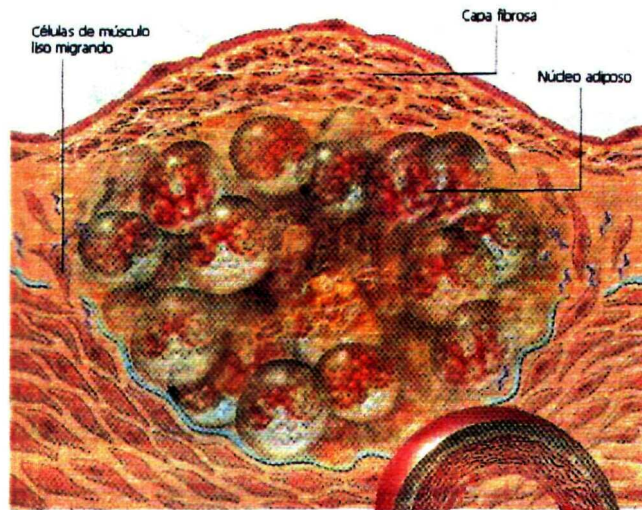


Figura 12. Progreso de formación de ateroma en la arteria coronaria. Kasnot (2002).

5. Después, las sustancias inflamatorias secretadas por las células esponjosas pueden debilitar la capa por digestión de las moléculas de la matriz y dañar células del músculo liso, las cuales fallan para reparar la capa. Mientras las células esponjosas pueden desplegar un factor tisular, y promover la formación de un coágulo (Figura 13); si el coágulo formado es lo suficientemente grande, puede bloquear el flujo de sangre al corazón, provocando un ataque al corazón- la muerte del tejido cardíaco.

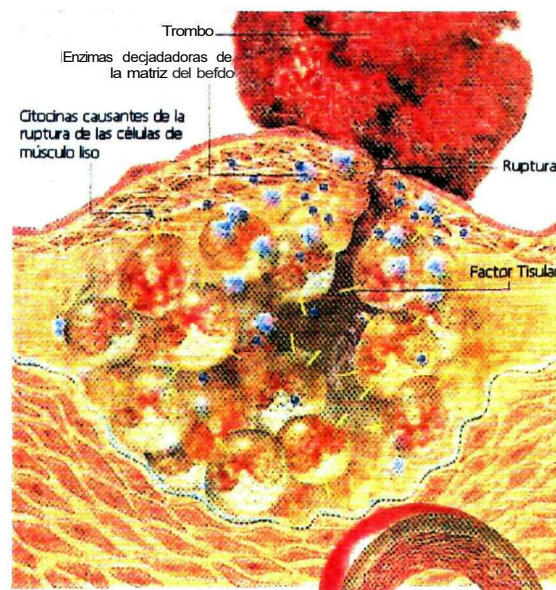


Figura 13. Formación del trombo ó coágulo. Kasnot (2002).

Entre los diferentes factores de riesgo cardiovascular como es la edad, el sexo, los antecedentes familiares, la hipertensión arterial, el hábito de fumar y otros se encuentran las alteraciones del metabolismo de los lípidos. El exceso de colesterol, específicamente el asociado con el LDL, en la sangre condiciona como observamos anteriormente que los macrófagos de la pared arterial capten estas partículas y que posteriormente se formen las placas de ateroma. Así mismo cabe mencionar que existen situaciones en donde los niveles de colesterol total y colesterol-LDL son normales, pero la composición de las partículas LDL puede ser anormal como por ejemplo, cuando existe un desorden en donde hay un incremento en el nivel de apoproteína comparado con el nivel de colesterol-LDL, puede ocasionar por lo tanto un aumento del riesgo cardiovascular (Grundy, 1986). Otra condición que favorece a la hipercolesterolemia es cuando existen anomalías en el gen denominado de la hipercolesterolemia familiar, que codifica para los receptores LDL, que puede ocurrir en menos de un 2 % de los casos de colesterol elevado, el 98% restante se debe tanto por cuestiones genéticas ó dietarias o bien ambas (Grundy, 1986). A diferencia del colesterol-LDL, las lipoproteínas de alta densidad (HDL) extraen colesterol de la pared arterial y actúan como antiaterogénicas (Myant, 1990).

Otros factores de riesgo que deben de considerarse son cuando se tiene una relación de LDL/HDL alto, algunas de las condiciones que favorecen que ésta relación se eleve, es precisamente cuando existe un cuadro de aterosclerosis, la concentración de HDL es muy baja, el nivel de LDL muy alto. Un valor deseable de la relación LDL/HDL es menor de 3:1, valores mayores de 5:1 son de alto riesgo.

ESTUDIOS *IN VIVO*

Se han realizado muchos estudios para evaluar la capacidad nutraceútica y/o farmacológica de muchos compuestos que se encuentran en los alimentos que consumimos a diario, para tratar las enfermedades cardiovasculares o bien la prevención de las mismas, así como mantener un nivel de colesterol plasmático

aceptable. Klopfenstein *et al* (1981) experimentaron con grupos de cobayos alimentándolos con dietas a partir de trigo, avena, mijo y sorgo, observando que el grupo alimentado con la dieta basada en sorgo tipo I presentó un nivel de colesterol sanguíneo y de hígado significativamente más bajo.

Se ha reportado (Cárdenas, 1998) que dietas ricas en fibra soluble producen una disminución en el nivel sanguíneo de colesterol. Estudios con humanos y animales (Anderson y Chen, 1986) han confirmado la hipótesis de que el aumento en el consumo de fibra hidrosoluble resulta en un aumento en la excreción fecal de sales biliares y esteroides neutros.

Cárdenas *et al* (1998) probaron dietas en ratas Wistar que contenían nopal en diferentes concentraciones y observaron que el tratamiento con un 12 % de nopal tuvo menor ganancia de peso en comparación con contrapartes alimentadas con un 6% de nopal. También observaron una diferencia en el nivel de colesterol LDL en las ratas alimentadas con un 12 % de nopal crudo. Gorinstein *et al* (1998) compararon el efecto antioxidante de dos dietas suplementadas con persimonia seco con ratas Wistar; una a base de la pulpa del persimonia y la otra a base de la cáscara y observaron que el persimonia ejerció un efecto antioxidante e hipocolesterolemico, siendo la dieta que contenía la cáscara del persimonia la más efectiva.

Así mismo Gorinstein *et al* (2000) compararon el efecto hipolipidémico al probar dos dietas, una elaborada a base de persimonia entero y la otra de persimonia libre de fenoles, y observaron que en los dos tratamientos se disminuyeron los niveles de lípidos, pero que solamente la dieta de persimonia entero ejerció el efecto antioxidante corroborando que el mismo se debió a los fenólicos presente en la fruta.

Otro estudio analizó el efecto que tiene la quercetina y la rutina sobre las concentraciones de lípidos séricos y hepáticos y su efecto antioxidante. Los resultados mostraron que mediante la administración oral de estos fenólicos en ratas, sólo metabolizaron una parte de los compuestos administrados y que

existió un efecto antioxidante, pero no observaron diferencia significativa sobre los niveles de lípidos (Nakamura et al, 2000).

En un estudio realizado para evaluar el efecto que tienen compuestos fenólicos del té verde sobre el contenido de lípidos séricos y hepáticos en ratas se observó que los polifenoles ejercieron una significativa disminución de los niveles de colesterol (Nakamura et al. , 2001).

Basado en todo lo anteriormente expuesto se formularon las siguientes hipótesis:

- 1) El salvado de sorgo marrón ó tipo III ejerce un efecto hipocolesterolémico en ratas de laboratorio.
- 2) Los compuestos fenólicos presentes en el salvado de sorgo marrón ó tipo III son los responsables del efecto hipocolesterolémico

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de los salvados

El salvado de sorgo tipo III proveniente de un genotipo comercial DeKalb Brazos Valley (2000) 04/04/2001 fue proporcionado por el Dr. L. W. Rooney de la Universidad de Texas A&M. Mientras que el salvado de sorgo blanco se obtuvo de un sorgo tipo I heteroceroso del ITESM Campus Monterrey. Ambos granos fueron decorticados para remover entre 11-12 % de su peso en un molino abrasivo IDRC.

Caracterización de la materia prima

Composición química proximal

Se determinó la composición de los salvados. La humedad y cenizas fueron determinadas de acuerdo a procedimientos estándares de la AOAC No. 925.10 y No. 923.03 respectivamente (AOAC, 1990). El contenido de proteína fue determinado mediante el procedimiento estándar de la AOAC No. 978.02, utilizando el valor de 6.25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína (AOAC, 1990). El contenido de extracto etéreo (grasa total) fue determinado mediante la extracción continua utilizando como solvente éter de petróleo por un período de 8 horas en un equipo de extracción Goldfish Labconco™ de acuerdo al procedimiento estándar de la AOAC No. 920.39 (AOAC, 1990). El contenido de fibra dietética fue determinado de acuerdo al procedimiento estándar de la AOAC No. 985.29 (AOAC, 1990). Finalmente, el extracto libre de Nitrógeno (ELN) fue determinado por diferencia de acuerdo a la siguiente fórmula: $ELN (\%) = 100 - \% \text{ humedad} - \% \text{ cenizas} - \% \text{ proteína} - \% \text{ grasa} - \% \text{ fibra dietética}$.

Determinación del perfil de compuestos fenólicos

El perfil del contenido de compuestos fenólicos en los dos tipos de salvados fue determinado utilizando tres métodos diferentes. Primero fue determinado el contenido de fenólicos totales con el método de Folin-Ciocalteu (Doherty *et al.* ,

1987). El contenido de taninos reportado como equivalentes de catequiza, fue determinado por el método de vanilina (Maxon y Rooney, 1972). Finalmente fue determinado el contenido de fenólicos totales, flavonoles y antocianinas con el método de Glories modificado (Mazza *et al.* , 1999) utilizando como estándares ácido gálico, quercetina y 3-glucósido malvidina respectivamente.

Determinación de color

Se realizó la determinación de color a los salvados utilizando un colorímetro Minolta™ CR-300 en el sistema CIELAB. Se determinó L (luminosidad) y los valores de “a” y “b” en las coordenadas de cromaticidad. Los valores “+a” son en dirección al color rojo, valores “-a” al color verde, “+b” al color amarillo y “-b” al color azul (Minolta Co., Ltd, 1994). Se calculó el valor de E ó índice de color que se calculó con la siguiente fórmula $(L^2+a^2+b^2)^{1/2}$.

Obtención de fracciones de compuestos fenólicos

Cuatro extractos del salvado de sorgo tipo III fueron obtenidos mediante una extracción fraccionada, se pesó 50 gr. de salvado, se colocaron en un equipo Soxhlet y se utilizaron para la extracción secuencialmente 200 ml de cada uno de los siguientes solventes y en el siguiente orden, hexano, acetona, metanol y agua, la extracción con cada solvente tuvo como duración 30 horas (10 hr/día). Después de este tiempo, cada extracto fue concentrado (aproximadamente hasta 15 ml.) utilizando un rotavapor Buchi™ y finalmente fueron secados a 45°C en un horno de secado por dos días, para asegurar la eliminación completa del solvente. Fueron determinados los porcentajes de rendimiento de cada extracto y el contenido de compuestos fenólicos en cada fracción con el método de Glories modificado (Mazza *et al.* , 1999).

Elaboración de dietas

Se prepararon las dietas siguiendo parte del protocolo señalado en el método 960.48 de la AOAC, y los demás componentes se calcularon de tal forma que fueron isocalóricas, isoproteicas e isofibrosas. La variación en las diferentes dietas fue el contenido de salvado de sorgo y de tipo de compuestos fenólicos. Las dietas CFB y CFIII consistieron de extractos de fenólicos de los salvados de sorgo blanco y tipo III respectivamente. La cantidad de concentrado de fenólicos se determinó después de calcular la cantidad que contenía 6.0 % de salvado. Para que las dietas contuvieran la misma cantidad de fibra se utilizó celulosa como relleno. La dieta control se tomó como base la composición de la dieta semipurificada AIN-76 (ICN Biomedicals, Inc. 1998). La composición de las dietas se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición de las dietas utilizadas en los bioensayos expresados en porcentajes.

Ingredientes	Control	SSB ¹	SSIII ²	CFB ³	CFIII ⁴
SSB	----	6.0	----	----	----
SSIII	----	----	6.0	----	----
Extractos	----	----	----	1.7	1.7
Celulosa ⁵	6.0	3.7	3.1	6.0	6.0
Caseína ⁶	20.0	19.0	19.4	20.0	20.0
Almidón ⁷	47.6	45.6	45.5	45.9	45.9
Aceite de maíz	7.2	6.7	7.0	7.2	7.2
Manteca animal	7.2	7.2	7.2	7.2	7.2
Sacarosa	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Minerales ⁸	4.5	4.3	4.3	4.5	4.5
Vitaminas ⁹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Colesterol ¹⁰	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5

¹SSB = Salvado de sorgo blanco

²SSIII = Salvado de sorgo tipo III

³CFB = Concentrado de fenólicos sorgo blanco

⁴CFIII = Concentrado de fenólicos sorgo tipo III

⁵ AIN Alphacel Non-Nutritive Bulk. ICN Biomedicals, Inc.

⁶ AIN Casein Purified High Nitrogen. ICN Biomedicals, Inc.

⁷ Fécula de maíz MAIZENA^{MR}

⁸ AIN 76 Mineral Mixture. ICN Biomedicals, Inc.

⁹ AIN 76 Vitamin Mixture. ICN Biomedicals, Inc.

¹⁰Cholesterol USP. ICN Biomedicals, Inc.

Para la elaboración de las dietas se pesaron primeramente los ingredientes secos, después se añadieron a un tazón con una capacidad de cinco galones y fueron mezclados en una mezcladora HobartTM equipada con una paleta para mezclar ingredientes secos. Una vez que se logró homogeneizar los ingredientes se incorporaron pausadamente el aceite vegetal y la manteca animal previamente derretida (50 °C). Al finalizar la adición de todos los ingredientes se continuó con el mezclado por 5 minutos. Las dietas fueron guardadas en bolsas de polietileno y almacenadas a 4°C en un refrigerador.

Se determinó la composición proximal de las dietas elaboradas con la misma metodología que se utilizó en los salvados de sorgo.

Estudio *In vivo*

Un total de 35 ratas Wistar, 20 machos y 15 hembras, se hicieron crecer hasta que alcanzaron un peso aproximado entre 150 y 200 g. Se bloquearon por peso inicial y por sexo, se asignaron al azar a siete bloques de cinco animales. Cuatro de los bloques fueron de machos y los tres restantes de hembras.

Las ratas se mantuvieron en jaulas individuales de acero inoxidable en condiciones ambientales controladas (temperatura de 20-22°C y alternando períodos de 12 horas de luz artificial y oscuridad artificial). Se formaron cinco grupos de ratas que fueron alimentadas cada uno con un tratamiento específico.

El alimento y el agua se proporcionaron *ad libitum*. Se condujo un estudio de crecimiento por 33 días; a los 15 días se registró el peso de cada rata y el alimento consumido. Después de los 33 días transcurridos, nuevamente se registró el peso de las ratas y del alimento sobrante para medir la tasa de crecimiento y la eficiencia de conversión alimentaria. Paralelamente al estudio de crecimiento se realizó un estudio metabólico a las mismas 35 unidades, registrando el peso de cada rata, así como el alimento inicial a ese día. Se recolectaron heces diariamente durante 9 días consecutivos e inmediatamente se congelaron a -5°C . Al término de los nueve días nuevamente se registraron los pesos de las ratas y el peso del alimento no consumido para poder cuantificar exactamente el alimento ingerido durante el estudio metabólico. Las heces fecales se secaron a 60°C por 36 horas y después se registró el peso de las mismas, se pulverizaron y fueron almacenadas a -5°C en un congelador para su posterior análisis.

Al finalizar el bioensayo se sacrificaron a los animales, primeramente se anestesiaron con éter etílico y se les extrajo sangre mediante el corte en la arteria femoral. Las muestras de sangre se recolectaron en tubos de ensayo estériles y fueron centrifugados por 7 minutos a 3500 r.p.m. ó 857 G. se separaron a los eritrocitos del suero por decantación, se almacenó el suero separado a -20°C en un congelador para su posterior análisis. Paralelamente se tomaron muestras de sangre por duplicado en tubos capilares con EDTA como anticoagulante para la determinación de hematocrito. Los tubos se centrifugaron a 11,000 r.p.m (9880 G.) por 5 minutos con el fin de separar el paquete globular del suero (Brown, 1993) y el hematocrito determinado cuantificado la proporción de suero y paquete globular con una regla especial para la medición. Se extrajo quirúrgicamente el hígado de cada rata y se almacenó a -20°C en un congelador.

Al término del estudio metabólico se calculó la digestibilidad de la materia seca (Fórmula 1), la digestibilidad de la proteína (Fórmula 2), así como la tasa de absorción de los compuestos fenólicos (Fórmula 3). Estas determinaciones se

realizaron después de calcular las concentraciones presentes de cada uno de estos compuestos químicos en las dietas y las heces.

$$\% \text{ Digest. de la materia seca} = \frac{\text{gr. Alimento consumido} - \text{gr. heces}}{\text{gr. Alimento Consumido}} \times 100 \quad (\text{Fórmula 1})$$

$$\% \text{ Digest. de proteína} = \frac{\text{gr. nitrógeno consumido} - \text{gr. Nitrógeno excretado}}{\text{gr nitrógeno cosumido}} \times 100 \quad (\text{Fórmula 2})$$

$$\% \text{ Absorción de fenólicos} = \frac{\text{mg. de fenólicos consumidos} - \text{mg. de fenólicos excretados}}{\text{mg. de fenólicos consumidos}} \times 100 \quad (\text{Fórmula 3})$$

Determinación de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo e hígado

Para la determinación de colesterol en suero se utilizó un método enzimático, Colesterol Hycel^{MR} No.70475.

El fundamento de la técnica es el siguiente:

- 1) Los esteres de colesterol son hidrolizados enzimáticamente por la colesterol esterasa a colesterol y ácidos grasos libres.
- 2) El colesterol libre, es oxidado por la colesterol oxidasa a colest-4-en-3-uno y peróxido de hidrógeno.
- 3) El peróxido de hidrógeno se combina con el HBA y la 4-aminoantipirina para formar un cromóforo directamente proporcional a la concentración de colesterol. El aumento en la concentración de la quinoneimina (cromóforo) provoca un incremento en la absorbancia de 500-550 nm, lo que hace posible el cálculo de concentración de colesterol (Roeschlau *et al.* , 1974).

Colesterol en suero sanguíneo

La determinación se llevó a cabo de la siguiente manera, se tomó 1ml de reactivo de colesterol Hycel en un tubo Eppendorf de 1.5 ml de capacidad, se pre-incubó a 37°C en un baño termostatado durante 5 minutos, pasado el tiempo se sacó el tubo del baño de temperatura y se añadió 10 µl de muestra de suero o de extracto clorofórmico de hígado al tubo Eppendorf, se cerró el tubo, se mezcló con vortex, y se incubó por 5 minutos a 37°C en un baño termostatado, pasado el tiempo de incubación, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro Beckman DU 650 a una longitud de onda máxima de 500 nm. Previamente el equipo se calibró a cero de absorbancia (100 % de transmitancia) con el reactivo de colesterol, a la par se realizó la determinación a un estándar de colesterol de 200 mg/dl. Los cálculos se determinaron de acuerdo la Fórmula 4:

Colesterol (mg/dl) = (Absorbancia de muestra/Absorbancia del estándar) X 200 mg/dl.

(Fórmula 4)

El método es lineal hasta 774 mg/dl, La exactitud del método señala que al correr una serie de muestras y utilizando un método de regresión lineal de mínimos cuadrados, el coeficiente de correlación es de 0.999 (Hycel de México S.A. de C.V.).

Colesterol en hígado

Para la determinación de colesterol en hígado se pesaron 3 gr. de muestra húmeda, se tomó en todos los hígados el lóbulo derecho y se añadió 10 ml de solvente extractor (cloroformo: metanol, 2:1) (King, 1998), se maceró y se dejó reposando a temperatura de refrigeración durante 5 días, pasado este tiempo se separaron los sólidos del hígado, se centrifugó el extracto obtenido a 3500 r.p.m. ó 857 G por 10 minutos en una centrifuga IEC HN-SII. Se separó la fase clorofórmica utilizando una pipeta automática y succionando la fase inferior, evitando extraer material que se encontraba en la interfase del tubo, el extracto se recuperó en vaso de precipitado de 10 ml. se secó a 45 °C en un horno de secado

por un día y se redisolvió el residuo en 1ml de cloroformo y finalmente se determinó el colesterol de acuerdo al protocolo expuesto anteriormente. Los resultados se reportaron en mg/g de hígado.

Colesterol HDL en suero e hígado

Para la determinación de colesterol-HDL, tanto en sueros como en hígados, se necesitó precipitar primeramente las LDL y VLDL utilizando como reactivo una solución de fosfotungstato de sodio: cloruro de magnesio en relación 100:25. Primero se preparó una solución acuosa de fosfotungstato de sodio (40.0 g/l pH 7.4) y por separado se preparó una solución acuosa de cloruro de magnesio (2.0 mol/l) las dos soluciones se almacenaron a temperatura de refrigeración. El día que se utilizaron se preparó la relación 100:25, y se utilizó 125 µl por cada ml de muestra, se tomó la muestra en un tubo Eppendorf ya fuera de suero o de extracto clorofórmico de hígado y se añadió el reactivo precipitante, se mezcló con vortex y se dejó precipitar por 10 minutos a temperatura ambiente, se centrifugó a 2000 G ó 4900 r.p.m. en una centrifuga Eppendorf™ Mod. 5415C por 30 minutos. El sobrenadante se transfirió a un tubo Eppendorf de 1.5 ml. limpio y se determinó colesterol HDL siguiendo el mismo protocolo descrito anteriormente para colesterol total. Se tomó en cuenta la dilución debida al reactivo precipitante. La concentración de colesterol-LDL, se calculó por diferencia de colesterol total – colesterol HDL, expresado en mg/dl para suero y mg/g para hígado.

Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico JMP versión 5.0 (SAS Institute Inc. Cary NC). Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y la separación de medias se llevó acabo utilizando la prueba de LSD ($p < 0.05$). Todos los análisis se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de salvados de sorgo

Se determinó la composición química proximal y perfil de compuestos fenólicos de los dos salvados de sorgo (Tabla 5); El salvado de sorgo blanco presentó mayor contenido de proteína total y de grasa, esto indica que sufrió una mayor contaminación del germen y endospermo. Comparativamente el salvado de sorgo blanco ó tipo I contuvo aproximadamente 7 % y 4 % más de proteína y grasa respectivamente en comparación al salvado de sorgo marrón o tipo III. La cantidad de fibra dietética en el salvado de sorgo blanco o tipo I y marrón ó tipo III fue de 38.41 % y 49.3 % respectivamente. Rooney *et al* (1992) decorticarón sorgo blanco y sorgo marrón para remover aproximadamente el 7.5 % del grano y observaron que el salvado contenía entre 47.8 y 35.1 % de fibra dietaria insoluble y entre 1.6 y 1% de fibra soluble, respectivamente.

En el perfil de compuestos fenólicos se observó que el contenido de fenólicos totales realizado por los dos métodos (Folin-Ciocalteu y Glories) fue mayor en el salvado de sorgo marrón ó tipo III. Este salvado contuvo 1.8 % y 1.4 % mayor concentración de fenólicos estimados por Folin-Ciocalteu y Glories respectivamente en comparación con el salvado de sorgo blanco ó tipo I. En cuanto al contenido de taninos condensados cuantificados mediante el método de vanillina, se observó que el salvado de sorgo tipo III contuvo una concentración dentro del rango esperado para éste tipo ó clase de sorgo (Hahn *et al.*, 1984). Comparativamente el sorgo tipo I no contuvo taninos. Rooney *et al.* (1970) mencionan que un sorgo blanco o tipo I es aquel que tiene un pericarpio blanco o casi sin color y anatómicamente no contienen testa mientras que un sorgo tipo III ó alto en taninos tiene un pericarpio color café y su testa es altamente pigmentada. Por lo tanto tienen una apariencia marrón.

Todo esto concuerda con los resultados que se obtuvieron en la determinación de color donde nos muestran que el salvado de sorgo blanco tuvo

un valor mayor de L en comparación al salvado de sorgo tipo III, indicando que el primero tiene mayor luminosidad y esto debido a la ausencia de los taninos en el primero. Los dos salvados presentaron cromaticidades en dirección a las coloraciones rojizas (+a), siendo mayor éste valor para el salvado de sorgo tipo III y hacia coloraciones amarillas (+b) con un valor mayor para el salvado de sorgo blanco. El valor del índice de color (E) fue mayor para el salvado de sorgo blanco.

Tabla 5. Caracterización química y de composición de fenólicos de salvado de sorgo blanco ó tipo I y salvado de sorgo marrón ó tipo III.

Análisis	Salvado de Sorgo Tipo I ¹	Salvado de Sorgo Tipo III ¹
Análisis Proximal		
% Humedad	7.75	11.42
% Cenizas	3.36	3.19
% Proteína	16.74	9.68
% Grasa	7.8	3.65
% Fibra Dietética	38.41	49.3
% ELN	25.94	22.76
Fenólicos Totales (Folin-Ciocalteu) (ppm)	267.74	483.95
Fenólicos (Glories Modificado)		
Fenólicos totales (ppm)	355.17	493.83
Flavonoles (ppm)	199.04	115.09
Antocianinas (ppm)	4.87	3.6
Taninos (Vanillina) (mg/100 mg Eq. De Catequina)	0.03	10.87
Color (CIELAB)		
L	56.81	42.89
+ a	2.31	3.96
+ b	11.2	6.41
E	57.95	43.55

¹promedios de tres repeticiones

Fracciones del salvado de sorgo tipo III

Se realizaron las extracciones fraccionadas para el salvado de sorgo tipo III, con el fin de obtener a los compuestos fenólicos a utilizar en la preparación de las dietas. Se analizaron los contenidos de compuestos fenólicos en el salvado de sorgo marrón ó tipo III (Tabla 6). Los resultados indican que la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en el salvado de sorgo tipo III son hidrosolubles. En estudios recientes se observó que el solvente más efectivo para la extracción de fenólicos y antocianinas para salvado de trigo pigmentado fue el etanol con HCl al 1 % así mismo solventes con valores de pH bajos extraen mayor cantidad de antocianinas (Ziehl *et al.*, 2002). La fracción acuosa fue la más rica en compuestos fenólicos simples y la de hexano la que extrajo a la mayoría de los flavonoles y antocianinas. Se calculó la concentración acumulada en las cuatro fracciones para los tres tipos de fenólicos y se observó que los valores correspondientes a los compuestos fenólicos reportados en la tabla 5 son muy similares, mostrando con esto que la extracción fue satisfactoria.

Tabla 6. Rendimiento de extracción y composición de compuestos fenólicos del salvado de sorgo marrón ó tipo III extraído secuencialmente con diferentes solventes y la composición presente de los diferentes fenólicos en cada fracción.

Muestra (Fracciones) ^a	Rendimiento extracción (%) ^b	Fenólicos totales (ppm) ^c	Fenólicos totales presentes en la fracción (ppm)	Flavonoles (ppm) ^c	Flavonoles totales presentes en la fracción (ppm)	Antocianinas (ppm) ^c	Antocianinas totales presentes en la fracción (ppm)
1) Hexano	7.93	911.67	72.30	636.53	50.48	19.65	1.56
2) Acetona	9.17	1249.03	114.54	340.28	31.20	4.84	0.44
3) Metanol	5.73	1932.19	110.71	295.07	16.91	6.14	0.35
4) Acuosa	5.12	2444.17	125.14	511.88	26.21	8.71	0.45
Concentración acumulativa	27.95		422.69		124.80		2.80

^a Los números indican la secuencia en que se utilizaron los solventes

^b En base a 50 g de muestra húmeda.

^c Valores obtenidos en 0.1 ± 0.01 g de muestra.

Elaboración de dietas.

Se determinó la composición química proximal de las dietas elaboradas (Tabla 7). La dieta de concentrado de fenólicos sorgo tipo III tuvo un valor más alto de humedad, el valor que se obtuvo de proteína en las dietas fue similar aunque no se obtuvo la concentración definida en un principio (error de 1.3 %), la grasa total obtenida en cada dieta fue mucho menor que el valor definido posiblemente debido a una falta de homogeneización de la muestra para el análisis proximal. En la determinación de fibra dietaria los valores más altos se obtuvieron en las dietas de salvado de sorgo tipo I y III. Las dietas fueron prácticamente isoproteicas, isograsosas e isofibrosas.

Tabla 7. Composición química proximal de las dietas utilizadas en los bioensayos.²

Dieta	Humedad (%)	Cenizas (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra dietética (%)	ELN ¹ (%)
Control	6.19	2.66	19.73	4.17	12.61	54.64
Salvado de sorgo blanco	6.11	2.83	18.7	4.87	13.2	54.29
Salvado de sorgo tipo III	6.7	3.26	18.7	6.25	14.1	50.99
Concentrado de fenólicos sorgo blanco	7.89	2.35	18.11	5.43	12.3	53.63
Concentrado de fenólicos sorgo tipo III	11.24	1.66	18.94	5.29	12.11	50.24

¹Extracto libre de nitrógeno=100- %humedad -% cenizas -% de grasa -% fibra dietética.

²Los valores son la media de tres repeticiones

Estudio de crecimiento

Se realizó un estudio de crecimiento en las 35 unidades experimentales, Se registró el peso inicial y al final de los 33 días, así como el consumo de alimento, con estos datos se calculó la eficiencia de conversión alimentaria, éste valor nos indica lo que requiere consumir de alimento para aumentar 1 gr. de peso, las 35 ratas en promedio consumieron diariamente 16.1 ± 2 gr. de alimento, la ganancia

en peso en promedio de los tratamientos fue de 1.3 g/día y por lo tanto se obtuvieron valores de eficiencia de conversión alimentaria de 12.79 en promedio. Después de realizar el análisis estadístico de estos datos no se observaron diferencias significativas entre tratamientos probablemente porque las ratas ya se encontraban en estado adulto. La astringencia que imparten los taninos al sorgo, tienden a reducir el consumo de alimento y por ende hay una reducción en la ganancia en peso. Así mismo los taninos se unen a proteínas endógenas y exógenas y las precipitan formando complejos inactivos, reduciendo la contribución nutrimental del grano (Griffiths, 1985).

Estudio metabólico

El tratamiento de salvado de sorgo marrón ó tipo III fue el que tuvo menor tasa de digestibilidad de la proteína, seguido por el tratamiento de salvado de sorgo tipo I. La digestibilidad de la materia seca fue mayor en los tratamientos de concentrados de fenólicos de salvado de sorgo blanco ó tipo I y marrón ó tipo III (Tabla 8), estos resultados indican que la fibra asociada con los compuestos fenólicos disminuye la digestibilidad de la materia seca y de la proteína. Está documentado que los taninos presentes en el sorgo tienen un impacto negativo en la digestibilidad de la proteína (Butler *et al.*, 1984).

Es sabido que los componentes de la fibra inhiben las enzimas digestivas tales como la tripsina, la alfa-quimotripsina y la alfa-amilasa (Serna-Saldivar *et al.*, 1988). Lacassagne *et al.*, (1998) citado por Farrell y Maldonado (1999) demostraron que la digestibilidad del almidón fue menor en frijoles faba bajos en taninos en comparación con aquellos con alta concentración de taninos. Jansman (1993) reporta que los taninos del sorgo pueden unirse y precipitar hasta doce veces su propio peso de proteínas.

Butler (1982) señaló que la formación de los complejos inactivos se incrementa con el tamaño molecular ó grado de condensación de los taninos e inhibe el rompimiento enzimático de la proteína lo que puede incrementar la pérdida endógena de aminoácidos. Zebrowska (1978) citado por Serna *et al.* (1988) mencionó que la fibra actúa como una barrera física previniendo la digestión

enzimática. Talmadge *et al.*, (1975) señaló que la digestibilidad de la materia seca se incrementa cuando el contenido de taninos disminuye, y que la disponibilidad de la proteína se ve afectada por el contenido de taninos.

Tabla 8. Efecto del tipo de salvado y compuestos fenólicos en la digestibilidad de la proteína y de la materia seca.^a

Tratamiento	Digestibilidad de la proteína (%)	Digestibilidad de la materia seca (%)
Control	94.97 a	89.92 b
Salvado de sorgo blanco	93.28 b	89.85 b
Salvado de sorgo tipo III	91.37 c	89.42 b
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo blanco	95.80 a	91.87 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo tipo III	94.95 a	91.93 a

^aMedias con diferentes letra (s) dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Absorción de compuestos fenólicos.

Después de analizar la cantidad de fenólicos consumidos y los fenólicos excretados, se observó que no existió una diferencia significativa en la absorción de fenólicos totales y flavonoles. El mayor porcentaje de absorción de antocianinas fue en el tratamiento de concentrado de fenólicos de salvado de sorgo blanco ó tipo I seguido del tratamiento de concentrado de fenólicos de salvado de sorgo marrón ó tipo III (Tabla 9). La diferencia puede ser atribuida al grado de condensación que tiene el salvado alto en taninos. Varios investigadores han estudiado el metabolismo de diferentes compuestos fenólicos, Nakamura *et al.*, (2000) señalaron que cuando se administra oralmente quercetina, cerca del 20 % es absorbido en el tracto gastrointestinal, de éste un 30 % es excretado en heces sin ningún cambio, la rutina es hidrolizada por una glucosidasa intestinal para formar la quercetina, una aglicona de la rutina que es capaz de ser absorbida en el intestino. Otros estudios señalan que el metabolismo de proantocianidinas poliméricas se lleva acabo en la microflora del colon en el ser humano (Déprez *et al.*, 2000, Scalbert y Williamson, 2000) y que son degradadas

a ácidos fenólicos de menor peso molecular. En ratas, las proteínas salivares ricas en prolina se unen preferentemente a las proantocianidinas y por lo tanto existe una reducción de que éstas lleguen al intestino y a las enzimas gástricas (Nyamambi *et al.*, 2000).

Tabla 9. Porcentaje de absorción de diferentes compuestos fenólicos en el tracto gastrointestinal de las ratas de cuatro tratamientos a lo largo del estudio metabólico (9 días).^a

Tratamiento	Fenólicos totales (%)	Flavonoles (%)	Antocianinas (%)
Salvado de sorgo blanco	67.74 a	72.99 a	76.12 ab
Salvado de sorgo tipo III	63.83 a	70.52 a	75.01 b
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo blanco	71.59 a	77.35 a	81.08 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo tipo III	73.17 a	78.40 a	80.53 ab

^aMedias con diferentes letra (s) dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

No existió diferencias significativas en la absorción de los fenólicos totales, (Tabla 10). La cantidad de flavonoles y antocianinas absorbidos por día también fue muy similar entre los cuatro tratamientos. Nakamura *et al.*, (2001) realizaron estudios del efecto de polifenoles en ratas, y no detectaron ningún tipo de metabolitos en el suero, mencionan también que estos compuestos pueden ser rápidamente metabolizados o eliminados. Nakamura *et al.*, (2000) mencionan que el efecto adverso de compuestos fenólicos tales como la quercetina y la rutina se presentan a una LD₅₀ de 160 mg/kg y de 950 mg/kg para ratones, respectivamente.

Tabla 10. Absorción de diferentes compuestos fenólicos expresados en mg/día de los diferentes tratamientos realizado durante el estudio metabólico.^a

Tratamiento	Fenólicos totales (mg/día)	Flavonoles (mg/día)	Antocianinas (mg/día)
Salvado de sorgo blanco	1.76 a	1.45 b	0.051 b
Salvado de sorgo tipo III	1.82 a	1.43 b	0.054 ab
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo blanco	2.17 a	1.81 a	0.064 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo tipo III	2.01 a	1.62 ab	0.056 ab

^aMedias con diferentes letra (s) dentro de cada columna son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Determinación de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo e hígado

En cuanto a la concentración de colesterol total, los tratamientos de concentrados de fenólicos de salvados de sorgo obtuvieron los valores más altos, los tratamientos control y salvado de sorgo tipo III tuvieron concentraciones muy similares, aunque se esperaba que estos valores fueran distintos, que el nivel de colesterol en las ratas del tratamiento de salvado de sorgo marrón o tipo III fuera menor que el tratamiento de salvado de sorgo blanco ó tipo I y más aún mucho menor que la dieta control. El valor más bajo de colesterol total se observó en el tratamiento de salvado de sorgo blanco ó tipo I (Tabla 11). No existió una diferencia estadística significativa en la concentración de colesterol total entre los dos tratamientos de salvados de sorgo. Se puede decir en general que la fibra y los compuestos fenólicos que contienen los salvados ejercieron un efecto sinérgico en la disminución del colesterol total. Friedman *et al.*, (2000) observaron que al alimentar a cobayos con dietas a base de tomate se disminuyeron los niveles de colesterol-LDL y triglicéridos debido al efecto de adición o en conjunto de los componentes de los mismos. Klopfenstein *et al.*, (1981) observaron que el salvado de sorgo en ratas no ejerció una disminución en los niveles del colesterol sanguíneo.

Moundrass *et al.*, (1997) mencionan que el efecto de la fibra de disminuir el colesterol puede ser debido a la capacidad para provocar la excreción fecal de colesterol y ácidos biliares. Gorinstein *et al.*, (1998) observaron que el efecto de la cáscara del persimono ejerció un efecto antioxidante e hipolipidémico. Gorinstein *et al.*, (2000) observaron que el efecto antioxidante del persimono está principalmente asociado a los fenólicos y no a la fibra de la fruta.

En cuanto a la concentración de HDL no existió diferencia entre los cinco tratamientos. Los valores de LDL fueron mayores para los tratamientos de concentrados de fenólicos, observando nuevamente que se obtuvieron valores más bajos en las dietas que contenían salvado. El salvado de sorgo blanco fue el que presentó el valor más bajo de LDL cabe mencionar nuevamente que se esperaba que el tratamiento que contenía el salvado de sorgo marrón ó tipo III fuera el que presentara los valores de colesterol más bajos. En cuanto a la relación LDL/HDL no existió diferencia significativa ($p>0.05$) entre los tratamientos, estos valores indican que todas las unidades de todos los tratamientos están en riesgo de presentar alguna enfermedad cardiovascular.

El valor de hematocrito refleja la concentración de hemoglobina de la sangre y por consiguiente es un buen indicador de anemia, que a su vez está relacionada con la cantidad de hierro en la sangre (McKenzie, 1993), en la determinación de hematocrito no hubo una diferencia estadística, sin embargo debido a que los valores fueron normales hay una clara indicación de que los fenólicos no producen anemia.

Tabla 11. Efecto del tipo de salvado en la concentración de colesterol total, HDL y LDL en suero sanguíneo de ratas de laboratorio.^a

Tratamiento	Colesterol Total (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	LDL/HDL	Hematocrito
Control	124.36 ab	19.7 a	104.66 ab	5.31 a	60.08 a
Salvado de sorgo blanco	102.18 b	13.89 a	88.29 b	6.36 a	58.91 a
Salvado de sorgo tipo III	114.18 ab	11.10 a	103.07 ab	9.28 a	58.16 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo blanco	151.38 a	15.88 a	135.49 a	8.53 a	60.58 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo tipo III	149.5 a	16.95 a	132.54 ab	7.82 a	53.83 a

^aMedias con diferentes letra (s) dentro de cada columna son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

La concentración mas baja de colesterol total en hígado se obtuvo en el tratamiento de salvado de sorgo tipo III, con una diferencia significativa (Tabla 12). El salvado de sorgo blanco tuvo el valor más elevado de colesterol total. Los valores que se obtuvieron para la concentración de HDL fueron distintos entre los cinco tratamientos, siendo el tratamiento de salvado de sorgo tipo III el de menor valor. En la concentración de LDL el tratamiento de salvado de sorgo blanco fue el menor, el valor más elevado fue obtenido en el tratamiento de salvado de sorgo tipo III, mientras que el resto de los tratamientos no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$). Rosa *et al.*, (1998) mencionan que las ratas como unidades de experimentación son resistentes a desarrollar hipercolesterolemia y aterosclerosis debido posiblemente al aumento de conversión de colesterol en ácidos biliares en hígado, y que tienden a acumular lípidos en hígado cuando reciben dietas adicionadas de colesterol. Esto indica que no fueron un buen modelo para este estudio.

Klopfenstein *et al.*, (1981) demostraron que una dieta elaborada a base de sorgo si inhibe la acumulación de colesterol hepático. Los niveles de colesterol en suero de animales alimentados con dietas basadas en sorgo fueron menor que en las dietas elaboradas con trigo, avena y mijo.

El valor de la relación LDL/HDL fue menor en el salvado de sorgo blanco y la mayor en el salvado de sorgo tipo III. Todos los valores de la misma en hígado fueron mucho más bajos que los reportados en suero, ésta relación es muy importante para medir el factor de riesgo de una enfermedad cardiovascular. Los valores de HDL en suero fueron mucho menores que los obtenidos en hígado, hay que recordar que las HDL son las partículas que se encargan de captar el colesterol de las células y transportarlo al hígado (Rubiés-Prat, 1993). El valor de LDL en hígado fue menor que en suero, pues ésta lipoproteína es responsable de llevar el colesterol a todas las células del organismo (Rubiés-Prat, 1993).

Tabla 12. Efecto del tipo de salvado en la concentración de colesterol total, HDL y LDL hepático determinado en ratas de laboratorio.^a

Tratamiento	Colesterol Total (mg/g)	HDL (mg/g)	LDL (mg/g)	LDL/HDL
Control	458.37 abc	408.33 abc	50.04 ab	0.12 bc
Salvado de sorgo blanco	525.06 a	491.41 a	33.65 b	0.068 c
Salvado de sorgo tipo III	385.40 c	313.38 c	72.03 a	0.23 a
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo blanco	498.21 ab	430.58 ab	67.63 ab	0.16 abc
Concentrado de fenólicos salvado de sorgo tipo III	415.98 bc	348.77 bc	67.21 ab	0.19 ab

^aMedias con diferentes letra (s) dentro de cada columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Wursch (1979) mostró que una alimentación con un 10 % de taninos y fibra de la vaina de algarrobo en ratas redujo el colesterol hepático, pero no el colesterol plasmático.

En el estudio realizado por Klopfenstein *et al.* (1981) mencionan que los compuestos fenólicos pueden afectar indirectamente el colesterol hepático influenciado por la composición de las proteínas de la planta ó su utilización.

CONCLUSIONES

Las diferencias en cuanto a contenido de proteína y grasa que se obtuvieron en la composición proximal de los salvados se debió a que el decortinado en el salvado de sorgo blanco no fue óptimo, porque existió contaminación de endospermo y germen, aún así estas diferencias se tomaron en cuenta para la elaboración de las dietas y que no afectará en la composición de las mismas. El perfil de fenólicos en los dos salvados fue muy similar, los dos salvados contuvieron compuestos fenólicos, a diferencia de la composición de taninos condensados en donde se pudo corroborar que el salvado de sorgo marrón ó tipo III fue alto en taninos (concentración de 10.87 mg/100 mg equivalentes de catequina). El rango de valores normales para este tipo de sorgo (entero) es entre 1.12 a 7.45 mg/100 mg equivalentes de catequina.

En el fraccionamiento de los compuestos fenólicos del salvado de sorgo tipo III se puede concluir que se hizo una buena recuperación de todas las fracciones al comparar con los valores reportados del perfil de fenólicos en el salvado de sorgo tipo I.

La composición de las dietas utilizadas en el bioensayo efectivamente fueron isofibrosas, isoproteicas e isograsosas por lo que la fuente de variación fue el tipo de fibra y la composición de fenólicos. No existieron diferencias en cuanto a ganancia de peso, consumo de alimento y en la eficiencia de conversión alimentaria entre los tratamientos. En el estudio metabólico se observó que los tratamientos de concentrados de fenólicos presentaron los valores más altos de digestibilidad de la materia seca y de la proteína, en cambio los tratamientos de salvados de sorgo tuvieron la menor tasa de digestibilidad concluyendo con esto que la fibra asociada con los compuestos fenólicos disminuyeron la digestibilidad tanto de la materia seca como de la proteína. No existieron diferencias en la absorción de los compuestos fenólicos en las ratas.

La concentración mas baja de colesterol total en sueros se obtuvo en el tratamiento de salvado de sorgo blanco ó tipo I, los valores más altos se presentaron en los tratamientos de concentrados de fenólicos por lo que se

corroborar el efecto sinérgico que tiene la fibra del salvado con los compuestos fenólicos en la disminución de los niveles de colesterol. No se observaron diferencias en los niveles de HDL y LDL/HDL, ni en el valor de hematocrito entre los tratamientos. Los valores de hematocrito están dentro del rango normal para ratas. El nivel más bajo de colesterol total y HDL en hígado se obtuvo en el tratamiento de salvado de sorgo tipo III mientras el nivel más bajo de LDL se presentó en la dieta de salvado de sorgo blanco o tipo I. Estos resultados concuerdan con lo que reporta la bibliografía de que el salvado de sorgo sí disminuye los niveles de colesterol hepático no siendo así en colesterol plasmático en ratas.

No se puede concluir que el efecto de disminución en los niveles de colesterol en suero se deba solamente al efecto de la fibra o bien al efecto de los compuestos fenólicos por separado, ya que en general los resultados de los estudios generados en el bioensayo, son muy similares entre sí. En los valores obtenidos en hígado sí se puede concluir que el salvado de sorgo marrón ó tipo III ejerció un efecto hipocolesterolémico.

Algunos de los factores que afectaron al estudio fueron que las ratas se encontraban ya en edad adulta, diversos autores mencionan primeramente que la rata es un animal resistente a desarrollar hipercolesterolemia y que tiende ó no a acumular lípidos en hígado, así mismo que el efecto de disminución en los niveles de colesterol se observa mejor cuando el animal se encuentra en etapa de desarrollo. Otro factor es que debería de haberse adaptado a las ratas a una dieta básica por cierto tiempo y después realizar el estudio durante un lapso de tiempo mayor al que se hizo en el presente estudio (33 días).

RECOMENDACIONES

Se recomienda para futuras investigaciones que este tipo de estudios se realicen con otros animales experimentales como lo es el cobayo y que el bioensayo tenga una duración de al menos dos meses para que el animal pueda desarrollar un cuadro de hiperlipidemia y también poder realizar cortes histológicos de vena aorta ó de arteria coronaria para la observación de la formación de posibles placas ateroscleróticas.

BIBLIOGRAFÍA

ANDERSON, J. W. and CHEN, W. J. 1979. Plant Fiber. Carbohydrate and lipid metabolism. Am. J. Clin Nutr. 32: 346–363.

AOAC. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, 15th Edition. 1990. Arlington, VA. Methods. 933.08, 945.16, 960.48, 970.51, 976.02, 985.29.

BLESSIN, C. W., DIMLER, R. J. and WEBSTER, O.J. 1962. Carotenoids of corn and sorghum II. Carotenoid loss in yellow endosperm sorghum grain during weathering. Cereal Chem. 39: 389–364.

BOHINSKI, R.C. 1991. Bioquímica. Quinta Edición. Ed. Addison–Wesley Iberoamericana, S. A. Wilmington, DE. Cap. 11y 16.

BROWN, B. A. 1993. Hematology principles and procedures. Lea and Febringer, Publishers. Philadelphia, London, UK.

BROWN, S. M. and GOLDSTEIN, J. L. 1984. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. Scientific American 251:58–66.

CARDENAS, M. M., SERNA-SALDIVAR, S.O. and VELAZCO , J. 1998. Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 48: 316–323.

CHANG, J. J., CHEN, T. H., CHAN, P., CHEN, Y. J., LIN HSUB, F., YU LO, M. and YAW LIN, J. 2001. The in vitro inhibitor effect of tannin derivatives on 3–hydroxy – 3–methylglutaryl–Coenzyme A reductase on vero cells. Pharmacology 62:224–228.

DEPREZ, S., REZILLON, C., RABOT, S., PHILIPPE, C., MILA, I., LAPIERRE, C. and SCALBERT, A. 2000. Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular – weight phenolic acids. *J. Nutr.* 130: 2733–2738.

DOHERTY, C. A., WANISKA, R. D., ROONEY, L. W., EARP, C. F. and POE, J.H. 1987. Free phenolic compounds and tannins in sorghum caryopsis and glumes during development. *Cereal Chem.* 64: 42–46.

EARP, F. C., AKINGBALA, J. O., RING, S. H. and ROONEY, L.W. 1981. Evaluation of several methods to determine tannins in sorghums with varying kernel characteristics. *Cereal Chem.* 58: (3) 234–238.

EARP, C.F. and ROONEY, L. W. 1982. Scanning electron microscopy of the pericarp and testa of several sorghum varieties. *Food Microstructure* 1: 125–134.

ELMALIK, M., KLOPFENSTEIN, C. F., HOSENEY, R. C. and BATES, L. S. 1986. Digestibility and nutritional value of sorghum grain with contrasting kernel characteristics. *Nutr. Rep. Int.* 34: 811–821.

FAO (FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION)

<http://www.fao.org> accesada en abril 26, 2002.

FARRELL, D. J. and PEREZ-MALDONADO R.A. 1999. Tannins in feedstuffs used in the diets of pigs and poultry in Australia. *ACIAR. Publications Proceedings* 24 – 29.

FEDAIL, S. S., BADI, S. E. and MUSA, A. R. 1984. The effects of sorghum and wheat bran on the colonic functions of healthy sudanese subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 40: 776–779.

FRIEDMAN, M., FITCH, T. E., LEVIN, C. E. and YOKOYAMA, W.H. 2000. Feeding tomatoes to hamsters reduces their plasma low-density lipoprotein cholesterol and triglycerides. *Journal of Food Science* 65: 897–900.

GAZZAZ, S. S., RASCO, B. A., DONG, F. M. and BORHAN, M. 1989. Effects of processing on the thiamine, riboflavin, and vitamin B12 content of fermented whole grain cereal products. *J. Food Process. Preserv.* 13: 321–334.

GORINSTEIN, S., KULASEK, G.W., BARTNIKOWSKA, E., LEONTOWICZ, M., ZEMSER, M., MORAWIEC, M. and TRAKHTENBERG, S. 2000. The effects of diets, supplemented with either whole persimmon or phenol-free persimmon on rats fed cholesterol. *Food Chemistry* 70: 303–308.

GORINSTEIN S., KULASEK, G. W., BARTNIKOWSKA, E., LEONTOWICZ, M., ZEMSER, M., MORAWIEC, M. and TRAKHTENBERG, S. 1998. The influence of persimmon peel and persimmon pulp on the lipid metabolism and antioxidant activity of rats fed cholesterol. *Nutritional Biochemistry* 9: 223–227.

GRIFFITHS, D. W. 1985. The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds in nutritional and toxicological significance of enzyme inhibitors in foods. *Adv. Exp. Biol. Med.* 199: 509 – 516

GRUNDY, M. S. 1986. Cholesterol and coronary heart disease. *Journal of the American Medical Association* 256: 2849 – 2858.

HAGERMAN, A. E. and BUTLER, L. G. 1981. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *J. Chem. Ecol.* 15: 1795–1810.

HAHN D. H., ROONEY L. W. and EARP C. F. 1984. Tannins and phenols of sorghum. *Cereal World Food* 29: 776 – 779.

HERTOG, M. G. L., KROMHOUT, D., ARAVANIS, C., BLACKBURN, H., BUZINA, R., FIDANZA, F., GIAMPAOLI, S., JANSEN, A., MENOTTI, A., NEDELJKOVIC, S., PEKKARINEN, M., SIMIC, S. B., TOSHIMA, H., FESKENS, E. J. M., HOLLMAN, C. H. and KATAN, M. B. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Arch. Intern. Med.* 155: 381–386.

HEUPEL, R.C., SAUVAIRE, Y., LE, P. H., PARTISH, E. J. and NES, W. D. 1986. Sterol composition and biosynthesis in sorghum. Importance to developmental regulation. *Lipids* 21: 69–75.

HUBBARD, J. E., HALL, H. H. and EARLE, F. R. 1950. Composition of the component parts of the sorghum kernel. *Cereal Chem.* 51: 825 – 829.

HULSE, J. H., LAING, E. M. and PEARSON, O. E. 1980. Sorghum and the millets: Their composition and nutritive value. Academic Press. San Francisco, CA.

JAMBUNATHAN, R., SINGH, U. and SUBRAMANIAN, V. 1984. Grain quality of sorghum, pearl millet, pigeon pea and chick pea in: Interfaces between agriculture, nutrition and food science. Proc. Workshop, Hyberabad. India. 1981. *Food Nutr. Bull. (Tokyo) Suppl.* 9: 47–60

JANSMAN, A. J. M. 1993. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutr. Res. Rev.* 6: 209–236.

KING, A. J., PANIANGVAIT, P., JONES, A. D. and GERMAN, J. B. 1998. Rapid method for quantification of cholesterol in turkey meat and products. *Journal of Food Science* 63: 382-385.

KLOPFENSTEIN, C.F., VARRIANO–MARSTON, E. and HOSENEY, R.C. 1981. Cholesterol – lowering effect of sorghum diet in guinea pigs. *Nutrition Reports International* 24: 621–627.

KNABE, D. A. 1990. Sorghum as swine feed in: Proc. Int. Conf. On Sorghum Nutritional Quality. G. Ejeta, E.T., Mertz, L., Rooney, R., Schaffert, J. and Yohe, W. Purdue University, Lafayette, Indiana. 95-107

LACASSAGNE, L., FRANCHESCH, M., CARRÉ, B. and MELICON, J. P. 1998. Utilization of tannin–containing and tannin–free Faba beans (*Vicia faba*) by young chicks: effects of pelleting feeds on energy, protein and starch digestibility. *Animal Feed Science and Technology* 20: 59–68.

LA ROSA, J. C., HUNNIGHAKE, D. and BUSCH, D. 1992. The Cholesterol Facts: A summary of the evidence relating dietary facts serum cholesterol and coronary heart diseases. American Heart Association. *Circulation* 81: 1721 – 1733.

LENNERNAS, H. and FAGER, G. 1997. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG–CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. *Clinical Pharmacokinetics* 32: 403–425.

LOCK, O. 1994. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Fondo Editorial de la Pontifica Universidad Católica de Perú. Lima, Perú. Cap. 3.

LORENZ, K. 1983. Tannins and phytate content in proso millet (*Panicum miliaceum*). *Cereal Chem.* 60: 424- 426.

MAZZA, G., FUKUMOTO, L., DELAQUIS, P., GIRARD, B. and EWERT B. 1999. Anthocyanins, phenolics, and color of cabernet franc, merlot and pinot noir wines from British Columbia. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4009 –4017.

MAXSON, E. D. and ROONEY, L. W. 1972. Two methods of tannin analysis for sorghum bicolor. (L.) Moench grain. *Crop Sci.* 12: 253.

MAXSON, W. E., SHIRLEY, R. L., BERTRAND, J. E. and PALMER, A. Z. 1973. Energy values of corn, bird resistant and non-bird resistant sorghum grain in rations fed to steers. *J. Anim. Sci.* 37: 1451–1457.

McKENZIE, B. B. 1993. *Hematología Clínica*. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V. México, D.F.

MINOLTA Co., LTD 1994. *Precise Color Communication. Radiometric Instruments Operations.*

MOUNDRAS, C., BEHR, S. R., REMESY, C. and DEMIGNE, C. 1997. Fecal losses of sterols and bile acids induced by feeding rats guar gum are due to greater pool size and liver bile acid secretion. *J. Nutr.* 121: 1068–1076.

MURTY, D. S., SINGH, U., SURYAPRAKASH, S. and NICODEMUS, K. D. 1985. Soluble sugar in five endosperm types of sorghum. *Cereal Chem.* 62: 150–152.

MYANT, N. B. 1990. *Cholesterol Metabolism, LDL, and the LDL Receptor*. Academic Press, Inc. San Diego, CA. Cap. 4 y 9.

NAKAMURA, Y., KAIHARA, A., YOSHII, K., TSUMURA, Y., ISHIMITSU, S. and YASUHIDE, T. 2001. Effects of the oral administration of green tea polyphenol and tannic acid on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in rats. *Journal of Health Science* 47: 107–117.

NAKAMURA, Y., ISHIMITSU, S. and YASUHIDE, T. 2000. Effects of quercetin and rutin on serum and hepatic lipid concentrations, fecal steroid excretion and serum antioxidant properties. *Journal of Health Science* 46: 229–240.

NEUCERE, N. J. and SUMRELL, G. 1980. Chemical composition of different varieties of grain sorghum. *J. Agric. Food Chem.* 28: 19–21.

NWOKOLO, E. 1987. Composition and availability of nutrients in some tropical grains and oilseeds. *Nutr. Rep. Int.* 36: 631–640.

NYAMAMBI, B., NDLOVU, R. L., READ, J. S. and REED, J.D. 2000. The effects of sorghum proanthocyanidins on digestive enzyme activity in vitro and in the digestive tract of chicken. *J. Sci. Food Agric.* 80: 2223–2231.

OSAGIE, A. U. 1987. Total lipids of sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 35: 601–604.

ROESCHLAU, P., BERNT, E. and GRUBER, W. A. 1974. Enzymatic determination of total cholesterol in serum. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 12: 226 - 232

ROONEY, L. W., EARP, C. F. and KHAN, M.N. 1980. Have you had your Injera (sorghum) today?. *Texas Agricultural Progress* 26: 15–16.

ROONEY, L. W., JOHNSON, J. W. and ROSENOW, D. T. 1970. Sorghum quality improvement types for food cereal. *Cereal Science Today* 15: 240–243.

ROONEY, L. W., KIRELIS, A. W. and MURTY, D.S. 1986. Traditional foods from sorghum: Their production, evaluation and nutritional value. *Advances in Cereal Science and Technology*. Y. Pomeranz (ed.). Volume VIII. AACC. St. Paul, MN.

ROONEY, T. K., ROONEY, L. W. and LUPTON, J. R. 1992. Physiological characteristics of sorghum and millet brans in the rat model. *Cereal Foods World* 37: 782–786.

ROSA, C. O. B., BRUNORO, C. M., NUNES, R. M. and LEAL, F.G. 1998. Efeito dos feijões (*Phaseolus vulgaris*, L.) preto, carioquinha e vermelho na redução do colesterol sanguíneo de ratos hipercolesterolêmicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 48: 306–309.

RUBIES- PRAT, J. 1993. "Dígame Doctor" El Colesterol. Ed. Diana S. A. de C. V. México, D.F. Cap1, 2 y 3.

SCALBERT, A. and WILLIAMSON, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition* 130: 8-11

SERNA–SALDIVAR, S. R. O. 1996. Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT. Editor. México. Cap 4, p. 99

SERNA–SALDIVAR S.O., KNABE D. A., ROONEY L. W., TANKSLEY T.D. and SPROULE A. M. 1988. Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *Journal of Cereal Science* 7: 83–94.

SERNA, S. O. and ROONEY, L. W. 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. *Sorghum and millets: chemistry and technology*. AACC. St. Paul MN, Cap. 4.

SUBRAMANIAN, B., JAMBUNATHAN, R. and SURYAPRAKASH, S. 1980. Note on the soluble sugars of sorghum. *Cereal Chem.* 57: 440–441.

TALMADGE, S.N., STEPHENSON, E. L., BURGOS, A., FLOYD, J. and YORK, J.O. 1975. Effect of tannin content and dry matter digestion on energy utilization and average amino acid availability of hybrid sorghum grains. *Poultry Science* 54: 1620–1625.

TAYLOR, J. R. N. and SCHUSSLER, L. 1986. The protein composition of the different anatomical parts of sorghum grain. *J. Cereal Sci.* 4: 361–369.

THE WALL STREET JOURNAL. 2001. Publicado por el periódico El Norte. Agosto 2001. Monterrey, N.L.

WANISKA, R. D., POE, J. H. and BANDYOPADHHYAY, R. 1989. Effects of growth conditions on grain molding and phenols in sorghum caryopsis. *J. Cereal Sci.* 10: 217-225.

WATERMAN, P.G. and MOLE, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

WURSCH, P. 1979. Influence of tannin-rich carob pod fiber on the cholesterol metabolism in the rat. *J. Nutr.* 109: 685-690

ZIEHL, W. D., PICKARD, M. D. and TYLER, R.T. 2002. Comparison of solvents for the extraction of phenolics and anthocyanins from highly pigmented wheat bran. AACC. Annual Meeting. 2002. Montreal, Canada.

Centro de Información-Biblioteca



30002006247712