

UNIVERSIDADE VILA VELHA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA VEGETAL

**PERFIL PROTEÔMICO, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E COMPOSTOS
BIOATIVOS DO GRÃO E FARINHA DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench)
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS TÉRMICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia Vegetal
para a obtenção do título de *Magister
Scientiae*

ANA CAROLINA BIANCO GOMES

Orientador: Prof^a. Dr^a. Christiane Mileib Vasconcelos

**VILA VELHA
JULHO, 2020**

ANA CAROLINA BIANCO GOMES

**PERFIL PROTEÔMICO, COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E COMPOSTOS
BIOATIVOS DO GRÃO E FARINHA DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench) E
SUBMETIDOS A TRATAMENTOS TÉRMICOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Vila Velha, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia Vegetal
para a obtenção do título de *Magister
Scientiae*

APROVADA: 31 de julho de 2020.

Dr^a Natália Elizabeth Galdino Alves

Prof^a Mariana Grancieri

Prof^a. Christiane Mileib Vasconcelos
(Orientadora)

“Quanto mais me aprofundo na ciência, mais me aproximo de Deus”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Deus, “porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas. À Ele a glória para sempre. Amém.”

À minha amada mãe, pelo amor, dedicação, apoio, cuidado e colo em tantos momentos.

Ao Felipe, pelo amor, amizade, companheirismo e cuidado, por ser meu intercessor, por me impulsionar.

Aos meus líderes e amigos da Comunidade Evangélica em Vila Velha (CEVV) pelo apoio, incentivo, orações e cuidado. Sou grata pela nossa família.

À minha orientadora, professora Christiane, por tamanha disponibilidade e atenção, por tantos ensinamentos e por confiar em mim.

À Johara, Milena e professora Valdirene pela parceria na realização das análises e ajuda na interpretação dos dados.

Aos colegas e funcionários dos laboratórios de Produtos Naturais e Cultura de Células, do Lab30 e do Laboratório de Química, vocês foram fundamentais no desenvolvimento das pesquisas.

Às minhas IC's, Luana e Nathiely, pela disponibilidade, apoio e dedicação em todas as análises da pesquisa.

À minha amiga e companheira de todas as horas, Carolina, pela ajuda em tudo e por tantas palavras certas em momentos certos.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição científica ao avaliarem este trabalho.

À EMBRAPA Milho e Sorgo, pela doação da farinha de sorgo.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. JUSTIFICATIVA	03
3. REFERÊNCIAS	06
CAPÍTULO 1: Calor seco e pressão aumentam a disponibilidade de compostos bioativos e de peptídeos em grãos de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench).	12
Resumo.....	12
Abstract.....	13
1. Introdução.....	14
2. Material e Métodos.....	16
2.1 Materiais.....	16
2.2 Métodos.....	16
2.2.1 Delineamento experimental e processamento dos grãos de sorgo.....	16
2.2.2 Determinação da composição centesimal.....	17
2.2.3 Determinação do perfil proteico e de peptídeos.....	17
2.2.4 Preparo do extrato para compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	19
2.2.5 Determinação dos compostos fenólicos.....	19
2.2.6 Determinação do teor de antocianinas.....	19
2.2.7 Determinação da atividade antioxidante.....	20
2.2.8 Análise estatística.....	21
3. Resultados e Discussão.....	21
3.1 Composição Centesimal.....	21
3.2 Perfil proteico e de Peptídeos.....	24
3.3 Compostos Fenólicos, Antocianinas e Perfil Antioxidante.....	31
4. Conclusão.....	35
5. Referências.....	36
CAPÍTULO 2: Potencial funcional e perfil proteômico da farinha de sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench) após aplicação de calor seco.....	46
Resumo.....	46
Abstract.....	47
1. Introdução.....	48
2. Material e Métodos.....	49
2.1 Materiais.....	49
2.2 Métodos.....	49
2.2.1 Delineamento experimental e processamento dos grãos de sorgo.....	49

2.2.2 Determinação da composição centesimal.....	50
2.2.3 Determinação do perfil proteico e de peptídeos.....	50
2.2.4 Preparo do extrato para compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	51
2.2.5 Determinação dos compostos fenólicos.....	51
2.2.6 Determinação do teor de antocianinas.....	51
2.2.7 Determinação da atividade antioxidante.....	52
2.2.8 Análise estatística.....	53
3. Resultados e Discussão.....	53
3.1 Composição Centesimal.....	53
3.2 Perfil proteico e de Peptídeos.....	55
3.3 Compostos Fenólicos, Antocianinas e Perfil Antioxidante.....	57
4. Conclusão.....	59
5. Referências.....	59

RESUMO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L). Moench) é um cereal cuja produção e consumo tem apresentado crescimento importante, tanto para a economia quanto para a saúde humana. Contudo, essa segunda realidade ainda está sendo implementada no Brasil, uma vez que o sorgo é mais destinado à alimentação animal no país. Sua composição nutricional se assemelha ao milho, se destacando, no entanto, por ser excelente fonte de compostos fenólicos e também de fibras alimentares. Além disso, estudos indicam que peptídeos bioativos presentes no sorgo têm sido relacionados à benefícios associados às Doenças e Agravos Não Transmissíveis, porém os estudos ainda são recentes e insuficientes. Assim, o atual projeto pretendeu (i) avaliar a influência de diferentes métodos de processamento e/ou cocção na composição nutricional, funcional e perfil proteômico do grão de sorgo submetidos à diferentes processamentos e (ii) avaliar, especificamente, a influência do calor seco sobre os compostos bioativos e perfil proteômico da farinha de sorgo BRS 310, sem taninos. Os dados foram submetidos à análise de variância e aqueles que apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) foram comparados pelo teste Duncan na mesma probabilidade. Observou-se que a utilização do calor seco preservou o conteúdo de compostos bioativos, enquanto tratamentos com calor úmido promoveram perda de tais compostos. Tratamentos térmicos que utilizam a pressão, seja em cocção úmida ou pipocagem, favoreceram a hidrólise das proteínas de sorgo, gerando percentual importante de peptídeos e proteínas de baixa massa molecular. O tratamento com calor seco também alterou o perfil proteico da farinha, produzindo peptídeos de 3,7 kDa em maior abundância. Concluímos que, tratamentos térmicos, em particular o calor seco, são capazes de aumentar o conteúdo de peptídeos no sorgo e preservar seus compostos com potencial antioxidante, no entanto, são necessários mais estudos que avaliem a capacidade desses peptídeos obtidos em promover benefícios à saúde.

Palavras-chave: Sorgo, Farinha, Calor, Proteínas, Peptídeos, Compostos Bioativos.

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor* (L). Moench) is a cereal whose production and consumption has shown important growth, both for the economy and for human health. However, this second reality is still being implemented in Brazil, since sorghum is more destined for animal feed in the country. Its nutritional composition is similar to corn, standing out, however, for being an excellent source of phenolic compounds and also of dietary fibers. In addition, studies indicate that bioactive peptides present in sorghum have been related to benefits associated with Noncommunicable Diseases and Diseases, but studies are still recent and insufficient. Thus, the current project intended to (i) evaluate the influence of different processing and / or cooking methods on the nutritional, functional and proteomic profile of the sorghum grain submitted to different processing and (ii) specifically evaluate the influence of dry heat on bioactive compounds and proteomic profile of BRS 310 sorghum flour, without tannins. The data were submitted to analysis of variance and those that showed a significant difference ($p \leq 0.05$) were compared using the Duncan test in the same probability. It was observed that the use of dry heat preserved the content of bioactive compounds, while treatments with moist heat promoted loss of such compounds. Heat treatments that use pressure, whether in wet cooking or piping, favored the hydrolysis of sorghum proteins, generating an important percentage of peptides and low molecular weight proteins. The dry heat treatment also changed the protein profile of the flour, producing peptides of 3.7 kDa in greater abundance. We conclude that heat treatments, in particular dry heat, are able to increase the content of peptides in sorghum and preserve its compounds with antioxidant potential, however, further studies are needed to assess the capacity of these peptides obtained to promote health benefits.

Keywords: Sorghum, Flour, Heat, Proteins, Peptides, Bioactive Compounds.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) é uma planta pertencente à classe dos cereais. Aliado às espécies oleaginosas com domínio tecnológico, como amendoim, girassol e soja, o sorgo sacarino tem grande potencial para expansão de cultivo em zonas tradicionais e novas do setor sucroalcooleiro (EMBRAPA, 2011). Entre 2017 e 2018, a África foi o continente responsável pela maior parte da produção mundial de sorgo, representando mais de 48%, seguido pelas Américas, que foram responsáveis por mais de 34% da produção mundial. Além disso, entre estes anos ocorreu um aumento de produção de 57,7 milhões para quase 60 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2020).

O aumento de produtividade e consumo do sorgo é de grande relevância, uma vez que se trata de um alimento com propriedades benéficas, principalmente pelo caráter antioxidante e potencial bioativo. O sorgo é considerado uma excelente fonte de compostos fenólicos, fibras alimentares e amido resistente, os quais estão intimamente relacionados à redução de marcadores de inflamação crônica, adipogênicos, da hipertrofia do tecido adiposo, glicemia de jejum, reduzindo risco de Doenças e Agravos Não Transmissíveis - DANTs (ARBEX et al., 2018; AWIKA, 2017).

A aplicabilidade do sorgo na indústria de alimentos também tem sido elevada, principalmente em produtos de panificação, sendo uma opção de farinha isenta de glúten (VELÁZQUEZ et al., 2012). Isso é um fator importante, pois a soroprevalência e prevalência globais da DC são de 1,4% e 0,7%, respectivamente (SINGH et al., 2018).

O sorgo é semelhante ao milho em relação à sua composição química e ao seu valor nutricional, tendo como componentes principais: amido, proteínas, lipídios, polissacarídeos não amiláceos e fitoquímicos, como compostos fenólicos, fitoesteróis e policosanol, vitaminas e minerais (QUEIROZ et al., 2015; STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015). Além disso, seu conteúdo proteico corresponde a aproximadamente 10% de sua composição (USDA, 2018). Estudos têm demonstrado que algumas proteínas vegetais podem conter peptídeos bioativos que desempenham diversas ações na prevenção e redução do risco de doenças crônicas como câncer, obesidade e doenças cardiovasculares (ORTÍZ CRUZ et al., 2015; MOJICA et al., 2017; GRANCIERI;

MARTINO; GONZALEZ DE MEJIA, 2019).

Peptídeos bioativos podem ser definidos como fragmentos específicos de proteínas que possuem impacto positivo nas funções ou condições corpóreas, podendo influenciar na saúde. Apresentam atividade semelhante a fármacos ou hormônios, por se ligarem a receptores específicos nas células alvo e quando administrados por via oral, dependendo da sequência de aminoácidos, os peptídeos podem atuar nos principais sistemas: cardiovascular, digestivo, imune e nervoso (KORHONEN, 2009).

Segundo Harnedy e Fitzgerald (2012) o tipo de peptídeo bioativo a ser gerado depende de, basicamente, dois fatores: a sequência primária da proteína do substrato e a especificidade da enzima utilizada para gerar tais peptídeos. Para que a bioatividade seja observada é necessário que ocorra a excisão da sequência peptídica. Esta pode ocorrer por hidrólise, que pode ser catalisada por enzimas denominadas proteases, por fermentação ou por combinação (IVANOV et al., 1997).

Estudos que avaliaram as potencialidades de peptídeos bioativos de origem vegetal têm direcionado o foco para produção de peptídeos bioativos por hidrólise enzimática ou fermentação microbológica, e ainda não existem estudos até o presente momento, que avaliaram a influência de métodos de cocção na produção de peptídeos bioativos (MEGÍAS et al., 2009; CHAKRABARTI; JAHANDIDEH; WU, 2014; MARQUES et al., 2015; ORTÍZ CRUZ et al., 2015; MARQUES, 2017). O cozimento e os tratamentos térmicos podem inativar fatores anti-nutricionais, que reduzem a biodisponibilidade de proteínas, e podem modular a composição de aminoácidos, melhorando a digestibilidade proteica (MARGIER et al., 2018).

Sendo assim, considerando a composição do sorgo, as propriedades benéficas à saúde obtidas com seu consumo, e sua aplicabilidade na alimentação humana, o presente trabalho pretendeu (*i*) avaliar a influência de diferentes métodos de processamento e/ou cocção na composição nutricional, perfil proteômico e funcional do grão de sorgo e (*ii*) avaliar, especificamente, a influência do calor seco sobre os compostos bioativos e perfil proteômico da farinha de sorgo BRS 310, sem taninos.

2. JUSTIFICATIVA

O sorgo tem ganhado espaço no mercado internacional, principalmente nos Estados Unidos e Japão, pois é um cereal isento de glúten, possui amido resistente, altos teores de fibras, além de compostos bioativos com características antioxidantes. No Brasil, em contraponto à sua limitada utilização na alimentação humana, diversos estudos têm avaliado o potencial funcional de alimentos com adição ou à base de sorgo, com o objetivo de reduzir doenças e agravos não transmissíveis (POQUETTE; GU; LEE, 2014; CHÁVEZ et al., 2018; DO PRADO et al., 2019).

A composição dos grãos é dependente de seu genótipo e, no geral, é semelhante à composição do milho, no entanto, com conteúdo mais elevado de proteína bruta, enquanto o milho possui maior concentração de extrato etéreo, e dos aminoácidos lisina e metionina (GUALTIERI; RAPACCINI, 1990; VALADARES FILHO; ROCHA JÚNIOR; CAPPELLE, 2002).

O grão de sorgo é composto de três partes principais: o revestimento externo (pericarpo), o tecido de armazenamento (endosperma) e o embrião (gérmen) (ROONEY; MILLER; MERTIN, 1981). Em geral, o endosperma representa 80-86% de todo o grão, o gérmen de 7-12% e o pericarpo de 5-9,3% (WANISKA, 2000). No pericarpo são encontrados os polissacarídeos não amiláceos, compostos fenólicos e carotenóides. No endosperma estão localizados o amido, as proteínas e minerais. No gérmen, por sua vez, encontram-se os lipídeos, vitaminas lipossolúveis e do complexo B, e minerais (EARP; MCDONOUGH; ROONEY, 2004; SLAVIN, 2004; WANISKA; ROONEY, 2000).

Sobre os compostos bioativos que podem favorecer a saúde humana, o sorgo é rico em compostos fenólicos como luteolinidina e apigeninidina, taninos condensados, além de fibras dietéticas e amido resistente (DUNN et al., 2015; MORAES et al., 2015; SHEN et al., 2015). Tais compostos têm sido relacionados à melhora do perfil homeostático glicêmico e secreção insulínica, ação hipocolesterolemica, ação antioxidante, influenciando positivamente em marcadores inflamatórios (KHAN et al., 2015; KIM; KIM; PARK, 2015; MORAES; NATAL; et al., 2012; POQUETTE; GU; LEE, 2014; SHEN et al., 2015).

Estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que compostos isolados do

sorgo, como peptídeos, compostos fenólicos e compostos solúveis em gordura (policosanol) ou o consumo da farinha extrusada de sorgo, promovem mudanças benéficas no que tange aos parâmetros relacionados às doenças crônicas como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e dislipidemia (CARDOSO et al., 2015; MORAES et al., 2017; ARBEX et al., 2018).

Vale destacar que peptídeos oriundos da digestão de algumas proteínas de origem vegetal vêm sendo alvos de estudos por apresentarem efeitos hipocolesterolêmicos comprovados e referenciados na literatura, com o objetivo de auxiliarem na redução do risco de obesidade, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, câncer e doenças cardiovasculares (FONTANARI et al., 2012; HAYAT et al., 2014; RUIZ RUIZ; ANCONA; CAMPOS, 2014; LUNA-VITAL et al., 2015; CORREA; POLTRONIERI, 2016).

Peptídeos bioativos são definidos como “sequências curtas de aminoácidos que possuem uma ou mais atividades biologicamente significativas no organismo humano” (LAFARGA; HAYES, 2014). Peptídeos bioativos foram identificados em soja, trigo, brócolis e arroz desempenhando funções hipocolesterolêmicas e agindo nos sistemas anti-hipertensivo, imunomodulador, antioxidante, entre outros (MÖLLER et al., 2008; OSEGUERA-TOLEDO et al., 2011; HAYAT et al., 2014; LAMMI; ZANONI; ARNOLDI, 2015; LUNA-VITAL et al., 2015). Os benefícios oferecidos por tais peptídeos se relacionam com a inibição, modulação ou regulação de alguns genes de transportadores ou enzimas relacionados à inibição da síntese endógena e absorção intestinal do colesterol (MACARULLA et al., 2001; FONTANARI et al., 2012; MARQUES et al., 2015; CORREA; POLTRONIERI, 2016). Ruiz Ruiz, Ancona e Campos (2014) observaram que peptídeos bioativos de soja foram capazes de suprimir a captação de colesterol pelas células Caco-2, com consequente redução do nível de colesterol sérico em ratos e, redução de triglicérides e colesterol circulantes em humanos, produzindo efeitos benéficos na manutenção do perfil lipídico.

Em relação ao sorgo, Ortíz Cruz et al. (2015) relataram que os benefícios promovidos pelos peptídeos bioativos estão associados à presença de kafirinas, principais proteínas de reserva do sorgo, após hidrólise enzimática durante a digestão. Os autores sugeriram que tais resultados podem estar atribuídos à ação das kafirinas na diminuição da síntese e/ou absorção de colesterol e ácidos

bilíares, ou que a diminuição do colesterol sérico é favorecida pela atividade dos receptores de LDL.

A maior parte dos estudos sobre peptídeos bioativos são referentes àqueles provenientes da hidrólise enzimática, contudo, o processamento dos grãos de sorgo precisa ser avaliado cautelosamente, uma vez que é possível que alguns processamentos/tratamentos térmicos interfiram em sua funcionalidade, como a cocção úmida. Esse método parece prejudicar a qualidade proteica, pela formação de pontes dissulfeto em suas proteínas de reserva, reduzindo sua digestibilidade, além de reduzir o conteúdo de compostos fenólicos totais, em especial de 3-deoxiantocianidinas, prejudicando a atividade antioxidante. Por outro lado, calor seco, germinação e fermentação, os grãos apresentaram maior digestibilidade, além disso, os compostos fenólicos totais incluindo as 3-deoxiantocianidinas apresentam boa estabilidade térmica quando submetidas a 95 °C por 2 horas e 121 °C por 30 minutos (CORREIA et al., 2010; CARDOSO et al., 2014; SALAZAR-LÓPEZ et al., 2018).

Portanto, devido ao alto valor nutricional, funcional, potencialidades na elaboração de novos produtos à base de sorgo, incluindo farinhas, produtos de panificação, cervejas, entre outros (ABOUBACAR; YAZICI; HAMAKER, 2006; KAYODÉ; HOUNHOUGAN; NOUT, 2007; SCHOBBER; BEAN; BOYLE, 2007; VELÁZQUEZ et al., 2012), o interesse da sua utilização na alimentação humana aumentou (DYKES et al., 2005), por isso há a necessidade de mais estímulos e estudos acerca dos benefícios à saúde, em especial, sobre os peptídeos formados durante hidrólise, digestão, chamando atenção àqueles formados durante o processamento, visto que aplicação de calor úmido ou seco é viável, acessível e de baixo custo, podendo ser uma forma a mais de incentivar o consumo do sorgo atrelado às melhores condições de processamento capazes de promover a prevenção e ou redução de risco de doenças.

3. REFERÊNCIAS

1. Aboubacar, A.; Yazici, N.; Hamaker, B. R. Extent of decortication and quality of flour, couscous and porridge made from different sorghum cultivars. *International journal of food science & technology*, v. 41, n. 6, p. 698–703, 2006.
2. Arbex, P. M., Moreira, M. E. C., Toledo, R. C. L., Cardoso, L. D. M., Pinheiro-Sant'ana, H. M., Benjamin, L. A., Licursi, L. C., Carlos W. P., Queiroz, V. A. V., Martino, H. S. D (2018). Extruded sorghum flour (*Sorghum bicolor L.*) modulate adiposity and inflammation in high fat diet-induced obese rats. *Journal of Functional Foods*, 42, 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.010>
3. Awika, J. M. (2017). Sorghum: Its unique nutritional and health-promoting attributes. In *Gluten-free ancient grains* (pp. 21-54). Woodhead publishing.
4. Cardoso, L. D. M., Montini, T. A., Pinheiro, S. S., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Martino, H. S. D., Moreira, A. V. B. (2014). Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chemistry*, 152, 210–217.
5. Cardoso, L.M., Pinheiro, S. S., Martino, H. S. D., Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2015). Sorghum (*Sorghum bicolor L.*): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 372–390.
6. Chakrabarti, S., Jahandideh, F., Wu, J. (2014). Food-derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/608979>.
7. Chávez, D., Ascheri, J., Martins, A., Carvalho, C., Bernardo, C., Teles., A. Sorgo, un cereal alternativo para productos sin gluten. *Revista chilena de nutrición*, v. 45, n. 2, p. 169–177, 2018.
8. Correa, I. N.; Poltronieri, F. Hypocholesterolemic action of proteins from legumes. *Revista da Associação Brasileira de Nutrição*, v. 7, p. 79–90, 2016.
9. Correia, I., Nunes, A., Barros, A. S., Delgadoillo, I. (2010). Comparison of the effects induced by different processing methods on sorghum proteins, 51, 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.11.005>
10. Prado, M.E.A., Queiroz, V.A.V., Correia, V.T.V, Neves, E.O., Roncheti, E.F.S., Gonçalves, A.C.A., Menezes, C.B., Oliveira, F.C.E. (2018) Physicochemical and

- sensorial characteristics of beef burgers with added tannin and tannin-free whole sorghum flours as isolated soy protein replacer. *Meat Science*, v. 150, p. 93–100, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.12.006>>.
11. Dunn, K. L., Yang, L., Girard, A., Bean, S., Awika, J. M. (2015). Interaction of sorghum tannins with wheat proteins and effect on in vitro starch and protein digestibility in a baked product matrix. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4), 1234–1241.
 12. Dykes, L., Rooney, L. W., Waniska, R. D., Rooney, W. L. (2005). Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6813–6818.
 13. Earp, C. F.; McDonough, C. M.; Rooney, L. W. (2004). Microscopy of pericarp development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Journal of Cereal Science*, v. 39, n. 1, p. 21–27.
 14. EMBRAPA. Cultivo do Sorgo. n. 4, p. 12–14, maio 2011.
 15. FAOSTAT. Production share of Sorghum by region. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 4 set. 2020.
 16. Fontanari, G. G., Batistuti, J. P., Cruz, R. J., Saldiva, P. H. N., Arêas, J. A. G. (2012). Cholesterol-lowering effect of whole lupin (*Lupinus albus*) seed and its protein isolate. *Food Chemistry*, 132, 1521–1526.
 17. Grancieri, M.; Martino, H. S. D.; Gonzalez De Mejia, E. (2019). Digested total protein and protein fractions from chia seed (*Salvia hispanica* L.) had high scavenging capacity and inhibited 5-LOX, COX-1-2, and iNOS enzymes. *Food Chemistry*, v. 289, p. 204–214, 15 ago.
 18. Gualtieri, M.; Rapaccini, S. (1990). Sorghum grain in poultry feeding. *World's Poultry Science Journal*, v. 46, n. 3, p. 246–254.
 19. Harnedy, P. A.; Fitzgerald, R. J. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of Functional Foods*, v. 4, n. 1, p. 6–24.
 20. Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., Bashir, S. (2014). Nutritional and health perspectives of beans (*Phaseolus vulgaris* L.): an overview. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 54, n. 5, p. 580–592.
 21. Ivanov, V.T., Karelin, A.A., Philippova, M. M., Nazimov, I. V., Pletnev, V.Z. (1997). Hemoglobin as a source of endogenous bioactive peptides: The concept

- of tissue-specific peptide pool. *Peptide Science*, v. 43, n. 2, p. 171–188.
22. Kayodé, A. P. P.; Hounhouigan, J. D.; Nout, M. J. R. (2007). Impact of brewing process operations on phytate, phenolic compounds and in vitro solubility of iron and zinc in opaque sorghum beer. *LWT-Food Science and Technology*, v. 40, n. 5, p. 834–841.
23. Khan, I., Yousif, A., Johnson, S. K., Gamlath, S. (2013). Effect of sorghum flour addition on resistant starch content, phenolic profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta. *Food Research International*, 54(1), 578–586.
24. Kim, E.; Kim, S.; Park, Y. (2015). Sorghum extract exerts cholesterol-lowering effects through the regulation of hepatic cholesterol metabolism in hypercholesterolemic mice. *International journal of food sciences and nutrition*, v. 66, n. 3, p. 308–313, 2015.
25. Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of functional foods*, v. 1, n. 2, p. 177–187.
26. Lafarga, T.; Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat science*, v. 98, n. 2, p. 227–239.
27. Lammi, C.; Zaroni, C.; Arnoldi, A. (2015). Three peptides from soy glycinin modulate glucose metabolism in human hepatic HepG2 cells. *International journal of molecular sciences*, v. 16, n. 11, p. 27362–27370.
28. Luna-Vital, D. A., Mojica, L., de Mejía, E. G., Mendoza, S., Loarca-Piña, G. (2015). Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. *Food Research International*, 76, 39–50.
29. Macarulla, M. T., Medina, C., Diego, M. Ar., Chávarri, M., Zulet, M. Á., Martínez, A. J., Noël-Suberville, C., Higuieret, P., Portillo, M. P. (2001). Effects of the whole seed and a protein isolate of faba bean (*Vicia faba*) on the cholesterol metabolism of hypercholesterolaemic rats. *British Journal of Nutrition*, v. 85, p. 607–614.
30. Margier, M., Georgé, S., Hafnaoui, N., Remond, D., Nowicki, M., Du Chaffaut, L., Amiot, M.J., Reboul, E. (2018). Nutritional composition and bioactive content of legumes: Characterization of pulses frequently consumed in France and effect of the cooking method. *Nutrients*, v. 10, n. 11, p. 1–12.
31. Marques, M. R. Peptídeos do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e metabolismo do colesterol: interação micelar, permeação celular e expressão

- gênica. 2017. Universidade de São Paulo - Faculdade de Saúde Pública Peptídeos, 2017.
32. Marques, M. R., Fontanari, G. G., Pimenta, D. C., Soares-freitas, R. M., Arêas, J. A. G. (2015). Proteolytic hydrolysis of cowpea proteins is able to release peptides with hypocholesterolemic activity. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.020>
33. Megías, C., Pedroche, J., Yust, M. del M., Alaiz, M., Girón-calle, J., Millán, F., Vioque, J. (2009). Sunflower Protein Hydrolysates Reduce Cholesterol Micellar Solubility. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 86–93.
34. Mojica, L. Mejia, E.G., Granados-Silvestre, M.Á., Menjivar, M. (2017). Evaluation of the hypoglycemic potential of a black bean hydrolyzed protein isolate and its pure peptides using in silico, in vitro and in vivo approaches. *Journal of functional foods*, v. 31, p. 274–286.
35. Möller, N.P., Scholz-Ahrens, K. E., Roos, N., Schrezenmeir, J. (2008). Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *European journal of nutrition*, v. 47, n. 4, p. 171–182.
36. Moraes, É. A., Marineli, R. da S., Lenquiste, S. A., Steel, C. J., de Menezes, C. B., Queiroz, V. A. V., & Júnior, M. R. M. (2015). Sorghum flour fractions: Correlations among polysaccharides, phenolic compounds, antioxidant activity and glycemic index. *Food Chemistry*, 180, 116–123.
37. Moraes, É. A., Natal, D.I.G., Queiroz, V.A.V., Schaffert, R.E., Cecon, P.R., Paula, O., Benjamim, L.A., Ribeiro, S.M.R., Martino, H.S.D. (2012). Sorghum genotype may reduce low-grade inflammatory response and oxidative stress and maintains jejunal morphology of rats fed a hyperlipidic diet. *Food research international*, v. 49, n. 1, p. 553–559.
38. Moraes, É. A., Marineli, R.S., Lenquiste, S. A, Queiroz, V.A.V, Camargo, R. L., Borck, P. C., Carneiro, E. M, Maróstica Júnior, M. R (2017). Whole sorghum flour improves glucose tolerance, insulin resistance and preserved pancreatic islets function in obesity diet-induced rats. *Journal of Functional Foods*, 45, 530–540.
39. Ortíz Cruz, R. A., Cárdenas López, J. L., González Aguilar, G. A., Astiazarán García, H., Gorinstein, S., Canett Romero, R., Robles Sánchez, M. (2015). Influence of Sorghum Kafirin on Serum Lipid Profile and Antioxidant Activity in Hyperlipidemic Rats (*In Vitro* and *in Vivo* Studies). *BioMed Research*

- International, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/164725>
40. Oseguera-Toledo, M. E., Mejia, E.G., Dia, V.P., Amaya-Llano, S.L. (2011). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hydrolysates inhibit inflammation in LPS-induced macrophages through suppression of NF- κ B pathways. *Food chemistry*, v. 127, n. 3, p. 1175–1185, 2011.
 41. Poquette, N. M.; Gu, X.; Lee, S.-O. Grain sorghum muffin reduces glucose and insulin responses in men. *Food & Function*, v. 5, n. 5, p. 894–899, 2014.
 42. Queiroz, V.A.V., Silva, C.S., Menezes, C. B., Schaffert, R.E., Guimarães, F.F.M., Guimarães, L.J.M., Guimarães, P.E.O., Tardin, F.D. (2015). Nutritional composition of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] genotypes cultivated without and with water stress. *Journal of Cereal Science*, v. 65, p. 103–111.
 43. Rooney, L. W.; Miller, F. R.; Mertin, J. V. Variation in the structure and kernel characteristics of sorghum. 1981, [S.l: s.n.], 1981. p. 143–162.
 44. Ruiz Ruiz, J. C.; Ancona, D. A. B.; Campos, M. R. S. Bioactive vegetable proteins and peptides in lipid-lowering; nutraceutical potential. *Nutrición hospitalaria*, v. 29, n. 4, p. 776–84, 2014.
 45. Salazar-lópez, N. J., González-aguilar, G., Rouzaud-sáñez, O., Robles-sánchez, M. (2018). Technologies applied to sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): changes in phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 38(3), 369–382.
 46. Schober, T. J., Bean, S. R., & Boyle, D. L. (2007). Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5137–5146.
 47. Shen, R.-L., Zhang, W.-L., Dong, J.-L., Ren, G.-X., Chen, M. (2015). Sorghum resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. *Food and Agricultural Immunology*, 26(1), 120–130.
 48. Singh, P., Arora, A., Strand, T. A., Leffler, D. A., Catassi, C., Green, P. H., Kelly, C.P., Ahuja, V., Makharia, G. K. (2018). Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, v. 16, n. 6, p. 823- 836.e2.
 49. Slavin, J. (2004). Whole grains and human health. *Nutrition research reviews*,

v. 17, n. 1, p. 99–110.

50. Stefoska-Needham, A., Beck, E.J., Johnson, S.K., Tapsell, L.C. (2015). Sorghum: An Underutilized Cereal Whole Grain with the Potential to Assist in the Prevention of Chronic Disease. *Food Reviews International*, v. 31, n. 4, p. 401–437.
51. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference Release. Disponível em:
<<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/20067?fgcd=&manu=&format=&count=&max=25&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=Sorghum+grain&ds=&qt=&qp=&qd=&qn=&q=&ing=>>. Acesso em: 5 ago. 2019.
52. Valadares Filho, S. C.; Rocha Júnior, V. R.; Cappelle, E. R. (2002). Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos. Viçosa. [S.I.]: DZO-DPI-UFV. 297p.
53. Velázquez, N., Sánchez, H., Osella, C., Santiago, L. G. (2012). Using white sorghum flour for gluten-free breadmaking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(4), 491–497.54. Waniska, R. D. Structure, Phenolic Compounds, and Antifungal Proteins of Sorghum Caryopses. n. May, p. 18–19, 2000.
55. Waniska, R. D.; Rooney, L. W. Structure and chemistry of the sorghum caryopsis. *Sorghum: origin, history, technology, and production*, v. 2, p. 649–679, 2000.

CAPÍTULO 1

CALOR SECO E PRESSÃO AUMENTAM A DISPONIBILIDADE O CONTEÚDO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E PRODUZ DE PEPTÍDEOS EM GRÃOS DE SORGO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench).

RESUMO

O sorgo destaca-se pela elevada concentração de compostos fenólicos e fibras alimentares, mas existem evidências de que a hidrólise parcial de kafirinas, proteínas predominantes no sorgo, geram peptídeos bioativos que podem exercer efeitos benéficos à saúde. Porém, tais evidências referem-se principalmente aos peptídeos obtidos por hidrólise enzimática, e não se tem conhecimento sobre a influência da temperatura e umidade no perfil proteico, associado aos compostos fenólicos e sua atividade antioxidante. Dessa forma, o presente trabalho avaliou a composição nutricional dos grãos de sorgo e seu perfil funcional após exposição a diferentes processamentos sendo: farinha (FCS), pipoca (P), cocção úmida (SCU), cocção úmida com excesso de água (SCUE) e cocção úmida sob pressão (SCUP), utilizando como controle sorgo (S), farinha (FC). Os tratamentos foram realizados em 2 repetições e analisados quanto à composição centesimal, perfil proteico, teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante. Os dados foram submetidos à ANOVA e aqueles que apresentaram diferença ($p \leq 0,05$) foram comparados pelo teste Duncan na mesma probabilidade. Os tratamentos com calor seco (FCS e P) preservam os macronutrientes, especialmente o conteúdo proteico, além dos compostos fenólicos e antocianinas e, conseqüentemente, apresentam maior atividade antioxidante. Tratamentos térmicos que utilizaram a pressão, seja cocção úmida ou pipocagem, apresentaram maior abundância relativa de proteínas de menor massa molecular, indicando hidrólise parcial das kafirinas, com massas entre 5 e 14 kDa. Desta forma, conclui-se que o calor seco com ou sem utilização de pressão parecem favorecer a disponibilidade de constituintes benéficos à saúde, podendo ser um aliado no preparo desse alimento.

Palavras-chave: Sorgo, Temperatura, Umidade, Proteínas, Compostos Fenólicos, Atividade Antioxidante.

ABSTRACT

Sorghum stands out for its high concentration of phenolic compounds and dietary fibers, but there is evidence that partial hydrolysis of kafirines, proteins predominant in sorghum, generates bioactive peptides that can have beneficial health effects. However, such evidence refers mainly to peptides obtained by enzymatic hydrolysis, and there is no knowledge about the influence of temperature and humidity on the protein profile, associated with phenolic compounds and their antioxidant activity. Thus, the present study evaluated the nutritional composition of sorghum grains and their functional profile after exposure to different processes: flour (FCS), popcorn (P), wet cooking (SCU), wet cooking with excess water (SCUE) and wet cooking under pressure (SCUP), using sorghum (S), flour (FC) as control. The treatments were carried out in 2 repetitions and analyzed for chemical composition, protein profile, content of total phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity. The data were submitted to ANOVA and those that showed differences ($p \leq 0.05$) were compared using the Duncan test in the same probability. Dry heat treatments (FCS and P) preserve macronutrients, especially protein content, in addition to phenolic and anthocyanin compounds and, consequently, have greater antioxidant activity. Heat treatments that used pressure, either wet cooking or piping, showed a higher relative abundance of proteins of lower molecular weight, indicating partial hydrolysis of kafirins, with masses between 5 and 14 kDa. Thus, it is concluded that dry heat with or without the use of pressure seems to favor the availability of constituents beneficial to health and can be an ally in the preparation of this food.

Keywords: Sorghum, Temperature, Moisture, Proteins, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity.

1. INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) tem ganhado espaço no mercado internacional, principalmente nos Estados Unidos e Japão, e no mercado nacional, apresentando um aumento de mais de 15% em toneladas produzidas em relação ao ano anterior (IBGE, 2020).

Apesar do impactante aumento na produção nacional, no Brasil, o cultivo ainda é mais voltado para a alimentação animal, contrapondo-se a países da África e Ásia, nos quais a maior oferta proteico-calórica da dieta é proveniente do sorgo (DICKO et al., 2006; LEMMA; LEGESSE; KETEMA, 2020). Contudo, as características nutricionais do sorgo têm despertado o interesse de pesquisadores para a incorporação deste cereal na alimentação humana, com o objetivo de reduzir Doenças e Agravos Não Transmissíveis (DANTs), que estão intimamente relacionadas à má alimentação (QUEIROZ; CARNEIRO; et al., 2012; QUEIROZ; MORAES; et al., 2012). Sua aplicabilidade na indústria de alimentos também tem sido elevada, pois apresenta potencialidades na elaboração de novos produtos, incluindo farinhas, produtos de panificação, cervejas, entre outros (ABOUBACAR; YAZICI; HAMAKER, 2006; SCHOBER; BEAN; BOYLE, 2007; VELÁZQUEZ et al., 2012).

Em um contexto nutricional marcado por DANTs, o aumento de produtividade e consumo do sorgo é muito relevante, pois é um cereal de baixo custo, considerado excelente fonte de compostos fenólicos, como luteolinidina e apigeninidina, além dos taninos condensados, fibras alimentares e amido resistente (QUEIROZ et al., 2011; SHEN et al., 2015; DUNN et al., 2015; MORAES et al., 2015; ARBEX et al., 2018). O sorgo também possui conteúdo expressivo de proteínas, que correspondem a cerca de 10% de sua composição (USDA, 2018). Estudos têm demonstrado que algumas proteínas vegetais podem conter peptídeos bioativos que desempenham diversas ações na prevenção e redução do risco de doenças crônicas como câncer, obesidade e doenças cardiovasculares (MEGÍAS et al., 2009; FONTANARI et al., 2012; CHAKRABARTI; JAHANDIDEH, 2014).

Peptídeos bioativos podem ser definidos como fragmentos específicos de proteínas que possuem impacto positivo nas funções ou condições corpóreas,

podendo influenciar na saúde. Além disso, apresentam atividade semelhante à fármacos ou hormônios, por se ligarem a receptores específicos nas células alvo e quando administrados por via oral, dependendo da sequência de aminoácidos, os peptídeos podem atuar nos principais sistemas: cardiovascular, digestivo, imune e nervoso (LAFARGA; HAYES, 2014).

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que compostos isolados do sorgo, como peptídeos, compostos fenólicos e compostos solúveis em gordura (policosanol) ou o consumo da farinha extrusada de sorgo, promoveram mudanças benéficas no que tange aos parâmetros relacionados às DANTS (CARDOSO et al., 2015; MORAES et al., 2017; ARBEX et al., 2018).

Grande parte dos estudos focaram na avaliação da farinha de sorgo e não avaliam outros processamentos tais como pipocagem e cocção úmida. A cocção úmida, por exemplo, parece prejudicar a qualidade proteica dos grãos, pela formação de pontes dissulfeto, reduzindo sua digestibilidade. Além disso, tem sido evidenciada a redução do conteúdo de compostos fenólicos totais, em especial de 3-deoxiantocianidinas, e de vitamina E, prejudicando a atividade antioxidante. Por outro lado, há evidências de que no calor seco, germinação e fermentação, os grãos apresentaram maior digestibilidade, além de preservarem os compostos fenólicos totais, incluindo as 3-deoxiantocianidinas (CORREIA et al., 2010; CARDOSO et al., 2013; SALAZAR-LÓPEZ et al., 2018).

Além disso, os estudos que avaliaram as potencialidades de peptídeos bioativos de origem vegetal estudam principalmente a sua produção por hidrólise enzimática ou fermentação microbológica e, portanto, ainda são inexistentes os estudos que avaliaram a influência de métodos de cocção na produção de peptídeos bioativos (MEGÍAS et al., 2009; CHAKRABARTI; JAHANDIDEH, 2014; MARQUES et al., 2015; ORTÍZ CRUZ et al., 2015; MARQUES, 2017). Além disso, são escassos os estudos que avaliaram a influência de diferentes métodos de cocção na composição centesimal de compostos fenólicos, antocianinas, capacidade antioxidante e na produção de peptídeos com potencial bioativo. Sendo assim, é importante avaliar o resultado do processamento, seja ele térmico ou não sobre os grãos de sorgo, uma vez que é possível que estes interfiram em sua funcionalidade. Diante disso, o presente trabalho pretende elucidar as implicações nutricionais de diferentes

processamentos no sorgo, empregando calor seco e úmido no perfil nutricional e de compostos com potencial bioativo, incluindo peptídeos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Os grãos de sorgo foram adquiridos em comércio local. Os experimentos foram realizados nos Laboratórios do Complexo Biopráticas – Campus Boa Vista, Vila Velha – ES.

2.2 Métodos

2.2.1 Delineamento experimental e processamento dos grãos de sorgo.

Os grãos foram submetidos a 7 tipos de processamentos distintos, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Processamentos nos quais os grãos de sorgo foram submetidos.

Processamentos	Procedimentos adotados
S – controle	Grão de sorgo <i>in natura</i> .
F - controle	Grãos triturados em processador doméstico (KitchenAid, Spicy®), até obtenção de uma farinha homogênea (CARDOSO et al., 2014).
FCS	Grãos triturados em processador doméstico (KitchenAid, Spicy®), até obtenção de uma farinha homogênea e submetidos ao calor seco em forno combinado (Wictory, Tedesco®), a 121 °C por 25 min (CARDOSO et al., 2014).
P	Grãos submetidos ao calor seco, utilizando micro-ondas doméstico até pipocagem, aproximadamente 1,5 minutos (CARDOSO et al., 2014).
SCU	Grãos submetidos a cocção úmida (20 g - 500 ml) a 100 °C por 50 min (BORGES, 2013).
SCUE	Grãos submetidos a cocção úmida com excesso de água (20 g – 800 ml) a 100 °C por 50 min (BORGES, 2013).

SCUP Grãos submetidos a cocção úmida em panela de pressão por 15 min (20 g – 500 ml) (EZEUGU; DUODU; TAYLOR, 2005).

Cada processamento foi realizado em 2 repetições, totalizando 14 unidades experimentais. O experimento foi organizado seguindo um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) para avaliar a influência das diferentes técnicas empregadas sobre as variáveis respostas. Apenas em relação ao perfil proteico foi utilizado um DIC em esquema fatorial, considerando as variáveis independentes Sorgo e Massa Molecular e a interação Sorgo*Massa Molecular.

2.2.2 Determinação da composição centesimal

A determinação do teor de umidade foi realizada pelo método de secagem em estufa a 105 °C até a obtenção de peso constante; cinzas por incineração em mufla a 550 °C; o teor proteico pelo método de Kjeldahl, seguido da conversão do resultado em proteína bruta, utilizando o fator 5,75, referente aos cereais; lipídeos totais pelo método de extração de Goldfish; e o teor de carboidratos por diferença (AOAC, 1990, 2002).

Calorias (kcal.100 g⁻¹) foram determinadas aplicando os valores de conversão de Atwater que considera que 1 g de proteínas correspondem a 4 kcal, assim como carboidratos, enquanto 1 g de lipídeos correspondem a 9 kcal (MERRILL; WATT, 1973).

2.2.3 Determinação do perfil proteico e de peptídeos

O perfil foi realizado em 2 etapas, inicialmente para determinação das proteínas de maior massa molecular, na faixa de 8 a 210 kDa e, posteriormente, proteínas de menor massa molecular, na faixa de 1,06 a 26,60 KDa.

O perfil das proteínas de maior massa molecular foi avaliado em gel de poli-acrilamida a 10% (m/v) em condições desnaturantes, na presença de dodecil sulfato de sódio (SDS) e β-mercaptoetanol, assim como descrito por Laemmli (1970). As amostras foram maceradas, aquecidas a 100 °C por 5 min e centrifugadas por 10 minutos a 13000 rpm, sendo utilizado o sobrenadante para

aplicação no gel. Para estimar a massa molecular das proteínas, foi usado o marcador Sigma ColorBurst Marker (Sigma-Aldrich, MI, USA), composto das seguintes massas moleculares 210, 90, 65, 40, 30, 20, 13 e 8 kDa. Os géis foram corados com *Comassie Brilliant Blue* e a densidade relativa das bandas foi determinada pelo sistema de documentação de imagem Gel Doc™ EZ, utilizando o software Image Lab v. 5.2.1 (Bio-Rad, EUA).

O perfil proteico de menor massa molecular, entre 26,60 e 1,06 kDa, foi determinado por eletroforese em gel de tricina-SDS, usando placas de vidro de 8 x 10 cm e 7 x 10 cm e espaçadores de 0,75 mm, segundo o método descrito por Schägger, Jagow (1987). O gel de separação foi preparado em uma concentração de 16,4% de acrilamida/bis-acrilamida e o gel de concentração de 3,9%. Estes foram montados no Mini Protean Tetra System (Biorad). As amostras foram acrescidas de tampão de amostra (0,125 M de Tris, 2,5% de SDS, 0,25% de azul de bromofenol; 5% de β -mercaptoetanol e 15% de sacarose, aquecidas por 5 min a 100 °C e posteriormente centrifugadas a 16.000 x g por 2 min, a temperatura ambiente. Em seguida, 20 μ l de cada amostra foram aplicados ao gel de concentração. A eletroforese foi realizada a uma voltagem constante de 24 V por um período de aproximadamente de 16 horas, utilizando na corrida o tampão catodo (Tricina 0,1M; Tris-HCl 0,1M pH 8,31; SDS 0,1%) e tampão anodo (Tris-HCl 0,2M pH 8,9; SDS 0,2%). Para estimar a massa molecular foi usado o marcador de baixa massa molecular de 26.600; 17.000; 14.200; 6.500; 3.496 e 1.060 Da (M3546 – Ultra Low Range Molecular Weight Marker, Sigma).

Após a finalização da corrida, o gel foi cuidadosamente retirado das placas de vidro e colocado em uma solução corante (0,025% de *Comassie Blue G*, 10% de ácido acético em água destilada) em agitação constante por aproximadamente 1 h. Depois de corado, o gel foi transferido para uma solução descorante (10% de ácido acético em água destilada). O mesmo foi mantido nesta última solução até a visualização das bandas proteicas e em seguida foi armazenado em água destilada. As imagens dos géis foram digitalizadas em um fotodocumentador LAS 500 (GE Healthcare). A densidade relativa das bandas foi determinada pelo sistema de documentação de imagem Gel Doc™ EZ, utilizando o software Image Lab v. 5.2.1 (Bio-Rad, EUA).

2.2.4 Preparo do Extrato para Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante

Um grama da amostra foi pesado e alocado em tubo plástico coberto por papel alumínio. Foram então adicionados 10 ml de metanol NEON® 60%, agitando manualmente até completa solubilização. Tal mistura foi levada ao banho de ultrassom Elmasonic-P por 25 minutos, a 40 °C, 37 khz e 50% de amplitude, conforme Altemimi et al., (2016). Depois disso, o tubo foi levado à centrífuga a 3500 rpm por 10 min, e o sobrenadante foi filtrado, completando o volume até 15 ml com água deionizada (KREPSKY et al., 2012). Todos os procedimentos foram realizados no escuro e os extratos acondicionados sob refrigeração, ao abrigo da luz, até realização das análises.

2.2.5 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com Luo et al. (2018). Foram pipetados 20 µl de cada extrato em microplaca e 80 µl de Folin Ciocalteu 10% (Sigma®). Após 4 minutos, adicionou-se 100 µl de Carbonato de Sódio 7,5% (Sigma®). Após 2 horas, a absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com água deionizada no lugar do extrato.

Uma curva analítica de ácido gálico Dinâmica Ltda® , nas concentrações de 10 a 100% foi elaborada, gerando a equação de regressão ($y = 0,221x + 0,0406$; $R^2=0,9937$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra.

2.2.6 Determinação do teor de antocianinas

A concentração de antocianinas totais foi realizada por diferença de pH conforme (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Uma alíquota de 100 µl de cada extrato foi colocada em tubo falcon e homogeneizada com 2,9 ml de solução de cloreto de potássio 0,025 mol.L⁻¹ em pH=1. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV/VIS KASUAKI® nos comprimentos de onda de 300 e 700 nm. A leitura a 700 nm foi realizada para descontar a turbidez da amostra. As antocianinas totais foram determinadas no tampão cloreto de potássio pH=1, de acordo com Awika, Rooney, Waniska (2004). Os resultados foram expressos em

mg.g⁻¹ de amostra, utilizando a fórmula:

$$\text{Pigmento antocianina monomérico (mg.g}^{-1}\text{)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\varepsilon \times 1)$$

Em que: A= absorvância da amostra; MW é o peso molecular = 449,2; DF = fator de diluição; ε = absortividade = 26900.

2.2.7 Determinação da atividade antioxidante

A análise da atividade antioxidante foi realizada utilizando os radicais ABTS, DPPH e FRAP.

- **ABTS:** trinta microlitros de cada extrato foram pipetados em uma microplaca e adicionados de 270 μl do radical ABTS. Após 6 minutos, a absorvância foi lida a 734 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (Awika, Rooney, Wu, Prior, & Cisneros-Zevallos, 2003). Uma curva analítica de ácido gálico foi preparada a partir das concentrações de 0,00002 a 0,00250 μg , gerando a equação de regressão ($y = -364,62x + 0,7521$; $R^2 = 0,9854$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra. Os resultados também foram expressos por meio da atividade de eliminação do radical (I), utilizando a equação: $I (\%) = [(\text{Abs branco} - \text{Abs amostra}) \times 100] / \text{Abs Branco}$ (AWIKA et al., 2003; SCHERER; GODOY, 2009).

- **DPPH:** vinte microlitros de cada extrato e 280 μl do radical DPPH foram pipetados em microplaca. A leitura foi realizada a 517 nm após 60 minutos de incubação, ao abrigo da luz em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (LUO et al., 2018). Foi elaborada uma curva analítica de ácido gálico, nas concentrações de 0,00002 a 0,00250 μg , por meio da equação de regressão ($y = -348,34x + 0,7911$; $R^2 = 0,9811$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra. Os resultados também foram expressos por meio da atividade de eliminação do radical (I), utilizando a equação: $I (\%) = [(\text{Abs branco} - \text{Abs amostra}) \times 100] / \text{Abs Branco}$ (SCHERER; GODOY, 2009).

- **FRAP:** trinta microlitros de cada extrato foram pipetados em microplaca e adicionados de 270 μl de solução FRAP. A leitura foi realizada a 595 nm após 10 minutos de incubação, ao abrigo da luz, em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON®. O

resultado foi expresso por meio da atividade de eliminação do radical (I), utilizando a equação: $I (\%) = [(Abs \text{ branco} - Abs \text{ amostra}) \times 100] / Abs \text{ Branco}$ (BENZIE; STRAIN, 1996; SCHERER; GODOY, 2009).

2.2.8 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, àqueles que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, em relação às variáveis independentes isoladas ou, no caso do perfil proteico, também a interação “Sorgo*Massa Molecular”, foram comparados pelo teste Duncan na mesma probabilidade.

Os resultados foram analisados por meio do programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS University Studio Online, Cary, North Carolina), versão online.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Centesimal

Os resultados da composição centesimal de cada processamento ao qual o grão de sorgo foi submetido são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Média e desvio padrão da composição centesimal dos grãos de sorgo submetidos aos diferentes processamentos.

Produto	Umi (%)	Cinzas (%)	Lip (%)	PTN (%)	CHO (%)	VCT (kcal)
S	10,89 ± 0,16 ^c	0,44 ± 0,03 ^f	1,08 ± 0,11 ^{cd}	5,95 ± 0,06 ^c	81,64 ± 0,18 ^{ab}	360,09 ± 0,04 ^b
FC	10,85 ± 0,05 ^c	0,87 ± 0,00 ^d	2,24 ± 0,22 ^b	6,36 ± 0,48 ^{bc}	79,68 ± 0,30 ^b	364,32 ± 1,29 ^b
FCS	5,96 ± 0,70 ^{cd}	1,04 ± 0,06 ^c	1,45 ± 0,94 ^{bc}	7,58 ± 0,03 ^a	83,97 ± 0,27 ^{ab}	379,27 ± 7,30 ^{ab}
P	2,90 ± 1,42 ^d	1,25 ± 0,05 ^b	3,41 ± 0,27 ^a	6,71 ± 0,14 ^b	85,73 ± 1,86 ^a	400,42 ± 4,51 ^a
SCU	62,85 ± 1,12 ^a	0,88 ± 0,01 ^d	1,30 ± 0,52 ^{bc}	3,85 ± 0,51 ^d	31,13 ± 1,16 ^d	151,63 ± 1,93 ^{cd}
SCUE	64,68 ± 1,33 ^a	0,68 ± 0,08 ^e	0,71 ± 0,23 ^{cd}	3,17 ± 0,15 ^e	30,76 ± 1,17 ^d	142,11 ± 6,16 ^d
SCUP	56,86 ± 5,64 ^b	1,45 ± 0,13 ^a	0,13 ± 0,12 ^d	2,91 ± 0,20 ^e	38,65 ± 5,20 ^c	167,43 ± 22,64 ^c

S: grãos de sorgo – controle; FC: farinha controle – sem tratamento térmico; FCS: farinha submetida a calor seco; P: pipoca; SCU: grão submetido a cocção úmida – sem excesso de água; SCUE: grão submetido a cocção úmida – com excesso de água; SCUP: grão submetido à cocção sob pressão.

Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

Dentre os constituintes analisados, todos apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) com os processamentos ou tratamentos térmicos utilizados.

As maiores médias de umidade foram encontradas nas amostras submetidas ao calor úmido (SCUE, SCU e SCUP), pois o processo de cocção tende a modificar o material da parede celular da planta, pelo rompimento das fibras, promovido pela absorção de água e abrandamento do pericarpo. Tal processo envolve não apenas a difusão da água da superfície para o núcleo, como também a transferência de calor para o centro do grão, promovendo gelatinização do amido (JANKOWSKI; RHA, 1986; SPILLER, 1986; BUTARELO et al., 2004; BAYRAM, 2005). A cocção é um método utilizado para reduzir ou inativar substâncias indesejáveis nos alimentos, incluindo fatores antinutricionais. Contudo, o teor de umidade elevado é uma das causas de deterioração de cereais, devido ao aumento da atividade de água, que favorece ação microbiana (BENEVIDES et al., 2011).

Por outro lado, observa-se menor teor de umidade nos produtos que foram submetidos ao calor seco, em decorrência do processo de desidratação. Os teores de umidade do S e FC concordam com os resultados encontrados por Dicko et al. (2006), Martino et al. (2012) e Borges (2013).

Os valores de cinzas concordam com outros autores (RAGAE, 2006; MARTINO et al., 2012; BORGES, 2013; USDA, 2018), cujos resultados não ultrapassam 2%, inclusive quando analisados diversos genótipos de grãos sorgo e suas farinhas.

O maior percentual de minerais foi observado no SCUP, se diferenciando significativamente ($p \leq 0,05$) de todos os demais. Daiuto et al. (2015) em estudo sobre os métodos de cozimento mais adequado para o preparo de hortaliças, visando minimizar as perdas de minerais de partes convencionais e não convencionais das plantas, observaram que o tratamento com uso da panela de pressão também resultou em menores perdas de ferro, potássio, cálcio, magnésio e fósforo na polpa, casca e/ou talos de alguns vegetais, como cenoura, brócolis e couve flor, devido ao menor tempo de exposição à água de cocção,

elevada temperatura e pressão.

O sorgo é um cereal fonte de minerais como fósforo, potássio e zinco (DICKO et al., 2006) que ficam majoritariamente localizados no gérmen do grão (QUEIROZ et al., 2009). Essa localização pode explicar a predominância também de cinzas na P e FS, nas quais ocorre a exposição do conteúdo do gérmen e a redução da umidade pela desidratação dos grãos. Os tratamentos SCU e SCUE podem ter apresentado menores médias devido à lixiviação (KHAN et al., 2013).

Os lipídeos do sorgo também estão localizados, em sua maior parte, no gérmen do grão (HEINIÖ et al., 2016), o que explica a maior média ($p \leq 0,05$) observada na P, devido a maior exposição do conteúdo do gérmen do grão com a pipocagem. Os resultados com menores médias coincidem com as amostras submetidas ao calor úmido (SCU, SCUE e SCUP), não diferindo do conteúdo encontrado no tratamento S (controle – $p > 0,05$), o que sugere preservação do conteúdo médio desse nutriente. No entanto, quando esse grão é triturado (FC), há maior exposição da superfície de contato e, conseqüentemente, do conteúdo lipídico do cereal, que se localiza no gérmen, contudo a desidratação não foi capaz de aumentar percentualmente o teor de lipídeos em FCS.

Segundo Dicko et al. (2006), os lipídeos podem corresponder de 1,5 a 6 % do grão e, de acordo com Glew et al. (1997), os ácidos graxos presentes no sorgo, são em sua maioria de cadeia insaturada, especialmente, oleico e linoleico, que correspondem a 76% do total de ácidos graxos do grão, sendo, portanto, interessante sua preservação e/ou maior disponibilidade após processamento e tratamento térmico.

Em relação ao conteúdo proteico, acredita-se que a redução não se refere à lixiviação de proteínas na água de cocção, pois autores relatam que, apesar de serem solúveis em mistura álcool-água, por serem prolaminas, as kafirinas possuem um perfil mais hidrofóbico, são compostas, em sua maioria, por aminoácidos apolares e possuem mais afinidade por extratores hidrofóbicos, como o butanol terciário (BELTON et al., 2006). Sendo assim, acredita-se que este resultado está relacionado ao percentual de umidade e de matéria seca, de forma que quanto menor o teor de umidade, maior a quantidade de matéria seca e, conseqüentemente, maior o teor de proteínas. Isso indica que submeter o grão

ao calor seco (FS e P), favorece o aumento da sua concentração, pela perda de umidade, enquanto utilizar calor úmido (SCU, SCUE e SCUP), promove sua redução. Lasztity (1995) relata que o conteúdo proteico do sorgo pode variar de 6 a 18%. Tais valores se aproximam dos tratamentos controle e submetidos ao calor seco. Por outro lado, Felix et al. (2015) avaliaram a composição centesimal de diversos genótipos de sorgo produzidos na África que apresentaram valores entre 3 e 18% de proteínas, demonstrando a dispersão nos teores desse nutriente relacionados à questões como origem, solo, clima e outros.

O teor de carboidratos foi maior nas amostras controles (S e FC) e àquelas submetidas ao calor seco (FS e P) ($p \leq 0,05$). A cocção úmida pode promover a hidratação do grão e favorecer a lixiviação de oligossacarídeos hidrossolúveis e, por isso, também reduzir o percentual de carboidratos do grão (KHAN et al., 2013). Dentre os grãos submetidos ao calor úmido, observa-se que o teor de carboidratos foi maior no SCUP ($p \leq 0,05$), resultado do menor volume de água comparado ao SCUE e menor tempo de cocção que ambos.

No que diz respeito ao teor de carboidratos totais, sabe-se que esse é o conteúdo de maior predomínio em cereais, inclusive no sorgo e, por isso, relaciona-se intimamente com o valor calórico total (VCT). O VCT do sorgo se assemelha aos VCT de cereais como milho (ANGEL; ALKA, 2018; TOADER et al., 2018), trigo (ADEYEYE, 2016) e arroz (SHOBANA; LAKSHMIPRIYA; RAMYA, 2017). Vale ressaltar que a composição dos grãos de sorgo dependem de seu genótipo (DICKO et al., 2006).

Existem evidências de que grãos de sorgo são caracterizados por conter grande quantidade de amido resistente, além de fibras solúveis e insolúveis, como a celulose (RAGAE; EL-SAYED; NOAMAN, 2006). O estudo aqui presente não se propôs a quantificar fibras, por isso apresentou resultados de VCT superiores aos resultados de Martino et al. (2012) e Odunmbaku et al. (2018).

3.2 Perfil proteico e de peptídeos

A partir da técnica de eletroforese foram encontrados um total de 17 bandas que variaram de 3,7 a 195 kDa, nos 2 géis de concentrações diferentes, de 10 e 16,4%. Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) em relação à abundância

relativa das massas moleculares das proteínas do sorgo de forma geral e na interação “Sorgo*Massa Molecular”. A Figura 1 apresenta os valores médios de abundância relativa para cada massa molecular obtida na análise, demonstrando o comportamento geral do sorgo quando processado.

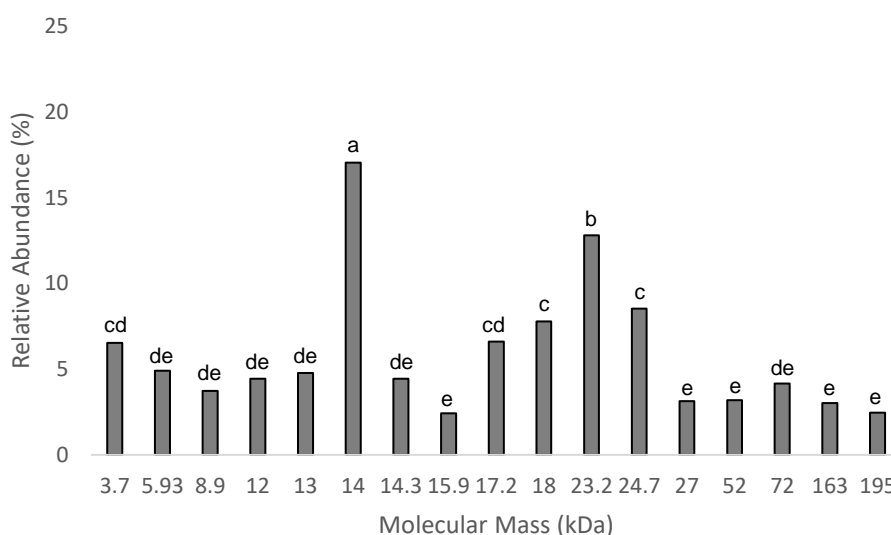


Figure 1. Abundância relativa (%) das massas moleculares (kDa) de proteínas do sorgo independente dos processamentos em que foram submetidos. Letras diferentes apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

As proteínas dos cereais podem ser classificadas de várias formas, conforme sua solubilidade ou função, por exemplo. Uma das classificações possíveis é a divisão em três grupos: proteínas de reserva, proteínas estruturais e proteínas de defesa. As duas últimas estão relacionadas às estruturas celulares e de proteção da própria planta, enquanto as proteínas de reserva compreendem mais de 50% do conteúdo proteico do grão maduro e fornecem uma reserva de aminoácidos e de carbono para germinação (CUNSOLO et al., 2012).

As principais proteínas de reserva dos cereais são as prolaminas. Estas proteínas são assim denominadas por serem solúveis em soluções álcool-água. No sorgo, as prolaminas são chamadas de kafirinas e estão acondicionadas em corpos proteicos, são ricas em prolina e glutamina e possuem baixa digestibilidade devido à presença de pontes dissulfeto (LABUSCHAGNE, 2018), além disso, apresentam similaridades de massa molecular, solubilidade e

estrutura com as zeínas (proteínas do milho) (SHULL; WATTERSON; KIRLEIS, 1991).

As kafirinas são apolares e correspondem de 70 a 80% das proteínas do endosperma, sendo classificadas em α -Kafirinas que correspondem a 80% do total de kafirinas dos grãos de sorgo e são ricas em aminoácidos hidrofóbicos; β -kafirina, a aproximadamente 5% e γ -kafirina, cerca de 15%, sendo rica em prolina, cisteína e histidina (HAMAKER; BUGUSU, 2003; BELTON et al., 2006). Espinosa-Ramírez e Serna-Saldívar (2016) determinaram suas MM, demonstrando que α -Kafirinas possuem entre 23 a 27 kDa, β -Kafirinas apresentam bandas de 16, 18 e 20 kDa e, por fim, γ -Kafirinas com MM de 28 kDa.

Nos resultados obtidos neste estudo, observa-se predominância de proteínas de MM intermediária, de 14 a 24,7 kDa, principalmente de 14 e 23,7 kDa ($p \leq 0,05$). Dentre os peptídeos, há predomínio das massas moleculares de 3,7 e 5,9 kDa, contudo, sem diferença estatística de outras MM ($p > 0,05$). Com base nessas MM, os resultados sugerem que as proteínas de 23,2; 24,7 e 27 kDa correspondem, provavelmente às α -kafirinas, que as MM de 15,9, 17,2 e 18 kDa correspondem às β -Kafirinas, e que, diferentemente da literatura, suas abundâncias foram de 21,34% 16,82%, respectivamente, indicando que houve hidrólise de parte das proteínas do sorgo.

A literatura ainda não tem um consenso sobre a massa molecular de peptídeos. Ardejani e Orner (2013) afirmam que cadeias compostas por até 50 aminoácidos são classificadas como peptídeos e acima, como proteínas. Para Nelson e Cox (2014) peptídeos têm MM abaixo de 10 kDa, enquanto proteínas possuem MM mais elevadas. Já para Sun, He e Bi (2004) peptídeos são aqueles que possuem MM de até 6 kDa.

Proteínas com massa molecular acima de 97 kDa estão relacionadas à formação de dímeros ou à aglutinação de proteínas. Taninos podem formar complexos com as proteínas e assim diminuir a digestibilidade e a palatabilidade dos alimentos (BUTLER et al., 1984). Contudo, apesar do grão conter taninos, tal resultado não foi observado já que proteínas maiores que 97 kDa, representadas pelas bandas de 163 e 195 kDa representaram apenas 5,48% da abundância relativa dos tratamentos em geral. Isso pode ser explicado

por que proteínas diferem em sua afinidade pelos taninos. Butler (1981) relaciona algumas características importantes para que haja associação de proteínas com os taninos. Proteínas com alta MM, mais abertas e flexíveis tem maior afinidade pelos taninos. Contudo, no estudo aqui apresentado, provavelmente a hidrólise proteica provocada pelos processamentos reduziu a afinidade entre estes dois compostos.

A interação “Sorgo*Massa Molecular” com diferença significativa ($p \leq 0,05$) indica que, dentro de cada tratamento houve variação na abundância relativa referente à cada massa molecular encontrada. A Figura 2 apresenta a abundância relativa das proteínas nos diferentes tratamentos empregados, demonstrando a análise dos resultados dessa interação.

Figure 2. Abundância relativa (%) das massas moleculares (kDa) de proteínas em grãos de sorgo submetidos aos tratamentos, da esquerda para direita, S: grãos de sorgo – controle; FC: farinha controle; FS: farinha submetida a calor seco; P: pipoca; SCU: grão submetido a cocção úmida; SCUE: grão submetido a cocção úmida com excesso de água; SCUP: grão submetido à cocção sob pressão. Letras diferentes apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

O grão de sorgo (S) apresentou maior abundância relativa de proteínas de 14 kDa, mas sem diferença significativa ($p > 0,05$) das proteínas de MM sugestivas da α -kafirina (23,2 e 24,7 kDa – 19,88%), β -Kafirina (17,2 e 18 kDa – 17,76%) e do peptídeo com 3,7 kDa (14,76%).

As farinhas, FC e FS, apresentaram comportamento mais dispersos, semelhante ao grão (S), com maior abundância relativa das MM que possivelmente se referem às α -kafirina e β -Kafirina, além de proteínas de 14 kDa, porém, sem diferença significativa ($p > 0,05$) de outras MM.

Sendo as α -kafirina as proteínas predominantes no sorgo, percebe-se que, apenas nos tratamentos P e SCUP elas não apresentaram maior abundância relativa, sendo a proteína com 14 kDa a mais prevalente ($p \leq 0,05$). Na P todas as demais proteínas/peptídeos apresentam semelhança estatística ($p > 0,05$), contudo 24,34% da abundância é referente ao teor de peptídeos com 3,7; 5,9 e 8,9 kDa que, somado à abundância da proteína de 14 kDa, englobam quase metade das proteínas/peptídeos no produto (45,55%). Comportamento semelhante também é possível observar com o SCUP, sendo 26,84% a abundância das proteínas de 14 e 14,3 kDa e 25,27% dos peptídeos com menos de 10 kDa, perfazendo 52,11% das proteínas/peptídeos no produto.

O perfil proteico do sorgo nos tratamentos SCU e SCUE foram muito semelhantes, apresentando maior abundância ($p \leq 0,05$) das proteínas com 23,2 e 14 kDa, que somaram 45,05 e 40,39% respectivamente. Os peptídeos foram encontrados em menores proporções em ambos tratamentos.

Segundo Brijs, Bleukx e Delcour (1999) existem enzimas proteolíticas localizadas principalmente nas camadas externas do núcleo, sendo assim, os processamentos mecânicos empregados, como a maceração manual no S e a moagem no preparo da FC podem ter exposto tais enzimas, promovendo a hidrólise proteica, justificando o maior percentual de proteínas de baixa massa

molecular observada nos resultados.

Já o tratamento térmico favorece a hidrólise proteica, promovendo desnaturação parcial e exposição de resíduos hidrofóbicos de proteínas com estrutura globular (MONTROYA et al., 2008; LUNA-VITAL et al., 2015). A hidrofobicidade é uma característica das kafirinas, bem como da maior parte de aminoácidos de sua composição (HAMAKER; BUGUSU, 2003) além disso, é também um fator que promove o relaxamento das “tight junctions” (DITTMANN et al., 2014; LERNER; MATTHIAS, 2015), possibilitando a passagem de moléculas pelo mecanismo paracelular, entre as barreiras celulares, que é um dos mecanismos de absorção de peptídeos bioativos pela barreira intestinal (GLEESON et al., 2015). Guo, Kouzuma e Yonekura, (2009) relatam que a hidrofobicidade é um fator favorável ao potencial bioativo de peptídeos.

O calor úmido na cocção do sorgo reduz a digestibilidade proteica devido à formação de novas estruturas pela interação proteína-proteína ou pela interação entre proteínas e outros compostos, como polifenóis, fitatos, lipídeos, amido e componentes celulares (DUODU et al., 2002, 2003; HAMAKER; BUGUSU, 2003). Por outro lado, Delfino e Canniatti-Brazaca (2010) relatam que essa cocção promove alterações estruturais nas proteínas aumentando a susceptibilidade à hidrólise enzimática. Pelos nossos resultados não houve mudanças bruscas nos tamanhos das proteínas ou peptídeos do SCU ou SCUE em comparação ao S, permitindo inferir que, diante das condições aplicadas na cocção úmida, provavelmente não houve interação entre proteínas e outros compostos.

Ainda em relação à P e SCUP, um tratamento com aplicação de calor seco e outro de calor úmido, mas que, em ambos se observa o efeito da pressão, nota-se uma tendência de aumento das proteínas de menor MM e de peptídeos. Na pipoca, a explosão ocorre devido ao vapor superaquecido produzido em seu interior e à expansão do endosperma amiláceo, expondo seus constituintes mais internos aos fatores extrínsecos, como a elevada temperatura (SALAZAR-LÓPEZ et al., 2018), podendo assim, favorecer a hidrólise proteica.

Estudos têm avaliado o potencial bioativo de peptídeos que são resistentes ao processo de digestão e, por isso, ganham a corrente sanguínea promovendo diversos benefícios. Kamath et al. (2007) promoveram hidrólise

enzimática da kafirina de sorgo utilizando quimotripsina ($40 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ de α -kafirina), promovendo hidrólise completa da amostra. Tal estudo não apresentou o peso molecular dos peptídeos gerados na hidrólise, contudo, demonstrou atividade anti-hipertensiva, por meio da inibição da enzima de conversão da angiotensina I - ECA.

Outro estudo encontrou resultados positivos com a hidrólise enzimática das zeínas, obtendo tripeptídeos com ação anti-hipertensiva (MIYOSHI et al., 1991). Levando em consideração a similaridade entre kafirinas do sorgo e zeínas do milho, este estudo reafirma a possibilidade de obtenção de peptídeos bioativos de sorgo.

O sorgo é rico em aminoácidos hidrofóbicos, como prolina, histidina e cisteína (BELTON et al., 2006), que possuem característica antioxidante e inibem a oxidação lipídica pela transferência de íons de hidrogênio (UDENIGWE; ALUKO, 2011; DAMGAARD; LAMETSCH; OTTE, 2015). Ainda, peptídeos com resíduos de prolina ligados aos carbonos terminais são resistentes às enzimas digestivas (ERDMANN; CHEUNG; SCHRÖDER, 2008).

A hidrólise proteica promovida pela cocção pode gerar peptídeos que sejam absorvidos integralmente e tenham potencial bioativo (ORTÍZ CRUZ et al., 2015), favorecendo a prevenção ou mesmo o controle de certos agravos advindos de doenças de origem alimentar. Esse ponto é de especial relevância, pois, apesar do baixo teor proteico desse cereal, os peptídeos formados têm grande potencial para serem benéficos à saúde, necessitando, portanto, de maior investigação.

3.3 Compostos Fenólicos, Antocianinas e Perfil Antioxidante

O sorgo é considerado uma excelente fonte de compostos fenólicos, como as 3-deoxiantocianidinas e taninos, os quais estão intimamente relacionados à redução de marcadores de inflamação crônica, marcadores adipogênicos e redução da hipertrofia do tecido adiposo (ARBEX et al., 2018). Desta forma, se faz necessário incentivar o consumo deste cereal, bem como garantir a utilização de técnicas de processamento ou cocção que preservem tais compostos. Sendo assim, este estudo se propôs também a avaliar o impacto dessas técnicas sobre tais compostos.

Os resultados obtidos para o teor de compostos fenólicos e perfil antioxidante de cada processamento ou tratamento térmico ao qual o grão de sorgo foi submetido são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Média e desvio padrão compostos fenólicos totais (mEq de ácido gálico/g de amostra), antocianinas (mg/g), perfil antioxidante (mEq de ácido gálico/g de amostra) e atividade de eliminação de radical (I%) dos grãos de sorgo submetidos aos diferentes processamentos.

Produto	CFT	ANT	ABTS		DPPH		FRAP
			mEq	I%	mEq	I%	I%
S	71,47±1,26 ^c	12,70±0,43 ^d	67,10±0,92 ^a	94,91±0,32 ^a	64,92±1,08 ^a	81,56±0,81 ^a	31,87±2,12 ^a
FC	83,11±1,49 ^b	22,67±0,11 ^b	66,64±1,29 ^a	94,45±0,97 ^a	64,65±1,52 ^a	81,56±0,23 ^a	31,59±2,03 ^{ab}
FCS	93,69±2,20 ^a	30,58±0,60 ^a	66,56±0,57 ^a	95,33±0,15 ^a	64,11±0,59 ^a	81,21±0,26 ^a	26,25±0,24 ^{ab}
P	61,35±6,92 ^d	16,47±1,29 ^c	67,29±1,25 ^a	94,96±0,15 ^a	64,42±0,87 ^a	81,08±1,01 ^a	21,13±2,38 ^a
SCU	6,00±3,03 ^e	4,65±0,09 ^e	43,97±1,83 ^c	36,76±5,89 ^d	43,44±0,79 ^{bc}	25,52±0,36 ^c	25,88±2,43 ^{bc}
SCUE	9,40±0,39 ^e	3,87±0,41 ^e	50,77±2,17 ^b	54,83±2,33 ^b	44,14±2,10 ^b	29,46±2,60 ^b	27,82±2,93 ^{bc}
SCUP	4,49±0,35 ^e	3,68±0,53 ^e	46,13±2,12 ^c	43,97±1,50 ^c	41,08±1,44 ^c	22,66±2,55 ^c	21,77±0,19 ^c

CFT: Compostos fenólicos totais; ANT: Antocianinas; S: grãos de sorgo – controle; FC: farinha controle; FCS: farinha submetida a calor seco; P: pipoca; SCU: grão submetido a cocção úmida; SCUE: grão submetido a cocção úmida com excesso de água; SCUP: grão submetido à cocção sob pressão. Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

O teor de CFT apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os processamentos que utilizaram cocção em calor seco. A maior média foi encontrada nas farinhas, especialmente na FCS, e isso pode ser explicado pelo processo de trituração do grão, pois os compostos fenólicos solúveis encontram-se compartimentalizados dentro de vacúolos celulares, estando na forma livre ou conjugada (BECKMAN, 2000), enquanto os insolúveis encontram-se ligados a estruturas da parede celular (FAULDS; WILLIAMSON, 1999). Dessa forma, com o processamento, eles foram mais expostos ao agente extrator (metanol) e às ondas UV na farinha que no grão. Somado a isso, tem-se a redução do teor de umidade da amostra que, novamente, favorece a concentração dos demais constituintes do sorgo.

O método de pipocagem do grão produziu a maior perda de CFT entre os processamentos submetidos ao calor seco. Tal resultado também foi observado

por Salazar-lópez et al. (2018) ao pontuarem que a redução pode estar relacionada à perda do pericarpo ou de outras estruturas de grãos durante a explosão, uma vez que o processo de pipocagem promove a exposição do grão a alta temperatura por um curto período de tempo em condições secas, causando a explosão do grão com o vapor superaquecido, expansão do endosperma amiláceo e exposição dos seus constituintes mais internos.

Os compostos fenólicos totais (CFT) do sorgo são divididos em três classes: ácidos fenólicos, flavonoides e taninos condensados (WANISKA, 2000; SALAZAR-LÓPEZ et al., 2018), que possuem atividade antioxidante capaz de exercer efeitos benéficos à saúde (DYKES et al., 2005; AFIFY et al., 2012). No sorgo, estes compostos estão concentrados principalmente nas camadas externas do grão, justificando maior aporte destes compostos no grãos e suas farinhas integrais (AWIKA; ROONEY, 2004). Segundo Heiniö et al., (2016) existem compostos fenólicos localizados de maneira desigual nas camadas externas do grão e, por isso, diferenças de processamento como temperatura e moagem, darão origem à propriedades químicas e perfis sensoriais diferentes, assim como diferentes capacidades de estabilidade.

A cocção úmida reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) o teor de CFT, porém, não diferindo entre os três tratamentos ($p > 0,05$). O teor de CFT foi, pelo menos, 6,5 vezes menor no sorgo submetido à algum tipo de calor úmido em relação ao sorgo tratado com calor seco ou não submetido à tratamento térmico, demonstrando grande influência da presença de água na redução desses compostos durante a cocção. Tal resultado também foi relatado por Delfino e Canniatti-Brazaca (2010), Afify et al., (2012) e Cardoso et al. (2014) ao observarem a relação entre o aumento da umidade e a redução dos CFT, devido à lixiviação destes compostos, incluindo taninos, para a água de cocção. Portanto, a lixiviação de taninos reduz a possibilidade de interação com proteínas, melhorando a digestibilidade das mesmas.

Dentre os compostos fenólicos do sorgo, encontram-se os flavonoides, representados pelas antocianinas e taninos condensados. Geralmente, flavonoides são encontrados em maior abundância em vegetais e em menor quantidade em cereais, contudo, o sorgo se destaca apresentando valores importantes deste composto (GIRARD; AWIKA, 2018).

Assim como observado em relação aos CFT, as antocianinas também reduziram nos tratamentos com calor úmido e sobressaíram nas farinhas ($p \leq 0,05$). A antocianina mais predominante é a 3-deoxiantocianidina, compreendendo as luteolinidinas e apigeninidinas. Tais compostos possuem efeito benéfico sobre parâmetros lipídicos, glicêmicos, bem como caráter citotóxico às células cancerígenas com resultados superiores às antocianinas oriundas de outros alimentos (AWIKA et al., 2009). As 3-deoxiantocianidinas se diferem de outras antocianinas presentes em pigmentos vegetais por não conter um grupo hidroxila na posição C-3 (AWIKA, ROONEY, WANISKA, 2004; SHIH et al., 2007). Cardoso et al. (2014) encontraram resultados similares aos deste estudo e apontaram que tal característica confere maior estabilidade térmica às 3-desoxianocianinas em comparação a outras antocianinas, principalmente em calor seco. Relatam também que a redução das ANT nos tratamentos submetidos à cocção úmida se dá por lixiviação e, percentualmente, pelo aumento da umidade no grão.

A avaliação da atividade antioxidante apresentou resultados similares tanto no uso do radical ABTS quanto do DPPH e seus respectivos %I. Os grãos submetidos à cocção úmida apresentaram as menores médias e diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, enquanto os demais grupos, submetidos ao calor seco, com maiores médias, não apresentaram diferença ($p > 0,05$).

Awika et al., (2003) apontaram a relação direta entre CFT e atividade antioxidante, também observada no presente estudo. A redução de CFT, ANT e atividade de eliminação do radical nos processamentos submetidos à cocção úmida está relacionada ao processo de lixiviação dos compostos, que também foi relatado por Afify et al. (2012).

Quanto aos processamentos submetidos ao calor seco e àqueles sem tratamento térmico (controle), apesar de haver variações significativas no teor de CFT, a atividade antioxidante não variou ($p > 0,05$) entre eles, possivelmente pela concentração de compostos bioativos na matriz alimentar, promovida pela redução da umidade, bem como pela exposição de vitaminas lipossolúveis, presentes no gérmen, como a vitamina E e maior acessibilidade aos carotenoides, que não sofrem tanto impacto da lixiviação (CARDOSO et al., 2014; ANUNCIÇÃO et al., 2019).

No que diz respeito aos resultados obtidos na análise da atividade antioxidante pelo método FRAP, foi possível observar que este ensaio apresentou resultados bem inferiores aos obtidos nos ensaios ABTS e DPPH. Algumas limitações desse método são apontadas como o baixo pH (3,6) que pode impedir a transferência do elétron do antioxidante para o composto; a interferência de cores nos extratos vegetais; e ainda, a reação muito lenta dos compostos fenólicos no ensaio FRAP. Além disso, autores também apontam uma possível interferência devido ao UV-Vis absorção a 593 nm por outros compostos e que a reação estima apenas a atividade redutora de Fe (III) (OU et al., 2002). Neste contexto, Awika et al. (2003) compararam diferentes métodos de determinação de atividade antioxidante e concluíram que o método ABTS foi ainda mais adequado para sorgo do que o método DPPH e outros em estudo, pois se trata de um método mais rápido e que apresentou resultados consistentes entre as variedades de sorgo avaliadas.

Portanto, este trabalho também não recomenda a utilização do método FRAP para determinação da atividade antioxidante de sorgo e seus produtos, mas considera também a utilização do ABTS como a mais interessante.

4. CONCLUSÃO

O processamento do sorgo altera sua composição centesimal, o perfil proteico e de compostos bioativos. Quanto à composição centesimal, observou-se maior concentração de macronutrientes no sorgo submetido ao calor seco, mas a cocção úmida sob pressão apresentou maiores médias de cinzas. Tratamentos que utilizaram pressão (pipoca e cocção sob pressão) apresentaram maior percentual de proteínas de baixa MM e de peptídeos, indicando hidrólise importante do conteúdo proteico. O calor seco promoveu maior disponibilidade de compostos fenólicos totais e antocianinas, permitindo assim, maior atividade antioxidante, enquanto o calor úmido reduz o conteúdo destes compostos no grão. Ressalta-se a importância de avaliar o potencial dos peptídeos formados para comprovação do efeito funcional. Este estudo reforça que o consumo de sorgo deve ser mais difundido e incentivado, pois é um cereal rico em compostos nutricionais e bioativos, com benefícios diversos à saúde, como foi apresentado.

5. REFERÊNCIAS

1. Aboubacar, A., Yazici, N., & Hamaker, B. R. (2006). Extent of decortication and quality of flour, couscous and porridge made from different sorghum cultivars. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(6), 698–703.
2. Adeyeye, S. A. O. Assessment of quality and sensory properties of sorghum – wheat flour cookies. *Cogent Food & Agriculture*, v. 7, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/23311932.2016.1245059>>.
3. Afify, A. E. M. M. R., El-Beltagi, H. S., Abd El-Salam, S. M., & Omran, A. A. (2012). Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β - carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60042-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60042-2)
4. Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., & Dasari, M. R. (2016). Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Peaches and Pumpkins, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148758>
5. Angel, R., & Alka, G. (2018). Comparative analysis and optimization by utilizing different maize varieties (*Zea mays* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 1878–1882.
6. Anunciação, P. C., Cardoso, L. de M., Alfenas, R. de C. G., Queiroz, V. A. V., Carvalho, C. W. P., Martino, H. S. D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2019). Extruded sorghum consumption associated with a caloric restricted diet reduces body fat in overweight men: A randomized controlled trial. *Food Research International*, 119(June 2018), 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.048>
7. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). "Official methods of analysis." *Assoc Anal Chem* (1990).
8. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Washington (DC): AOAC, 2002
9. Arbex, P. M., Moreira, M. E. C., Toledo, R. C. L., Cardoso, L. D. M., Pinheiro-Sant'ana, H. M., Benjamin, L. A., Licursi, L. C., Carlos W. P., Queiroz, V. A. V., & Martino, H. S. D (2018). Extruded sorghum flour (*Sorghum bicolor* L.) modulate adiposity and inflammation in high fat diet-induced obese rats. *Journal of Functional Foods*, 42, 346–355. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.01.010>

10. Ardejani, M. S., & Orner, B. P. (2013). Obey the peptide assembly rules. *Science*, 340(6132), 561–562.
11. Awika, J. M., & Rooney, L. W. (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65(9), 1199–1221.
12. Awika, J. M., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. (2004). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.058>
13. Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657–6662. <https://doi.org/10.1021/jf034790i>
14. Awika, J. M., Yang, L., Browning, J. D., & Faraj, A. (2009). Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential of sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties. *LWT-Food Science and Technology*, 42(6), 1041–1046.
15. Bayram, M. (2005). Modelling of cooking of wheat to produce bulgur. *Journal of Food Engineering*, 71(2), 179–186.
16. Beckman, C. H. (2000). Phenolic-storing cells: Keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57(3), 101–110. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2000.0287>
17. Belton, P. S., Delgadillo, I., Halford, N. G., & Shewry, P. R. (2006, November 1). Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.05.004>
18. Benevides, C. M. de J., Souza, M. V., Souza, R. D. B., & Lopes, M. V. (2011). Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 18(2), 67–79.
19. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1039/c6ay01739h>
20. Borges, T. P. (2013). Classificação e métodos de cozimento de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) em grãos. Universidade Federal de Viçosa.
21. Brijs, K., Bleukx, W., & Delcour, J. A. (1999). Proteolytic activities in dormant rye

- (*Secale cereale* L.) grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3572–3578. <https://doi.org/10.1021/jf990070t>
22. Butarelo, S. S., Beleia, A., Fonseca, I. C. de B., & Ito, K. C. (2004). Hidratação de tecidos de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) e gelatinização do amido durante a cocção. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 24(3), 311–315. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612004000300001>
23. Butler, L. G., Riedl, D. J., Lebryk, D. G., & Blytt, H. J. (1984). Interaction of proteins with sorghum tannin: mechanism, specificity and significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(5), 916–920.
24. Cardoso, L. D. M., Montini, T. A., Pinheiro, S. S., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Martino, H. S. D., & Moreira, A. V. B. (2014). Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chemistry*, 152, 210–217.
25. Cardoso, L.M., Pinheiro, S. S., Martino, H. S. D., & Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2015). Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 372–390.
26. Chakrabarti, S., Jahandideh, F., & Wu, J. (2014). Food-derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/608979>
27. Correia, I., Nunes, A., Barros, A. S., & Delgadillo, I. (2010). Comparison of the effects induced by different processing methods on sorghum proteins, 51, 146–151. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.11.005>
28. Cunsolo, V., Muccilli, V., Saletti, R., Foti, S., Chimiche, S., Doria, V. A., & Catania, I.-. (2012). Mass spectrometry in the proteome analysis of mature cereal kernels, 448–465. <https://doi.org/10.1002/mas>
29. Daiuto, É. R., Vieites, R. L., Pigoli, D. R., Carvalho, L. R. Estabilidade de minerais em hortaliças submetidas a diferentes métodos de cozimento. *Nativa Sinop*, v. 3, n. 2009, p. 102–108, 2015
30. Damgaard, T., Lametsch, R., & Otte, J. (2015). Antioxidant capacity of hydrolyzed animal by-products and relation to amino acid composition and peptide size distribution. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6511–6519. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1745-z>

31. De Leo, F., Panarese, S., Gallerani, R., & Ceci, L. (2009). Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides: Production and Implementation of Functional Food. *Current Pharmaceutical Design*, 15(31), 3622–3643. <https://doi.org/10.2174/138161209789271834>
32. Delfino, R. de A., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2010). Interação de polifenóis e proteínas e o efeito na digestibilidade proteica de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* .) cultivar Pérola. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(2), 308–312.
33. Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J., & Berkel, W. J. H. Van. (2006). Sorghum grain as human food in Africa: relevance of content of starch and amylase activities. *Journal of Biotechnology*, 5, 384–395.
34. Dittmann, I., Amasheh, M., Krug, S. M., Markov, A. G., Fromm, M., & Amasheh, S. (2014). Laurate permeates the paracellular pathway for small molecules in the intestinal epithelial cell model HT-29/B6 via opening the tight junctions by reversible relocation of claudin-5. *Pharmaceutical Research*, 31(9), 2539–2548.
35. Dunn, K. L., Yang, L., Girard, A., Bean, S., & Awika, J. M. (2015). Interaction of sorghum tannins with wheat proteins and effect on in vitro starch and protein digestibility in a baked product matrix. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(4), 1234–1241.
36. Duodu, K. G., Nunes, A., Delgadillo, I., Parker, M. L., Mills, E. N. C., Belton, P. S., & Taylor, J. R. N. (2002). Effect of Grain Structure and Cooking on Sorghum and Maize in vitro Protein Digestibility. *Journal of Cereal Science*, 35(2), 161–174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jcrs.2001.0411>
37. Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility, 38, 117–131. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00016-X)
38. Dykes, L., Rooney, L. W., Waniska, R. D., & Rooney, W. L. (2005). Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6813–6818.
39. Erdmann, K., Cheung, B. W. Y., & Schröder, H. (2008). The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(10), 643–654. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.010>
40. Espinosa-Ramírez, J., & Serna-Saldívar, S. O. (2016). Functionality and

- characterization of kafirin-rich protein extracts from different whole and decorticated sorghum genotypes. *Journal of Cereal Science*, 70, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.023>
41. Ezeogu, L. I., Duodu, K. G., & Taylor, J. R. N. (2005). Effects of endosperm texture and cooking conditions on the in vitro starch digestibility of sorghum and maize flours. *Journal of Cereal Science*, 42(1), 33–44. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.02.002>
 42. Faulds, C. B., & Williamson, G. (1999). The role of hydroxycinnamates in the plant cell wall. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 393–395.
 43. Felix, K., Charles, M. M., Erick, C. K., & Francis, W. N. (2015). Nutritional suitability of bred sorghum (*Sorghum bicolor*) accessions from East Africa. *African Journal of Food Science*, 9(5), 326–333. <https://doi.org/10.5897/AJFS2015.1288>
 44. Fontanari, G. G., Batistuti, J. P., Cruz, R. J., Saldiva, P. H. N., & Arêas, J. A. G. (2012). Cholesterol-lowering effect of whole lupin (*Lupinus albus*) seed and its protein isolate. *Food Chemistry*, 132, 1521–1526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.145>
 45. Girard, A. L., & Awika, J. M. (2018). Sorghum polyphenols and other bioactive components as functional and health promoting food ingredients. *Journal of Cereal Science*, 84, 112–124. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.10.009>
 46. Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1), 2.1-2.13.
 47. Gleeson, J. P., Heade, J., Ryan, S. M., & Brayden, D. J. (2015). Stability, toxicity and intestinal permeation enhancement of two food-derived antihypertensive tripeptides, Ile-Pro-Pro and Leu-Lys-Pro. *Peptides*, 71, 1–7.
 48. Glew, R. H., Vanderjagt, D. J., Lockett, C., Grivetti, L. E., Smith, G. C., Pastuszyn, A., & Millson, M. (1997). Amino Acid, Fatty Acid, and Mineral Composition of 24 Indigenous Plants of Burkina Faso. *Journal of Food Composition and Analysis*, 217, 205–217.
 49. Gulati, P. (2018). Effect of processing on in-vitro protein digestibility and other nutritional aspects of nebraska crops. Thesis. University of Nebraska - Lincoln.
 50. Guo, H., Kouzuma, Y., & Yonekura, M. (2009). Structures and properties of

- antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*, 113(1), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.081>
51. Hamaker, B. R., & Bugusu, B. A. (2003). Overview: sorghum proteins and food quality. *Workshop on the Proteins of Sorghum and Millets: Enhancing Nutritional and Functional Properties for Africa*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
52. Heiniö, R. L., Noort, M. W. J., Katina, K., Alam, S. A., Sozer, N., de Kock, H. L., ... Poutanen, K. (2016). Sensory characteristics of wholegrain and bran-rich cereal foods - A review. *Trends in Food Science and Technology*, 47, 25–38. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.002>
53. IBGE. (2020). Indicadores IBGE - Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (Dezembro/2019). IBGE, 89. Retrieved from <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>
54. Jankowski, T., & Rha, C. K. (1986). Differential scanning calorimetry study of the wheat grain cooking process. *Starch-Stärke*, 38(2), 45–48.
55. Kamath, V., Niketh, S., Chandrashekar, A., & Rajini, P. S. (2007). Chymotryptic hydrolysates of α -kafirin, the storage protein of sorghum (*Sorghum bicolor*) exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activity. *Food Chemistry*, 100(1), 306–311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.004>
56. Khan, I., Yousif, A., Johnson, S. K., & Gamlath, S. (2013). Effect of sorghum flour addition on resistant starch content, phenolic profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta. *Food Research International*, 54(1), 578–586. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.059>
57. Krepsky, P. B., Isidório, R. G., de Souza Filho, J. D., Côrtes, S. F., & Braga, F. C. (2012). Chemical composition and vasodilatation induced by *Cuphea carthagenensis* preparations. *Phytomedicine*, 19(11), 953–957.
58. Labuschagne, M. T. (2018). A review of cereal grain proteomics and its potential for sorghum improvement. *Journal of Cereal Science*, 84, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.10.010>
59. Laemmli, U. K. Cleavage o Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, p. 680–685, 1970.
60. Lafarga, T., & Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-

- products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat Science*, 98(2), 227–239.
61. Lasztity, Radomir. *The chemistry of cereal proteins*. 2. ed. [S.I.]: CRC press, 1995.
62. Lemma, A., Legesse, B., & Ketema, M. (2020). Technical Efficiency of Smallholder Sorghum Producers in West Hararghe Zone, Oromia Region, Ethiopia, 6(1), 718–725.
63. Lerner, A., & Matthias, T. (2015). Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews*, 14(6), 479–489. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.01.009>
64. Luna-Vital, D. A., Mojica, L., de Mejía, E. G., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2015). Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. *Food Research International*, 76, 39–50.
65. Luo, X., Cui, J., Zhang, H., Duan, Y., Zhang, D., Cai, M., & Chen, G. (2018). Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops and Products*, 112(301), 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.019>
66. Marques, Marcelo Rodrigues. (2017) Peptídeos do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) e metabolismo do colesterol: interação micelar, permeação celular e expressão gênica. Universidade de São Paulo - Faculdade de Saúde Pública.
67. Marques, M. R., Fontanari, G. G., Pimenta, D. C., Soares-freitas, R. M., & Arêas, J. A. G. (2015). Proteolytic hydrolysis of cowpea proteins is able to release peptides with hypocholesterolemic activity. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.020>
68. Martino, H.S.D., Tomaz, P.A., Moraes, É. A., da Conceição, L.L., Oliveira, D.S., Queiroz, V.A.V., Rodrigues, J.A.S., Pirozi, M.R., Pinheiro-Sant'Ana, H.M., Ribeiro, S.M.R. (2012). Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption, 71(2), 337–344.
69. Megías, C., Pedroche, J., Yust, M. del M., Alaiz, M., Girón-calle, J., Millán, F., & Vioque, J. (2009). Sunflower Protein Hydrolysates Reduce Cholesterol Micellar

- Solubility. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 86–93.
<https://doi.org/10.1007/s11130-009-0108-1>
70. Merrill, A. L., & Watt, B. K. (1973). *Energy value of foods: basis and derivation*. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1973. *Agriculture Handbook*, 74.
71. Miyoshi, S., Ishikawa, H., Kaneko, T., Fukui, F., Tanaka, H., & Maruyama, S. (1991). Structures and Activity of Angiotensin-converting Enzyme Inhibitors in an α -Zein Hydrolysate. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(5), 1313–1318.
<https://doi.org/10.1080/00021369.1991.10870760>
72. Montoya, C. A., Leterme, P., Victoria, N. F., Toro, O., Souffrant, W. B., Beebe, S., & Lallès, J. P. (2008). Susceptibility of phaseolin to in vitro proteolysis is highly variable across common bean varieties (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 2183–2191.
<https://doi.org/10.1021/jf072576e>
73. Moraes, É. A., Marineli, R.S., Lenquiste, S. A, Queiroz, V.A.V, Camargo, R. L., Borck, P. C., Carneiro, E. M, Maróstica Júnior, M. R (2017). Whole sorghum flour improves glucose tolerance, insulin resistance and preserved pancreatic islets function in obesity diet-induced rats. *Journal of Functional Foods*, 45, 530–540.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.047>
74. Moraes, É. A., Marineli, R. da S., Lenquiste, S. A., Steel, C. J., de Menezes, C. B., Queiroz, V. A. V., & Júnior, M. R. M. (2015). Sorghum flour fractions: Correlations among polysaccharides, phenolic compounds, antioxidant activity and glycemic index. *Food Chemistry*, 180, 116–123.
75. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2014). *Princípios de Bioquímica de Lehninger* (6th ed.). Artmed Editora.
76. Odunmbaku, L. A., Sobowale, S. S., Adenekan, M. K., Oloyede, T., Adebisi, J. A., & Adebo, O. A. (2018). Influence of steeping duration, drying temperature, and duration on the chemical composition of sorghum starch. *Food Science and Nutrition*, 6(2), 348–355. <https://doi.org/10.1002/fsn3.562>
77. Ortiz Cruz, R. A., Cárdenas López, J. L., González Aguilar, G. A., Astiazarán García, H., Gorinstein, S., Canett Romero, R., & Robles Sánchez, M. (2015). Influence of Sorghum Kafirin on Serum Lipid Profile and Antioxidant Activity in Hyperlipidemic Rats (*In Vitro* and *in Vivo* Studies). *BioMed Research*

- International, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/164725>
78. Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3122–3128. <https://doi.org/10.1021/jf0116606>
79. Queiroz, V. A. V., Carneiro, H. L., Deliza, R., Rodrigues, J. A. S., Vasconcellos, J. H., Tardin, F. D., & Queiroz, L. R. (2012). Genótipos de sorgo para produção de barra de cereais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47(2), 287–293.
80. Queiroz, V. A. V., Moraes, É. A., Schaffert, R. E., Moreira, A. N. A. V., Ribeiro, S. M. R., & Martino, H. S. D. (2011). Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) *moench*], para alimentação humana. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 10(3), 180–195.
81. Queiroz, V. A. V., Vizzotto, M., Carvalho, C. W. P., & Martino, H. S. D. (2009). O Sorgo na Alimentação Humana. EMBRAPA.
82. Ragaei, S., El-Sayed, A.-A., & Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chemistry*, 98, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.039>
83. Salazar-lópez, N. J., González-aguilar, G., Rouzaud-sández, O., & Robles-sánchez, M. (2018). Technologies applied to sorghum (*Sorghum bicolor* L. *Moench*): changes in phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 38(3), 369–382.
84. Schägger, H., & Jagow, G. Von. (1987). Tricine-Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis for the Separation of Proteins in the Range from 1 to 100kDa.
85. Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
86. Schober, T. J., Bean, S. R., & Boyle, D. L. (2007). Gluten-free sorghum bread improved by sourdough fermentation: biochemical, rheological, and microstructural background. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(13), 5137–5146.
87. Shen, R.-L., Zhang, W.-L., Dong, J.-L., Ren, G.-X., & Chen, M. (2015). Sorghum

resistant starch reduces adiposity in high-fat diet-induced overweight and obese rats via mechanisms involving adipokines and intestinal flora. *Food and Agricultural Immunology*, 26(1), 120–130.

88. Shobana, S., Lakshmi Priya, N., & Ramya, M. (2017). Even minimal polishing of an Indian parboiled brown rice variety leads to increased glycemic responses, 26, 829–836. <https://doi.org/10.6133/apjcn.112016.08>
89. Shull, J. M., Watterson, J. J., & Kirleis, A. W. (1991). Proposed Nomenclature for the Alcohol-Soluble Proteins (Kafirins) of *Sorghum bicolor* (L. Moench) Based on Molecular Weight, Solubility, and Structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(1), 83–87. <https://doi.org/10.1021/jf00001a015>
90. SPILLER, Gene A. *CRC handbook of dietary fibre in human nutrition*. 3. ed. Los Altos: CRC Press, 1986.
91. Sun, J., He, H., & Bi, J. X. (2004). Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *ganoderma lucidum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6646–6652. <https://doi.org/10.1021/jf0495136>
92. Toader, M., Georgescu, E., Ionescu, A. M., & Năstase, P. I. (2018). The productivity elements, chemical composition and energetical value (caloric) of some maize hybrids in ialomita county conditions, 2–5. <https://doi.org/10.2478/alife-2018-0018>
93. Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2011). Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein Hydrolysates. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3148–3161. <https://doi.org/10.3390/ijms12053148>
94. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference Release. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/20067?fgcd=&manu=&format=&count=&max=25&offset=&sort=default&order=asc&qlookup=Sorghum+grain&ds=&qt=&qp=&qa=&qn=&q=&ing=>>. Acesso em: 5 ago. 2019
95. Velázquez, N., Sánchez, H., Osella, C., & Santiago, L. G. (2012). Using white sorghum flour for gluten-free breadmaking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(4), 491–497.
96. Waniska, R. D. (2000). Structure, Phenolic Compounds, and Antifungal Proteins of *Sorghum Caryopses*, (May), 18–19.

CAPÍTULO 2

POTENCIAL FUNCIONAL E PERFIL PROTEÔMICO DA FARINHA DE SORGO (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) APÓS APLICAÇÃO DE CALOR SECO

RESUMO

O sorgo é um cereal que compõe a base da alimentação humana em países da África e, em outros países, como o Brasil e Estados Unidos, sua produção e consumo têm aumentado expressivamente muito por conta de seus muitos compostos com potenciais bioativos. Neste contexto, diversos estudos têm avaliado sua utilização na indústria de alimentos como um ingrediente com propriedades funcionais. Assim, este trabalho avaliou a farinha de sorgo e seu perfil funcional após exposição ao calor seco por 25 minutos, a 105 °C, em 3 repetições, quanto à composição centesimal, perfil proteico, teor de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante. Os dados foram submetidos à ANOVA e aqueles que apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) foram comparados pelo teste Duncan na mesma probabilidade. A farinha de sorgo tratada se apresentou estável quanto ao perfil de compostos bioativos e as alterações na composição centesimal se deram pela desidratação, levando ao aumento percentual de carboidratos e VCT. O perfil eletroforético da farinha controle evidenciou maior abundância de proteínas na faixa de 23,2 kDa, que provavelmente referem-se às α -Kafirinas., por outro lado, a farinha submetida ao calor seco alterou o perfil proteico da farinha, produzindo peptídeos de 3,7 kDa em maior abundância. Desta forma, esse trabalho demonstra que a aplicação de calor seco na farinha, um processamento prático, acessível e de baixo custo, pode favorecer a disponibilidade de compostos capazes de promover benefícios à saúde do consumidor, no entanto, são necessários mais estudos para confirmar o potencial bioativo dos peptídeos obtidos.

Palavras-chaves: Sorgo, Farinha, Calor seco, Perfil proteico, Compostos bioativos.

ABSTRACT

Sorghum is a cereal that forms the basis of human nutrition in African countries and, in other countries, such as Brazil and the United States, its production and consumption have increased significantly due to its many compounds with bioactive potentials. In this context, several studies have evaluated its use in the food industry as an ingredient with functional properties. Thus, this work evaluated the sorghum flour and its functional profile after exposure to dry heat for 25 minutes, at 105 °C, in 3 repetitions, regarding the proximate composition, protein profile, content of total phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity. The data were submitted to ANOVA and those that showed a significant difference ($p \leq 0.05$) were compared using the Duncan test in the same probability. The treated sorghum flour was stable in terms of the profile of bioactive compounds and the changes in the proximate composition were due to dehydration, leading to a percentage increase in carbohydrates and VCT. The electrophoretic profile of the control flour showed a greater abundance of proteins in the range of 23.2 kDa, which probably refer to α -Kafirinas., On the other hand, the flour subjected to dry heat changed the protein profile of the flour, producing peptides of 3.7 kDa in greater abundance. Thus, this work demonstrates that the application of dry heat to flour, a practical, accessible and low-cost processing, can favor the availability of compounds capable of promoting benefits to the consumer's health, however, further studies are needed to confirm the bioactive potential of the obtained peptides.

Keywords: Sorghum, Flour, Dry heat, proteic profile, bioactive compounds.

1 INTRODUÇÃO

O sorgo é um cereal que compõe a base da alimentação humana em países da África e, em outros países, como o Brasil e Estados Unidos, sua produção e consumo têm aumentado por conta de seus muitos compostos com potenciais bioativos, tais como compostos fenólicos, e funcionais, como amido resistente (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015; ANUNCIÇÃO et al., 2017). Por isso, diversos estudos têm avaliado a utilização do sorgo na indústria de alimentos como um ingrediente com propriedades funcionais e isento de glúten, principalmente em produtos de panificação, cookies, barras de cereal, entre outros (VELÁZQUEZ et al., 2012; INFANTE et al., 2017; ANUNCIÇÃO et al., 2017).

Estudos também têm avaliado o perfil nutricional do sorgo sem tratamento térmico e com exposição ao calor seco e úmido, demonstrando que o primeiro é mais eficaz na preservação de compostos fenólicos, como antocianinas, e também na preservação da atividade antioxidante (CARDOSO et al., 2014; MARSTON; KHOURYIEH; ARAMOUNI, 2016). Além disso, o calor seco ainda reduz a atividade de água, o risco de degradação por contaminação microbiana ou reações bioquímicas, favorecendo o aumento do tempo de armazenamento (TOLEDO; SINGH; KONG, 2018).

Quanto à composição de macronutrientes, sabe-se que o genótipo do grão exerce grande influência no percentual de proteínas, carboidratos e lipídeos. Felix et al. (2015) apontam que o teor proteico pode variar de 3-18% do grão. A proteína mais predominante no sorgo é denominada kafirina, uma proteína de reserva, de característica hidrofóbica e com grande potencial bioativo (ORTÍZ CRUZ et al., 2015; ESPINOSA-RAMÍREZ; SERNA-SALDÍVAR, 2016).

A este respeito, estudos que avaliem o efeito do calor seco no perfil proteico da farinha de sorgo, promovendo hidrólise, ainda são escassos, porém, de grande interesse, visto que a hidrólise enzimática da kafirina apresentou efeitos benéficos na inibição da enzima conversora de angiotensina (KAMATH et al., 2007).

A utilização de farinha como ingrediente em diversos produtos ocorre em maior frequência que o grão. Ainda, a farinha submetida ao calor seco pode

agregar mais vantagens, pois ao passar pelo processamento térmico, a farinha perde um pouco da sua umidade, oferecendo benefícios, como o aumento de vida de prateleira, menor contaminação e proliferação de microrganismos e facilidade no transporte, por ser mais leve (TOLEDO; SINGH; KONG, 2018).

Dessa forma, diante dos benefícios elencados sobre o consumo do sorgo e a praticidade de uso associada à farinha, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do calor seco nas características nutricionais, perfil proteico, antioxidante e de compostos bioativos da farinha de sorgo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A farinha de sorgo foi gentilmente doada pela Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, Minas Gerais. A farinha utilizada foi obtida a partir da moagem dos grãos do genótipo BRS 310, de pericarpo vermelho, sem taninos. Após recebida, a farinha foi submetida ao tratamento térmico com calor seco, em forno combinado, à 121 °C por 25 min (CARDOSO et al., 2014). Em seguida, armazenadas em sacos plásticos, prensadas na embaladora a vácuo Orved Brock-VM12 e acondicionadas em refrigerador a 10 °C. Os experimentos foram realizados nos Laboratórios do Complexo Biopráticas – Campus Boa Vista, Vila Velha – ES.

2.2 Métodos

2.2.1 Delineamento experimental e processamento dos grãos de sorgo.

O experimento foi organizado seguindo um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) para avaliar a influência do calor seco na farinha de sorgo. A farinha controle, apenas moída, não foi submetida ao tratamento térmico. O processamento foi realizado em 3 repetições, totalizando 6 unidades experimentais. Apenas em relação ao perfil proteico foi utilizado um DIC em esquema fatorial, considerando as variáveis independentes Sorgo e Massa Molecular, e a interação Sorgo*Massa Molecular.

2.2.2 Determinação da composição centesimal

A determinação do teor de umidade foi realizada pelo método de secagem em estufa a 105 °C até a obtenção de peso constante; cinzas por incineração em mufla a 550 °C; o teor proteico pelo método de Kjeldahl, utilizando o fator 5,75, referente aos cereais para converter nitrogênio em proteína; lipídeos totais pelo método de Goldfish; e o teor de carboidratos por diferença (AOAC, 1990, 2002).

Calorias (kcal.100 g⁻¹) foram determinadas aplicando os valores de conversão de At water que considera: 4 kcal para cada grama de proteínas ou de carboidratos, e 9 kcal para cada grama de lipídeos (MERRILL; WATT, 1973).

2.2.3 Determinação do perfil proteico e de peptídeos

O perfil proteico foi determinado por eletroforese em gel de tricina-SDS, seguindo o método descrito por Schägger e Jagow (1987). O gel de separação foi preparado em uma concentração de 16,4% de acrilamida/bis-acrilamida e o gel de concentração de 3,9%. Estes foram montados no Mini Protean Tetra System (Biorad). As amostras foram acrescidas de tampão de amostra (0,125 M de Tris, 2,5% de SDS, 0,25% de azul de bromofenol; 5% de β- mercaptoetanol e 15% de sacarose), aquecidas por 5 min a 100 °C e depois centrifugadas a 16.000 x g por 2 min, a temperatura ambiente. Em seguida, 20 µl de cada amostra foram aplicados ao gel de concentração. A eletroforese foi realizada a uma voltagem constante de 24 V por um período de aproximadamente de 16 horas, utilizando na corrida o tampão catodo (Tricina 0,1M; Tris-HCl 0,1M pH 8,31; SDS 0,1%) e tampão anodo (Tris-HCl 0,2M pH 8,9; SDS 0,2%). Para estimar a massa molecular foi usado o marcador de baixa massa molecular de 26.600; 17.000; 14.200; 6.500; 3.496 e 1.060 Da (M3546 – Ultra Low Range Molecular Weight Marker, Sigma).

Após a finalização da corrida, o gel foi cuidadosamente retirado das placas de vidro e colocado em uma solução corante (0,025% de *Comassie Blue G*, 10% de ácido acético em água destilada) em agitação constante por aproximadamente 1 h. Depois de corado, o gel foi transferido para uma solução descorante (10% de ácido acético em água destilada). O mesmo foi mantido nesta última solução até a visualização das bandas proteicas e em seguida foi

armazenado em água destilada. As imagens dos géis foram digitalizadas em um fotodocumentador LAS 500 (GE Healthcare). A densidade relativa das bandas foi determinada pelo sistema de documentação de imagem Gel Doc™ EZ, utilizando o software Image Lab v. 5.2.1 (Bio-Rad, EUA).

2.2.4 Preparo do Extrato para Compostos Fenólicos, Antocianinas e Atividade Antioxidante

Um grama da amostra foi pesado e alocado em tubo plástico com proteção para luz. Dez mililitros de metanol NEON® 60% foi adicionado e o tubo agitando manualmente até completa solubilização. A mistura foi levada ao banho de ultrassom Elmasonic-P por 25 minutos, a 40 °C, 37 khz e 50% de amplitude, conforme Altemimi et al., (2016). Depois disso, o tubo foi centrifugado (3500 rpm por 10 min) e o sobrenadante filtrado. Esse sobrenadante foi, completado com água deionizada até alcançar o volume até 15 ml (KREPSKY et al., 2012). Todos os procedimentos foram realizados no escuro e os extratos acondicionados sob refrigeração, ao abrigo da luz, até realização das análises.

2.2.5 Determinação de compostos fenólicos

A determinação de compostos fenólicos foi realizada de acordo com Luo et al. (2018). Foram pipetados 20 µl de cada extrato em microplaca e 80 µl de Folin Ciocalteu 10% (Sigma®). Após 4 minutos, adicionou-se 100 µl de Carbonato de Sódio 7,5% (Sigma®). Após 2 horas, a absorbância foi lida a 765 nm em espectrofotômetro SpectraMax ® 190. A análise do branco foi realizada com água deionizada no lugar do extrato.

Uma curva analítica de ácido gálico Dinâmica Ltda ®, nas concentrações de 10 a 100% foi elaborada, gerando a equação de regressão ($y = 0,221x + 0,0406$; $R^2=0,9937$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra.

2.2.6 Determinação do teor de antocianinas

A concentração de antocianinas totais foi realizada por diferença de pH conforme (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). Uma alíquota de 100 µl de cada extrato foi colocada em tubo falcon e homogeneizada com 2,9 ml de solução de cloreto

de potássio $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ em $\text{pH}=1$. A absorvância foi medida em espectrofotômetro UV/VIS KASUAKI® nos comprimentos de onda de 300 e 700 nm. A leitura a 700 nm foi realizada para descontar a turbidez da amostra. As antocianinas totais foram determinadas no tampão cloreto de potássio $\text{pH}=1$, de acordo com Awika, Rooney e Waniska (2004). Os resultados foram expressos em mg.g^{-1} de amostra, utilizando a fórmula:

$$\text{Pigmento antocianina monomérico (mg.g}^{-1}\text{)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Em que: A= absorvância da amostra; MW é o peso molecular = 449,2; DF = fator de diluição; ϵ = absortividade = 26900.

2.2.7 Determinação da atividade antioxidante

A análise da atividade antioxidante foi realizada utilizando os radicais ABTS, DPPH e FRAP.

- ABTS: trinta microlitros de cada extrato foram pipetados em uma microplaca e adicionados de 270 μl do radical ABTS. Após 6 minutos, a absorvância foi lida a 734 nm em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (Awika, Rooney, Wu, Prior, & Cisneros-Zevallos, 2003). Uma curva analítica de ácido gálico foi preparada a partir das concentrações de 0,00002 a 0,00250 μg , gerando a equação de regressão ($y = -364,62x + 0,7521$; $R^2 = 0,9854$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra. Os resultados também foram expressos por meio da atividade de eliminação do radical (I), utilizando a equação: $I (\%) = [(\text{Abs branco} - \text{Abs amostra}) \times 100] / \text{Abs Branco}$ (AWIKA et al., 2003; SCHERER; GODOY, 2009).

- DPPH: vinte microlitros de cada extrato e 280 μl do radical DPPH foram pipetados em microplaca. A leitura foi realizada a 517 nm após 60 minutos de incubação, ao abrigo da luz em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON® (LUO et al., 2018). Foi elaborada uma curva analítica de ácido gálico, nas concentrações de 0,00002 a 0,00250 μg , por meio da equação de regressão ($y = -348,34x + 0,7911$; $R^2 = 0,9811$) para expressar os resultados em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra. Os resultados também foram expressos por meio da atividade de eliminação do radical (I), por meio da equação: $I (\%) = [(\text{Abs}$

branco – Abs amostra) x 100]/ Abs Branco (SCHERER; GODOY, 2009).

- FRAP: trinta microlitros de cada extrato foram pipetados em microplaca e adicionados de 270 µl de solução FRAP. A leitura foi realizada a 595 nm após 10 minutos de incubação, ao abrigo da luz, em espectrofotômetro SpectraMax® 190. A análise do branco foi realizada com metanol concentrado NEON®. O resultado foi expresso por meio da atividade de eliminação do radical (I), calculado pela equação: $I (\%) = [(Abs\ branco - Abs\ amostra) \times 100] / Abs\ Branco$ (BENZIE; STRAIN, 1996; SCHERER; GODOY, 2009).

2.2.8 Análise Estatística

A comparação da farinha controle com a farinha tratada termicamente foi realizada pelo teste T ao nível de 5% de probabilidade. Em relação à interação “Sorgo*Massa Molecular”, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e àqueles que apresentaram diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade foram comparados pelo teste Duncan na mesma probabilidade.

Os resultados foram analisados por meio do programa estatístico *Statistical Analysis System* (SAS University Studio Online, Cary, North Carolina), versão online.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição Centesimal

Os resultados obtidos para composição centesimal e valor calórico total da farinha de sorgo são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Média e desvio padrão da composição centesimal e valor calórico total da farinha de sorgo.

Farinha	Umi (%)	Cinzas (%)	Lip (%)	PTN (%)	CHO (%)	VCT (%kcal)
FC	11,66 ± 0,17*	1,34 ± 0,04	3,12 ± 0,35	10,81 ± 0,15	73,07 ± 0,13	363,57 ± 2,33
FCS	6,97 ± 1,17	1,34 ± 0,15	2,99 ± 0,49	10,45 ± 1,17	78,23 ± 1,94*	381,73 ± 6,51*

FC: farinha controle – sem tratamento térmico; FCS: farinha submetida a calor seco.

* Diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, na mesma coluna.

Os valores de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e carboidratos se assemelham aos resultados encontrados por Martino et al., (2012) que avaliou a composição de diversos genótipos de sorgo. Vale ressaltar que, o presente estudo não se propôs a determinar o conteúdo de fibras das farinhas, por isso, entende-se que o percentual de carboidratos aqui apresentado é referente à soma dos valores de fibras totais e carboidratos totais do estudo em referência. Ressalta-se ainda que a diferença observada entre os VCTs corresponde à não determinação de fibras.

Devido a desidratação promovida pelo tratamento térmico, houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) no teor de umidade das farinhas. Tal redução de umidade na farinha tratada termicamente também promoveu o aumento percentual de carboidratos ($p \leq 0,05$) e, conseqüentemente, aumento do VCT ($p \leq 0,05$), que está intimamente relacionado ao conteúdo de carboidratos, isso porque correspondem ao principal macronutriente do sorgo, presente principalmente na forma de amido, que corresponde ao polissacarídeo de reserva (QUEIROZ et al., 2015).

O sorgo é fonte de minerais como ferro, zinco, magnésio e fósforo (MARTINO et al., 2012), é rico em lipídeos de cadeia poli e monoinsaturada, com grande potencial na regulação do perfil lipídico sanguíneo (STEFOSKA-NEEDHAM et al., 2015). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no percentual de lipídeos e cinzas nas farinhas, indicando que o calor seco não reduz oferta de minerais nem compromete o perfil lipídico da farinha.

No que diz respeito ao teor proteico, também não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre FC e FCS. Vale ressaltar que o perfil de aminoácidos de sorgo é limitante em aminoácidos essenciais (lisina, isoleucina, cisteína, metionina, valina e treonina) e, por isso, ressaltar-se a importância de uma dieta balanceada e completa, a fim de garantir a ingestão de todos os aminoácidos essenciais (MORAES et al., 2012).

Um ponto importante a se observar neste caso é a digestibilidade. A digestibilidade das proteínas de sorgo, principalmente após o cozimento, é menor que os cereais, como trigo e milho, pela formação de pontes dissulfeto (DUODU et al., 2003; MOKRANE et al., 2010; MORAES; QUEIROZ; et al., 2012; AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2014). Contudo, de acordo com Moraes et

al. (2012), o tratamento térmico pode favorecer o aumento da digestibilidade do sorgo sem tanino, o que favorece a aquisição e consumo do produto, beneficiando em todos os sentidos, tanto socialmente, quanto comercialmente.

3.2 Perfil proteico e de peptídeos

A eletroforese desnaturante em gel de poliacrilamida é uma técnica que separa as proteínas desnaturadas de acordo com sua massa molecular (DAMERVAL et al., 1986; GÖRG; WEISS; DUNN, 2004; OLIVEIRA; COORSSEN; MARTINS-DE-SOUZA, 2014). A partir desta técnica foi avaliado o perfil proteico de ambas as farinhas de sorgo a respeito da massa molecular (MM) e suas abundâncias relativas (%). Tais resultados são apresentados na Figura 1.

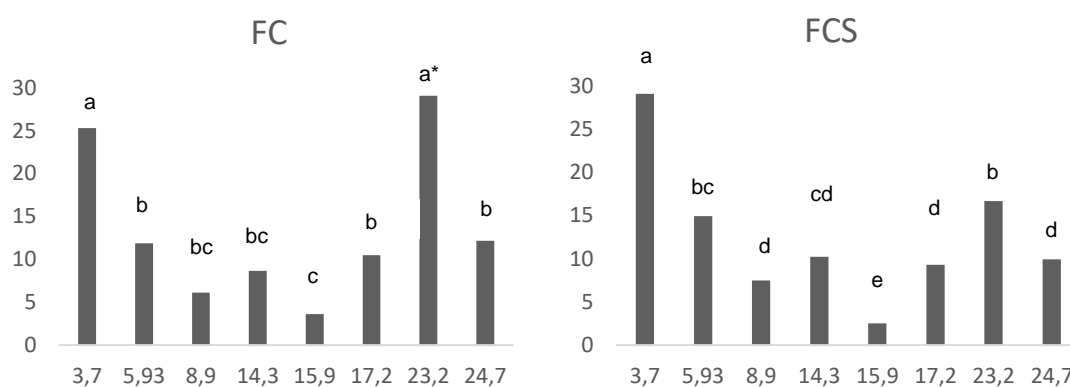


Figura 1. Abundância relativa (%) das massas moleculares (kDa) de proteínas na farinha de sorgo controle (FC) e submetida ao calor seco (FCS).

Letras diferentes apresentam diferença significativa entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

* Presença de diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste T, na comparação da mesma Massa Molecular, para as diferentes farinhas.

Na farinha controle (FC), as proteínas de maior abundância relativa estavam na faixa dos 3,7 e 23,2 kDa, se diferenciando significativamente das demais ($p \leq 0,05$). Na farinha submetida ao calor seco (FCS), a proteína de maior abundância relativa correspondeu apenas à faixa de 3,7 kDa, se diferenciando significativamente das demais ($p \leq 0,05$).

O resultado desta análise indica que houve hidrólise proteica importante a partir da submissão ao calor seco, de forma que houve uma mudança brusca

no perfil proteico, especialmente da proteína de 23,2 kDa que reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) sua abundância em quase 43%.

As principais proteínas do sorgo são as kafirinas, que correspondem de 70 a 80% das proteínas do endosperma. Elas são classificadas de acordo com suas MM em α -Kafirinas (23 a 27 kDa), que correspondem a 80% do total de kafirinas dos grãos de sorgo; β -kafirinas (16, 18 e 20 kDa), aproximadamente 5% e γ -kafirina (28 kDa), cerca de 15% do endosperma (HAMAKER; BUGUSU, 2003; BELTON et al., 2006; ESPINOSA-RAMÍREZ; SERNA-SALDÍVAR, 2016).

A hidrólise das proteínas gera cadeias menores de aminoácidos que, dependendo do tamanho, podem ser considerados peptídeos. A literatura ainda não tem um consenso sobre a massa molecular de peptídeos. As duas colocações mais aceitas são descritas por Nelson e Cox (2014) que afirmam que peptídeos têm MM abaixo de 10 kDa, enquanto proteínas possuem MM mais elevadas. Outra descrição foi dada por Sun, He e Bi (2004) que afirmam que peptídeos são aqueles que possuem MM de até 6 kDa.

Sendo assim, somando a abundância relativa das MM que correspondem às kafirinas, tem-se 55,4% na FC e 38,4% na FCS, reforçando a hidrólise proteica quando submetida à 100 °C por 25 min. Isso se explica pois o tratamento térmico promove desnaturação parcial e exposição de resíduos hidrofóbicos de proteínas com estrutura globular, favorecendo a hidrólise proteica (MONTROYA et al., 2008; LUNA-VITAL et al., 2015).

Por outro lado, a maior abundância das MM de 3,7 e 5,9 kDa na FCS indica a formação destes peptídeos, um evento importante pois, além das características funcionais naturais do sorgo, tais peptídeos podem apresentar potencial bioativo. Isso porque dentre tantas características, as kafirinas são ricas em aminoácidos hidrofóbicos (HAMAKER; BUGUSU, 2003) um fator importante pois promove o relaxamento das “tight junctions” (DITTMANN et al., 2014; LERNER; MATTHIAS, 2015), possibilitando a passagem de moléculas de peptídeos pelo mecanismo paracelular, entre as barreiras celulares, que é um dos mecanismos de absorção de peptídeos bioativos pela barreira intestinal (GLEESON et al., 2015).

Neste contexto, a hidrólise enzimática das kafirinas já foi avaliada tendo sido observado que os peptídeos produzidos apresentaram potencial anti-

hipertensivo por meio da inibição da enzima de conversão da angiotensina I – ECA (KAMATH et al., 2007). Levando em consideração que grande parte dos produtos produzidos a base de sorgo são produtos de panificação, que utilizam sua farinha como principal ingrediente e o calor seco nesta produção, a possibilidade de tais peptídeos apresentarem potencial bioativo é de extrema relevância. Por isso, dá-se a importância de avaliar tal potencial como um aliado à manutenção da saúde.

3.3 Compostos Fenólicos, Antocianinas e Perfil Antioxidante

Os compostos fenólicos são neutralizadores de radicais livres e, por isso, apresentam atividade antioxidante. No sorgo, estão localizados nos tecidos do pericarpo, testa e na camada de aleurona do grão e são divididos em duas categorias: ácidos fenólicos e flavonoides (GIRARD; AWIKA, 2018).

Os ácidos fenólicos são divididos em ácido hidroxibenzoico e ácido hidroxicinâmico. O primeiro é derivado diretamente do ácido benzoico e compreende os ácidos gálico, vanílico, serílico, entre outros. Já os ácidos hidroxicinâmicos incluem os ácidos cumárico, cafeico, ferúlico, entre outros (DYKES; ROONEY, 2006). No sorgo, encontram-se majoritariamente ácidos fenólicos ligados à parede celular e ácidos fenólicos livres, que se localizam nas camadas externas do núcleo. O ácido ferúlico encontra-se em maior quantidade nos grãos de sorgo (GIRARD; AWIKA, 2018).

Embora nos cereais, geralmente consumidos, os flavonoides constituam a maior parte dos compostos fenólicos, estes compostos estão em proporções reduzidas. O sorgo, no entanto, foge à esta regra, pois é rico em flavonoides poliméricos (taninos) e monoméricos, como as antocianinas (GIRARD; AWIKA, 2018). No sorgo, as principais antocianinas são as luteolinidinas e apigenininas, também denominadas de 3-deoxiantocianidinas. Estas antocianinas se diferem das demais pois não possuem um grupo hidroxila ligado à posição C-3, o que confere maior estabilidade (AWIKA, ROONEY, WANISKA, 2004b).

Os resultados obtidos para o teor de compostos fenólicos, antocianinas e perfil antioxidante são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Média e desvio padrão de compostos fenólicos totais (mEq de ácido gálico/g de amostra), antocianinas (mg/g), perfil antioxidante (mEq de ácido gálico/g de amostra) e atividade de eliminação de radical (I%) da farinha de sorgo.

Produto	CFT	ANT	ABTS		DPPH		FRAP
			mEq	I%	mEq	I%	I%
FC	39,43±0,68	22,82±0,37	66,34±0,64	95,12±0,26	63,29±0,52	79,40±0,38	46,57±2,40
FCS	37,20±2,69	18,16±0,3	66,67±1,02	95,32±0,16	64,47±1,20	81,84±0,61	46,22±1,54

CFT: Compostos fenólicos totais; ANT: Antocianinas; FC: farinha controle; FCS: farinha submetida a calor seco.

* Diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, na mesma coluna.

Os resultados do presente estudo indicam que o calor seco não alterou significativamente ($p>0,05$) o teor de compostos fenólicos, antocianinas e a atividade antioxidante ou capacidade de eliminação de radicais da farinha de sorgo. Este mesmo resultado foi observado por Cardoso et al., (2014) e Salazar-lópez et al. (2018), que constataram que o calor a seco não afeta o conteúdo destes compostos.

A composição do grão depende de seu genótipo. Os teores de compostos fenólicos e antocianinas encontrados neste estudo são superiores aos observados por Oliveira et al. (2017) em dois genótipos distintos (SC 319, com taninos, e TX430, sem taninos) e são inferiores aos resultados observados no Capítulo 1 desta dissertação, devido à ausência de taninos neste genótipo. Os resultados obtidos na atividade antioxidante por ABTS se aproximam dos resultados observados por Dlamini, Taylor e Rooney (2007) no genótipo NK 283. Awika et al. (2003) avaliaram diferentes métodos na avaliação da capacidade antioxidante em diferentes genótipos de sorgo e foram observados valores bastante discrepantes entre os genótipos, porém similares entre os métodos DPPH e ABTS, contudo, os autores afirmam que a utilização do método ABTS é mais indicada.

Neste estudo, a avaliação da atividade antioxidante pelo método FRAP apresentou os resultados mais baixos e isto deve estar relacionado a diversas limitações do método, tais como: como o baixo pH (3,6) que pode impedir a transferência do elétron do antioxidante para o composto; a interferência de cores nos extratos vegetais; e ainda, a reação muito lenta dos compostos

fenólicos no ensaio FRAP (OU et al., 2002).

De forma geral, os resultados ao tratamento térmico foram favoráveis, uma vez que os compostos bioativos se mantiveram estáveis. Tais compostos estão relacionados à proteção contra doenças crônicas ligadas ao estresse oxidativo e à inflamação (AWIKA, 2017).

4. CONCLUSÃO

As alterações na composição centesimal se deram pela desidratação da farinha, levando ao aumento percentual de carboidratos e VCT. No que diz respeito ao perfil proteico foi observado que em FC a maior abundância de proteínas se referem, possivelmente, às α -Kafirinas e que o tratamento térmico produziu peptídeos na faixa de 3,7 kDa, que podem apresentar potencial bioativo. Além disso, a farinha de sorgo submetida ao calor seco se apresentou estável quanto ao perfil de compostos bioativos.

Sendo assim, o consumo da farinha de sorgo submetida ao calor seco é vantajoso tanto para a população, quanto para a economia, em virtude de, não necessitar de um alto investimento de produção, o que favorece o preço final do produto, tornando-o mais acessível ao público de menor poder aquisitivo e conseqüentemente aumentando a sua procura, portanto, seu cultivo e utilização deve ser incentivado. Ainda, sugere-se a avaliação *in vivo* do potencial bioativo destes peptídeos, a fim de elucidar mecanismos e potenciais de tratamento e manutenção da saúde humana.

5. REFERÊNCIAS

1. Afify, A. E. M. M. R., El-Beltagi, H. S., Abd El-Salam, S. M., & Omran, A. A. (2012). Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β - carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60042-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60042-2)
2. Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., & Dasari, M. R. (2016). Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Peaches and Pumpkins, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148758>

3. Infante, R. A., Natal, D. I. G., Moreira, M. E. C., Bastiani, M. I. D., Chagas, C.G.O., Nutti, M. R., Queiroz, V.A.V., Martino, H.S.D. (2017). Enriched sorghum cookies with biofortified sweet potato carotenoids have good acceptance and high iron bioavailability. *Journal of functional foods*, v. 38, p. 89–99, 2017.
4. Anunciação, P. C., Cardoso, L. D. M., Gomes, J. V. P., Lucia, C. M. Della, Carvalho, C. W. P., Galdeano, M. C., ... Pinheiro-Sant'Ana, H. M. P. (2017). Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content, 221, 984–989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.065>
5. Anunciação, P. C., Cardoso, L. de M., Gomes, J. V. P., Della Lucia, C. M., Carvalho, C. W. P., Galdeano, M. C., ... Pinheiro-Sant'Ana, H. M. (2017). Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. *Food Chemistry*, 221, 984–989. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.065>
6. AOAC. (1990). *Official methods of analysis*. Assoc Anal Chem.
7. AOAC. (2002). *Official Methods of Analysis*.
8. Ardejani, M. S., & Orner, B. P. (2013). Obey the peptide assembly rules. *Science*, 340(6132), 561–562.
9. Awika, J. M. (2017). Sorghum: Its unique nutritional and health-promoting attributes. In *Gluten-free ancient grains* (pp. 21–54). Elsevier.
10. Awika, J. M., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. (2004). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90, 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.058>
11. Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zevallos, L. (2003). Screening Methods to Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657–6662. <https://doi.org/10.1021/jf034790i>
12. Belton, P. S., Delgadillo, I., Halford, N. G., & Shewry, P. R. (2006, November 1). Kafirin structure and functionality. *Journal of Cereal Science*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.05.004>
13. Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1039/c6ay01739h>

14. Cardoso, L. D. M., Montini, T. A., Pinheiro, S. S., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Martino, H. S. D., & Moreira, A. V. B. (2014). Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. *Food Chemistry*, 152, 210–217.
15. Damerval, C., De Vienne, D., Zivy, M., & Thiellement, H. (1986). Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins. *Electrophoresis*, 7(1), 52–54.
16. de Oliveira, K. G., Queiroz, V. A. V., Carlos, L. de A., Cardoso, L. de M., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., Anunciação, P. C., ... Barros, F. (2017). Effect of the storage time and temperature on phenolic compounds of sorghum grain and flour. *Food Chemistry*, 216, 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.047>
17. Dittmann, I., Amasheh, M., Krug, S. M., Markov, A. G., Fromm, M., & Amasheh, S. (2014). Laurate permeates the paracellular pathway for small molecules in the intestinal epithelial cell model HT-29/B6 via opening the tight junctions by reversible relocation of claudin-5. *Pharmaceutical Research*, 31(9), 2539–2548.
18. Dlamini, N. R., Taylor, J. R. N., & Rooney, L. W. (2007). Food Chemistry The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods, 105, 1412–1419. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.017>
19. Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility, 38, 117–131. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00016-X)
20. Espinosa-Ramírez, J., & Serna-Saldívar, S. O. (2016). Functionality and characterization of kafirin-rich protein extracts from different whole and decorticated sorghum genotypes. *Journal of Cereal Science*, 70, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.023>
21. Felix, K., Charles, M. M., Erick, C. K., & Francis, W. N. (2015). Nutritional suitability of bred sorghum (*Sorghum bicolor*) accessions from East Africa. *African Journal of Food Science*, 9(5), 326–333. <https://doi.org/10.5897/AJFS2015.1288>
22. Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, (1), 2.1-2.13.

23. Gleeson, J. P., Heade, J., Ryan, S. M., & Brayden, D. J. (2015). Stability, toxicity and intestinal permeation enhancement of two food-derived antihypertensive tripeptides, Ile-Pro-Pro and Leu-Lys-Pro. *Peptides*, 71, 1–7.
24. Görg, A., Weiss, W., & Dunn, M. J. (2004). Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics*, 4(12), 3665–3685. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401031>
25. Hamaker, B. R., & Bugusu, B. A. (2003). Overview: sorghum proteins and food quality. *Workshop on the Proteins of Sorghum and Millets: Enhancing Nutritional and Functional Properties for Africa*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
26. Kamath, V., Niketh, S., Chandrashekar, A., & Rajini, P. S. (2007). Chymotryptic hydrolysates of α -kafirin, the storage protein of sorghum (*Sorghum bicolor*) exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activity. *Food Chemistry*, 100(1), 306–311. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.004>
27. Krepsky, P. B., Isidório, R. G., de Souza Filho, J. D., Côrtes, S. F., & Braga, F. C. (2012). Chemical composition and vasodilatation induced by *Cuphea carthagenensis* preparations. *Phytomedicine*, 19(11), 953–957.
28. Lerner, A., & Matthias, T. (2015). Changes in intestinal tight junction permeability associated with industrial food additives explain the rising incidence of autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews*, 14(6), 479–489. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.01.009>
29. Luna-Vital, D. A., Mojica, L., de Mejía, E. G., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2015). Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. *Food Research International*, 76, 39–50.
30. Luo, X., Cui, J., Zhang, H., Duan, Y., Zhang, D., Cai, M., & Chen, G. (2018). Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops and Products*, 112(301), 296–304. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.019>
31. Marston, K., Khouryieh, H., & Aramouni, F. (2016). Effect of heat treatment of sorghum flour on the functional properties of gluten-free bread and cake. *LWT - Food Science and Technology*, 65(2016), 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.063>

32. Martino, H. S. D., Tomaz, P. A., Moraes, É. A., da Conceição, L. L., Oliveira, D. da S., Queiroz, V. A. V., ... Ribeiro, S. M. R. (2012). Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption, *71*(2), 337–344.
33. Merrill, A. L., & Watt, B. K. (1973). *Energy value of foods: basis and derivation*. Washington, DC: United States Department of Agriculture, 1973. *Agriculture Handbook*, 74.
34. Mokrane, H., Amoura, H., Belhaneche-bensemra, N., Courtin, C. M., Delcour, J. A., & Nadjemi, B. (2010). Assessment of Algerian sorghum protein quality [*Sorghum bicolor* (L .) Moench] using amino acid analysis and in vitro pepsin digestibility, *121*, 719–723. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.020>
35. Montoya, C. A., Leterme, P., Victoria, N. F., Toro, O., Souffrant, W. B., Beebe, S., & Lallès, J. P. (2008). Susceptibility of phaseolin to in vitro proteolysis is highly variable across common bean varieties (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(6), 2183–2191. <https://doi.org/10.1021/jf072576e>
36. Moraes, É. A., Queiroz, V. A. V., Shaffert, R. E., Costa, N. M. B., Nelson, J. D., Ribeiro, S. M. R., & Martino, H. S. D. (2012). In vivo protein quality of new sorghum genotypes for human consumption. *Food Chemistry*, *134*, 1549–1555. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.079>
37. Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2014). *Princípios de Bioquímica de Lehninger* (6th ed.). Artmed Editora.
38. Oliveira, B. M., Coorsen, J. R., & Martins-de-Souza, D. (2014). 2DE: the phoenix of proteomics. *Journal of Proteomics*, *104*, 140–150.
39. Ortiz Cruz, R. A., Cárdenas López, J. L., González Aguilar, G. A., Astiazarán García, H., Gorinstein, S., Canett Romero, R., & Robles Sánchez, M. (2015). Influence of Sorghum Kafirin on Serum Lipid Profile and Antioxidant Activity in Hyperlipidemic Rats (In Vitro and in Vivo Studies). *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/164725>
40. Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry, 50(11), 3122–3128. <https://doi.org/10.1021/jf0116606>
41. Queiroz, V. A. V., da Silva, C. S., de Menezes, C. B., Schaffert, R. E., Guimarães, F. F. M., Guimarães, L. J. M., ... Tardin, F. D. (2015). Nutritional composition of sorghum [*sorghum bicolor* (L.) Moench] genotypes cultivated without and with water stress. *Journal of Cereal Science*, 65, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.06.018>
 42. Salazar-lópez, N. J., González-aguilar, G., Rouzaud-sández, O., & Robles-sánchez, M. (2018). Technologies applied to sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench): changes in phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Science and Technology*, 38(3), 369–382.
 43. Schägger, H., & Jagow, G. Von. (1987). Tricine-Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis for the Separation of Proteins in the Range from 1 to 100kDa.
 44. Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654–658. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.026>
 45. Stefoska-Needham, A., Beck, E. J., Johnson, S. K., & Tapsell, L. C. (2015). Sorghum: An Underutilized Cereal Whole Grain with the Potential to Assist in the Prevention of Chronic Disease. *Food Reviews International*, 31(4), 401–437. <https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1022832>
 46. Sun, J., He, H., & Bi, J. X. (2004). Novel antioxidant peptides from fermented mushroom *ganoderma lucidum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6646–6652. <https://doi.org/10.1021/jf0495136>
 47. Toledo, R. T., Singh, R. K., & Kong, F. (2018). Dehydration. In *Fundamentals of food process engineering* (pp. 321–354). Springer.
 48. Velázquez, N., Sánchez, H., Osella, C., & Santiago, L. G. (2012). Using white sorghum flour for gluten-free breadmaking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(4), 491–497.