## UNIVERSIDAD DE SONORA

# DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Evaluación de la Bioaccesibilidad de Compuestos Fenólicos

Presentes en Galletas Formuladas a Base de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Tratada Térmicamente

#### **TESIS**

Como requisito parcial para obtener grado de:

## **MAESTRA EN CIENCIAS**

Presenta:

Maribel Valenzuela González

Hermosillo, Sonora

Junio, 2020

# Repositorio Institucional UNISON





Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

# **APROBACIÓN**

# Evaluación de la Bioaccesibilidad de Compuestos Fenólicos Presentes en Galletas Formuladas a Base de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Tratada Térmicamente

Maribel Valenzue	ela González
Dra. Rosario Maribel F	
Dra. Ofelia Rouzaud Sández Sinodal	——————————————————————————————————————
Dr. Humberto Asi	

# **CESIÓN DE DERECHOS**

Hermosillo, Sonora a 30 mayo de 20 20.

Asunto: Cesión de derechos

UNIVERSIDAD DE SONORA PRESENTE.

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada Evaluación de la bicaccesibilidad de compuestos fenolicos presentes en galletas formuladas a de quinos (chenopadiuan los autorios). LA OBRA, realizada como trabajo terminal con el propósito de obtener el Grado de muestro en ciencias y tecnología de alimento en virtud de lo cual autorizo a la Universidad de Sonora (UNISON) para que efectúe la divulgación, publicación, comunicación pública, distribución, distribución pública, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines académicos o propios de la institución y se integren a los repositorios de la universidad, estatales, regionales, nacionales e internacionales.

La UNISON se compromete a respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA que cometa el suscrito frente a terceros.

ATENTAMENTE

LIC. GILBERTO LEÓN LEÓN Abogado General UNIVERSIDAD DE SONORA Maribel Valentuela6.

Nombre y Firma del Autor

#### **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de Sonora y al Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, por permitirme ser parte de este programa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para poder llevar a cabo mis estudios de posgrado.

A mi directora de tesis, la Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez, quien fue mi mentora en todo este trayecto, por ser la persona que es tan diferente y motivadora que nos enseña que cada día debe ser aprovechado. Por tener el tiempo, la disposición y la paciencia para guiarme en todo el proceso. Por brindarme todas las facilidades para realizar todo el trabajo experimental y sobre todo, por estar cada día en este proyecto.

A los miembros de mi comité: Dra. Ana Irene Ledesma, Dr. Humberto Astiazarán García, Dra. Ofelia Rouzaud Sández, por todas las críticas constructivas, por aportarme sus conocimientos para mejorar en el estudio y por el tiempo que recibí de cada uno de ellos para culminar mi maestría.

A mis compañeros de laboratorio: Alan Ruiz por brindarme su tiempo y conocimientos, a mi gran amigo Daniel Tánori por su apoyo incondicional y la mejor vibra llena de su personalidad, a mi fiel amigo José Luis Valenzuela Gutiérrez por su apoyo cada día dentro y fuera del laboratorio, por hacer más ameno el tiempo y la situación cuando algo se me dificultaba y también por desesperarme la mitad del tiempo compartido, gracias por decirme siempre "Tú puedes Mari".

A lo más importante para mí, mi familia, que siempre cree en mí y me motivan a empezar y culminar cada proyecto. Por ser el apoyo cada día en este trayecto brindándome su paciencia y su tiempo.

A mi mamá, que siempre es la primera en alentarme, la que me recuerda que cada día es importante y tiene un efecto. Al decirme que las cosas se hacen bien o no se hacen y por ello siempre será mi ejemplo a seguir para lograr cada objetivo de mí vida yendo un día a la vez.

#### **RESUMEN**

La alta prevalencia de enfermedades no transmisibles ha promovido el desarrollo de alimentos funcionales como un complemento a la prevención y/o tratamiento farmacológico. La quinoa (Chenopodium quinoa Willd) destaca no solo por su alto valor nutricional sino también por su contenido de compuestos bioactivos, los cuales pueden ejercer mediante diferentes mecanismos un efecto saludable en el organismo. El contenido de estos compuestos pudiera aumentar mediante la aplicación de tratamientos térmicos. No obstante, existen escasos reportes en relación al comportamiento de los compuestos fenólicos en quinoa tratada térmicamente cuando son sometidos a proceso de digestión gastrointestinal in vitro. El objetivo del presente estudio fue diseñar y formular galletas a partir de guinoa tratada térmicamente (hervido y microondas) y evaluar su efecto sobre el contenido de fenoles y flavonoides totales, actividad antioxidante y bioaccesibilidad, así como su impacto en los atributos sensoriales. Los resultados demostraron que la digestión gastrointestinal in vitro de 1 g de galleta formulada con quinoa tratada por microondas promovió una mayor bioaccesibilidad de fenoles (647%), flavonoides (98%), ácido ferúlico (144%), rutina (65%) y los glucósidos quercetina (85%) y kaempferol (97%) comparada con galletas formuladas con quinoa cruda. Estos resultados no mostraron asociación con actividad antioxidante en donde el porcentaje más alto fue para quinoa sin tratamiento (1003%), seguido por quinoa tratada por microondas (837%) y finalmente quinoa tratada por hervido (759%). Las galletas formuladas con quinoa tratada térmicamente mostraron la mayor calificación en todos los atributos sensoriales comparado con galletas formuladas con quinoa cruda. En conclusión, las galletas formuladas a base de quinoa tratada térmicamente por microondas puede ser una alternativa viable para la producción de alimentos con potencial saludable.

# **CONTENIDO**

APROBACION	ii
CESIÓN DE DERECHOS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	٧
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABLAS	Χ
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Generalidades de los Pseudocereales	3
Definición de Pseudocereales	3
Aspectos Históricos	4
Aspectos Agronómicos	4
Producción Mundial de Quinoa	7
Usos de la Quinoa	7
Anatomía y Valor Nutricional de la Quinoa	8
Composición Anatómica de la Quinoa	8
Valor Nutricional de la Quinoa	11
Compuestos Bioactivos en Quinoa	13
Compuestos Fenólicos en Quinoa	18
Procesos Térmicos Aplicados en Quinoa para el Mejoramiento de su Potencial Biológico	21
Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Fenólicos	25
Compuestos Bioactivos y sus Beneficios a la Salud	31
La Quinoa como Alimento Funcional	35
HIPÓTESIS	39
OBJETIVOS	40
Objetivo General	40
Objetivos Específicos	40
MATERIALES Y MÉTODOS	41

Obtención y Preparación de las Muestras	41
Tratamientos Térmicos	41
Tratamiento Térmico por Hervido	41
Tratamiento Térmico por Microondas	41
Preparación de las Galletas	42
Formulación	42
Métodos Analíticos	44
Extracción Metanólica	44
Cuantificación de Fenoles Totales	44
Cuantificación de Flavonoides	45
Determinación Compuestos Fenólicos por Cromatografía Liquida de Ultra Resolución (UPLC)	45
Determinación de Actividad Antioxidante	46
Ensayo de Digestión Gastrointestinal in vitro	46
Digestión Boca	46
Digestión Gástrica	47
Digestión Intestinal	47
Prueba de Aceptabilidad de Atributos Sensoriales de las Galletas  Experimentales	48
Análisis Estadístico	50
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	79
RECOMENDACIONES	80
DEFEDENCIAS	21

# **LISTA DE FIGURAS**

Figura		Página
1	Planta de quinoa y sus partes (a): 1; tallo, 2; hoja, 3; inflorescencia, 4; fruto, 5; vista superior y lateral de la semilla. Coloraciones que pueden adquirir las inflorescencias (b)	6
2	Sección longitudinal media de la semilla de quinoa ( <i>Chenopodium quinoa</i> Willd), (a) polifenoles, saponinas y almidón, (b) proteínas y lípidos	8
3	Estructura química de los principales ácidos fenólicos	14
4	Estructura química básica de flavonoides	15
5	Modelo que explica la diferencia entre los términos accesibilidad, bioaccesibilidad y biodisponibilidad	27
6	Interacciones estructurales que afectan la biodisponibilidad de un nutriente en una matriz alimentaria	
7	Posible mecanismo que explica el proceso de inflamación y estrés oxidativo en tejido adiposo y su relación con síndrome metabólico	28
8	Bioaccesibilidad (%) de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales (ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol) en digestión intestinal de 1 g de harina de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM)	34 60
9	Bioaccesibilidad (%) de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales (ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol) en digestión intestinal de 1 g de galleta de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM)	67
10	Porcentaje de recuperación de actividad antioxidante en digestión intestinal de 1 g de harina y galleta de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM)	70
11	Galletas de quinoa y avena integral. Quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), quinoa por microondas (GQM), galleta de avena integral (GAI)	73
12	Atributos sensoriales en galletas de quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), galleta quinoa por microondas (GQM) y galleta avena integral (GAI)	75
13	Prueba de aceptación/rechazo de las galletas de quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), quinoa por microondas (GQM) y avena integral	. 0
	(GAI)	77

# **LISTA DE TABLAS**

Composición química de pseudocereales y cereales	Página 12
Principales ácidos fenólicos y flavonoides identificados en quinoa	17
Perfil de fenoles y flavonoides en diferentes cultivares de quinoa	20
Productos hechos a base de quinoa como alimento "snack"	37
Formulación de las galletas	43
Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en harinas de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión intestinal determinada mediante un ensayo de simulación de digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	52
Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en galletas formuladas a partir de harina de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión intestinal determinada mediante un ensayo de simulación de digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> .	65
	Principales ácidos fenólicos y flavonoides identificados en quinoa  Perfil de fenoles y flavonoides en diferentes cultivares de quinoa  Productos hechos a base de quinoa como alimento "snack"  Formulación de las galletas  Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en harinas de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión intestinal determinada mediante un ensayo de simulación de digestión gastrointestinal <i>in vitro</i> Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en galletas formuladas a partir de harina de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión

# INTRODUCCIÓN

De acuerdo a un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 71% de las defunciones a nivel mundial fueron relacionadas a enfermedades no transmisibles (ENT), entre las que destacan por su alta prevalencia las enfermedades cardiovasculares, cáncer, hipertensión, diabetes, entre otras (OMS, 2018). Se tiene estimado que para el 2030 los costos en salud para el tratamiento de estas enfermedades serán insostenibles. Estudios epidemiológicos han demostrado que el sobrepeso y la obesidad juegan un papel importante en el desarrollo de las enfermedades antes mencionadas. De acuerdo a la OMS, la obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa, y ha sido ampliamente estudiado que lo anterior induce a una inflamación crónica de bajo grado en donde la producción de citocinas pro inflamatorias promueven la producción de radicales libres que conducen a estrés oxidativo (Furukawa et al., 2017). La dieta pudiera ser un complemento al tratamiento farmacológico de estas enfermedades, en donde algunos componentes denominados fitoquímicos o bioactivos pueden por diferentes mecanismos contribuir a la prevención o reducción de estas enfermedades. Estudios clínicos y experimentales han demostrado que el consumo de granos de pseudocereales ha sido asociado inversamente al desarrollo de ENT, en donde la actividad antioxidante ha sido uno de los mecanismos más estudiados y a quien se le ha atribuido el efecto protector. En particular los compuestos fenólicos presentes en pseudocereales tales como ácidos fenólicos y flavonoides han demostrado poseer actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria y anti-cancerígena (Carciochi y Manrique, 2014; Hidalgo et al., 2018; Pellegrini et al., 2018).

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), además de poseer un excelente valor nutricional y tener un potencial saludable alto, está siendo fuertemente considerada como el grano del siglo XXI. Estudios recientes han demostrado que éste grano posee un alto potencial biológico, en donde predominan ácidos fenólicos así como algunos flavonoides (Gorinstein *et al.*, 2007; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010; Pellegrini *et al.*, 2017; Hidalgo *et al.*, 2018).

La quinoa puede ser un ingrediente prometedor en el diseño de alimentos funcionales, no obstante, para su consumo es necesario aplicar diversos tratamientos que potencien sus propiedades biológicas y sensoriales. Los tratamientos térmicos de alta humedad han sido estudiados en una gran variedad de alimentos como por ejemplo trigo (Rosa *et al.*, 2013), sorgo (Salazar-López, González Aguilar, Rouzand-Sández y Robles-Sanchez, 2018), maíz (Camelo-Méndez, Agama-Acevedo, Tovar y Bello-Pérez, 2017) entre otros y en la mayoría de estos estudios se ha observado un incremento de los compuestos fenólicos asociado a la actividad antioxidante. En pseudocereales se han llevado a cabo estudios similares, destacando el incremento de compuestos fenólicos en amaranto y trigo sarraceno (Gómez-Caravaca, Lafelice, Verardo, Marconi y Caboni, 2014; Nickel, Spanier, Botelho, Gularte y Helbig, 2016).

Los tratamientos térmicos aplicados en quinoa han mostrado efectos distintos en cuanto al contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Dini, Tenore y Dini, 2010; Yael, Liel, Hana ,Ran y Shmuel, 2012; Nickel *et al.*, 2016) lo anterior ha sido atribuido a varios factores tales como el cultivar estudiado, sistema de extracción y las condiciones del tratamiento entre otros. Por otra parte, existe una escasa información en relación al comportamiento de los compuestos fenólicos presentes en quinoa tratada y productos derivados durante el proceso de digestión gastrointestinal (*in vitro*), lo que pudiera ser de gran interés generar información relativa de la cantidad de compuestos fenólicos potencialmente absorbibles.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue elaborar galletas a partir de harina de quinoa tratada térmicamente y determinar si el efecto del tipo de tratamiento modifica el contenido de fenoles y flavonoides totales, fenoles individuales, actividad antioxidante y bioaccesibilidad.

Para el presente estudio se elaboraron como producto funcional galletas, particularmente por su larga vida de anaquel y alta densidad de nutrientes, pero además porque pudiera ser posible su función como alimento acarreador de compuestos bioactivos y por su conveniencia como un alimento funcional del tipo "listo para consumir".

### **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

#### Generalidades de los Pseudocereales

#### Definición de pseudocereales

El término pseudocereal se atribuye a aquellos granos o semillas que presentan cierta similitud con el grupo de los cereales. Sin embargo en términos botánicos los pseudocereales pertenecen a las dicotiledóneas, las cuales son plantas con hojas embrionarias o dicotiledones en sus semillas, lo contrario de los cereales que son gramíneas monocotiledoneas por lo cual reciben el nombre de cereales verdaderos como el trigo, sorgo, arroz, cebada y avena (Alvarez-Jubete et al., 2010). Destacan como pseudocereales de mayor consumo el amaranto (Amaranthus), quinoa (Chenopodium quinoa) y trigo sarraceno o buckwheat (Fagopyrum esculentum). La similitud entre pseudocereales y cereales, básicamente se atribuye a que ambos comparten características anatómicas y de composición que permiten que tecnológicamente puedan ser procesados de la misma manera. No obstante, una características particular de los pseudocereales es que estos no contienen gluten y poseen características nutricionales excepcionales, incluso por arriba de los propios cereales lo que ha provocado un auge en el consumo de estos alimentos en los últimos años, principalmente en los países europeos ya que es donde se encuentra la mayor prevalencia de enfermedad celíaca (intolerancia al gluten) (Gorinstein et al., 2007).

La AACC (American Association of Cereal Chemists) define como grano entero a todo aquel que está constituido por todos los componentes anatómicos que forman parte del fruto del grano; endospermo, germen y pericarpio y reconoce dentro de este grupo a los pseudocereales. La estructura de la semilla de los pseudocereales difiere de los cereales como el maíz y el trigo, ya que en la quinoa la semilla el embrión que rodea al perisperma es de forma circular y rico en almidón, el cual junto con la capa de la

semilla (episperma) representan la fracción de salvado rico en grasas y proteínas (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

#### Aspectos históricos

Los pseudocereales, particularmente quinoa y amaranto fueron cultivos primordiales en las antiguas civilizaciones aztecas, mayas e incas (Gallagher, 2019). La región andina en Sudamérica ha sido el centro de origen de muchos granos y frutos que se consumen en la actualidad en todo el mundo. Varias culturas precolombinas han cultivado a la quinoa desde hace siglos, así mismo debido a la gran adaptación que tiene esta planta a los diversos tipos de suelos y climas, ha permitido que los habitantes de los valles interandinos, de zonas altas mayor a 3500 metros sobre nivel del mar, regiones frías (con temperaturas promedio de 12°C) y áridas, puedan contar con este grano andino y aprovechar la calidad nutricional que brinda (Bergesse *et al.*, 2015).

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es uno de los pseudocereales con mayor valor nutricional, es un cultivo que ha resultado de gran interés como alimento durante los últimos 30 años, principalmente en América del Norte y Europa y sigue siendo parte de la dieta básica de las regiones andinas.

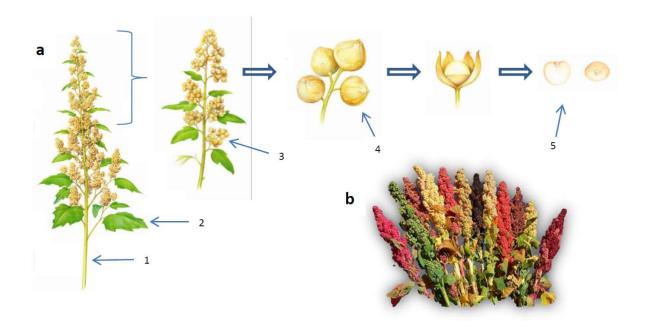
La domesticación en Sudamérica de la quinoa ha sido impulsada por las culturas antiguas desde hace aproximadamente 5000 años. La diversidad de la quinoa andina se ha asociado principalmente con 5 eco tipos: Altiplano (Perú y Bolivia), Valles interandinos (Colombia, Ecuador y Perú), Salares (Bolivia, Chile y Argentina), Yungas (Bolivia) y zonas Costera/Tierras bajas (Chile) (Bazile, Bertero y Nieto, 2014). No obstante, en los últimos años se han venido desarrollando sistemas agrícolas para el cultivo de quinoa en países tan lejanos como Japón.

### Aspectos agronómicos

La quinoa es considerada como una planta alimenticia de desarrollo anual, alcanzando una altura de 1 a 3 metros, tiene hojas anchas y varían sus formas en una misma planta, el tallo central tiene hojas lobuladas y quebradizas y puede tener o no ramas;

esto va a depender de la variedad sembrada. Sus flores son pequeñas y no tienen pétalos, son hermafroditas lo que refiere a que en la mayoría de las plantas de quinoa se auto fertilizan. Posee un fruto seco con un tamaño promedio de 2 mm de diámetro aproximadamente y tiene un tiempo vegetativo que varía entre 150 y 240 días (Figura 1).

Una de las principales características de la quinoa es la flexibilidad que tiene para adaptarse a diferentes condiciones ambientales, ya que existen variedades de la planta que se cultivan a nivel del mar y otras en alturas cercanas a los 4000 metros. Asimismo, la variabilidad genética que predomina, permite a los diferentes cultivares tolerar diferentes factores abióticos como la sequía, altitud, temperaturas extremas y suelos pobres y salinos (Carciochi y Manrique, 2014). El rendimiento que este tiene es de 0.6 a 1.2 toneladas métricas por hectárea (Felix y Javier, 2013).



**Figura 1.** Planta de quinoa y sus partes (a): 1; tallo, 2; hoja, 3; inflorescencia, 4; fruto, 5; vista superior y lateral de la semilla. b) Coloraciones que pueden adquirir las inflorescencias (b). Fuente: Carciochi y Manrique (2014)

#### Producción Mundial de Quinoa

La producción mundial de quinoa en el año 2018 totalizó 167,000 toneladas, con un incremento de alrededor del 9.3% comparado con el año 2017. Los países con mayor producción de quinoa fueron Perú con 86 mil toneladas, Bolivia con 73 mil toneladas y Ecuador con 3 mil toneladas, sumando un 97% de la producción mundial. El consumo promedio mundial de quinoa por persona se estimó en 19 kg/persona (Global Trade, 2018).

El cultivo de quinoa en México se ha venido incrementando en los últimos años, siendo el estado de Aguascalientes el principal productor de este grano. En 2016 el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) registró 26 hectáreas sembradas en los municipios de Asientos y Rincón de Romos, donde la producción promedio fue de más de 70 toneladas anuales (SIAP, 2016).

Se estima que para el 2025 las previsiones globales sean de un consumo de 200 gramos/día y que incluso países tradicionalmente consumidores de arroz, como Japón y Corea del Sur, incluyan quinoa en su dieta (Global Affairs, 2018).

#### Usos de la Quinoa

La quinoa es una planta que tiene diversos usos; el primero de ellos es para la alimentación humana donde se utilizan las semillas enteras o granos (previamente lavados para la remoción de saponinas) y procesadas de diferentes maneras. El grano entero puede ser utilizado de la manera en que regularmente se consumen algunos cereales como el arroz y maíz. Otra de las maneras en que suele usarse la quinoa es como harina para la elaboración de panes en combinación con harina de trigo, también pueden ser galletas y alimentos para bebés, hojuelas o sémola. Las semillas pueden ser germinadas y utilizados sus brotes en la preparación de ensaladas, también las semillas pueden ser tostadas o infladas, o utilizadas en procesos de fermentación para la elaboración de cerveza, todo ello se debe a las propiedades funcionales que tiene

la quinoa; solubilidad, capacidad de retención de agua, gelificación, emulsificante y espumante, lo que permite que tenga diversos usos (James, 2009). Las hojas de la quinoa también han sido utilizadas como las hortalizas de hoja (acelga, espinaca, repollo, etc.) En la alimentación animal la quinoa también se emplea utilizándose las partes que quedan después de la cosecha para elaborar concentrados y suplementos alimenticios y los granos también son utilizados como alimento de aves (Vega-Gálvez et al., 2010).

## Anatomía y Valor Nutricional de la Quinoa

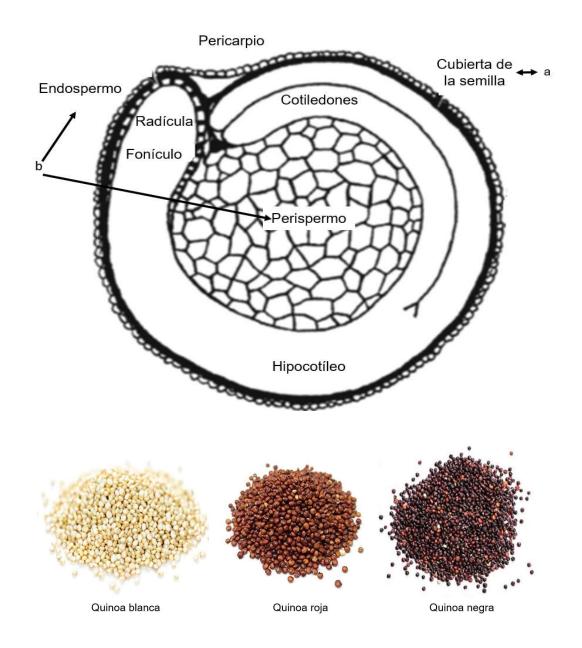
#### Composición anatómica de la quinoa

La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es un grano que tiene un diámetro de 1.5 y 2.5 mm, dependiendo de la variedad. El color que presenta la quinoa va a depender del color del pericarpio y del episperma, los pigmentos que tienen los granos pueden ser de color crema, plomo, amarillo, rosado, rojo y morado, sin embargo, una vez ya procesados los granos pierden su color inicial.

El fruto de la quinoa es un aquenio; perigonio que cubre a una sola semilla por completo y en granos maduros puede ser fácilmente desprendido. La semilla es igual a la forma del fruto de afuera hacia dentro y está constituida por testa, endosperma, embrión y perisperma. Los carbohidratos de reserva se encuentran principalmente en el perisperma, las proteínas, minerales y reserva de lípidos se ubican principalmente en el endosperma y el embrión. La celulosa que contiene el grano está localizada en su mayor totalidad en el perisperma (Vega-Gálvez *et al.*, 2010; Bergesse *et al.*, 2015).

De acuerdo a la estructura de la quinoa (Figura 2) se han diferenciado en el grano tres partes bien definidas desde el exterior al interior del grano: episperma, embrión y perisperma. El episperma, está constituido por cuatro capas que rodean al embrión y al perisperma. La capa exterior (pericarpio) es rica en saponinas que le confieren sabor amargo al grano, en esta parte que es donde se encuentra la cubierta de la semilla es donde se pueden concentrar la mayor parte de los compuestos fenólicos y otros componentes bioactivos. El embrión, formado por dos cotiledones y la radícula,

envuelve al perisperma como un anillo, éste, constituye alrededor del 30% del volumen total de la semilla y concentra el mayor contenido de grasa y proteína del grano. El perisperma, es el principal tejido de almacenamiento y está constituido mayormente por gránulos de almidón, sus células son grandes, de forma poligonal y representa aproximadamente el 60% del volumen de la semilla.



**Figura 2.** Sección longitudinal de la semilla de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), (a) polifenoles, saponina y almidón, (b) proteínas y lípidos. Fuente: Tang y Tsao (2017)

#### Valor Nutricional de la Quinoa

Los granos mayoritarios como trigo, maíz y arroz son una de las principales fuentes de alimentación en las dietas humanas, y aportan alrededor del 50% de la energía que requiere nuestro cuerpo. En la Tabla 1 se presenta una comparativa de los macronutrientes de estos granos convencionales con respecto a los pseudocereales Destacan los pseudocereales por su alto contenido en proteínas y lípidos (Sanlier, 2019).

El grano de quinoa no es un grano excepcionalmente alto en proteínas (12-23%), sin embargo, supera ligeramente a los cereales como la avena, cebada, arroz, trigo y el maíz. La importancia del valor nutritivo de este pseudocereal se le atribuye a la calidad y no al contenido de proteínas debido a que contiene mayor proporción de aminoácidos esenciales, y sobresale por su alto contenido de lisina (6%) y metionina (1%) comparado con los cereales tradicionales. Con respecto al contenido de grasas representa una fracción mayor, considerando que es rica en ácidos grados insaturados (86%) fracción donde se encuentran gran cantidad de ácidos grasos esenciales como el linoleico (56 g/100 g) y linolénico (8.3 g/100 g). Cabe resaltar que la quinoa presenta un alto grado de estabilidad de lípidos frente a la oxidación, esto debido al alto contenido de vitamina E (Carciochi y Manrique, 2014). El contenido de fibra dietaria en pseudocereales destaca del contenido de los cereales, lo que posibilita que estos granos puedan ser utilizados como ingredientes prebióticos.

**Tabla 1.** Composición química de pseudocereales y cereales.

Semilla	Proteína	Grasas Almidón		Fibra dietaria	Ceniza
Amaranto	16.5±0.3	5.7±0.3	61.4±0.8	20.6±1.1	2.8±0.0
Quinoa	14.5±0.3	5.2±0.1	5.2±0.1 64.2±1.3 14.2±0.6		2.7±0.0
Trigo Sarraceno	12.5±0.3	2.1±0.1 58.9±1.3 29.5±1.2		2.1±0.0	
Avena	10.3	4.8	58.2	10.3	3.1
Trigo	9.9	1.8	68.0	2.2	1.7
Maíz	8.9	3.9	72.2	2.0	1.2

Fuente: Alvarez-Jubete, Arendt y Gallagher, (2010); Bergesse et al., (2015)

La quinoa es un pseudocereal tradicionalmente consumido por culturas andinas pero que está atrayendo la atención a nivel mundial como alimento funcional. Debido a su tolerancia a condiciones medioambientales extremas y a sus propiedades nutricionales y biológicas, la quinoa ha sido reconocida como uno de los granos del siglo XXI. Además de su alto contenido de proteína, lípidos, fibra, vitaminas y minerales y a su excelente balance de aminoácidos, la quinoa posee una gran cantidad de fitoquímicos incluyendo saponinas, fitoesteroles, fenoles y péptidos bioactivos. Estos compuestos pueden ejercer efectos benéficos en la salud (Tang y Tsao, 2017; Vilcacundo y Hernández-Ledesma, 2017; Gallagher, 2019).

# Compuestos Bioactivos en Quinoa

Cada especie vegetal posee compuestos bioactivos con una característica y estructura específica, las cuales, son las que brindan diferentes tipos de protección. Los granos contienen fitoquímicos, dentro de los cuales destacan los compuestos fenólicos y que comprenden una gran diversidad de sustancias que presentan el grupo funcional fenol como componente fundamental. De manera conveniente se les pueden clasificar en función del incremento de su peso molecular, partiendo desde ácidos fenólicos, pasando por sustancias de tipo flavonoide hasta llegar a los taninos.

Los ácidos fenólicos presentes en vegetales pueden ser derivados del ácido hidroxibenzoico y los derivados del ácido hidroxicinámico. Estos últimos se encuentran predominantemente ligados a otras estructuras. En este grupo destacan ácido caféico, ácido coumárico, ácido ferúlico y ácido sinápico. En la Figura 3 se muestra la estructura básica de los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos.

Los flavonoides son otro de los grupos presentes en cereales y pseudocereales, estructuralmente constan de dos grupos fenilo unidos por un puente de tres carbonos, formando un anillo heterocíclico oxigenado (C6-C3-C6), hay diferentes grupos de flavonoides los cuales se clasifican en función de los grados de oxidación e insaturación del anillo heterocíclico y oxigenado. Así pueden encontrarse flavonoles, flavonas, flavonas y antocianinas (Figura 4).

**Figura 3.** Estructura química de los principales ácidos fenólicos. Fuente: Carciochi y Manrique, (2014).

Kaempferol  $R_1=R_2=R_3=H$ ;

Kaempferol 3-glucoside  $R_1=R_3=H, R_2=glucose;$ Kaempferol 3-galactoside  $R_1=R_3=H, R_2=galactose;$ Kaempferol 3,7-dirhamnoside  $R_1=H, R_2=R_3=rhamnose;$ Quercetin  $R_1=OH, R_2=R_3=H;$ 

Quercetin 3-rutinoside  $R_1$ =OH,  $R_2$ =rutinose,  $R_3$ =H; Quercetin 3-arabinoside  $R_1$ =OH,  $R_2$ =arabinose,  $R_3$ =H;

#### Flavonols

Figura 4. Estructura química básica de flavonoides. Fuente: Tang et al., (2015).

Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2010) llevó a cabo una revisión en la cual abordó el potencial de utilización de cereales y pseudocereales minoritarios destacando el contenido de compuestos fenólicos (ácido fenólicos y flavonoides) como componentes promotores de la salud.

En la Tabla 2 se muestran los compuestos fenólicos predominantes en quinoa y es importante resaltar que una gran proporción de estos compuestos al igual que en otros pseudocereales y cereales no se encuentran de forma libre, es decir muchos de ellos se encuentran conjugados unidos a carbohidratos (glucósidos) o bien unidos por enlaces covalentes a estructuras de la pared celular, también pueden estar unidos entre ellos mismos formando dímeros o trímeros.

Tabla 2. Principales ácidos fenólicos y flavonoides identificados en quinoa.

Compuesto Fenólico	Referencias
Ácido Caféico	Pasko <i>et al</i> ., 2009
Ácido Ferúlico	Okarter, 2012
Ácido ρ-Coumárico	Okarter, 2012
Ácido ρ-hidroxibenzoico	Pasko <i>et al</i> ., 2009
Ácido Vaníllico	Pasko <i>et al</i> ., 2009
Ácido Gálico	Pasko <i>et al</i> ., 2009
Ácido Cinámico	Pasko <i>et al</i> ., 2009
Ácido Protocatéico	Alvarez Jubete, 2010 b
Miricetina	Repo-Carrasco-Valencia et al., 2010
Quercetina	Alvarez Jubete et al., 20120
Kaemferol	Alvarez Jubete et al., 2010
Isoramnetina	Repo-Carrasco-Valencia et al., 2010
Rutina	Pasko et al., 2010
Orientina	Pasko et al., 2010
Vitexina	Pasko et al., 2009
Morina	Pasko et al., 2010
Hesperidina	Pasko et al., 2010
Neohesperidina	Pasko et al., 2010

Los ensayos espectrofotométricos para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu y flavonoides totales mediante el ensayo de cloruro de aluminio son usados ampliamente para la cuantificación de fenoles en granos. Aunque es importante mencionar que estos ensayos generalmente proporcionan buena información no suelen ser específicos y esto dificulta el poder establecer comparaciones particularmente por el tipo de solvente utilizado para la extracción y por el tipo de estándar utilizado para la cuantificación. De cualquier manera, estos ensayos son maneras útiles de caracterización de granos en relación al contenido de fenoles.

# Compuestos Fenólicos en Quinoa

El contenido de compuestos fenólicos presentes en la quinoa resulta ser muy similar al encontrado en los cereales comúnmente consumidos como el maíz, avena, arroz y cebada. Estudios llevados a cabo por Repo-Carrasco-Valencia et al., (2010) en quinoa han reportado compuestos fenólicos como los flavonoides con contenidos excepcionalmente altos, asumiendo que la quinoa tiene un potencial importante como fuente de compuestos bioactivos.

Trigo sarraceno, amaranto y quinoa han sido estudiados por su potencial biológico como ingredientes para formar parte de dietas saludables. Un estudio comparativo en el cual se analizaron estos tres pseudocereales, reportó que el trigo sarraceno destaca notablemente por su alto contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, mientras que amaranto y quinoa poseen cantidades similares de compuestos fenólicos, pero, en actividad antioxidante reportaron que las semillas de quinoa contienen un poco más del doble que el amaranto (Vollmannova *et al.*, 2013).

En un estudio similar se reportaron resultados diferentes en donde quinoa presentó valores de fenoles y flavonoides totales más altos que amaranto no obstante, es relevante mencionar que las variaciones en los resultados pueden atribuirse al cultivar y al sistema de extracción utilizado para la cuantificación (Gorinstein *et al.*, 2008).

Más allá de su función nutricional o de nutrientes suplementarios, las semillas de la quinoa proveen compuestos con propiedades promotoras de la salud (actividad antioxidante, antiinflamatoria, antibacteriana, entre otras). Existen una gran cantidad de estudios que reportan los contenidos de compuestos fenólicos para distintos cultivares de quinoa cruda. Pellegrini *et al.*, (2018) evaluó el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante en harinas de seis cultivares de quinoa, los resultados demostraron que el contenido de fenoles totales no mostró variaciones significativas mientras que los flavonoides se presentaron en los rangos de 18-23 mgEAG/g.

Entre los ácidos fenólicos presentes en mayor concentración se encontraron el ácido 4-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido gálico, ácido ferúlico y ácido coumárico, sin cambios importantes entre cultivares. De los flavonoides cuantificados es relevante destacar que en cultivares no pigmentados (quinoa blanca) se presentaron concentraciones más altas de rutina, quercetina y kaempferol en comparación con los cultivares pigmentados (quinoa roja y negra). En la Tabla 3 se muestran los resultados más relevantes del este estudio comparativo de los diferentes cultivares de quinoa en la región andina. Estos resultados coincidieron con los reportados por Repo-Carrasco-Valencia et al., (2010); Tang et al., (2015).

Los valores en el contenido de compuestos fenólicos reportados para quinoa no siempre son consistentes, las variaciones pueden atribuirse principalmente al cultivar estudiado, región en la que se encuentre el grano de quinoa y al tipo de extracción realizada para la cuantificación de fenoles totales. Un estudio llevado a cabo por Yawadio, Tanimori y Morita, (2007), encontró diferencias notables entre el cultivar de quinoa boliviana contra quinoa japonesa las cuales arrojaron los siguientes valores: 94.3 mgEAT/g y 148 mgEAT/g respectivamente, estos valores correspondieron a extractos etanólicos, mientras que la extracción con agua demostró muy baja capacidad de recuperación de compuestos antioxidantes.

Tabla 3. Perfil de fenoles y flavonoides en diferentes cultivares de quinoa.

Compuesto	QBE	QBBI	QBBII	QBP	QRB	QRBI
Ácido gálico	76.6 ± 6.7	65.9 ± 6.4	89.6 ±7.2	85.9 ± 17.2	84.7 ± 20.5	97.4 ± 24.2
Ácido ferúlico	58.5 ± 8.5	70.4 ± 3.5	62.5 ± 3.1	63.3 ± 3.6	63.0 ± 1.4	66.4 ± 1.4
Ácido vanilico	84.2 ± 17.6	99.5 ± 2.9	76.3 ± 5.0	76.7 ± 4.0	84.5 ± 23.1	88.1 ± 4.9
Rutina	37.2 ± 13.4	28.5 ± 5.9	27.0 ± 4.5	26.3 ± 1.4	29.4 ± 4.0	26.6 ± 0.0
Quercetina	4.3 ± 0.4	4.5 ± 0.6	2.5 ± 1.7	1.2 ± 0.0	2.3 ± 0.6	1.8 ± 0.1
Kaempferol	57.25 ± 1.7	61.8 ± 59.8	49.2 ± 5.3	33.8 ± 0.5	59.0 ± 0.7	22.7 ± 4.5

Quinoa Blanca de España (QBE), Quinoa Blanca de Bolivia I (QBBI), Quinoa Blanca de Bolivia II (QBBI), Quinoa Blanca de Perú (QBP), Quinoa Roja de Bolivia (QRB), Quinoa Roja de Bolivia otro tipo (QRBI). Fuente: Pellegrini *et al.*, (2018)

# Procesos Térmicos Aplicados en Quinoa para el Mejoramiento de su Potencial Biológico

De manera convencional las diferentes tecnologías aplicadas en alimentos han sido con la finalidad de extender su vida útil, no obstante, estos procesos han venido evolucionando hacia el mejoramiento de su valor nutricional y calidad sensorial. En los últimos años se ha venido mostrando gran interés por el uso de tecnologías convencionales y emergentes para el mejoramiento de su potencial biológico.

El grupo de los pseudocereales no está excluido de este interés, lo que ha detonado el incremento de investigaciones enfocadas hacia el mejoramiento del contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante principalmente, pero también los estudios han avanzado hacia la investigación de los efectos del consumo de estos alimentos sobre sistemas biológicos *in vitro* e *in vivo*.

Los tratamientos térmicos aplicados en granos de cereales y pseudocereales suelen ser una práctica común en orden de mejorar su estabilidad, palatabilidad, inocuidad y en algunos casos mejorar el valor nutricional. Entre las técnicas aplicadas se encuentran el uso de vapor, presión en autoclave, presión atmosférica, tostado y microondas. Algunas de estas técnicas también han mostrado potencial para mejorar la extractabilidad de compuestos fenólicos en el material.

Diversos estudios han demostrado que tratamientos térmicos como el uso de autoclave y presión mejoran de manera significativa el contenido de compuestos fenólicos respecto a su contraparte sin tratamiento térmico (Bryngelsson *et al.*, 2002).

El uso de calentamiento en autoclave ha demostrado que libera compuestos fenólicos ligados, atribuido al rompimiento de estructuras de la pared celular e hidrólisis parcial de polisacáridos complejos (fibra) atribuido a un efecto combinado de la presión y alta temperatura (Zeng, Liu, Luo, Chen y Gong, 2016).

Un estudio llevado a cabo por Vega-Gálvez et al., (2010) demostró que el proceso de deshidratación (secado por aire) en quinoa, mostró efectos negativos en cuanto al

contenido de fenoles totales, los cuales disminuyeron a medida que se incrementó la temperatura de secado, atribuyendo este hecho a la posibilidad de que los compuestos fenólicos pudieron haberse unido a otras estructuras impidiendo su extractabilidad. Sin embargo, resultados opuestos se encontraron para la actividad antioxidante la cual se incrementó particularmente a temperaturas de 40°C y 50°C. Sugiriendo los autores que posiblemente se incrementó la concentración de otros componentes no fenólicos contribuyendo así a la actividad antioxidante.

Asimismo, se ha observado que la actividad antioxidante en materiales tratados hidrotérmicamente se mejora de manera notable en mucha mayor proporción que los compuestos fenólicos, atribuido este hecho a la formación de productos derivados de la reacción de Maillard los cuales en su mayoría presentan actividad antioxidante (Slađana Žilićrefs *et al.*, 2013).

Dini et al., (2010) llevó a cabo un estudio en dos tipos de quinoa: dulce y amarga, y evaluó el efecto del proceso de calentamiento por hervido sobre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, los resultados mostraron una reducción significativa después del proceso de hervido, atribuyendo más que al proceso de calentamiento al hecho de que los compuestos fenólicos solubilizados por acción del calor fueron eliminados cuando se descartó el agua de cocción.

Alvarez-Jubete *et al.*, (2010), llevaron a cabo un proceso de germinación en pseudocereales (trigo sarraceno, amaranto y quinoa) y trigo, posteriormente elaboraron panes a partir de harinas de los germinados. Demostraron que el proceso de germinación mejoró el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante respecto a las muestras sin germinar. Este incremento fue mayor en trigo sarraceno seguido por quinoa, amaranto y finalmente trigo. El proceso de panificación promovió la reducción de los compuestos fenólicos para todos los panes en el siguiente orden: trigo sarraceno<quinoa</td>

 trigo sarraceno<quinoa</td>
 amaranto
 trigo. En otro estudio Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2011) aplicaron un proceso de extrusión en cuatro variedades quinoa y lograron incrementos significativos en el contenido de fenoles totales con un (40%) y actividad antioxidante del (10%). Šťastná *et al.*, (2019) reportaron que en hojuelas de quinoa

pigmentada los fenoles totales libres se encontraron en mayor proporción en relación a los conjugados y ligados, mientras que en hojuelas de quinoa blanca la mayor contribución a los fenoles totales fue de los conjugados y ligados.

En un estudio de Nickel et al., (2016), los granos de quinoa fueron sometidos a cinco diferentes tipos de procesamiento; 1: lavado, el cual se aplicó en todas las muestras antes de los procesos térmicos para reducir el contenido de saponina, 2: lavado + hidratación durante 30 min a 60°C eliminando el resto del agua, 3: cocción a presión atmosférica, donde los granos lavados se colocaron en un sartén con agua hirviendo durante 11 min (tiempo en el que se completó la cocción y evaporación de agua), 4: olla bajo presión con agua, tiempo de 6 min con las mismas condiciones de la cocción a presión atmosférica, 5: tostado, donde los granos lavados se colocaron en aluminio y en una placa calentada a 180 °C durante 15 min. Después del procesamiento de los granos se llevaron a molienda, el contenido de compuestos fenólicos de quinoa natural fue de 97.6±5.6 mgEAG/100 g, y los procesos de lavado, cocción a presión atmosférica y cocción a presión incrementaron de manera significativa el contenido de fenoles totales (116.7±4.8 mgEAG/100 g, 110.65±3.4 mgEAG/100 g, 127.54±7.2 mgEAG/100 g respectivamente) asociado al incremento en actividad antioxidante medida como DPPH. Los autores argumentan que los procesos de calentamiento pudieron haber promovido la liberación de compuestos fenólicos conjugados a excepción del proceso de tostado que sugieren que por el efecto de las altas temperaturas aplicadas estos compuestos fenólicos fueron degradados.

Rocchetti *et al.*, (2017), llevó a cabo un estudio en el cual demostró que el cocimiento de pastas formuladas con harina de quinoa (20%) provocó la pérdida de fenoles ligados hasta de 14 veces para flavonoides y 5 veces para otros compuestos fenólicos, mientras que los fenoles libres permanecieron estables.

Otro de los tratamientos térmicos utilizados para el procesamiento de alimentos es el uso de microondas, este método ha venido incrementando su uso principalmente en países occidentales particularmente por sus bien conocidas ventajas de rápido calentamiento/cocción. Desafortunadamente existen pocos estudios acerca del

cocimiento por microondas sobre el valor nutricional de pseudocereales y específicamente sobre su potencial biológico. El tratamiento hidrotérmico mediante radiación de microondas es un método de calentamiento convencional donde las ondas electromagnéticas son absorbidas por las moléculas polares, generando un rápido aumento de la temperatura de la muestra.

La tecnología de microondas se ha convertido durante los últimos años, en una herramienta que mejora la productividad de los procesos, esta técnica trabaja con radiaciones electromagnéticas que se encuentran en el rango de 0.3 a 300 GHz ( $\lambda$  = 1 hasta 0.001 m), en comparación con los métodos térmicos convencionales, las microondas generan calor dentro del material, lo que conduce a velocidades de calentamiento más rápido y en períodos de tiempos más cortos (Restrepo-Villegas, 2014).

El calentamiento por microondas funciona mediante la generación de ondas electromagnéticas en la frecuencia de las microondas. El agua, grasas y otras sustancias presentes en los alimentos absorben la energía de las microondas en un proceso llamado calentamiento dieléctrico. Muchas moléculas (como las de agua) son dipolos eléctricos, lo que significa que tienen una carga positiva parcial en un extremo y una carga negativa parcial en el otro, por lo tanto, giran en su intento de alinearse con el campo eléctrico alterno de las microondas, al rotar, las moléculas chocan con otras y las ponen en movimiento, dispersando así la energía, la cual, cuando se dispersa como vibración molecular en sólidos y líquidos (tanto como energía potencial y como energía cinética de los átomos), lo hace en forma de calor (Restrepo-Villegas, 2014).

Los estudios de radiación con microondas aplicada en cereales y pseudocereales son escasos. En otros grupos de alimentos como verduras, se ha reportado que los métodos de cocción a presión y calentamiento por microondas son menos detrimentales que la cocción por hervido (Natella, Belelli, Ramberti y Saccini, 2010). En otro estudio se evaluó el efecto del proceso de deshidratación usando radiaciones de microondas en cáscaras de cítricos, reportando que cuando se incrementó la

potencia de radiación (450-600 W) se observaron incrementos significativos con respecto a las cascaras frescas. Se ha reportado que el calentamiento por microondas puede romper enlaces covalentes o conjugados y liberar compuestos fenólicos e incrementar el contenido de fenoles libres (Ghanem, Mihoubi, Kechaou y Mihoubi, 2012).

Es posible encontrar diferentes efectos de los tratamientos térmicos sobre la composición de fenoles en los granos de cereales que pudieran estar relacionados al tipo de grano, la naturaleza y localización de los compuestos fenólicos en estos granos y la severidad y duración del tratamiento térmico (Chandrasekara y Shahidi, 2012). Estos procesos causan un gran número de cambios físicos y químicos debido a la gelatinización de almidón, desnaturalización de proteínas, interacciones de los componentes y reacciones de oscurecimiento. Estos cambios resultan en mejoramiento de las propiedades organolépticas, incremento en disponibilidad de nutrientes, mejoramiento de propiedades antioxidantes, inactivación de compuestos tóxicos lábiles al calor e inhibidores de enzimas (Ragaee, Seetharaman y Abdel, 2014).

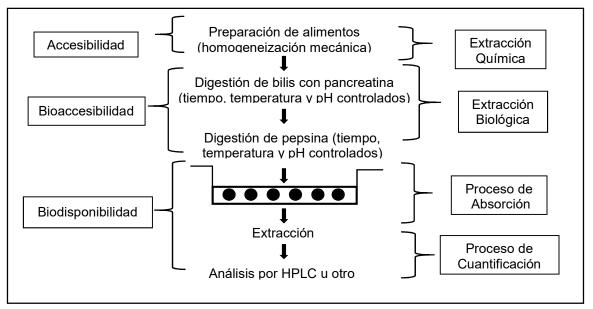
# Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Fenólicos

Resalta el hecho que de manera invariable los contenidos reportados de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en pseudocereales o en cualquier otro tipo de alimento e independientemente de si ha recibido o no algún tipo de proceso, no siempre serán el reflejo de lo que puede presentarse en un sistema de digestión *in vitro* o *in vivo*. Dicho de otra manera, los contenidos reportados de compuestos fenólicos por extracción química no serán los mismos que los obtenidos por una extracción biológica hablando particularmente del proceso de digestión gastrointestinal (Blancas-Benitez *et al.*, 2015). Resulta interesante demostrar que la aplicación de un tratamiento a los alimentos puede mejorar el perfil de fenoles y eventualmente la actividad antioxidante, lo anterior pudiera significar que el tratamiento aplicado hace más accesible el compuesto es decir está "libre". Sin embargo, el término cambia a bioaccesible cuando el alimento es sometido a un proceso de digestión

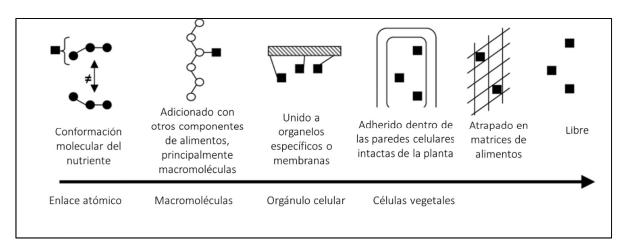
gastrointestinal, de tal manera que bioaccesibilidad se puede definir como la capacidad que tiene un nutriente o compuesto bioactivo de ser liberado de la matriz alimentaria por acción de las condiciones de digestión gastrointestinal y estar disponible para su absorción (Hedren, Diaz y Svanberg, 2002; Kamiloglu *et al.*, 2014).

Por otra parte, la biodisponibilidad se define como la proporción y el grado en el cual una sustancia activa o un producto de la transformación de la misma proveniente de un fármaco o alimento viene a ser absorbida y potencialmente disponible en el sitio de acción (Shi y Maguer, 2000). Por lo tanto, hablar de bioaccesibilidad y biodisponibilidad no es equivalente, ya que si la cantidad recuperada del compuesto durante el proceso de digestión es relevante entonces se habla de bioaccesibilidad, mientras que la biodisponibilidad regularmente se mide en suero humano (estudios *in vivo*). En la Figura 5, puede representarse de manera más comprensible como es que los dos procesos pueden estar sucediendo.

La biodisponibilidad indudablemente va a depender de factores farmacocinéticos que pudieran ser complicados de comprender, pero también es dependiente de la bioaccesibilidad del compuesto. Parada y Aguilera, (2007), propone un modelo en el cual representan como es que la biodisponibilidad de un nutriente/compuesto bioactivo se incrementa a medida que este se encuentra más bioaccesible (Figura 6). La bioaccesibilidad de un compuesto fenólico puede depender de varios factores: 1) la naturaleza de la matriz alimentaria; 2) el tipo de compuesto bioactivo; 3) las interacciones de este compuesto con otras estructuras de la matriz alimentaria y 4) las condiciones de digestión (pH, enzimas).



**Figura 5.** Modelo que explica la diferencia entre los términos accesibilidad, bioaccesibilidad y biodisponibilidad. Fuente : Modificado de Parada y Aguilera, (2007).



**Figura 6.** Interacciones estructurales que afectan la biodisponibilidad de un nutriente en una matriz alimentaria. Fuente: Parada y Aguilera, (2007).

La bioaccesibilidad puede ser evaluada mediante modelos que simulan el proceso de la digestión gastrointestinal. Este proceso es una alternativa adecuada a ensayos in vivo. Los modelos de digestión gastrointestinal reproducen las condiciones fisiológicas en boca, estómago e intestino delgado (Dall'Asta et al., 2016). Actualmente existe un gran número de estudios que evalúan la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos presentes en diferentes grupos de alimentos, con el fin de establecer la cantidad de estos compuestos potencialmente absorbibles. En frutas por ejemplo se han realizado este tipo de estudios y los resultados usualmente coinciden en que los compuestos fenólicos presentan alta bioaccesibilidad. Lo anterior es atribuible a que una alta proporción de estos compuestos presentes en frutas se encuentran en forma libre o unida débilmente a macroestructuras lo que facilita que las condiciones de digestión gastrointestinal favorezcan la liberación de estos compuestos. Los resultados de bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos han sido presentados en bebidas de frutas (Rodríguez-Roque et al., 2015), mango-papaya-piña (Velderrain-Roddríguez et al., 2016), manzanas (Bouayed et al., 2011), extractos de orujo de uva (Gil-Sánchez et al., 2018), uvas (Lingua et al., 2018), entre otros.

En el caso de cereales, el comportamiento es totalmente lo contrario, es decir los porcentajes de bioaccesibilidad suelen ser muy bajos, especialmente cuando se estudian los efectos de harinas provenientes de granos enteros. Esto se explica en función de que en las capas externas de los granos de cereales (salvado), se encuentran concentrados los compuestos fenólicos, pero estos se encuentran unidos a polisacáridos no almidonados de la pared celular (arabinoxilanos), las uniones de tipo éster, no pueden ser degradadas por las condiciones de digestión gastrointestinal por lo tanto la cantidad de fenoles libres provenientes de granos enteros suele ser muy baja. Por otra parte, cuando se somete a digestión harina refinada de cereales, la bioaccesibilidad se presenta muy alta porque los fenoles presentes en el endospermo regularmente se encuentran en forma libre pero con la gran diferencia que las concentraciones aquí son extremadamente bajas.

Estudios sobre bioaccesibilidad de compuestos fenólicos en cereales se han concentrado en trigo y algunos de sus productos (Mateo Anson *et al.*, 2009; Hemery *et al.*, 2010; Žilić, 2016; Świeca *et al.*, 2017), así como también en sorgo (Hithamani y Srinivasan, 2014; Adelakun y Duodu, 2017; Salazar-López *et al.*, 2018).

En pseudocereales los estudios son realmente escasos, aunque se tiene conocimiento de que su proporción de fenoles libres y ligados se encuentra más cercana a la presentada por frutas. Por ejemplo, en trigo sarraceno las proporciones para compuestos fenólicos libres y ligados son del orden de 60% y 40% respectivamente (Verardo et al., 2011), lo que pudiera sugerir que trigo sarraceno pueda mostrar valores de bioaccesibilidad más altos que la reportada para cereales. En amaranto se ha reportado un porcentaje de bioaccesibilidad de alrededor del 30% (Chitindingu et al., 2015). Un estudio llevado a cabo por Gómez-Caravaca et al., (2011) reportó alrededor del 96% de fenoles libres y de 4% de fenoles ligados. Considerando la suma de las concentraciones para 17 compuestos fenólicos identificados como libres (3803.0 µg/g) y de cinco compuestos identificados como ligados (139 μg/g). En un estudio posterior los autores reportaron que las proporciones de fenoles libres y ligados en quinoa variaron muy poco cuando este grano fue sometido a proceso de perlado (Gómez-Caravaca et al., 2014), y que además la reducción de compuestos fenólicos fue menor al 20% lo que pudiera significar que el proceso de perlado pudiera no ser necesario al momento de procesar la quinoa para consumo.

Un estudio reciente llevado a cabo por Pellegrini *et al.*, (2017), evaluó en seis cultivares de quinoa, el índice de recuperación de fenoles y flavonoides posterior a una digestión gastrointestinal *in vitro* y demostraron que el porcentaje de recuperación de fenoles se incrementó en la fase intestinal para todos los cultivares en el rango de 250-325% y para flavonoides el incremento osciló entre 150-500%.

De manera general la matriz alimentaria (cereal, pseudocereal y frutas) y los procedimientos tecnológicos aplicados parecen ser factores cruciales en la bioaccesibilidad y estabilidad de compuestos fenólicos durante la digestión *in vitro*. Sin embargo, es relevante considerar las interacciones entre polifenoles y matriz

alimenticia ya que juegan un importante papel en el monitoreo de los polifenoles durante el proceso de digestión *in vitro*.

## Compuestos Bioactivos y su Beneficio a la Salud

En la actualidad la nutrición está siendo promovida para que se obtengan los mayores beneficios de la alimentación humana y favorecer la prevención o disminución de enfermedades no transmisibles (ENT), interviniendo en algunos procesos fisiológicos para obtener un beneficio funcional para la salud.

Hoy en día, el consumo de antioxidantes se está tomando como prioridad en iniciativas de nutrición en el área de la salud para promover la fortificación de alimentos con antioxidantes de alimentos básicos como los granos, ya que éstos podrían aportar una fuente segura de compuestos antioxidantes para las personas que no consumen frutas y vegetales en sus hábitos alimenticios (Gorinstein *et al.*, 2007).

Muchos nutrientes no esenciales como los compuestos fenólicos presentan actividades biológicas que benefician a la salud, como por ejemplo actividad antioxidante y actividad anti inflamatoria (Navruz-Varli y Sanlier, 2016).

El estrés oxidativo, es el resultado del desbalance a favor de la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs) y defensa antioxidante. Lo anterior conduce a incrementar el daño oxidativo en biomoléculas como lípidos, proteínas y carbohidratos. La actividad antioxidante es una medida que evalúa la habilidad de un componente para reducir el impacto de una ERO. Muchos ensayos químicos han sido desarrollados para evaluar la actividad antioxidante de alimentos o sus derivados, incluyendo la capacidad de absorción del radical oxigeno (ORAC), capacidad antioxidante en equivalentes trolox (TEAC), ensayo de capacidad de reducción férrica (FRAP) y ensayo del radical DPPH.

Recientemente se ha prestado mucha atención a los antioxidantes naturales ya que pueden desempeñar un papel importante en la inhibición tanto de los radicales libres como de las reacciones en cadena oxidativas dentro de los tejidos y las membranas,

por lo tanto, la evaluación de las actividades antioxidantes de los extractos y sus fracciones, se consideran un paso importante antes del aislamiento de los fitoquímicos antioxidantes que contienen (Alberto *et al.*, 2014).

Las semillas de amaranto y quinoa son excelentes fuentes de antioxidantes. La actividad antioxidante medida como DPPH, ORAC y FRAP ha demostrado buena correlación con el contenido de compuestos fenólicos. De manera similar antioxidantes lipofílicos tales como carotenoides, tocoferoles y ácidos grasos presentes en amaranto y quinoa contribuyen de manera importante a la actividad antioxidante.

Por otra parte, a pesar del amplio uso de ensayos de actividad antioxidante con radicales sintéticos, estos carecen de la relevancia fisiológica *in vivo* y se desconoce cómo se afectan por las condiciones de pH y temperatura, pero de manera más importante como se presenta la biodisponibilidad, utilización y metabolismo de los componentes antioxidantes. Para salvar este vacío de información, actualmente se están realizando ensayos de actividad antioxidante utilizando cultivos celulares. Los antioxidantes endógenos tales como glutatión, catalasa, superóxido dismutasa, también participan en la defensa contra el estrés oxidativo y las mediciones *ex vivo* de sus actividades son otra forma válida de evaluar actividad antioxidante de fitoquímicos (Tang y Tsao, 2017).

Los fitoquímicos contenidos en pseudocereales también pueden presentar efecto antiinflamatorio. Citocinas pro-inflamatorias como IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  se incrementan bajo ciertas condiciones patológicas, estas citocinas son reducidas por acción de los compuestos fitoquímicos de algunos pseudocereales. Se tienen reportes de que los compuestos bioactivos hidrofílicos presentes en quinoa cocinada, significativamente inhibieron la liberación de IL-8 y significativamente redujeron la expresión de IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  (Tang *et al.*, 2015).

Los alimentos funcionales pueden mostrar efectos relevantes en varias funciones fisiológicas en el organismo, destacan por su alta asociación con enfermedades

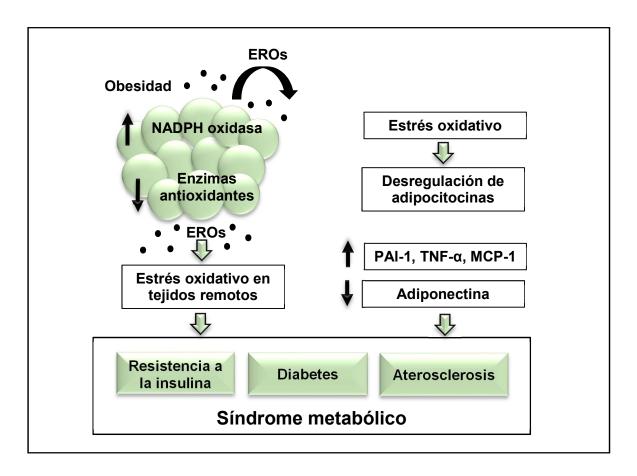
crónicas no transmisibles aquellas funciones relacionadas con defensa del estrés oxidativo, función cardiovascular y regulación de peso corporal.

La obesidad desde tiempo atrás ha sido considerada una condición caracterizada por la deposición de grasa inerte, ahora se le reconoce como una enfermedad inflamatoria sistémica y crónica, en donde el tejido adiposo juega un papel endocrino crucial a través de la producción de un gran número de moléculas bioactivas conocidas colectivamente como adipocinas. Estas moléculas regulan el metabolismo de carbohidratos, lípidos, función inmune y coagulación sanguínea, y pueden ser útiles como biomarcadores de riesgo cardiometabólico.

La inflamación que opera en tejido adiposo como una consecuencia de la sobrecarga de nutrientes resulta en la producción de mediadores inflamatorios. Estos mediadores promueven importantes efectos sistémicos que pueden resultar en resistencia a insulina o alguna enfermedad cardiovascular. En la Figura 7, se presenta un modelo que representa la relación entre obesidad-estrés oxidativo e inflamación. La comprensión de que la inflamación juega un papel crítico en desordenes derivados de la obesidad, ha conducido a proponer estrategias terapéuticas que puedan intervenir en la red inflamatoria inducida por la obesidad (Rocha y Folco, 2011; Furukawa et al., 2017).

Los compuestos fenólicos puros o formando parte de diversas matrices alimentarias han sido ampliamente estudiados por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias lo que ha motivado el interés por proponerlos como agentes terapéuticos en el tratamiento de obesidad.

En orden de destacar el potencial antiinflamatorio y antioxidante de algunos compuestos fenólicos, es posible mencionar al ácido ferúlico (Mateo-Anson *et al.*, 2010; Salazar-López *et al.*, 2018), quercetina (Zeng *et al.*, 2016), kaempferol (Tang *et al.*, 2015). Estos compuestos que han demostrado efectos positivos sobre condiciones de estrés oxidativo e inflamación, están siendo investigados en matrices alimentarias para el combate de enfermedades de alta prevalencia a nivel mundial como las enfermedades no transmisibles.



**Figura 7.** Posible mecanismo que explica el proceso de inflamación y estrés oxidativo en tejido adiposo y su relación con síndrome metabólico. Fuente: Furukawa *et al.*, (2017).

## La Quinoa como Alimento Funcional

En la década de los ochentas las autoridades sanitarias en Japón, dieron a conocer que los gastos que se generaban en salud por una mayor esperanza de vida de la población, podía controlarse garantizando una mejor calidad de vida surgiendo el concepto de "Alimentos para usos específicos de la salud", por sus siglas en inglés (FOSHU), los cuales son definidos como aquellos alimentos que además de su aporte nutricional básico, aportan compuestos bioactivos que tienen una actividad fisiológica específica, teniendo potencial en prevención y/o reducción de enfermedades (Alvídrez-Morales *et al.*, 2002).

Actualmente en el ámbito de la nutrición ha surgido un mayor interés por los alimentos funcionales con el fin de evitar deficiencias nutritivas y poder asegurar una dieta óptima, esto, guiado por las investigaciones que se han realizado actualmente centradas en la identificación de compuestos biológicamente activos que brindan los alimentos y mejoran con ellos las condiciones físicas y mentales.

Los alimentos tradicionales tales como granos enteros, verduras y frutas, contienen componentes que pudieran ser beneficiosos para la salud. Para que un alimento sea considerado funcional debe ser un alimento (natural o procesado), con un componente (sea o no un nutriente) que en conjunto beneficien una determinada función en el organismo, proporcionando salud además de sus propiedades nutricionales.

Como se ha descrito anteriormente la quinoa posee un potencial biológico debido al aporte adicional a la salud que tienen sus componentes bioactivos como los fenoles y flavonoides, así como a la composición de macronutrientes que constituyen el valor nutricional de este pseudocereal y lo hace excepcionalmente recomendado como parte de dietas saludables.

Actualmente, la quinoa se ha ido introduciendo como ingrediente de varios alimentos o productos en los mercados debido a sus múltiples usos, una de las principales ventajas en el uso de la quinoa es la similitud que tiene con los cereales al poder utilizarse como harina (al ser molida sus semillas) y poder integrarse a varios productos.

Por ello, es importante resaltar que la producción de este grano podría verse incrementada debido a su factibilidad de utilizarse como sustituto de algunos cereales como el arroz, el trigo, el centeno, entre otros ya que supera a sus cualidades nutritivas y sobre todo en el aporte de los compuestos bioactivos se ha visto superior a la de los cereales (Sanlier, 2019).

Alvarez-Jubete et al., (2010) mostraron en un estudio que la quinoa presenta un alto valor biológico por la calidad de proteínas que la conforman, así como los carbohidratos de bajo índice glucémico, alta en fitoesteroles y rica en omega 3 y 6. En otro estudio de Farinazzi-Machado et al., (2012) en individuos de 18-35 años se les proporcionó diariamente la quinoa en forma de barra y se realizaron análisis bioquímicos antes y después del tratamiento para medir glucosa y perfil bioquímico. Los resultados mostraron cambios positivos en los niveles totales de triglicéridos, colesterol, y LDL, mostrando a la quinoa como un alimento prometedor para el tratamiento de factores de riesgo relacionado con enfermedades no transmisibles.

Kaur y Tanwar, (2016) evaluaron las propiedades antioxidantes, antihipertensivas y con bajo índice glucémico en bebidas de quinoa producidas a base de harina en diferentes procesos, determinando que la harina de quinoa malteada tuvo alta actividad antioxidante.

En la actualidad existe una variedad de productos "snacks" (Tabla 4) los cuales han venido siendo de gran interés por su funcionalidad al ser de consumo rápido, con propiedades nutricionales y funcionales prometedoras para la salud.

Tabla 4. Productos hechos a base de quinoa como alimento "snack"

Muestra	Producto	Referencia
Harina de Quinoa	Barras	Farinazzi <i>et al</i> ., (2012)
Hojuelas de Quinoa	Barras	Rios et al., (2018)
Harina de Quinoa	Bollitos	Makpoul <i>et al</i> ., (2018)
Quinoa en polvo	Galletas	Brito <i>et al</i> ., (2015)
Harina de Quinoa	Galletas	Watanabe <i>et al.</i> , (2014)

Chlopicka *et al.*, (2012) evaluó el efecto de la adición de harina de trigo sarraceno, amaranto y quinoa en panes (15 y 30 %) y se evaluaron las propiedades antioxidantes y atributos sensoriales. Los resultados sensoriales estuvieron en un rango de 4-8, indicando que los panes fueron moderadamente aceptables. En los porcentajes de adición, los panes enriquecidos con trigo sarraceno mostraron los valores más altos de fenoles y flavonoides totales, mientras que entre los panes enriquecidos con amaranto y quinoa las diferencias fueron mínimas en estos parámetros.

Las galletas son una buena opción para ser consumidas en colaciones o como productos de consumo rápido con valor nutritivo excepcional ya que aportan una importante cantidad de micro y macronutrientes, así como sus compuestos bioactivos con el fin de enriquecer la dieta con productos saludables y con características organolépticas aceptables.

El estudio de Navruz-Varli y Sanlier (2016) informó que una porción de quinoa (40g) cumple una parte importante de las recomendaciones diarias para nutrientes esenciales y compuestos que mejoran la salud.

La quinoa también mejora algunas formas similares a la insulina que son activas como hormonas de crecimiento, el bajo índice glucémico que presenta este pseudocereal la hace un alimento atractivo para consumo de los pacientes diabéticos (baja fructosa y glucosa). Se sugiere que los sujetos intolerantes al gluten y la lactosa también deben ser consumidores de quinoa debido a que es libre de gluten y por sus ricos niveles de proteínas, similares a la calidad de la caseína láctea (Li y Zhu, 2018).

# **HIPÓTESIS**

Galletas formuladas a partir de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) tratada térmicamente (hervido y microondas) presentan mayor bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, sin comprometer la aceptabilidad de sus atributos sensoriales.

## **OBJETIVOS**

# **Objetivo General**

Evaluar el contenido de compuestos fenólicos, su bioaccesibilidad y actividad antioxidante presentes en galletas formuladas a base de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) tratada térmicamente.

# **Objetivos Específicos**

- Evaluar el efecto de la aplicación de dos tipos de tratamiento térmico (hervido y microondas) en quinoa sobre la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de sus harinas.
- 2. Evaluar la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de las galletas formuladas a partir de las harinas tratadas térmicamente.
- 3. Determinar la calidad sensorial del producto mediante pruebas de aceptabilidad sensorial

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

# Obtención y Preparación de las Muestras

Para el presente estudio, se utilizó quinoa (*Chenopodium quinoa* willd), obtenida en comercio de la Ciudad de Hermosillo, Sonora, México. De acuerdo a las especificaciones mostradas en la etiqueta del producto se trató de quinoa entera, blanca y libre de saponinas, marca "Tiqua Quinoa".

## **Tratamientos Térmicos**

## Tratamiento Térmico por Hervido

En un recipiente de vidrio se procedió a calentar 900 mL de agua purificada hasta ebullición, posteriormente se incorporaron al agua en ebullición 300 g de quinoa y una vez que se volvió a alcanzar la temperatura de ebullición se mantuvo al grano por 20 min más en proceso de cocción, tiempo en el cual el grano absorbió el agua de cocción total. El material cocinado fue retirado del calor e inmediatamente enfriado en baño de hielo.

## **Tratamiento Térmico por Microondas**

Para la aplicación del tratamiento térmico por microondas se utilizaron 100 g de quinoa los cuales fueron puestos en un recipiente para microondas y enseguida le fueron adicionados 900 mL de agua purificada. El recipiente y su contenido fueron colocados en un horno de microondas convencional (LG, modelo MS2047GR) y se aplicó posteriormente radiación por microondas a una frecuencia de 100 mHertz por 15 min. Para finalizar, el recipiente fue sometido a enfriamiento rápido en baño de hielo.

Las muestras de quinoa hervida y tratada por microondas fueron empacadas en bolsas de polietileno y congeladas a -85°C para posteriormente ser liofilizadas. Las muestras liofilizadas fueron llevadas a molienda hasta obtener un tamaño de partícula <0.5 mm para lo cual se utilizó un molino experimental Laboratory Mill Mod 1100.

Las harinas de quinoa tratadas térmicamente fueron etiquetadas como QH (quinoa hervida) y QM (quinoa microondas), adicionalmente se obtuvo harina a partir de quinoa sin tratamiento térmico la cual fue etiquetada como QC (quinoa cruda). De cada una de las harinas se tomaron muestras de 5 g para los análisis correspondientes, el resto de las harinas se utilizaron para la elaboración de las galletas y estudio sensorial.

# Preparación de las Galletas

#### Formulación

Para la formulación de galletas se utilizó el procedimiento descrito por Chauhan., et al (2015), este procedimiento está basado en el método estándar de la AACC método (10-50D) para la formulación y obtención de galletas experimentales considerando algunas modificaciones. Todas las galletas fueron formuladas para contener 45.5%-50% de cada una de las harinas experimentales. Se formularon tres galletas experimentales etiquetadas de la siguiente manera: GQC, formulada con harina de quinoa sin tratamiento; GQH, formulada con harina de quinoa tratada térmicamente por hervido; GQM, formulada con harina de quinoa tratada por microondas. Para esta parte del estudio y solo para fines de evaluación sensorial se consideró la formulación de una galleta adicional a base de harina de avena integral como galleta comercial control etiquetada como GAI. La formulación utilizada para la preparación de las galletas se muestra en la Tabla 5.

Se cremaron la mantequilla y azúcar hasta crear una pasta, posteriormente se añadieron los ingredientes en polvo; harina, bicarbonato y sal, se mezclaron por 2 minutos hasta crear una mezcla homogénea. Se tomó la masa para extenderla con un rodillo hasta obtener un grosor de 6 mm y se utilizó un molde cortador de galleta de diámetro 25 mm. Se colocaron las galletas en una charola 20 x 30 cm y fueron llevadas a proceso de horneado a 160°C por 13 minutos. Posteriormente las galletas fueron enfriadas, molidas y almacenadas a -20°C hasta los análisis correspondientes.

Tabla 5. Formulación de las galletas

	Galletas Experimentales <sup>1</sup>			
Ingrediente	GQC	GQH	GQM	GAI
Bicarbonato de sodio (g)	5	5	5	5
Sal (g)	5	5	5	5
Mantequilla (g)	50	50	50	50
Azúcar (g)	40	40	40	40
Agua (mL)	20			
Harina QC (g)	100			
Harina QH (g)		100		
Harina QM (g)			100	
Harina AI (g)				100

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Galleta de quinoa cruda (GQC), galleta de quinoa hervida (GQH), galleta quinoa microondas (GQM), galleta avena integral (GAI).

## **Métodos Analíticos**

#### Extracción Metanólica

Para la cuantificación de fenoles totales solubles en metanol (fenoles libres y conjugados), se llevó a cabo una extracción metanólica tanto en las harinas de quinoa como en las galletas obtenidas de las mismas. En tubos cónicos de 25 mL se pesó 1 g de cada una de las muestras, las cuales se mezclaron con 15 mL de metanol al 80%. La mezcla fue sonicada a temperatura ambiente por 60 min. Enseguida las muestras fueron centrifugadas a 1500 xg/15 min y fue separado el sobrenadante. El residuo fue sometido al mismo procedimiento y al final los sobrenadantes fueron colectados y filtrados en papel Whatman Num 1. Los sobrenadantes de cada una de las muestras fueron evaporados en un rota vapor BUCHI R-100 hasta sequedad y re suspendidos en 5 mL de metanol al 50%. La concentración final de los extractos fue de 0.2 g/mL. Estos extractos fueron almacenados en tubos color ámbar a -15°C hasta las mediciones correspondientes.

#### Cuantificación de fenoles totales

Se utilizó el método reportado por Singleton y Rossi (1965), el cual se basa en la cuantificación espectrofotométrica del complejo coloreado formado por la reacción entre los compuestos fenólicos presentes en los extractos y el reactivo Folin-Ciocalteu. En pocillos de microplaca se colocaron 30 μL de cada uno de los extractos, y posteriormente fueron mezclados con 120 μL de solución de carbonato de sodio al 7.0%. Enseguida se adicionaron 150 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1:9 agua des ionizada). Se dejó incubar la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos y posteriormente se tomaron las lecturas de absorbancia en un lector de microplaca (FluoStar Omega, BMG Labtech Inc., Ortenberg, Alemania) a una longitud de onda de 765 nm. El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó utilizando una curva estándar de ácido gálico y los resultados se expresaron como μg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (μgEAG/g).

#### Cuantificación de Flavonoides

Para la cuantificación de flavonoides se utilizó el método de cloruro de aluminio, siguiendo el procedimiento descrito por Robles-Sánchez *et al.*,(2009) y adaptado a microplaca. El ensayo consistió en colocar en pocillos de microplaca 30 μL de muestra de cada uno de los extractos, se agregaron 9 μL NaNO<sub>2</sub> y posteriormente se adicionaron 120 μL H<sub>2</sub>O incubando un tiempo de 5 min, después se añadieron 9 μL AlCl<sub>3</sub> y se volvió a hacer un reposo de 5 min, para finalizar se colocaron 60 μL NaOH + 72 μL H<sub>2</sub>O. Después del mezclado y de manera inmediata se tomaron las lecturas de absorbancia a 415 nm en un lector de microplaca (FluoStar Omega, BMG Labtech Inc., Ortenberg, Alemania). El contenido de flavonoides se calculó utilizando una curva estándar de quercetina y los resultados se expresaron como microgramos equivalentes de quercetina por gramo de muestra, (μg EQ/g).

# Determinación Compuestos Fenólicos por Cromatografía Líquida de Ultra Resolución (UPLC)

Los compuestos fenólicos fueron cuantificados usando un Sistema de Cromatografía Liquida de Ultra Resolución (Acquity, Waters Co., Milford, MA, USA) equipado con detector de arreglo de diodos (UPLC-DAD), siguiendo la metodología descrita por Velderrain-Rodríguez et al., (2018) con ligeras modificaciones. Brevemente, la separación de los componentes fue llevada a cabo con una columna Acquity UPLC™ BEH C18 (1.7 μm, 3.0 x 100mm) a temperatura de 60°C. Se utilizó un sistema de solventes de fase binaria, agua con 0.5% de ácido fórmico (A) y metanol 100% (B). El gradiente de solventes fue de la siguiente manera: 0-0.25 min 80% de A (flujo 0.4 mL/min); 5 min 80% de A (0.2 mL/min); 12 min 55% de A (0.180 mL/min) y 2 min adicionales para equilibrio de columna (80% de A, 0.4 mL/min). Para la identificación de los compuestos fenólicos, se construyó una librería de espectros comprendiendo los tiempos de retención y el espectro de al menos 20 compuestos fenólicos estándares de mayor predominancia en quinoa y analizados bajo las mismas condiciones cromatográficas descritas arriba.

La cuantificación de los compuestos fenólicos se presentó de acuerdo a curvas de calibración y los resultados fueron expresados como µg de compuesto fenólico/g de muestra.

#### Determinación de Actividad Antioxidante

El ensayo de ABTS se basa en la capacidad de un antioxidante para estabilizar al radical catiónico ABTS•+, la reducción de este radical promoverá un cambio de color el cual podrá ser registrado a una longitud de onda de 745 nm. El procedimiento se describe a continuación: se preparó una solución madre estable de ABTS mezclando 5 mL de una solución acuosa de ABTS (7 mM) con 0.088 mL de persulfato de potasio (148 mM), y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h. La solución de trabajo ABTS•+ se preparó previo a su uso por dilución de la solución madre en etanol (1: 88, v / v), y su absorbancia se ajustó a 0.7±0.02 a 734 nm. Se colocaron en microplaca 280 μL de la solución de trabajo con 10 μL de cada uno de los extractos y se dejó reaccionar durante 5 minutos de reposo. Los resultados fueron expresados como μmol equivalentes de trolox por gramo de muestra (μmolET/g) de acuerdo a una curva de calibración de trolox (Robles-Sánchez *et al.*, 2009).

# Ensayo de digestión gastrointestinal in vitro

Para la estimación de la bioaccesibilidad de polifenoles en el intestino delgado, fue necesario imitar las condiciones de digestión gastrointestinal *in vitro* de sus tres fases (boca, gástrica e intestinal). Se siguió el protocolo sugerido por Chitindingu *et al.*, (2015) con ligeras modificaciones.

## Digestión boca

Cuatro voluntarios aparentemente saludables y en ayunas masticaron durante 15 s un gramo de muestra de cada una de las harinas de quinoa y avena integral. Posteriormente, los sujetos expulsaron la muestra masticada y se colocó en tubos

cónicos 50 mL (nueve tubos por muestra), se enjuagaron la boca dos veces con 5 mL de agua durante 60 s y se recogió el líquido en sus respectivos tubos. Para la obtención del digesto boca se retiraron tres tubos los cuales fueron mantenidos durante tres minutos y enseguida puestos en baño de hielo. Los seis tubos restantes de cada una de las muestras fueron llevados a proceso de digestión gástrica.

## Digestión gástrica

El proceso de digestión en boca continuó hacia la digestión gástrica, agregando a los digestos 5 mL de solución tampón HCl-KCl 0,2 M y haciendo un ajuste de pH a 1.5. Enseguida se agregaron 667 µL de solución de pepsina (300 mg/mL) y los tubos se incubaron durante 1 h en un baño de agua con agitación constante a 37°C (Precision Scientific Mod. 66800 Winchester, VA, E.U.A.). Terminado el tiempo de incubación se retiraron tres tubos de cada una de las muestras y estas fueron llevadas a baño de hielo. Las muestras restantes fueron llevadas a proceso de digestión intestinal.

## Digestión intestinal

A cada uno de los tubos procedentes de la digestión gástrica se les añadieron 9.0 mL de solución fosfato (0.1 M, pH 7.5) y el pH se ajustó a 7.5. Se agregó 1 mL de solución de pancreatina (17 mg/mL) y sales biliares (80 mg), y la mezcla se incubó durante 6 h en un baño de agua con agitación a 37°C y 100 x g para obtener el digesto intestinal.

Cada fase de la digestión contó con un blanco reactivo, y solamente los procedentes de la fase intestinal fueron llevados a centrifugación durante 10 minutos a 1500 xg /4°C; Los sobrenadantes recuperados se congelaron a -80°C y posteriormente fueron liofilizados. Los digestos y blancos liofilizados se re-disolvieron en metanol al 50%, filtrados (Econofltr Nyln 0.25 mm 0.45  $\mu$ m, Santa Clara, CA, Estados Unidos) y almacenados a - 20 ° C en viales ámbar hasta los correspondientes análisis.

Para evaluar el efecto de 1 g de la matriz alimenticia sobre la digestión de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, se evaluó la bioaccesibilidad de estos compuestos

en el intestino delgado y calculado por la diferencia entre el contenido de fenoles en la muestra original (harina o galleta) sin digerir (considerado como el 100%) y la fracción soluble (sobrenadante) de la digestión enzimática. La actividad antioxidante también fue analizada por este procedimiento y expresada como porcentaje de recuperación.

# Prueba de Aceptabilidad de Atributos Sensoriales de las Galletas Experimentales

Las galletas de quinoa (GQC, GQH, GQM) y avena integral cruda (GAI) fueron evaluadas sensorialmente mediante la prueba de aceptabilidad de los siguientes atributos: olor, color, textura manual, sabor, textura paladar y aceptabilidad general. Un grupo de 85 panelistas no entrenados calificaron cada uno de los atributos mediante una escala hedónica de 7 puntos, categorizados de la siguiente manera: 1, me disgusta mucho; 2, me disgusta; 3, me disgusta poco; 4, me es indiferente; 5, me gusta poco; 6, me gusta y 7 me gusta mucho. Adicionalmente los panelistas respondieron a una prueba de aceptación/rechazo del producto mediante la respuesta "Sí" (sí consumiría el producto) y "No" (no consumiría el producto). Las galletas fueron presentadas en charolas de Unicel y etiquetadas con números aleatorios de tres dígitos, la evaluación sensorial se llevó a cabo en una sola sesión y la calificación de cada uno de los atributos se evaluó de acuerdo a la siguiente hoja de respuesta:

## MUESTRA Nº

# EVALUACIÓN SENSORIAL DE GALLETAS DE QUINOA

Responsable: Maribel Valenzuela González

Nombre:

INSTRUCCIONES: escala hedónica cu según sea cada a responder las 2 pre	ánto te gusta, : tributo en el c	siendo	1 me dis	gusta mud	ho a 7	me g	usta mucho
Atributo	Me disgusta mucho			Me es indiferente	<b>)</b>		Me gusta mucho
	1	2	3	4	5	6	7
Color	۵	ם	ם	ם	ם	ם	ם
Olor	ם	ם	ם	ם	ם	ם	ם
Textura manual	ם	ם	ם	ם	ם	ם	ם
Sabor	۵	ם	ם	ם	ם	ם	ם
Textura paladar	۵	ם	ם	ם	ם	ם	ם
Aceptabilidad general	Д	۵	ם	О	ם	ם	ם
¿Cons	umiría usted ha	abitualm	nente una	a muestra	como e	sta?	
	Sí ı	ב	No	ם			

## **Análisis Estadístico**

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta, el diseño experimental del estudio fue completamente al azar, todas las muestras de harina y galletas de quinoa cruda, tratada térmicamente y avena integral se analizaron por triplicado y los resultados fueron analizados mediante un ANOVA. Se realizó la prueba de Tukey para diferenciación entre medias a un nivel de significancia de p<0.05, para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico JMP 5 0.1. Los gráficos fueron elaborados en el programa SigmaPlot v 12.0.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

# Bioaccesibilidad de Fenoles y Flavonoides Totales y Fenoles de Quinoa Tratada Térmicamente

En la Tabla 6 se muestra el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos en quinoa sobre el contenido de fenoles y flavonoides totales y compuestos fenólicos individuales antes (no digerida) y después del proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*. Haciendo un análisis de las muestras antes de la digestión es posible observar que, el tratamiento con microondas (QM) promovió un mayor incremento (p<0.05) en el contenido de fenoles totales (679.26±24.51 μgEAG/g) comparado con los valores obtenidos para QH (580.65±4.69 μgEAG/g) y QC (620.74±17.67 μg EAG/g). Con relación al contenido de flavonoides totales, ninguno de los dos tratamientos térmicos logró incrementar los valores presentados para QC, mostrándose una reducción significativa en el orden del 34% y 26% para QH y QM respectivamente (p<0.05).

En relación al efecto de la aplicación de los tratamientos térmicos en harina de quinoa sobre compuestos fenólicos individuales, en primera instancia, es importante mencionar que de acuerdo a las condiciones cromatográficas establecidas para este estudio, fueron identificados cuatro compuestos fenólicos: ácido ferúlico (320 nm), rutina, glucósido de quercetina y glucósido de kaempferol (360 nm), estos tres últimos fueron identificados en función de la similitud espectral con los estándares incluidos en la librería de espectros. Estos compuestos también fueron identificados en las galletas.

En lo que respecta al ácido ferúlico cabe resaltar que a pesar de que fue detectado, este se presentó por debajo de los límites de detección establecidos por el equipo, lo que no hizo posible su cuantificación para ninguna de las muestras de quinoa analizadas.

**Tabla 6.** Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en harinas de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión intestinal determinada mediante un ensayo de simulación de digestión gastrointestinal *in vitro*.

	QC		QH		QM	
Componente	No digerida	Digerida	No digerida	Digerida	No digerida	Digerida
Fenoles totales (µgEAG/g)	620.7±17.6ab	1942.2±82.3 <sup>A</sup>	580.6±4.60 <sup>b</sup>	371.0±30.8 <sup>C</sup>	679.2±24.5 <sup>a</sup>	1302.27±36.2 <sup>B</sup>
Flavonoides totales (µgEQ/g)	1126.3±25.7 <sup>a</sup>	891.5±39.4 <sup>A</sup>	739.3±33.2 <sup>b</sup>	673.9±52.07 <sup>B</sup>	824.0±17.4 <sup>b</sup>	653.60±33.0 <sup>B</sup>
Ácido Ferúlico (μg/g)	NC	$7.8 \pm 0.50^{B}$	NC	32.2±0.10 <sup>A</sup>	NC	33.29±0.20 <sup>A</sup>
Rutina (µg/g)	315.5±25.9 <sup>a</sup>	61.1±0.10 <sup>c</sup>	174.8±17.5 <sup>b</sup>	122.1±0.10 <sup>B</sup>	340.2±13.3 <sup>a</sup>	139.04±1.2 <sup>A</sup>
Quercetina 3-glucósido (µg/g)	168.3±18.0 <sup>a</sup>	71.1±1.5 <sup>A</sup>	84.1±8.03 <sup>b</sup>	51.8±0.05 <sup>C</sup>	159.7±13.3 <sup>ab</sup>	60.8±0.10 <sup>B</sup>
Kaempferol-3-glucósido (μg/g)	272.5±20.5 <sup>a</sup>	145.8±0.70 <sup>A</sup>	142.7±14.7 <sup>b</sup>	112.8±1.9 <sup>C</sup>	270.2±10.7 <sup>a</sup>	122.7±0.30 <sup>B</sup>

Los datos son expresados como el promedio (n=3) ± EE. Diferentes letras superíndices minúsculas o mayúsculas en cada renglón para harinas de quinoa antes (a) y después (A) de la digestión respectivamente, indican diferencias significativas entre los valores promedio (p<0.05). QC: harina de quinoa cruda; QH: harina de quinoa hervida; QM; harina de quinoa microondas; NC: no cuantificable

Las muestras de QH, no lograron superar los valores reportados para quinoa cruda (QC) para ninguno de los tres flavonoides analizados con pérdidas de alrededor del 55%, 49% y 52% para rutina, quercetina y kaemferol respectivamente. Mientras que las muestras tratadas por microondas (QM), no mostraron cambios significativos con relación a quinoa cruda (p<0.05).

Un estudio realizado por Gorinstein *et al.*, (2007) reportó valores de fenoles y actividad antioxidante en quinoa cruda de 600±53.8 µgEAG/g y 1.71±0.18 µmET/g respectivamente muy parecidos a los reportados en el presente estudio. Por otra parte, Chlopicka *et al.*, (2012) evaluó el contenido de compuestos fenólicos en diferentes harinas de pseudocereales incluyendo la quinoa, los resultados de fenoles totales reportados fueron notablemente más altos que los reportados en nuestro estudio.

Carciochi, Manrique y Dimitrov, (2015) llevaron a cabo un estudio de optimización del sistema de extracción de compuestos fenólicos reportando que extracciones con etanol 80% a 60°C y sin asistencia de ultrasonido se pueden alcanzar las más altas concentraciones de fenoles y flavonoides totales (1020.86 µgEAG/g y 260.90 µgEQ/g respectivamente). Estos resultados pudieran considerarse más cercanos a los obtenidos en nuestro estudio. En otro estudio realizado por Vollmannová *et al.*, (2013) quien evaluó seis variedades de quinoa mostró valores de fenoles totales en el rango de 456±57.88–1053.18±06.5 µgEAG/g, datos que coinciden con los obtenidos en el presente estudio. De la misma manera los resultados obtenidos por Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, (2010) mostraron similitud en contenido de fenoles y actividad antioxidante de quinoa con los obtenidos en nuestro estudio.

Pellegrini *et al.*, (2018), reportó que la quinoa pigmentada contiene significativamente mayor contenido de flavonoides totales comparado con quinoa blanca, mientras que en el contenido de fenoles totales no se presentaron diferencias significativas entre las quinoas evaluadas, los valores reportados fueron considerablemente más altos que los presentados en nuestro estudio.

Una situación similar se presenta para compuestos fenólicos individuales, para el caso de ácido ferúlico que no fue detectado en el presente estudio, Repo-Carrasco-

Valencia et al., (2010), analizó el contenido de compuestos fenólicos individuales en diferentes variedades de quinoa pigmentada, reportando que el contenido promedio de ácido ferúlico fue de 150 ug/g. Paśko et al., (2009), en cambio, mostró coincidencia con nuestros resultados en cuanto a que el ácido ferúlico no fue detectado en las semillas de quinoa. En otro estudio, Pellegrini et al., (2018), presentó contenidos de rutina, kaempferol y quercetina en quinoa blanca notablemente más bajos que los reportados en nuestro estudio. Un aspecto que pudiera ser relevante resaltar fue que las muestras analizadas en este estudio fueron molidas en una licuadora convencional lo que posiblemente no se llegó a una reducción del tamaño de partícula suficiente como para alcanzar una solubilización más efectiva de los flavonoides en el sistema de extracción. Vollmannova et al., (2013), reportó contenidos de rutina en quinoa similares a los presentados en nuestro trabajo.

Resulta especialmente complicado tratar de encontrar similitudes de los resultados de fenoles y flavonoides encontrados en nuestro estudio con otros estudios reportados en quinoa cruda, particularmente porque pueden presentarse diferentes aspectos que no permiten alcanzar un cierto grado de consistencia entre resultados. Por mencionar algunos se puede atribuir esta variación a la variedad de quinoa utilizada para el estudio ya que se ha reportado que variedades pigmentadas pueden tener mayores contenidos de estos compuestos fenólicos, el tipo de extracción utilizada para la cuantificación, esto debido a que los procedimientos de extracción pueden variar desde el uso de agua, soluciones metanólicas acuosas/ácidas, solventes no polares como hexano entre otros, el tamaño de partícula muy relevante en el sentido de que a menor tamaño de partícula mayor superficie de contacto del solvente con la matriz alimentaria, y es posible que también la reactividad del reactivo de Folin Ciocalteu con otros compuestos no fenólicos como aminoácidos, proteínas entre otros. Estas situaciones pueden contribuir a que se presente una sobre o subestimación de los compuestos fenólicos.

En otro aspecto del presente estudio es importante destacar el efecto de los tratamientos térmicos en quinoa sobre los compuestos fenólicos. De acuerdo a los resultados es posible sugerir que el tratamiento con microondas mostró un efecto menos detrimental que el tratamiento de cocción por hervido.

Existe evidencia científica en relación a los efectos de procesos térmicos sobre el contenido de compuestos fenólicos en quinoa. El estudio de Nickel et al., (2016) evaluó seis diferentes procedimientos tecnológicos en quinoa y reportó en orden de mejor retención de compuestos fenólicos: quinoa lavada y cocinada a presión > quinoa lavada > quinoa lavada y cocinada por hervido > quinoa lavada e hidratada > quinoa lavada y tostada. Estas diferencias en el contenido de compuestos fenólicos entre tratamientos están relacionadas con el tipo de compuestos fenólicos presentes los cuales pueden estar libres, conjugados y ligados y dependiendo del tipo de tratamiento aplicado estos pueden ser liberados. Particularmente la diferencia en los resultados entre cocción por hervido y cocción a presión en este estudio se atribuyó a que la combinación de temperatura, tiempo y presión fue lo que generó una mayor liberación de compuestos fenólicos, ruptura de estructuras, pero particularmente el poco tiempo de duración del proceso promovió su conservación a diferencia del hervido que posiblemente también liberó compuestos fenólicos sin embargo, los 11 min de duración del proceso pudo haber favorecido la degradación de los mismos.

No obstante, otros estudios han demostrado que el proceso de cocción puede no modificar el contenido de fenoles en quinoa, como es el caso del trabajo realizado por Yael et al., (2012), quienes evaluaron el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos (cocción y horneado) sobre el contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante en quinoa roja y amarilla. Los resultados mostraron que en quinoa roja el contenido de los tres parámetros evaluados fue superior a la quinoa amarilla previo al proceso de cocción. Cuando se aplicó el tratamiento térmico ambos tipos de quinoa conservaron sus respectivos contenidos. El horneado fue similar a la cocción, salvo que los flavonoides se vieron reducidos significativamente y hubo un

aumento en la actividad antioxidante de las semillas rojas, este último cambio podría deberse a los productos de reacción de Maillard.

Por otra parte, reducciones significativas en el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides han sido reportados en quinoa dulce y amarga posterior al proceso de cocción por hervido, este efecto en particular ha sido atribuido al descarte del agua de cocimiento (Dini *et al.*, 2010).

En relación al uso de microondas como tratamiento de cocción en quinoa, para el mejoramiento de su potencial biológico no existen muchos reportes que permitan contrastar nuestros resultados. Básicamente la mayoría de los estudios en donde se usa radiación por microondas en cereales y pseudocereales es para combinarla con sistemas de extracción con solventes para mejorar la extracción de algunos componentes (Gianna *et al.*, 2012) o también el uso de microondas se ha empleado en procesos de secado de semillas es decir como tratamiento térmico en ausencia de humedad. Las radiaciones de microondas también están siendo utilizadas para mejorar el contenido de fenoles y flavonoides totales durante el proceso de germinación de sorgo (Hassan *et al.*, 2019).

Las ventajas del uso de microondas radican en la velocidad de calentamiento de las muestras y prevención de sobrecalentamiento, evitando la degradación de sustancias termolábiles al calor. Por esta razón se pueden alcanzar buenos rendimientos en corto tiempo. De esta manera pudiera presentarse el uso de las radiaciones de microondas para liberar compuestos bioactivos presentes en matrices alimentarias.

Estudios en matrices alimentarias aplicando radiación por microondas como tratamiento térmico de alta humedad han sido llevados a cabo en algunos cereales y frutas. Dey *et al.*, (2018), llevó a cabo un estudio en hojas comestibles de varios vegetales incluyendo amaranto rojo en el cual evaluó el efecto de cuatro tipos de tratamientos térmicos sobre fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante. Los resultados demostraron que específicamente en amaranto el proceso de freído fue el método que presentó mejores resultados con aumentos mayores al 50% del valor de la muestra original, para los tres parámetros, los autores atribuyeron este

comportamiento a que el aceite forma una capa protectora que impide la degradación de los compuestos fenólicos durante el calentamiento. Los procesos de blanqueo, cocinado por hervido y por microondas mostraron reducciones hasta de un 50% en relación a las muestras sin tratamiento. De estos últimos tres tratamientos aplicados el de microondas fue el que menores pérdidas presentó en contenido de fenoles y flavonoides totales.

Trigo sarraceno es de los pseudocereales que han sido mayormente estudiados particularmente porque este grano destaca por su alto contenido de fenoles y flavonoides respecto al amaranto y quinoa. Para mejorar el contenido de estos compuestos bioactivos en este grano se han probado algunos tratamientos. Deng et al., (2015), evaluó el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos como altas presiones hidrostáticas, calentamiento por hervido y por microondas en trigo sarraceno sobre los flavonoides totales y demostró que ninguno de los tres tratamientos logró mejorar el contenido de flavonoides con respecto a la muestra sin tratar. Sin embargo, la aplicación de altas presiones y microondas mostraron una reducción del 18-20% de flavonoides totales mientras que el calentamiento por hervido redujo estos compuestos hasta un 38%. Estos resultados pueden sugerir que los flavonoides pueden ser sensibles a las altas presiones y al calentamiento.

Estos resultados son consistentes con los reportados en nuestro estudio, en donde los tratamientos térmicos aplicados afectaron reduciendo el contenido de fenoles y flavonoides totales, actividad antioxidante, así como los compuestos fenólicos individuales, sin embargo, fue el tratamiento térmico por microondas el que mostró un impacto positivo en la quinoa.

Continuando con el análisis de la Tabla 6, de la misma manera, se muestra el contenido de fenoles y flavonoides totales y, compuestos fenólicos individuales provenientes de la digestión intestinal de 1 g de quinoa (QC, QH y QM). Haciendo un análisis comparativo con los valores obtenidos de fenoles totales en las muestras no digeridas con los obtenidos después de la digestión intestinal, es posible observar que en los digestos intestinales provenientes de QC, el contenido de fenoles totales se incrementó 3 veces comparado con su valor antes de la digestión

(620.74±17.67 vs 1942.25±82.38 μgEAG/g), mientras que en QM el incremento fue casi el doble del contenido inicial (679.26±24.51 vs 1302.27±36.28 μgEAG/g). Por otra parte, las condiciones de digestión gastrointestinal de QH no favorecieron la liberación de fenoles totales ya que se presentaron valores menores respecto a sus valores iniciales (580.65±4.69 vs 371.02±30.81 μgEAG/g).

En relación al contenido de flavonoides totales en los digestos intestinales se observaron disminuciones significativas con respecto a los valores iniciales para todas las muestras analizadas. No obstante, entre digestos se observó que el contenido de flavonoides totales obtenidos a partir de la digestión de las muestras QH y QM fue menor comparado con los obtenidos en QC (p<0.05).

Con respecto a los componentes fenólicos individuales determinados en el digesto intestinal de las muestras de quinoa tratada térmicamente, se puede observar que el proceso de digestión promovió liberación de ácido ferúlico en mayor medida para muestras de QH y QM, (32.2±0.10 µg/g y 33.3±0.20 µg/g, respectivamente), es importante resaltar este hecho considerando que en los extractos metanólicos (quinoa no digerida) este compuesto fenólico no fue posible su cuantificación.

El flavonoide rutina disminuyó considerablemente en digestos intestinales, para todas las muestras, no obstante, la mayor concentración se presentó en QM con incrementos de alrededor del 12% respecto a QH y del 56% para QC. Quercetina y kaempferol mostraron un comportamiento similar a la rutina, es decir, los valores se mostraron más bajos respecto a los valores encontrados en extractos metanólicos para todas las muestras de quinoa. QC mostró los contenidos más altos para quercetina y kaempferol (p<0.05), pero entre tratamientos térmicos QM superó a QH.

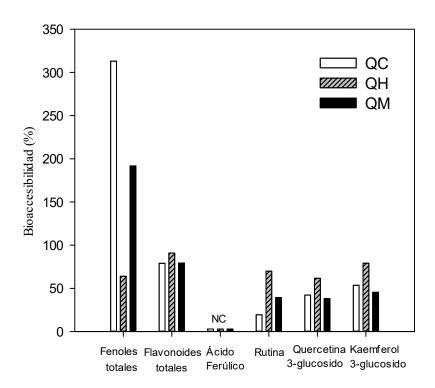
Es importante señalar que los resultados anteriores corresponden a las concentraciones de compuestos fenólicos y actividad antioxidante encontradas en 1 g de cada una de las muestras de quinoa antes y después de la digestión intestinal evaluada mediante un ensayo de simulación gastrointestinal *in vitro*.

Es relevante tomar en cuenta que al existir diferencias entre los contenidos iniciales de compuestos fenólicos y actividad antioxidante entre las muestras sometidas a proceso de digestión se presentan dificultades para comparar las muestras de quinoa en relación al efecto de la matriz alimentaria sobre la bioaccesibilidad bajo condiciones intestinales. Para normalizar estos resultados, se propuso en este estudio calcular la bioaccesibilidad en función del contenido inicial en las muestras (sin digerir) y considerando que el procedimiento de extracción contribuyó a una máxima obtención de estos compuestos fenólicos se tomó como un 100% de extracción.

En este sentido en la Figura 8 se presenta la bioaccesibilidad (%) de los componentes fenólicos para cada una de las muestras de harina de quinoa digeridas. Muestras de QH y QM no lograron mejorar la bioaccesibilidad de fenoles totales con respecto a QC quien presentó hasta un 312% de bioaccesibilidad. Comparando entre los dos tratamientos térmicos aplicados, el uso de microondas en la quinoa presentó una mayor bioaccesibilidad de fenoles totales (191%) con relación al tratamiento por hervido (63%).

En cuanto a los flavonoides totales la recuperación fue menor al 100% para todas las muestras evaluadas, lo que pudiera sugerir que el proceso de digestión pudo por un lado no favorecer la liberación de estos compuestos o bien el mismo proceso de digestión promovió la degradación de los mismos. No obstante, las muestras de quinoa hervida mostraron una mayor estabilidad de los flavonoides presentes en el digesto intestinal (91%) respecto a quinoa microondas (79%).

En relación a los flavonoides individuales cuantificados en los digestos, se observó que rutina, quercetina y kaempferol no alcanzaron el 100% de bioaccesibilidad con respecto a sus contenidos iniciales para todas las muestras digeridas. Los porcentajes más bajos fueron para las muestras de quinoa cruda y las muestras digeridas de quinoa hervida mostraron los porcentajes de bioaccesibilidad más altos de rutina, quercetina y kaempferol comparado con quinoa cruda y quinoa microondas.



**Figura. 8** Bioaccesibilidad (%) de fenoles totales, flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales; ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol en digestión intestinal de 1 g de harina de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM).NC: no calculado.

Los resultados presentados aquí, vienen a reforzar el hecho de que el proceso de digestión gastrointestinal modifica de manera significativa el contenido de componentes fenólicos. Las condiciones de digestión gastrointestinal (ph, actividad enzimática), las posibles interacciones que se presentan entre los componentes durante la digestión y la estructura de la matriz alimentaria, entre otros factores, pueden influir de manera relevante en la reducción y/o incremento de los componentes fenólicos. De tal manera que, mientras que quinoa tratada por microondas mostró ser el mejor tratamiento térmico en cuanto a contenido de compuestos fenólicos, cuando esta muestra fue digerida no mostró los mejores porcentajes de recuperación de fenoles comparado con el tratamiento térmico por hervido.

Particularmente analizando el comportamiento del contenido de los fenoles totales es posible asumir que la muestra de quinoa cruda, la cual aparentemente se encontraba intacta su estructura, fue la que mostró una tendencia a recuperar una mayor cantidad de fenoles totales con respecto a quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM).

A pesar del hecho de encontrar compuestos fenólicos con actividad antioxidante en muestras de quinoa cuantificados por métodos químicos, no necesariamente es un reflejo del efecto potencial que puedan tener sobre la salud humana

Es conocido que un componente bioactivo puede ejercer su efecto biológico si se encuentra disponible para su absorción, de aquí la importancia de incluir estudios que muestren la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos, la cual puede ser medida de maneras diferentes (estudios *in vivo*, cultivos celulares, modelos de digestión *in vitro*). Estos últimos han sido ampliamente utilizados en diferentes matrices alimenticias para evaluar diferentes compuestos bioactivos como fenoles, carotenos, vitamina E entre otros.

Resultados similares para quinoa cruda fueron reportados por Pellegrini *et al.*, (2017), quienes evaluaron índices de recuperación intestinal de fenoles y flavonoides totales de seis variedades de quinoa (cuatro blancas y dos pigmentadas) obteniendo valores para fenoles totales en el rango de 250-320% y

para flavonoides totales el rango fue de 150-500% valores más altos que los obtenidos en nuestro estudio.

Posiblemente el estudio anterior sea el único publicado a la fecha sobre digestibilidad y bioaccesibilidad de quinoa cruda. No obstante existen otros reportes que han evaluado estos parámetros en otras matrices alimenticias como es el caso del estudio llevado a cabo por Ortega et al., (2009), quienes evaluaron índices de recuperación de ácidos fenólicos y flavonas de dos derivados de cocoa (licor y polvo) sometidos a digestión gastrointestinal y reportaron porcentajes de recuperación de ácidos fenólicos de alrededor de 1000 y 250% para licor y polvo de cocoa respectivamente, mientras que de flavonas los porcentajes de recuperación fueron de 800 y 700% para agliconas y glucósidos de flavonas en licor de cocoa y de 400 y 700% para agliconas y glucósidos de polvo de cocoa. Bouayed et al., (2011), llevaron a cabo un estudio en el que evaluaron el índice de recuperación de antocianinas en diferentes variedades de manzana, reportando que no hubo recuperación de este compuesto a nivel intestinal, atribuyendo este hecho a que las antocianinas se degradaron bajo las condiciones acidas de la digestión gástrica.

A la fecha no existen reportes en la literatura sobre índice de recuperación (bioaccesibilidad) de compuestos fenólicos y flavonoides en quinoa tratada térmicamente.

De acuerdo a los resultados mostrados en este experimento es posible sugerir que las condiciones de digestión gastrointestinal favorecieron la liberación de fenoles totales en quinoa cruda, es posible que las estructuras intactas de la quinoa protegieron de alguna manera la degradación de los compuestos fenólicos y esta protección fue menor en quinoa tratada por microondas y disminuyó en mayor medida en QH.

Un comportamiento diferente fue el presentado por los flavonoides individuales, en donde ninguno de los tres compuestos evaluados logró recuperaciones mayores al 100%, sin embargo, en digestos intestinales de quinoa hervida se alcanzaron índices de recuperación más altos comparado con quinoa cruda y quinoa tratada por microondas.

Una posible explicación a este hecho es que la degradación de la matriz alimenticia atribuida al tratamiento de cocción por hervido pudo haber promovido la hidrólisis del enlace glucosídico presente entre los flavonoides y carbohidratos, las agliconas resultantes son solubles en el sistema de extracción, lo que posiblemente sucedió en menor medida en la quinoa cruda y la tratada por microondas.

Hasta esta parte del estudio los resultados permiten sugerir que la quinoa tratada térmicamente por microondas presenta porcentajes de bioaccesibilidad de fenoles y flavonoides totales e individuales potencialmente disponibles para su absorción.

# Bioaccesibilidad de Fenoles y Flavonoides Totales y Fenoles Individuales de Galletas Formuladas con Quinoa Tratada Térmicamente

Los alimentos funcionales por definición son aquellos que además de su aporte de nutrientes pueden ejercer un beneficio adicional a la salud. Este beneficio puede ser atribuido a componentes de la matriz alimentaria que pueden o no ser nutrientes.

El primer paso en la obtención de un alimento funcional es la selección de la materia prima, la cual debe de garantizar que ésta posee componentes bioactivos que pueden ejercer efectos potencialmente saludables, el segundo paso es seleccionar el tipo y diseño del alimento funcional, en este aspecto las opciones son muchas y muy variadas en donde de manera muy particular toma gran relevancia la población hacia quien va a ser dirigido este alimento. Como cuarto paso, figura la evaluación del potencial saludable, la cual pude llevarse a cabo mediante estudios *in vivo* o *in vitro*. Todo lo anterior conduce a la declaratoria de salud del alimento funcional, la que invariablemente está muy ligada a aspectos regulatorios y legislativos.

Lo anteriormente mencionado puede ser de gran utilidad dado que funciona como una guía al momento de diseñar un experimento que se espera culmine con la obtención de un alimento funcional. Para el caso del presente estudio se formularon galletas a partir de harinas de quinoa tratada térmicamente por dos procedimientos (cocción por hervido y cocción por microondas). Fue seleccionado este producto

considerando las ventajas que tiene en relación a su estabilidad en anaquel, alta densidad de nutrientes, el ser un producto listo para consumir y particularmente porque puede funcionar como transportador de compuestos bioactivos.

En la Tabla 7 se muestra el contenido de fenoles y flavonoides totales y fenoles individuales para cada una de las galletas evaluadas. Para las muestras no digeridas, no se observaron cambios estadísticamente significativos en el contenido de fenoles totales entre los tratamientos térmicos aplicados a la quinoa (p<0.05). De la misma manera, los flavonoides totales no fueron afectados por los tratamientos térmicos aplicados en quinoa (p<0.05). Un comportamiento relevante fue el que presentaron los compuestos fenólicos analizados de manera individual, en primera instancia el ácido ferúlico fue detectado para todas las galletas de quinoa, este resultado de manera particular, es relevante considerando que en las respectivas harinas de quinoa (Ver Tabla 6) este ácido fenólico no fue detectado. Los contenidos más altos de este fenol correspondieron a las galletas formuladas con QH (9.45±0.56 µg/g) y QM (9.40±0.17 µg/g) correspondiendo alrededor del 10% del incremento con respecto a la GQC (8.5±0.11 µg/g), no obstante, este incremento no fue significativo (p<0.05). En cuanto a los flavonoides evaluados en las galletas se observó que rutina estuvo presente en mayor cantidad en QM (66.51±4.03 µg/g), comparado con QH y QC. Quercetina de la misma manera se presentó con valores altos para QM (77.7± 0.41 μg/g) respecto a QC (53.97±1.51 μg/g), pero sin cambios significativos cuando se comparó con QH (71.77±3.65 µg/g), por último, el glucósido kaemferol demostró no ser afectado por los tratamientos térmicos (Tabla 7).

**Tabla 7.** Contenido de fenoles y flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales y actividad antioxidante en galletas formuladas a partir de harina de quinoa tratada térmicamente antes y después de la digestión intestinal determinada mediante un ensayo de simulación de digestión gastrointestinal *in vitro*.

	GQC		GQH		GQM	
Componente	No digerido	Digerido	No digerido	Digerido	No digerido	Digerido
Fenoles totales (μgEAG/g)	446.4±5.90 <sup>a</sup>	2070.7±108.0 <sup>C</sup>	485.7±21.2 <sup>a</sup>	2637.0±88.2 <sup>B</sup>	476.5 ± 14.7 <sup>a</sup>	3083.90±86.7 <sup>A</sup>
Flavonoides totales (µgEQ/g)	1029.8±11.3ª	821.8±36.4 <sup>B</sup>	1081.9±41.8ª	937.8±36.4 <sup>A</sup>	1118.8± 32.5ª	1096.0±54.1 <sup>A</sup>
Ácido Ferúlico (μg/g)	8.5±0.11 <sup>a</sup>	NC	9.45±0.56ª	NC	$9.40 \pm 0.17^{a}$	13.6±2.2
Rutina (µg/g)	40.3±1.40 <sup>b</sup>	NC	46.5±2.1 <sup>b</sup>	NC	$66.5 \pm 4.03^{a}$	43.7±5.9
Quercetina 3-glucósido (µg/g)	53.9±1.51 <sup>b</sup>	NC	71.7±3.6 <sup>a</sup>	NC	$77.7 \pm 0.77^{a}$	66.3±7.4
Kaempferol-3-glucósido (μg/g)	76.9±1.5 <sup>a</sup>	NC	76.1±4.4ª	NC	88.8 ± 1.5 <sup>a</sup>	86.5±2.5

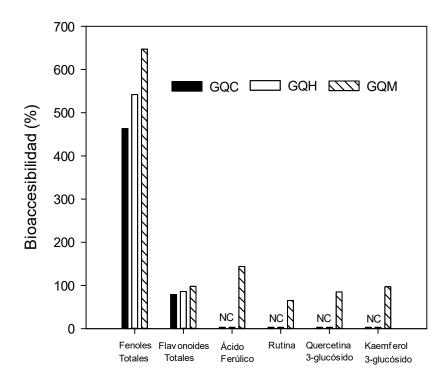
Los datos son expresados como el promedio (n=3) ± EE. Diferentes letras superíndices minúsculas o mayúsculas en cada renglón para harinas de quinoa antes y después de la digestión respectivamente, indican diferencias significativas entre los valores promedio (p<0.05). GQC: galletas de harina de quinoa cruda; GQH: galletas de harina de quinoa microondas; NC: No Cuantificable

Más allá del conocimiento del contenido de compuestos fenólicos en las galletas extraídos a partir de un proceso químico, es particularmente relevante evaluar el efecto que potencialmente puede tener sobre la salud el consumo de las galletas mediante el ensayo de digestión gastrointestinal *in vitro*, esto significa evaluar la capacidad que puede tener un sistema de extracción biológica, en este caso la digestión gastrointestinal para liberar los compuestos fenólicos y conducirlos a intestino delgado para su potencial absorción.

De esta manera, en la Tabla 7, es posible observar que el contenido de fenoles totales se incrementó de manera significativa para todas las muestras evaluadas comparado con los valores iniciales en galletas previo al proceso de digestión. Resultó evidente que el proceso de horneado promovió cambios en la matriz alimentaria para todas las muestras de quinoa digeridas que determinaron la liberación de estos componentes. Los digestos de la galleta formulada con harina de quinoa tratada por hervido (GQH) y con microondas (GQM) presentaron los valores más altos de fenoles totales (2637.06±88.22 µgEAG/g y 3083.9±86.7 µgEAG/g respectivamente (p<0.05) e igualmente para flavonoides totales los valores más altos fueron para las muestras antes mencionadas con (937.87±36.49 µgEQ/g y 1096.55±42.13 µgEQ/g respectivamente (p<0.05).

En relación al contenido de ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol en digesto intestinal, para ninguna de las muestras de quinoa fue posible su cuantificación dado que estos compuestos se presentaron en los niveles mínimos de detección a excepción de galleta formulada con harina de quinoa tratada por microondas (GQM).

Los porcentajes de bioaccesibilidad de fenoles y flavonoides totales provenientes de la digestión de 1 g de galletas formuladas a partir de harinas de quinoa tratada térmicamente (hervido y microondas) se presentan en la Figura 9.



**Figura 9.** Bioaccesibilidad (%) de fenoles totales, flavonoides totales, compuestos fenólicos individuales; ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol en digestión intestinal de 1 g de galleta de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM), no cuantificado (NC).

En fenoles totales es posible observar que todas las muestras evaluadas mostraron porcentajes de recuperación mayores al 100%, es decir en todas las muestras se recuperó mayor cantidad de fenoles totales que los presentes en las muestras antes de la digestión. El mayor porcentaje de recuperación correspondió a los digestos de galleta formulada con harina de quinoa tratada por microondas (647%) seguido por las galletas formuladas con harina de quinoa hervida (543%), en ambos casos los valores fueron entre un 33-35% más altos que los obtenidos para digestos de galletas formuladas con harina cruda. Por otra parte, los flavonoides totales mostraron porcentajes de recuperación menores al 100% para los digestos de todas las muestras GQC (79%), GQH (86%) y GQM (98%), sin embargo, el tratamiento que obtuvo mejor porcentaje de recuperación fue la galleta formulada con quinoa tratada por microondas.

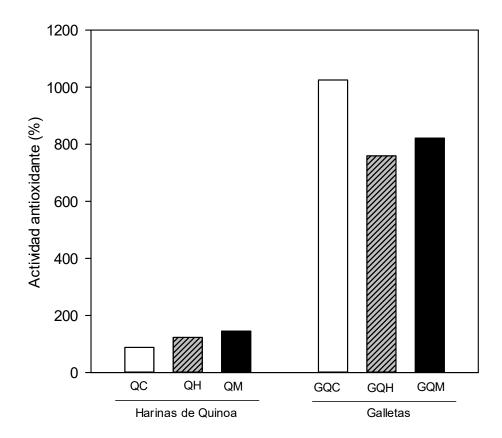
Con respecto a la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos individuales: ácido ferúlico, rutina, quercetina y kaempferol, en uestras de galletas de quinoa cruda y hervida no fue posible realizar el cálculo de bioaccesibilidad en vista de que estos compuestos no se detectaron en los digestos intestinales. En cambio para galletas formuladas con quinoa tratada por microondas el ácido ferúlico rebasó el 100% de bioaccesibilidad en dicha muestra, mientras que los flavonoides rutina, quercetina y kaempferol se presentaron por debajo de este porcentaje.

En relación a la actividad antioxidante, tanto en harinas y galletas antes y después del proceso de digestión no es posible reportarla en términos de bioaccesibilidad, particularmente porque este parámetro no es un componente como tal que pudiera ser potencialmente absorbible.

La actividad antioxidante es una propiedad que puede ser atribuida a un compuesto o grupo de compuestos presentes en la matriz alimentaria. En la gran mayoría de los casos puede existir una alta asociación entre actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de aquí la importancia de evaluar su comportamiento durante el proceso de digestión gastrointestinal, ya que pudiera significar un buen indicador de potencial antioxidante de los compuestos que están en vías de absorción y posterior a presentar un efecto saludable a nivel sistémico.

La Figura 10, muestra el índice de recuperación de la actividad antioxidante en el intestino delgado tanto para las harinas de quinoa tratada térmicamente como para sus respectivas galletas, aquí es posible resaltar que la actividad antioxidante en el intestino se incrementó notablemente en digestos de galletas independientemente de la formulación.

En el caso particular de las muestras de harinas de quinoa, el mayor porcentaje de recuperación de actividad antioxidante se presentó en las harinas de quinoa tratada por microondas (145%), mientras que en el caso de las galletas el mayor porcentaje correspondió a las galletas formuladas con harina de quinoa sin tratamiento térmico QC (1003%), seguido por galletas formuladas con QM (837%) y finalmente en galletas formuladas con QH se presentó el valor más bajo (759%).



**Figura 10.** Porcentaje de recuperación de actividad antioxidante en digestión intestinal de 1 g de harina y galleta de quinoa cruda (QC), quinoa hervida (QH) y quinoa tratada por microondas (QM).

Con los resultados obtenidos en este estudio de simulación de la digestión gastrointestinal, aparentemente no es posible establecer una posible asociación entre actividad antioxidante y bioaccesibilidad de fenoles y flavonoides totales e individuales, en muestras de harina de quinoa y las galletas obtenidas de las mismas.

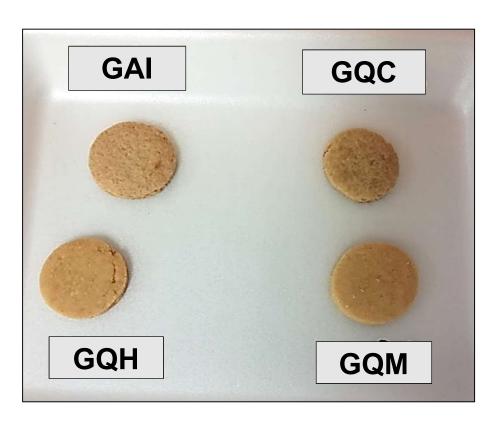
El uso de diferentes tipos de cereales y pseudocereales, así como una mezcla de los mismos, es una estrategia sugerida para el aumento al contenido de compuestos fenólicos en algunos productos alimenticios (Angelino *et al.*, 2017), también menciona que la baja bioaccesibilidad en algunos pseudocereales y cereales como trigo sarraceno y avena pudiera deberse a que estos granos poseen un alto contenido de fibra lo que pudiera inhibir parcialmente la acción hidrolítica de las enzimas digestivas y limitar la liberación de los fenoles. En otro estudio se evaluó la bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos de harina integral de sorgo tratado por ebullición y extrusión, a pesar de que este cereal posee un alto contenido de compuestos fenólicos la bioaccesibilidad reportada fue relativamente baja atribuyendo lo anterior a la compleja estructura de polisacáridos no amiláceos asociados covalentemente a los compuestos fenólicos como el ácido ferúlico (Salazar-López *et al.*, 2018).

Debido al reconocimiento que tienen los compuestos bioactivos por su efecto benéfico a la salud humana resultan de gran interés, sin embargo, los efectos que presentan no solo dependen del contenido en su matriz alimentaria, si no de la capacidad que éstos tienen para ser absorbidos y estar disponibles en el organismo. Por ello, la realización de estudios *in vitro* con el fin de investigar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos, sugiriendo el uso de pseudocereales como alternativas a los cereales comunes o tratamientos térmicos aplicados, pudieran presentar un mejoramiento en el contenido fenólico e incrementar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de estos compuestos.

## Aceptabilidad Sensorial de las Galletas de Quinoa

La evaluación de las características sensoriales de un producto alimenticio destinado para promoverse como alimento funcional puede convertirse en un punto crucial partiendo del hecho de que el consumidor no solo demanda por alimentos nutritivos y saludables, sino que además estos sean sensorialmente aceptables.

Para el presente estudio se obtuvieron galletas formuladas a partir de cada una de las harinas de quinoa (GQC, GQH y GQM) y una galleta adicional como control, la cual se formuló con avena integral (Figura 11). Se evaluó la aceptabilidad sensorial de las galletas de harina de quinoa comparadas con galletas de harina de avena integral, las cuales son usualmente aceptadas por el consumidor y reconocidas por su potencial saludable.

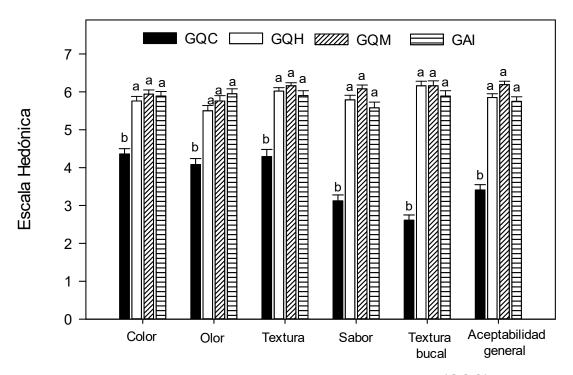


**Figura 11.** Galletas de quinoa y avena integral. Quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), quinoa por microondas (GQM), galleta de avena integral (GAI).

En la Figura 12 se muestran los promedios de las calificaciones otorgadas por los panelistas a cada uno de los atributos sensoriales evaluados de galletas de quinoa y avena integral. De acuerdo a la escala hedónica establecida para este estudio , ninguna de las galletas evaluadas obtuvo la máxima calificación para ninguno de los atributos sensoriales evaluados.

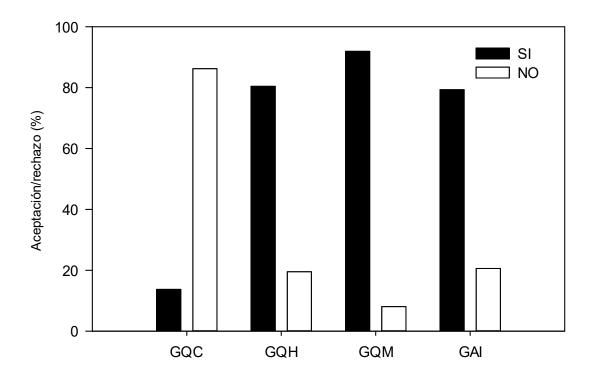
De acuerdo a los resultados obtenidos las galletas formuladas con harina de quinoa tratada por hervido (GQH) y microondas (GQM), así como las galletas de avena integral mostraron los puntajes más altos estadísticamente diferentes a los obtenidos para galleta formulada con harina de quinoa sin tratar (GQC). Los atributos sensoriales que recibieron más baja calificación en las galletas de quinoa cruda fueron la textura bucal (2.61±0.14) y el sabor (3.12±0.16) lo cual determinó que la calificación de aceptabilidad general fuera inferior al resto de las galletas.

A excepción de la GQC, en el resto de las galletas evaluadas no se presentaron diferencias significativas para todos los atributos sensoriales (p<0.05), es importante resaltar que la tendencia fue que los panelistas calificaron con mayor puntaje de aceptabilidad general a la galleta formulada con harina de quinoa tratada con microondas (GQM) con un valor promedio de 6.19±0.09 (equivalente a "me gusta" en la escala hedónica) comparada con GQH y GAI quienes obtuvieron valores de 5.89±0.10 y 5.75±0.12 (equivalente a "me gusta poco" de la escala hedónica") respectivamente .



**Figura 12.** Atributos sensoriales en galletas de quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), galleta quinoa por microondas (GQM) y galleta avena integral (GAI). Los valores corresponden al promedio (n=87) ± error estándar. Barras con diferente letra (por atributo sensorial) son significativamente diferentes (p<0.05)

La prueba de aceptación/rechazo (Figura 13) de cada una de las galletas evaluadas, arrojó resultados interesantes en cuanto a que el 92% de los panelistas respondieron que si aceptarían consumir la galleta formulada con quinoa tratada por microondas (GQM), seguido por 80% para GQH y 79% para GAI, mientras que el 12% de los panelistas respondieron que si aceptarían consumir la GQC, lo que permite sugerir, que los atributos sensoriales evaluados influyeron en la decisión del panelistas para decidir el consumo de la galleta. Estos resultados pueden ser prometedores ya que permite sugerir el consumo de galletas formuladas a partir de harina de quinoa tratada por microondas como alimento funcional listo para consumir, lo que pudiera mitigar la prevalencia de enfermedades no transmisibles, así como coadyuvar en problemas de inseguridad alimentaria.



**Figura 13.** Prueba de aceptación/rechazo de las galletas de quinoa cruda (GQC), quinoa hervida (GQH), galleta quinoa por microondas (GQM) y galleta avena integral (GAI); Sí: consumiría la galleta; No: no consumiría la galleta.

En un estudio por Mosquera (2009) elaboraron galletas a base de harina de trigo donde remplazaron un porcentaje por harina de quinoa en diferentes porcentajes para darle un mayor aporte nutricional, uno de los aspectos a estudiar fue la evaluación sensorial de las galletas, en donde la que obtuvo mayor aceptabilidad fue la que no contenía harina de quinoa, mientras que de las galletas con quinoa añadida la proporción 85:15 (harina de trigo: quinoa) fue la que obtuvo la mayor calificación de parte de los panelistas. En este caso es importante señalar que se trató de harina de quinoa cruda lo que pudo haber afectado la aceptación por parte de los panelistas.

Un estudio similar fue realizado por Watanabe *et al.*, (2014), quienes evaluaron la estabilidad en almacenamiento de grasa contenida en galletas formuladas con 7.5% y 15% de harina de quinoa en sustitución de harina de trigo. Los resultados demostraron que los antioxidantes presentes en galletas de quinoa fueron capaces de inhibir la oxidación de las grasas contenidas en las mismas, pero además estas galletas fueron sensorialmente aceptadas, pero en la escala hedónica correspondiente a "me gusta".

En nuestro caso la formulación de las galletas no fue por método de reemplazo de alguna harina base, es decir todas las galletas estuvieron formuladas con 45.5%-50% de harina de quinoa (QC, QH y QM), lo que puede sugerir que el tratamiento térmico aplicado a quinoa mejora las características de color, olor, textura manual, sabor y textura en paladar de las galletas.

Los resultados presentados en este estudio permiten sugerir que la digestión de 1 g de galleta formulada con harina de quinoa tratada por microondas favorece en mayor medida la bioaccesibilidad de compuestos fenólicos comparado con su contraparte de quinoa sin tratamiento. Lo que permite recomendar este producto como un alimento con potencial saludable.

#### **CONCLUSIONES**

Las galletas formuladas a partir de quinoa tratada térmicamente por microondas presentan mayor bioaccesibilidad de compuestos fenólicos comparado con las galletas formuladas con quinoa tratada por hervido y las formuladas con quinoa sin tratamiento.

Los digestos intestinales de galletas formuladas con quinoa tratada térmicamente, mejoran el porcentaje de recuperación de actividad antioxidante encontrada en las harinas, no obstante, no logran superar a lo encontrado en digestos de galletas formuladas con quinoa cruda.

Las galletas formuladas con quinoa tratada térmicamente tuvieron mayor aceptación al recibir las calificaciones más altas en todos los atributos sensoriales comparados con la muestra de galleta formulada con quinoa sin tratamiento.

### **RECOMENDACIONES**

Para estudios futuros relacionados con el uso de quinoa como alimento funcional, se recomienda continuar con estudios enfocados hacia modelos *in vivo*, ya sea en modelos animales o intervenciones dietarias en humanos con el fin de evaluar el efecto del consumo de galletas de quinoa tratada térmicamente sobre biomarcadores de inflamación, obesidad y estrés oxidativo.

Asimismo como estudios complementarios se recomienda evaluar otros posibles efectos biológicos atribuidos a los compuestos bioactivos presentes en galletas de quinoa tales como efecto gastroprotector.

#### **REFERENCIAS**

- AACC International. Website definitions. Available from: http://www.aaccnet.org/initiatives/definitions/Pages/WholeGrain.aspx [cited 4 December 2013]
- Adelakun, O. E., & Duodu, G. (2017). Identification and quantification of phenolic compounds and bioactive properties of sorghum-cowpea-based food subjected to an *in vitro* digestion model. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 57-66.
- Alberto, C., Pereira, P., González, O., Isabel, A., Hernández, M., & Valencia, M. (2014). Semillas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willdenow): composición química y procesamiento. Aspectos relacionados con otras áreas. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5(2), 166-218.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 106-113.
- Alvídrez-Morales, A., González-Martínez, B. E., & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista salud pública y Nutrición*, 3(3).
- Angelino, D., Cossu, M., Marti, A., Zanoletti, M., Chiavaroli, L., Brighenti, F., ... & Martini, D. (2017). Bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in bread: *a review. Food & function*, 8(7), 2368-2393.
- Bazile, D., Bertero, H. D., & Nieto, C. (2014). Estado del arte de la quinua en el mundo en 2013.
- Bergesse, A. E., Boiocchi, P. N., Calandri, E. L., Cervilla, N. S., Gianna, V., Guzmán, C. A., ... & Mufari, J. R. (2015). Aprovechamiento integral del grano de Quinoa. *Aspectos tecnológicos, fisioquímicos, nutricionales y sensoriales*.
- Blancas-Benitez, F. J., Mercado-Mercado, G., Quirós-Sauceda, A. E., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2015). Bioaccessibility of polyphenols associated with dietary fiber and *in vitro* kinetics release of polyphenols in Mexican 'Ataulfo'mango (Mangifera indica L.) *by-products. Food & function*, 6(3), 859-868.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food chemistry*, 128(1), 14-21.
- Bryngelsson, S., Dimberg, L. H., & Kamal-Eldin, A. (2002). Effects of commercial processing on levels of antioxidants in oats (Avena sativa L.). *Journal of Agricultural*

- and Food Chemistry, 50(7), 1890-1896.
- Camelo-Méndez, G. A., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2017). Functional study of raw and cooked blue maize flour: Starch digestibility, total phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Cereal Science*, *76*, 179-185.
- Carciochi, R. A., & Manrique, D. (2014). Obtención de ingredientes alimenticios con capacidad antioxidante mejorada por aplicación de distintos procesos a semillas de quinoa (*Chenopodium quinoa*). Buenos Aires: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- Carciochi, R. A., Manrique, G. D., & Dimitrov, K. (2015). Optimization of antioxidant phenolic compounds extraction from quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds. *Journal of food science and technology*, *52*(7), 4396-4404.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2012). Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated *in vitro* digestion and microbial fermentation. *Journal of Functional Foods*, *4*(1), 226-237.
- Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus spp.*) flour. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 939-945.
- Chitindingu, K., Benhura, M. A., & Muchuweti, M. (2015). In vitro bioaccessibility assessment of phenolic compounds from selected cereal grains: A prediction tool of nutritional efficiency. LWT-Food Science and Technology, 63(1), 575-581
- Chlopicka, J., Pasko, P., Gorinstein, S., Jedryas, A., & Zagrodzki, P. (2012). Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT-Food Science and Technology*, *46*(2), 548-555.
- Dall'Asta, M., Bresciani, L., Calani, L., Cossu, M., Martini, D., Melegari, C., ... & Scazzina, F. (2016). *In vitro* bioaccessibility of phenolic acids from a commercial aleurone-enriched bread compared to a whole grain bread. *Nutrients*, 8(1), 42.
- Deng, Y., Padilla-Zakour, O., Zhao, Y., & Tao, S. (2015). Influences of high hydrostatic pressure, microwave heating, and boiling on chemical compositions, antinutritional factors, fatty acids, *in vitro* protein digestibility, and microstructure of buckwheat. *Food and Bioprocess Technology*, 8(11), 2235-2245.
- Dey, B., Chanda, I., Ghosh, C., & Banerjee, S. Cooking of Edible Leafy Vegetables (2018) Changes their Nutritional Value. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering* Technology (IJRASET)
- Dini, I., Tenore, G. C., & Dini, A. (2010). Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter *Chenopodium quinoa* seeds. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(3), 447-451.

- Farinazzi-Machado, F. M. V., Barbalho, S. M., Oshiiwa, M., Goulart, R., & Pessan Junior, O. (2012). Use of cereal bars with quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) to reduce risk factors related to cardiovascular diseases. *Food Science and Technology*, 32(2), 239-244.
- Félix, A., & Javier, F. (2013). Desarrollo de estrategias de posicionamiento. Caso: Producto Quinua. *Revista Perspectivas*, (32), 39-56.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., ... & Shimomura, I. (2017). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, *114*(12), 1752-1761.
- Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., & Mihoubi, N. B. (2012). Microwave dehydration of three citrus peel cultivars: Effect on water and oil retention capacities, color, shrinkage and total phenols content. *Industrial Crops and Products*, 40, 167-177.
- Gianna, V., Montes, J. M., Calandri, E. L., & Guzmán, C. A. (2012). Impact of several variables on the microwave extraction of *Chenopodium quinoa* Willd saponins. *International journal of food science & technology*, 47(8), 1593-1597.
- Gil-Sánchez, I., Cueva, C., Sanz-Buenhombre, M., Guadarrama, A., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2018). Dynamic gastrointestinal digestion of grape pomace extracts: Bioaccessible phenolic metabolites and impact on human gut microbiota. *Journal of Food Composition and Analysis*, 68, 41-52.
- Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., & Caboni, M. F. (2011). Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography—diode array detection—electrospray ionization—time-of-flight mass spectrometry methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(20), 10815-10825.
- Gómez-Caravaca, A. M., Iafelice, G., Verardo, V., Marconi, E., & Caboni, M. F. (2014). Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Food Chemistry*, *157*, 174-178.
- Gorinstein, S., Vargas, O. J. M., Jaramillo, N. O., Salas, I. A., Ayala, A. L. M., Arancibia-Avila, P., ... & Trakhtenberg, S. (2007). The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. *European Food Research and Technology*, 225(3-4), 321-328.
- Gorinstein, S., Lojek, A., Číž, M., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Medina, O. J., ... & Goshev, I. (2008). Comparison of composition and antioxidant capacity of some cereals and pseudocereals. *International journal of food science & technology*, *43*(4), 629-637.

- Hassan, S., Ahmad, N., Ahmad, T., Imran, M., Xu, C., & Khan, M. K. (2019). Microwave processing impact on the phytochemicals of sorghum seeds as food ingredient. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), e13924.
- Hedren, E., Diaz, V., & Svanberg, U. (2002). Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *European journal of clinical nutrition*, 56(5), 425-430.
- Hidalgo, A., Ferraretto, A., De Noni, I., Bottani, M., Cattaneo, S., Galli, S., & Brandolini, A. (2018). Bioactive compounds and antioxidant properties of pseudocereals-enriched water biscuits and their in vitro digestates. *Food chemistry*, 240, 799-807.
- Hithamani, G., & Srinivasan, K. (2014). Bioaccessibility of polyphenols from wheat (*Triticum aestivum*), sorghum (*Sorghum bicolor*), green gram (*Vigna radiata*), and chickpea (Cicer arietinum) as influenced by domestic food processing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(46), 11170-11179.
- Hemery, Y. M., Anson, N. M., Havenaar, R., Haenen, G. R., Noort, M. W., & Rouau, X. (2010). Dry-fractionation of wheat bran increases the bioaccessibility of phenolic acids in breads made from processed bran fractions. *Food Research International*, 43(5), 1429-1438.
- James, L. E. A. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in food and nutrition research*, 58, 1-31.
- Kamiloglu, S., Demirci, M., Selen, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., & Capanoglu, E. (2014). Home processing of tomatoes (*Solanum lycopersicum*): effects on in vitro bioaccessibility of total lycopene, phenolics, flavonoids, and antioxidant capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*(11), 2225-2233.
- Kaur, I., & Tanwar, B. (2016). Quinoa beverages: Formulation, processing and potential health benefits. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*, 23(2), 215-225.
- Li, G., & Zhu, F. (2018). Quinoa starch: Structure, properties, and applications. *Carbohydrate polymers*, *181*, 851-861.
- Lingua, M. S., Wunderlin, D. A., & Baroni, M. V. (2018). Effect of simulated digestion on the phenolic components of red grapes and their corresponding wines. *Journal of functional foods*, 44, 86-94.
- Mateo-Anson, N.., van den Berg, R., Havenaar, R., Bast, A., & Haenen, G. R. (2009). Bioavailability of ferulic acid is determined by its bioaccessibility. *Journal of Cereal Science*, 49(2), 296-300.
- Mateo-Anson, N., Havenaar, R., Bast, A., & Haenen, G. R. (2010). Antioxidant and

anti-inflammatory capacity of bioaccessible compounds from wheat fractions after gastrointestinal digestion. *Journal of Cereal Science*, 51(1), 110-114.

Mosquera Mosquera, H. F. (2009). Efecto de la inclusión de harina de Quinua (Chenopodium quinoa wild) en la elaboración de galletas/Adding effect of quinoa flour (*Chenopodium* wild quinoa) on cookies preparation. *Departamento de Química*.

Natella, F., Belelli, F., Ramberti, A. y Scaccini, C. (2010). Microondas y métodos de cocción tradicionales: efecto de la cocción sobre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de siete verduras. *Revista de bioquímica alimentaria*, 34 (4), 796-810.

Navruz-Varli, S., & Sanlier, N. (2016). Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Cereal Science*, 69, 371-376.

Nickel, J., Spanier, L. P., Botelho, F. T., Gularte, M. A., & Helbig, E. (2016). Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of *Chenopodium quinoa* Willd grains. *Food chemistry*, 209, 139-143.

Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of food science*, 72(2), R21-R32.

Paśko, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M., & Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, *115*(3), 994-998.

Paśko, P., Zagrodzki, P., Bartoń, H., Chłopicka, J., & Gorinstein, S. (2010). Effect of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa*) in diet on some biochemical parameters and essential elements in blood of high fructose-fed rats. *Plant foods for human nutrition*, 65(4), 333-338.

Pellegrini, M., Lucas-Gonzalez, R., Fernández-López, J., Ricci, A., Pérez-Álvarez, J. A., Sterzo, C. L., & Viuda-Martos, M. (2017). Bioaccessibility of polyphenolic compounds of six quinoa seeds during in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 38, 77-88.

Pellegrini, M., Lucas-Gonzales, R., Ricci, A., Fontecha, J., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2018). Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Industrial crops and products*, *111*, 38-46.

Ragaee, S., Seetharaman, K., & Abdel-Aal, E. S. M. (2014). The impact of milling and thermal processing on phenolic compounds in cereal grains. *Critical reviews in food science and nutrition*, *54*(7), 837-849.

Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa

(Chenopodium quinoa), kañiwa (Chenopodium pallidicaule) and kiwicha (Amaranthus caudatus). Food Chemistry, 120(1), 128-133.

Restrepo-Villegas, R. (2014) 'Horno microondas, su funcionamiento, mitos y realidades, y una medida de la velocidad de la luz', (May).

Robles-Sánchez, RM, Rojas-Graü, MA, Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, GA, y Martín-Belloso, O. (2009). Efecto del procesamiento mínimo sobre los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante del 'Kent'mango (Mangifera indica L.) recién cortado. *Postharvest Biology and Technology*, *51* (3), 384-390.

Rocchetti, G., Chiodelli, G., Giuberti, G., Masoero, F., Trevisan, M., & Lucini, L. (2017). Evaluation of phenolic profile and antioxidant capacity in gluten-free flours. *Food Chemistry*, 228, 367-373.

Rocha, V. Z., & Folco, E. J. (2011). Inflammatory concepts of obesity. *International journal of inflammation*, 2011.

Rodríguez-Roque, M. J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2015). Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods*, *14*, 33-43.

Rosa, N. N., Barron, C., Gaiani, C., Dufour, C., & Micard, V. (2013). Ultra-fine grinding increases the antioxidant capacity of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, *57*(1), 84-90.

Salazar Lopez, N. J., Loarca-Piña, G., Campos-Vega, R., Gaytán Martínez, M., Morales Sánchez, E., Esquerra-Brauer, J. M., ... & Robles Sánchez, M. (2016). The extrusion process as an alternative for improving the biological potential of sorghum bran: phenolic compounds and antiradical and anti-inflammatory capacity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.

Salazar-López, N. J., González-Aguilar, G. A., Rouzaud-Sández, O., & Robles-Sánchez, M. (2018). Bioaccessibility of hydroxycinnamic acids and antioxidant capacity from sorghum bran thermally processed during simulated in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of food science and technology*, *55*(6), 2021-2030.

Sanlier, S. N. N. (2019) 'Beneficios nutricionales y para la salud de la quinua ( *Chenopodium quinoa* Willd .)', 69(2016), pp. 1–5Sezgin, A. C., & Sanlier, N. (2019). A new generation plant for the conventional cuisine: quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.). *Trends in Food Science & Technology*.

Shi, J., & Maguer, M. L. (2000). Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 1-42.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Šťastná, K., Mrázková, M., Sumczynski, D., Cındık, B., & Yalçın, E. (2019). The Nutritional Value of Non-Traditional Gluten-Free Flakes and Their Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 8(11), 565.

Świeca, M., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., & Baraniak, B. (2017). Wheat bread enriched with green coffee–In vitro bioaccessibility and bioavailability of phenolics and antioxidant activity. *Food chemistry*, 221, 1451-1457

Tang, Y., Li, X., Zhang, B., Chen, P. X., Liu, R., & Tsao, R. (2015). Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three *Chenopodium quinoa* Willd. genotypes. *Food Chemistry*, *166*, 380-388.

Tang, Y., & Tsao, R. (2017). Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: a review. *Molecular nutrition & food research*, *61*(7), 1600767.

Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541-2547.

Velderrain-Rodríguez, G., Torres-Moreno, H., Villegas-Ochoa, M. A., Ayala-Zavala, J. F., Robles-Zepeda, R. E., Wall-Medrano, A., & González-Aguilar, G. A. (2018). Gallic acid content and an antioxidant mechanism are responsible for the antiproliferative activity of 'Ataulfo'mango peel on LS180 cells. *Molecules*, 23(3), 695.

Verardo, V., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Marconi, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Caboni, M. F. (2011). Determination of free and bound phenolic compounds in buckwheat spaghetti by RP-HPLC-ESI-TOF-MS: Effect of thermal processing from farm to fork. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(14), 7700-7707.

Vilcacundo, R., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Current Opinion in Food Science*, *14*, 1-6.

Vollmannova, A., Margitanova, E., Tóth, T., Timoracka, M., Urminska, D., Bojňanská, T., & Čičová, I. (2013). Cultivar influence on total polyphenol and rutin contents and total antioxidant capacity in buckwheat, amaranth, and quinoa seeds. *Czech Journal of Food Sciences*, *31*(6), 589-595.

Watanabe, K., Kawanishi-Asaoka, M., Myojin, C., Awata, S., Ofusa, K., & Kodama, K. (2014). Amino acid composition, oxidative stability, and consumer acceptance of

cookies made with quinoa flour. Food Science and Technology Research, 20(3), 687-691.

World Health Organization: WHO. (2018, 1 junio). Enfermedades no transmisibles. Recuperado de <a href="https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases">https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases</a>

Yael, B., Liel, G., Hana, B., Ran, H., & Shmuel, G. (2012). Total phenolic content and antioxidant activity of red and yellow quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds as affected by baking and cooking conditions. *Food and Nutrition Sciences*, 2012.

Yawadio, R., Tanimori, S., & Morita, N. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry*, *101*(4), 1616-1625.

Zeng, Z., Liu, C., Luo, S., Chen, J., & Gong, E. (2016). The profile and bioaccessibility of phenolic compounds in cereals influenced by improved extrusion cooking treatment. *PloS one*, *11*(8).

Žilić, S. (2016) 'Phenolic Compounds of Wheat. Their Content, Antioxidant Capacity and Bioaccessibility', *MOJ Food Processing & Technology*, 2(3). doi: 10.15406/mojfpt.2016.02.00037.