



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa de Posgrado Integral de Biotecnología
Doctorado en Ciencias en Biotecnología

“Desarrollo de alimentos funcionales de maíz y garbanzo germinado con selenio y su validación en modelos *in vitro* e *in vivo* de sus propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antiinflamatorias”

T E S I S

que presenta

MC Ana Carolina Gastelum Hernández

**Como requisito para
obtener el grado de**

**Doctorado en Ciencias en
Biotecnología Agroalimentaria**

Directores de Tesis

Dra. Daniela Guardado Félix

Dr. Jorge Milán Carrillo

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México

Enero de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



El presente trabajo de investigación titulado “Desarrollo de alimentos funcionales de maíz y garbanzo germinado con selenio y su validación en modelos *in vitro* e *in vivo* de sus propiedades anticancerígenas, antioxidantes y antiinflamatorias”, se desarrolló en el Laboratorio de Nutraceuticos, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa y en el Centro de Biotecnología FEMSA del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, campus Monterrey. El Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) apoyó a la MC Ana Carolina Gastelum Hernández, a través de la beca de tesis para estudios de Doctorado 2019-2023 (CVU-703109). Como asesores académicos participaron: Dra. Janet A. Gutierréz Uribe, Dr. Sergio O. Serna Saldivar, Dra. Daniela Guardado Félix (Directora de tesis), Dr. Jorge Milán Norris (Director de tesis).

AGRADECIMIENTOS

Al Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Doctorado en Ciencias en Biotecnología de Alimentos, de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la UAS, por permitirme llevar a cabo mis estudios de posgrado y contribuir en mi formación profesional. Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por el apoyo económico otorgado.

Al Dr. Jorge Milán Carrillo por permitirme ser parte de su equipo de trabajo. A la Dra. Daniela Guardado Félix por todo el apoyo brindado, por todos los consejos, porque siempre estuvo en la mejor disposición de ayudarme, gracias por la paciencia y por todos los aprendizajes tantos profesionales como personales que me deja.

Gracias al Dr. Sergio O. Serna Saldívar y a la Dra. Janet A. Gutiérrez Uribe por abrirme las puertas de su equipo de trabajo, gracias por compartirme sus conocimientos, por su tiempo, que sin duda siempre estuvieron para apoyarnos.

A Sayra y Juan Pablo con quienes compartí tantos momentos de risas, tristezas y de estrés, y fueron muy importantes para el desarrollo del estudio in vivo, además que fueron como mi familia en mi estancia en Monterrey.

A todos los del lab 18, Dra. Edith, Dra. Lili, Dr. Luis, Dr. Álvaro, Dra. Keila, a todos mis compañeros y amigos que de alguna u otra forma contribuyeron en mi trabajo, Fedra, Paulina, Anahí, Valeria, Armando, Alex, Vanessa, Maritza, Brayan.

A Eslim que tanto me ha ayudado con palabras de aliento y apoyo en todo, a Evelyn que a pesar de la distancia siempre ha estado y a Jessica que fue parte importante de la última etapa de este trabajo y me queda una gran amiga, ¡las quiero!

Pero, sobre todo, gracias a mi familia, a mis papás, a mis abuelos, que siempre me han apoyado en todo en la vida, y por supuesto, a mi esposo por su apoyo incondicional, sin ellos esto no hubiera sido posible, ¡los amo!

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
I RESUMEN	1
II INTRODUCCIÓN	3
III REVISIÓN DE LITERATURA	6
A SELENIO	6
1 Absorción, distribución, metabolismo y excreción de Se	6
2 Funciones del Se	9
3 Efecto del Se con compuestos quimioterapéuticos	12
4 Fuentes de Se	15
5 Soluciones potenciales para incrementar la ingesta de Se	16
B ALIMENTOS ENRIQUECIDOS CON SELENIO Y SUS PROPIEDADES FUNCIONALES	17
1 Germinación de legumbres y cereales con Se	17
2 Garbanzo germinado con Se y propiedades saludables	18
3 Importancia económica y en la nutrición humana del garbanzo	19
C MAÍZ	21
1 Importancia económica y en la nutrición humana del maíz	21
2 Nixtamalización de maíz y tortilla	22
3 La tortilla como vehículo para la fortificación de micro y macronutrientes.	23
D AMARANTO	24
1 Importancia económica y en la nutrición humana del amaranto	24
E OMEGA 3	25
1 Omega 3 en la nutrición y desarrollo infantil	25
2 Alimentos enriquecidos con Omega 3	26
F BOTANAS EXTRUIDAS	26
1 Extrusión como método para incrementar la biodisponibilidad de nutrientes	27
2 Botanas extruidas en el mercado	28
IV OBJETIVO GENERAL	30
A OBJETIVOS GENERAL	30
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
V MATERIALES Y MÉTODOS	32

A MATERIALES	32
B PRODUCCIÓN DE TORTILLA ENRIQUECIDA CON SELENIO	32
1 Germinación de maíz	32
2 Nixtamalización y producción de tortilla	32
3 Determinación de minerales	34
4 Extracción de compuestos fenólicos libres y ligados	35
5 Cuantificación de ácido ferúlico por HPLC	35
6 Simulación de digestión gastrointestinal <i>in vitro</i>	36
7 Actividad antioxidante celular (AAC)	36
8 Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	36
9 Análisis estadístico	37
C PRODUCCIÓN DE HARINA DE GARBANZO GERMINADO	37
1 Germinación	37
2 Determinación total de Se	37
D ENSAYO <i>IN VIVO</i>	38
1 Cultivo celular	38
2 Preparación de las dietas para el estudio <i>in vivo</i>	38
3 Modelo animal xenoinjertado con células de cáncer de colon	40
a Bienestar animal	43
b Inoculación de células de cáncer de colon HT-29 RFP	43
c Monitorización del crecimiento tumoral	43
d Modelado del crecimiento tumoral	45
e Quimioterapia con 5-Fluorouracilo	45
f Eutanasia	45
4 Parámetros bioquímicos	46
5 Determinación de las actividades de glutatión peroxidasa y tioredoxina reductasa	46
6 Análisis estadísticos	46
E BOTANAS DE AMARANTO Y GARBANZO GERMINADO CON SELENIO ENRIQUECIDAS CON OMEGA 3	47
1 Germinación de garbanzo	47
2 Acondicionamiento de harinas	47
3 Extrusión	49
4 Composición química	49

a Proteína	49
b Lípidos	50
c Cenizas	50
d Humedad	50
e Carbohidratos	50
f Determinación de energía	50
5 Determinación de Se	51
6 Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i>	51
7 Extracción de aceite	51
8 Perfil de ácidos grasos	51
9 Análisis estadístico	53
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
A PRODUCCIÓN DE TORTILLA ENRIQUECIDA CON SELENIO	54
1 Contenido de minerales	54
2 Contenido de AF libre y ligado	60
3 Actividad Antioxidante Celular	63
4 Actividad antiinflamatoria	66
B ENSAYO <i>IN VIVO</i>	68
1 Cambio en el peso corporal	68
2 Monitoreo de crecimiento tumoral	70
3 Evaluación de lípidos en suero y lipoproteínas	75
4 Evaluación enzimática de TXNRD y GPX	78
C BOTANAS DE AMARANTO Y GARBANZO GERMINADO CON SELENIO ENRIQUECIDAS CON OMEGA 3	80
1 Composición química	80
2 Determinación de Se	85
3 Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i> (DPIV)	88
4 Perfil de ácidos grasos en botanas obtenidas por extrusión	90
VII CONCLUSIONES	95
VIII BIBLIOGRAFÍA	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Proceso de absorción, distribución, metabolismo y excreción del Se.	8
2	Proceso de elaboración de tortilla de diferentes tratamientos.	33
3	A) Inoculación de células HT-29 RFP en ratones inmunocomprometidos Nu/Nu. B) Quimioterapia con 5-FU.	42
4	Estrategia experimental del protocolo <i>in vivo</i> .	44
5	Actividad antioxidante celular (%AAC) <i>in vitro</i> de productos de maíz y sus productos nixtamalizados después de simulación gastrointestinal <i>in vitro</i> .	64
6	Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i> de maíz sometidos a simulación gastrointestinal <i>in vitro</i> .	66
7	Cambio de peso corporal semanalmente.	68
8	Imágenes obtenidas por el equipo iBOx del crecimiento tumoral después de 6 semanas de la inoculación (final del estudio) de todos los grupos experimentales.	71
9	Modelo Gompertz de los grupos experimentales.	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Terapias combinatorias con agentes quimioterapéuticos y Se con efectos anticancerígenos.	14
2	Composición de las dietas experimentales.	39
3	Tratamientos diseñados para estudiar y comparar los efectos de la combinación de 5-FU con Se contenido en harinas de garbanzo germinado en animales inmunocomprometidos con xenoinjertos de cáncer de colon.	41
4	Tratamientos para la elaboración de botanas enriquecidas con omega 3.	48
5	Contenido de minerales ($\mu\text{g/g}$ de muestra, bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados: nixtamal, nejayote y tortilla.	55
6	Contenido de ácido ferúlico ($\text{mg}/100\text{ g}$ bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados: nixtamal, nejayote y tortilla.	62
7	Constantes de Gompertz de los grupos experimentales.	74
8	Niveles de lípidos séricos en grupos experimentales.	76
9	Actividad enzimática de la glutatión peroxidasa (GPX) en grupos experimentales.	79
10	Composición química de harinas de garbanzo germinado con y sin Se, harina de amaranto y tratamientos de botanas extruidas.	82
11	Porcentaje de lípidos/ g (bs) contenido en tratamientos acondicionados y tratamientos después de extrusión.	84
12	Contenido de Se ($\mu\text{g/g}$ bs) en harinas de garbanzo germinado con y sin Se y harina de amaranto.	86
13	Contenido de Se ($\mu\text{g/g}$ bs) en harinas acondicionadas y en tratamientos de botanas sometidos a extrusión.	87

14	Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i> (%DPIV) en harinas de garbanzo germinado con y sin Se, harina de amaranto y en tratamientos de botanas obtenidas por extrusión.	88
15	Perfil de ácidos grasos (%) presentes en las harinas acondicionadas y en las botanas obtenidas por extrusión.	91

I RESUMEN

En la presente investigación se enriqueció maíz y garbanzo con Se a través del proceso de germinación. Los granos fueron hidratados con diferentes concentraciones de selenito de sodio (Na_2SeO_3) (0, 48, 50, 94 mg $\text{Na}_2\text{SeO}_3/\text{L}$) y germinados por dos días. Con el maíz germinado con Se, se elaboraron tortillas, a las cuales se les evaluó su capacidad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro*. Además, se cuantificó el contenido de ácido ferúlico y el perfil de minerales. Se encontró que el maíz germinado con Se tiene mejores propiedades antioxidantes y antiinflamatorias que su contraparte, el maíz germinado sin Se. Además, se encontró que la tortilla de maíz germinado con Se es una buena fuente de Se dietario y con buenas propiedades antioxidantes similares a la tortilla de maíz sin germinar. Posteriormente, el garbanzo germinado con Se se utilizó para desarrollar una dieta rica en Se y evaluar su efecto como coadyuvante de quimioterapia en el tratamiento de ratones inmunocomprometidos Nu/Nu xenoinjertados con células de cáncer de colon humano. Los ratones fueron alimentados con la dieta enriquecida en Se, fueron inoculados con células HT-29 RFP y posteriormente recibieron dosis de 5-Fluorouracilo (5-FU) (15 o 30 mg/kg) por cuatro semanas. Los resultados arrojaron que la combinación de la dieta rica en Se y quimioterapia con 5-FU (30 mg/kg) redujo el tiempo de inflexión del crecimiento tumoral con respecto al grupo sin Se y quimioterapia. Además, los niveles de glutatión peroxidasa mejoró en los grupos alimentados con dieta rica en Se. Por otro lado, se elaboraron botanas enriquecidas con Se y omega 3. Se desarrollaron diferentes formulaciones con harina de garbanzo germinado con Se mezclados con harina de amaranto y se enriquecieron con aceite de pescado rico en omega 3. Las mezclas se sometieron al proceso de extrusión para obtener las botanas. Se observó que el proceso de extrusión disminuyó significativamente el contenido de lípidos en las botanas extruidas. Sin embargo, la adición de aceite de pescado a las formulaciones es una buena manera para obtener botanas con omega 3. Estos resultados demuestran que la germinación de maíz y garbanzo en presencia de Na_2SeO_3 en el agua de remojo es una buena manera para mejorar el contenido de Se en los granos. Asimismo, el uso de las harinas de maíz o garbanzo germinado con Se para la elaboración de alimentos es una excelente manera de incrementar el consumo de Se en las personas.

Palabras clave: Germinación, Tortilla, Selenio, Omega 3.

ABSTRACT

In the present investigation, maize and chickpea were enriched with Se through the germination process. The grains were hydrated with different concentrations of sodium selenite (Na_2SeO_3) (0, 48, 50, 94 mg $\text{Na}_2\text{SeO}_3/\text{L}$) and germinated for two days. Corn germinated with Se is used to make tortillas, which are evaluated in vitro for their antioxidant and anti-inflammatory capacity. In addition, the ferulic acid content and the mineral profile were quantified. Maize sprouted with Se was found to have better antioxidant and anti-inflammatory properties than its counterpart, maize sprouted without Se. In addition, it was found that the Se-germinated corn tortilla is a reliable source of dietary Se and with good antioxidant properties like the non-germinated corn tortilla. Subsequently, chickpea sprouted with Se was used to develop a Se-rich diet and evaluate its effect as a chemotherapy adjuvant in the treatment of immunocompromised Nu/Nu mice xenografted with human colon cancer cells. Mice were fed the Se-enriched diet, inoculated with HT-29 RFP cells, and subsequently dosed with 5-fluorouracil (5-FU) (15 or 30 mg/kg) for four weeks. The results showed that the combination of a diet rich in Se and chemotherapy with 5-FU (30 mg/kg) reduced the inflection time of tumor growth with respect to the group without Se and chemotherapy. Furthermore, glutathione peroxidase levels improved in the groups fed a diet rich in Se. On the other hand, snacks enriched with Se and omega 3 were made. Different formulations were developed with chickpea flour germinated with Se mixed with amaranth flour and enriched with fish oil rich in omega 3. The mixtures were subjected to the extrusion process to obtain the snacks. It was observed that the extrusion process significantly decreased the lipid content in the extruded snacks. However, the addition of fish oil to the formulations is an effective way to obtain omega 3 snacks. These results show that the germination of corn and chickpeas in the presence of Na_2SeO_3 in the soaking water is an effective way to improve the content of Se in the grains. Also, the use of maize flour or sprouted chickpeas with Se for food preparation is an excellent way to increase Se intake in people.

Key words: Germination, Tortilla, Selenium, Omega 3.

II INTRODUCCIÓN

El selenio (Se) es un mineral que ha sido encontrado en pequeñas cantidades en el organismo, se ha reconocido como un elemento esencial para el organismo, forma parte del metabolismo del ser humano y los animales a través de las denominadas selenoproteínas, las cuales están involucradas en diferentes funciones, entre las que destacan la defensa antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, entre otros (Margaret, 2012). La ingesta diaria de Se recomendada se ha establecido en 55 µg/día para personas adultas (NIH, 2019). Niveles supra nutricionales de Se (200-300 µg/día) están relacionados con la prevención de cáncer (Kuršvietienė y col. 2020). El metabolismo del Se depende de su forma orgánica o inorgánica contenida en los alimentos.

El Se contribuye en uno de los mecanismos de defensa antioxidante del cuerpo humano. Interviene en el correcto funcionamiento de diferentes enzimas y selenoproteínas que son necesarias para mantener la homeostasis redox celular (Silvestrini y col. 2020). Además, se ha reportado que la deficiencia de Se puede dar lugar a una incompetencia inmunológica que conduce a una mayor susceptibilidad a las infecciones y posiblemente al cáncer (Hamid y col. 2018). Por otro lado, el mecanismo de acción anticancerígena del Se aún no es muy claro, sin embargo, varias teorías han sido propuestas. Entre ellas, la acción antioxidante de glutatión peroxidasa y tiorredoxina reductasa protegen la estructura y estabilidad de otras proteínas y al ADN, de los radicales libres, los cuales pueden desencadenar ciertos tipos de cáncer (Combs y col. 2011).

La germinación es un proceso capaz de mejorar las cualidades fisicoquímicas de los granos de legumbres y cereales. Este proceso genera la síntesis de nuevos compuestos bioactivos y mejora la composición de nutrientes de los granos, asimismo, reduce el contenido de compuestos anti nutricionales, por lo que el consumo de granos germinados puede aportar grandes beneficios a la salud (Sofi y col. 2020).

La biofortificación de alimentos a través de la germinación representa un excelente proceso para obtener alimentos enriquecidos con Se (Guardado-Félix y col. 2017; Lazo-Vélez y col. 2018). Se han reportado beneficios de germinar leguminosas en presencia de Se, tales como germinados de soya y garbanzo con mayor actividad antioxidante que aquellos germinados sin Se (Guardado-Félix y col. 2017; Lazo-Vélez y col. 2018).

En especial, el garbanzo es una de las leguminosas que ha sido enriquecida con Se a través de la germinación (Guardado-Félix y col. 2017). Serrano-Sandoval y col (2019), demostraron que la germinación de garbanzo con Na_2SeO_3 es capaz de aumentar el contenido de Se en los germinados de garbanzo. La acumulación de Se durante la germinación, es capaz de modificar el perfil proteico de los germinados, y permitió obtener una fracción de glutelinas con actividad antioxidante. Hernández-Grijalva y col (2022), reportaron que las proteínas del garbanzo germinado con Na_2SeO_3 , en especial la fracción de glutelinas tiene buena capacidad emulsificante y con buenas propiedades antioxidantes. También, se ha reportado el potencial anticancerígeno de una dieta a base de garbanzo germinado con Na_2SeO_3 (Guardado-Félix y col. 2019).

El maíz es otro grano que se ha germinado en presencia de Se. En nuestro equipo de trabajo se desarrolló una tortilla de maíz germinado con Na_2SeO_3 , con buenas características funcionales. Estas tortillas representan una buena fuente de Se dietario, sin embargo, es necesario validar las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias *in vitro* de esta tortilla.

Debido a los resultados previamente obtenidos en nuestro equipo de trabajo, resulta interesante estudiar el efecto de una dieta de garbanzo enriquecida con Se en combinación con agentes quimioterapéuticos sobre el efecto anticancerígeno en ratones inmunocomprometidos inoculados con células de cancer de colon humano. Validar este tipo de terapias en un modelo *in vivo* nos permite encontrar tratamientos con potencial para utilizarse en algunos tipos de cancer.

Por los beneficios que aporta el Se al organismo resulta importante incrementar su consumo, ya que podría evitar la aparición de enfermedades

vinculadas con el incremento del estrés oxidativo. Además, la germinación de los granos es una gran herramienta para incrementar el potencial nutracéutico de los granos, por lo tanto, el consumo de granos germinados podría aportar grandes beneficios a la salud. En este sentido, los granos germinados con Se representan una excelente opción para elaborar alimentos funcionales.

Actualmente, en el mercado existen una gran variedad de cereales de desayuno y botanas infantiles con bajo contenido nutricional. Es por ello por lo que recientemente se han buscado alternativas para desarrollar alimentos con un mejor contenido nutricional. De esta manera se han desarrollado botanas a través del proceso de extrusión con legumbres añadidas (Alemayehu y col. 2019; Costantini y col. 2021). El uso de harinas de cereales y/o legumbres germinadas con Se para el desarrollo de botanas infantiles a través del proceso de extrusión podría representar una alternativa para obtener alimentos con mejor contenido de proteína, fibra y compuestos bioactivos. Además, resulta importante incorporar nuevos nutrientes que puedan aportar beneficios a la salud de los niños, tal es el caso del omega 3. En especial, este ácido graso es de suma importancia en la niñez ya que contribuye al correcto desarrollo cerebral (Calder, 2018).

El objetivo del presente trabajo fue obtener alimentos funcionales a partir de maíz y garbanzo germinado con Se y evaluar sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas en modelos *in vitro* e *in vivo*.

Este trabajo busca ofrecer alimentos a la población que contribuyan a mejorar su salud y prevenir enfermedades. Esta investigación demuestra que los granos germinados con Se tienen gran potencial para desarrollar alimentos funcionales, además de contribuir a incrementar el consumo de este mineral en las personas. Así mismo, la harina de garbanzo germinado con Se se podría utilizar como tratamiento coadyuvante en el cáncer de colon. Además, con la información obtenida se abren oportunidades de estudio, ya que se pueden seguir desarrollando alimentos, o bien, realizar ensayos clínicos para evaluar la efectividad de los alimentos elaborados en esta investigación.

III REVISIÓN DE LITERATURA

A SELENIO

El selenio (Se) es un mineral traza esencial ya que participa en las funciones fisiológicas del organismo, forma parte del metabolismo del ser humano y los animales a través de las denominadas selenoproteínas. Juega un papel crucial como antioxidante a través de varios mecanismos enzimáticos, entre ellos la glutatión peroxidasa (GPX), tiorredoxina reductasa (TXNRD) y yodotironina desyodasas (DIO) (Dávila-Vega y col. 2022).

El Se se puede encontrar de forma inorgánica u orgánica. Las formas inorgánicas incluyen Se elemental, H_2Se , selenato de sodio (Na_2SeO_4), selenito de sodio (Na_2SeO_3), seleniuro (Se^{-2}), diselenuros (Se_2^{-2}) y selenocianato ($SeCN^-$). Las formas orgánicas incluyen selenoésteres ($Se(C=O)-OH$), metil selenio (CH_3Se^-), y selenoaminoácidos como Se-metilselenocisteína (SeMSC), selenocisteína (Sec), selenometionina (SeMet), glutatión selenoide (SDG) y ácido metilselénico (MSeA) (Gandin y col. 2018). Además, el Se puede encontrarse en la estructura de selenoproteínas como GPX1, GPX2, GPX3, GPX4 y GPX6; TXNRD1, TXNRD2, TXNRD3; DIO1, DIO2, DIO3; y selenoproteínas P, K, N, H, O, I, R, S, T, M, W y V.

La dosis diaria recomendada de Se para adultos es de 55 μg , la cual es necesaria para realizar muchas funciones en el cuerpo (Garousi, 2017). Mientras que ingestas menores de 20 μg Se/día aumenta el riesgo de diversas patologías como, infertilidad en los hombres, nefropatía, cáncer de próstata, aparición de enfermedades neurológicas, cardiopatía isquémica y osteoartropatía endémica (enfermedad de Kashin-Beck) (Kuršvietienė y col. 2020). Por otro lado, dosis supra nutricionales de Se (100 μg /día) está vinculado con la reducción del riesgo de padecer algunos tipos de cáncer (Guo y col. 2021).

1 Absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de Se

En la **Figura 1** se pueden apreciar los mecanismos ADME del Se. La disponibilidad del Se depende en su forma química, misma que afecta a estos

mecanismos (Takahashi y col. 2018). Factores como la estructura química del Se y la dosis de administración pueden impactar en el transporte del Se a los enterocitos (Pick y col. 2013). Las formas inorgánicas, como el selenato (SeO_4^{2-}) y el selenito (SeO_3^{2-}), se transportan a través de vías paracelulares y transcelulares, respectivamente. Por otro lado, el Se orgánico, como Sec y SeMet son transportados por vías transcelulares (Gammelgaard y col. 2011). Una vez absorbido por los enterocitos, el Se, se puede dirigir hacia el hígado, al sistema linfático o plasma (Wastney y col. 2011). En el plasma, el Se está asociado con las proteínas plasmáticas y posteriormente es tomado por el hígado o los riñones para ser excretado (Wastney y col. 2011). En el hígado, el Se, se utiliza para sintetizar selenoproteínas, especialmente selenoproteína P (SELENOP). La SELENOP se encarga del transporte de Se a los tejidos periféricos, en donde se degrada para obtener Sec y formar parte de otros selenocompuestos (Seale y col. 2018). En cuanto al sistema linfático, el Se puede viajar al plasma o ser absorbido por el hígado (Wastney y col. 2011).

Los seres humanos pueden retener los selenoaminoácidos de manera más eficiente que las formas inorgánicas de Se (Ha y col. 2019). Por lo tanto, SeMet puede incorporarse a proteínas o puede metabolizarse a selenocompuestos como seleniuro de hidrógeno (H_2Se), un intermediario para la producción de selenoproteína. El H_2Se a partir de SeMet puede generarse mediante dos reacciones, una mediante una ruta de trans-sulfuración para formar Sec, que es catabolizada por la Sec liasa (Seale y col. 2018) o por metilselenol (CH_3SeH) a través de la γ -liasa seguida de una reacción de desmetilación. Por otro lado, el Se inorgánico no puede ser parte de la construcción de proteínas. SeO_3^{2-} o SeO_4^{2-} se reducen para formar H_2Se vía sistemas de tiorredoxina (Trx) o glutaredoxina (Grx) para generar selenoproteínas o para ser excretadas (Tobe y Mihara, 2018).

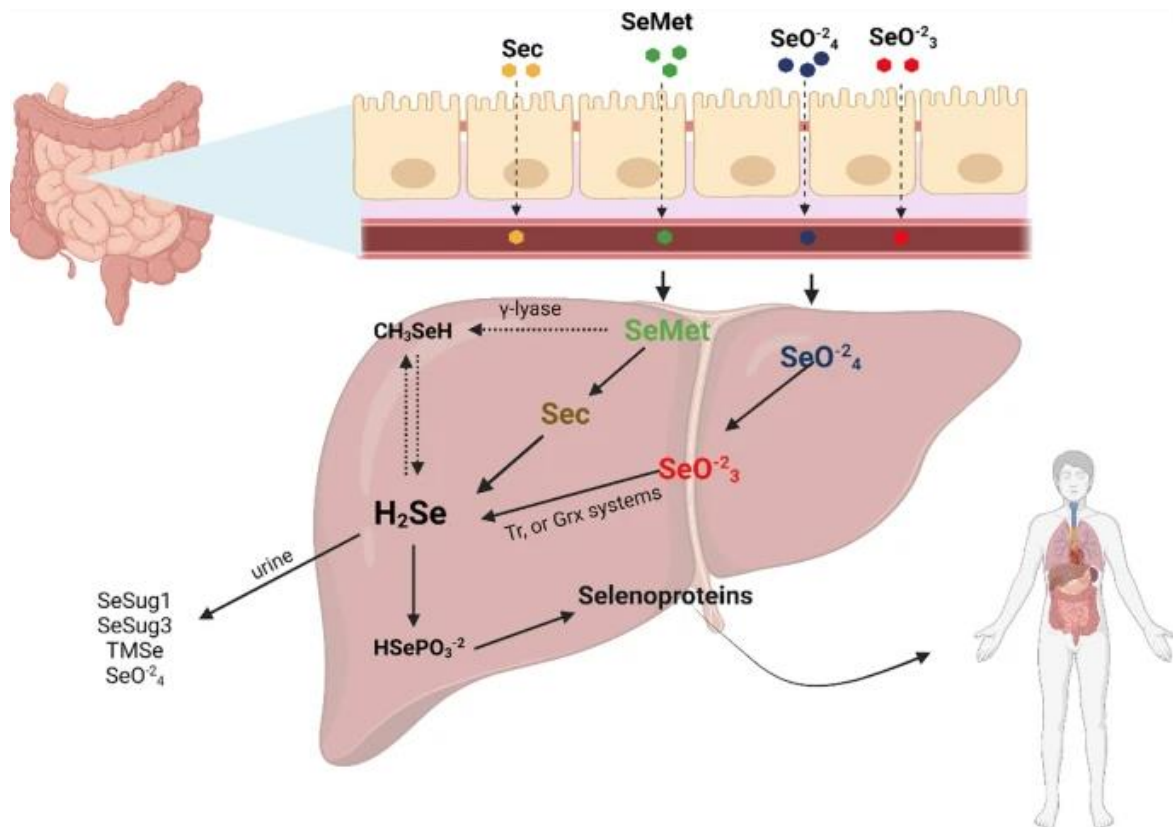


Figura 1. Procesos ADME de Se. Los selenocompuestos como selenato (SeO_4^{2-}), selenito (SeO_3^{2-}), Sec y SeMet se absorben a través de la luz intestinal, donde van directamente a los vasos sanguíneos, que luego son metabolizados por el hígado. SeMet generalmente se convierte en proteínas y Sec, que también se puede metabolizar como selenoproteínas. SeO_4^{2-} se transforma en SeO_3^{2-} con una conversión posterior a H_2Se que puede excretarse a través de la respiración como seleniuro de dimetilo o a través de los riñones como selenoazúcares, SeO_4^{2-} y TMS_e (Tomada de Dávila-Vega y col. 2022).

Para evitar la toxicidad, el Se metabolizado se excreta posteriormente a través de la orina, las heces y el aliento. La excreción de Se depende de la forma química y la dosis y se puede encontrar en la orina como SeO^{-2}_4 , selenoazúcares o como ion trimetilselenio (TMS₃Se) (Takahashi y col. 2018).

2 Funciones del Se

Las selenoproteínas están involucradas en distintas rutas metabólicas, como defensa antioxidante, actividad antiinflamatoria, anticancerígena, función tiroidea (Margaret, 2012), entre otros.

a Mecanismo antioxidante

El estrés oxidativo (EO) es responsable de algunas alteraciones en la función de proteínas, lípidos y ADN (Metere y col. 2018). Las especies reactivas de oxígeno (ERO) se pueden generar como subproductos de los procesos redox celulares, incluida la respiración mitocondrial, y se sabe que son perjudiciales para la salud humana cuando sus niveles celulares superan el nivel fisiológicamente aceptable (Zhang y col. 2020). La sobreproducción de ERO y el consiguiente aumento del EO conducen a daños celulares irreversibles, frecuentemente asociados a enfermedades como la aterosclerosis, la hipertensión, la nefropatía diabética, la fibrosis pulmonar, la enfermedad de Alzheimer y, en particular, el cáncer (Metere y col. 2018).

El Se contribuye en uno de los mecanismos de defensa antioxidante del cuerpo humano. Interviene en el correcto funcionamiento de diferentes enzimas y selenoproteínas. Entre las 25 proteínas conocidas que contienen Sec en humanos, algunas de las selenoproteínas más importantes incluyen TXNRD1, TXNRD2 y TXNRD3, GPX1, GPX2, GPX3, GPX4 y GPX6, DIO1, DIO2 y DIO3, que son necesarias para mantener la homeostasis redox celular (Silvestrini y col. 2020). Estas selenoproteínas son una parte esencial del sistema redox intracelular, reduciendo el glutatión/glutatión oxidado (GSH/GSSG) y ERO evitando el daño celular.

Las enzimas GPX, conocidas como GPX1, GPX2 gastrointestinal, GPX3 plasmática e hidropéroxido de fosfolípido GPX4, representan las clases

principales de selenoproteínas funcionalmente importantes. GPX1 se expresa de manera ubicua en muchos tejidos y está presente en el citosol celular y en las mitocondrias, donde funciona como antioxidante al reducir directamente el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a agua y los hidroperóxidos lipídicos a su correspondiente alcohol (Metere y col. 2018).

Otra selenoproteína interesante es TXNRD, una enzima que cataliza la reducción de la tiorredoxina dependiente de NADPH y, por lo tanto, desempeña un papel regulador en su actividad metabólica. Las tiorredoxinas poseen dos cisteínas en su secuencia, con actividad antioxidante ya que reduce a otras proteínas oxidadas (Silvestrini y col. 2020).

Metere y col (2018) reportaron una disminución en la expresión de GPX1 y TXNRD1 en células de cáncer de tiroides con respecto a células sanas. La disminución de estas selenoproteínas en el tejido canceroso indica que el sistema antioxidante de las células de cáncer no puede contrarrestar adecuadamente los efectos de los radicales libres.

b Actividad antiinflamatoria

La inflamación es un proceso que ocurre con la ayuda de factores proinflamatorios y antiinflamatorios. Las citoquinas son varias sustancias involucradas en la respuesta inflamatoria. Se provoca una respuesta de defensa a las citoquinas proinflamatorias cuando el cuerpo recibe estímulos externos. Existe una estrecha relación entre la deficiencia de Se y la inflamación (Xu y col. 2020).

La relación de inmunidad con los niveles adecuados de Se en la dieta y su incorporación eficiente a las selenoproteínas ya ha sido previamente reportado (Avery y Hoffmann, 2018). La deficiencia de Se puede dar lugar a una incompetencia inmunológica que conduce a una mayor susceptibilidad a las infecciones y posiblemente al cáncer. Existe evidencia de que el Se puede modular la patología que acompaña a las enfermedades inflamatorias crónicas en el intestino y el hígado, así como en los cánceres asociados a la inflamación (Hamid y col. 2018). La deficiencia de Se y la supresión de la expresión de selenoproteínas se han relacionado con niveles más altos de

citoquinas inflamatorias en una variedad de tejidos, incluido el tracto gastrointestinal (Nettleford y Prabhu, 2018), el útero (Zhang y col. 2015), los tejidos de las glándulas mamarias (Gao y col. 2016) entre otros.

Por otro lado, la función de las células T y B, parte de la inmunidad adaptativa se ve afectada por la baja ingesta de Se. Una característica inmunológica de los niveles de Se *in vivo* es el efecto positivo que tiene una mayor cantidad de Se sobre la proliferación y diferenciación del grupo de células T (Avery y Hoffmann, 2018). Asimismo, también se ha demostrado que las funciones de las células inmunitarias innatas se ven afectadas por los niveles de Se. Por ejemplo, niveles bajos de Se perjudican la capacidad de señalización inflamatoria y actividades anti patógenas de los macrófagos (Avery y Hoffmann, 2018). Xu y col (2020) encontraron que los macrófagos deficientes en Se pueden sufrir estrés oxidativo y secreción anormal de citoquinas y disminuir su capacidad fagocítica.

Asimismo, la suplementación con Se suprime la vía NF-kappa B al modular la expresión de genes de selenoproteína (He y col. 2004). La inhibición de esta vía reduce la producción de marcadores inflamatorios (He y col. 2004). Además, el Se podría modular la expresión de genes, involucrados en la producción de óxido nítrico (ON) (Yun y col. 2007). El ON es una de las moléculas más importantes reguladoras del sistema inmune y ha demostrado ser relevante en la patogénesis de enfermedades inflamatorias (Yun y col. 2007).

c Propiedades anticancerígenas

Se ha demostrado la capacidad del Se con efectos anticancerígenos, esto gracias a las selenoproteínas o selenocompuestos, que se han relacionado con diferentes mecanismos moleculares, que pueden actuar simultáneamente: modulación antioxidante, citotoxicidad selectiva, detención del ciclo celular, activación de ambas vías apoptóticas intrínsecas y extrínsecas y reducción de la angiogénesis (Dávila-Vega y col. 2022).

Varios estudios se han centrado en el papel del Se como agente quimioterapéutico, debido a su potencial para ejercer una mayor citotoxicidad en las células cancerosas. Sin embargo, la actividad citotóxica del Se depende de varios factores, como la estructura química del Se (Hinrichsen y Planer-Friedrich, 2016), el medio de cultivo celular, el microambiente extracelular (Wang y col. 2015), la línea celular (Hinrichsen y Planer-Friedrich, 2016), la presencia de suplementos como los aminoácidos en el medio y tiempo de tratamiento (Řezáčová y col. 2016).

Además, se ha informado del papel del Se en las vías de señalización del ciclo celular, la proliferación y migración celular (Sun y col. 2017). Asimismo, el Se participa en la activación de la apoptosis. Guardado-Félix y col (2019) demostraron que el consumo de garbanzo germinado enriquecido con Se (6.93 $\mu\text{g/g}$ bs) en ratones inmunocomprometidos inoculados con cáncer de colon, indujo la vía apoptótica intrínseca al mejorar la expresión de la caspasa-9 y al bloquear la expresión de Bcl-2.

Por otro lado, se ha reportado el rol del Se en la reducción de la angiogénesis. Se ha demostrado que en ratones con cáncer colorrectal (CCR) inducido, el consumo de Se en agua, redujo un 63% el crecimiento endotelial vascular (VEGF) (Saeed y col. 2019), la cual es una molécula que ayuda a fomentar el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos.

3 Efecto del Se con compuestos quimioterapéuticos

Se han informado efectos anticancerígenos sinérgicos de las terapias combinatorias con Se y fármacos quimioterapéuticos (Wu y col. 2019). Algunos estudios han demostrado una mejora del efecto anticancerígeno cuando se combinan agentes quimioterapéuticos con Se los cuales se muestran en el **Cuadro 1**.

Park y col (2015), investigaron los efectos de la combinación de Se (10 μM) con docetaxel (DTX) a 500 pM en células de cáncer de pecho después de 72 h de incubación. La combinación de esta terapia disminuyó el crecimiento celular (15% vs. 28%; $P = 0.004$), incrementó la apoptosis (63% vs. 26%; $P = 0.001$), e incrementó el arresto del ciclo celular comparado con

el grupo control. La misma combinación terapéutica (Se + DTX) fue evaluada en células de glioblastoma (DBTRG) (Ertlav y col. 2019). Las células DBTRG fueron expuestas a 10 nM DTX por 10 h y subsecuentemente fueron expuestas a 1 μ M Se por 10 h. Esta combinación demostró inhibir la proliferación en las células y además se demostró que el tratamiento combinado de DTX y Se es mejor que el tratamiento con DTX por sí solo (Ertlav y col. 2019).

La terapia combinada con Na_2SeO_3 (200 nM) y cisplatino (40 μ M) se evaluó en células de cáncer de mama. Después de 72 h de incubación, esta terapia mostró un efecto apoptótico por la activación de caspasa 3 y caspasa 9 sobre estas células de cancer (Sakalli y col. 2016). Otro estudio donde se evaluó la combinación de Se y cisplatino fue informado por Wu y col (2017). Se evaluó el compuesto Se-platino (EG-Se/Pt), obtenido de la combinación de Se con cisplatino, en células humanas Jurkat y Molt-4, un tipo de células de leucemia/linfoma linfoblástico agudo de células T (T-ALL/LBL). Las células Jurkat y Molt-4 fueron expuestas a dosis de 5-100 μ M de EG-Se / Pt durante 12, 24, 48 o 72 h. EG-Se / Pt inhibió la viabilidad de estas células de una manera dosis y tiempo dependiente. Las tasas de apoptosis de las células Jurkat con EG-Se / Pt a dosis de 5, 15 y 35 μ M fueron 14.78, 3.07 y 64.56%, respectivamente, mientras que en las células Molt-4 con 5, 12,5 y 25 μ M de EG-Se / Pt fueron 13.37%, 20.17% y 39.93%, respectivamente.

Otro tratamiento fue el reportado por Wu y col (2019) que utilizaron Na_2SeO_3 (3 mg / kg) y el profármaco de adriamicina (10 mg / kg) aplicado en un modelo *in vivo*, con ratones desnudos, los cuales fueron xenoinjertados con células de cáncer gástrico (SGC-7901). La administración del fármaco (Na_2SeO_3 + PADM) se administró cuatro veces cada ocho días y el final del experimento fue 40 días después de la administración inicial. Los autores concluyeron que esta terapia combinada promueve la apoptosis en ratones xenoinjertados con células de cáncer gástrico mediante la elevación de proteínas proapoptóticas como caspasa 3, caspasa 9 y p53 (Wu y col. 2019).

Cuadro 1. Terapias combinatorias con agentes quimioterapéuticos y Se con efectos anticancerígenos.

Quimioterapéutico	Seleno Compuesto	Tipo de cáncer	Línea celular	Efecto anticancerígeno	Referencias
Docetaxel (500 pM)	Se (10µM)	Pecho	MDA-MB-231 MCF-7	Inhibición de la proliferación celular. Incremento de la apoptosis	Park y col (2015)
Docetaxel (10 nM)	Se (1µM)	Cerebro y médula ósea	DBTRG	Inhibición de la proliferación celular.	Ertlav y col (2017)
Cisplatino (40 µM)	Selenito de sodio (200nM)	Pecho	MCF-7	Incremento de la apoptosis.	Sakallı y col (2016)
Paclitaxel (50 µM)	Selenito de sodio (5 µM)	Pecho	MCF-7	Incremento de ERO y Apoptosis	Guler y col (2020)

El paclitaxel es otro fármaco quimioterapéutico que combinado con Se ha mostrado efectos anticancerígenos en células de cancer de mama (Guler y col. 2020). Las células fueron incubadas con 50 μM de paclitaxel y 5 μM de Na_2SeO_3 durante 24 h mostraron un aumento de ERO y niveles más altos de caspasa 9 y caspasa 3 en comparación con el tratamiento con solo paclitaxel (50 μM). La combinación de Se y paclitaxel en las células de cancer de mama mejoro la apoptosis en esta línea celular (Guler y col. 2020).

4 Fuentes de Se

Los mariscos y las carnes son los primeros en colocarse entre los alimentos con alto contenido en Se. También los cereales y leguminosas suelen poseer cantidades de Se, sin embargo, el contenido de Se en estos alimentos son relativamente bajos y no cumplen con los niveles de ingesta recomendada (Liu y col. 2011). La cantidad de Se en los alimentos se ve afectada por los niveles de Se en el suelo (Rezanka y Sigler, 2008). De esta manera, resulta interesante la biofortificación de alimentos con Se, la cual ha surgido como una estrategia eficaz para incrementar su contenido de Se (Yin y col. 2019). Algunos estudios han reportado los beneficios sobre alimentos biofortificados con Se. Alimentos como, *Brassica oleracea* L. var. *gongylodes* (Golob y col. 2020), y *Spirulina* (Fontagne-Dicharry y col. 2020), se han biofortificado con Se con el objetivo de cumplir con la ingesta diaria recomendada de Se. Ávila y col (2014), reportan que la biofortificación de *Brassica* spp. con Na_2SeO_4 (50 μM) demostró tener mayor síntesis de un compuesto anticancerígeno, SeMSC.

Las semillas de plantas son capaces de absorber Se en el medio ambiente y asimilarlo de diferentes selenocompuestos (orgánicos y / o inorgánicos) durante la germinación. Lintschinger y col (2000) reportan la acumulación significativa de Se en semillas de trigo, alfalfa y girasol durante la germinación utilizando una solución con Se, los brotes obtenidos se reportan como una excelente fuente de Se, que se puede utilizar como alimento o como complemento de diversas dietas. Liu y Gu, (2009), reportan la germinación de arroz en presencia de SeO_3^{2-} como una alternativa eficaz

para aumentar los niveles de Se en los granos. El Se inorgánico empleado para la germinación es capaz de transformarse en proteínas que contienen Se (Liu y Gu, 2009).

5 Soluciones potenciales para incrementar la ingesta de Se

Se han buscado estrategias para mejorar el aporte de Se al organismo, como el desarrollo de alimentos enriquecidos con este mineral (Bargellini y col. 2008). Una opción para generar alimentos ricos en este mineral es la biofortificación de Se mediante la germinación. En este proceso, las plantas incrementan su contenido de Se durante su primera etapa de crecimiento (D'Amato y col. 2017). Para llevar a cabo esta técnica se pueden utilizar ya sea los compuestos inorgánicos como Na_2SeO_3 y Na_2SeO_4 , o bien, los compuestos orgánicos (selenoproteínas), siendo los primeros los más eficientes y baratos a utilizar, mientras que los segundos son más relevantes para la nutrición humana pero su costo es más elevado, sin embargo, se prefiere utilizar Na_2SeO_3 o Na_2SeO_4 para dicho procedimiento, por la capacidad de las plantas para producir selenoproteínas mediante los compuestos inorgánicos, siendo una mejor opción para la biofortificación de Se de plantas (D'Amato y col. 2018).

Se ha demostrado que la biofortificación de plantas con Se a través de la germinación incrementa el contenido de este, considerándolo como un método económico y valioso para la obtención de selenoproteínas (Malagoli y col. 2015; D'Amato y col. 2018). La producción de plántulas jóvenes (germinados y plántulas, 7-10 días de germinación) en pequeña o gran escala puede ser efectiva para la producción de productos con alto valor biológico (Di Gioia y col. 2017) gracias a la capacidad de absorción de Se de las semillas durante la germinación (Lintschinger y col. 2000; Sugihara y col. 2004). Por otro lado, al comparar las semillas sin germinar con los germinados biofortificados, estos últimos poseen mayores beneficios nutricionales, como el incremento de fitoquímicos, los cuales proveen muchos beneficios a la salud humana (Di Gioia y col. 2017).

B ALIMENTOS ENRIQUECIDOS CON SELENIO Y SUS PROPIEDADES FUNCIONALES

1 Germinación de legumbres y cereales con Se

La germinación es un proceso de bajo costo que se puede emplear en los granos de legumbres y cereales con el objetivo de mejorar sus cualidades fisicoquímicas y funcionales (Sofi y col. 2020). Este proceso es capaz de modificar los compuestos estructurales, la síntesis de nuevos compuestos bioactivos y aumenta la estabilidad, la digestibilidad y la composición de nutrientes de los granos. Así mismo, reduce el contenido de compuestos anti nutricionales, mejora la calidad sensorial y las propiedades tecnológicas de los granos (Sofi y col. 2020).

El consumo de granos germinados puede generar beneficios a la salud. De igual forma, la harina de granos germinados tiene potencial para utilizarse en la elaboración de alimentos funcionales (Sofi y col. 2020). Tal es el caso de Ouazib y col (2016) quienes elaboraron pan de trigo suplementado con 10% y 20% de harina de garbanzo germinado, resultando panes con mejor composición nutricional, en especial con mayor contenido de proteína en comparación con el pan hecho con 100% de harina de trigo. También Singh y col (2021), elaboraron galletas con frijol y garbanzo germinados, lo que permitió mejorar la digestibilidad de proteína y carbohidratos, asimismo, una mayor concentración de aminoácidos esenciales.

Por otro lado, se han reportado muchos estudios sobre los beneficios de germinar granos en presencia de Se. Granos como, maíz, soya, quínoa, frijoles, garbanzo, entre otros, han demostrado tener habilidad para acumular cantidades significativas de Se a través de la germinación en presencia de sales de Se (Liu y col. 2009; Serrano-Sandoval y col. 2019; Guardado-Félix y col. 2022). La germinación en presencia de Na_2SeO_3 ha demostrado tener múltiples beneficios en la obtención de compuestos que ayudan a mejorar la salud, ejemplos de ello, es el incremento de la capacidad antioxidante de soya germinada (Lazo-Vélez y col. 2018).

En el caso de los alimentos enriquecidos con Se, está bien documentado que estos alimentos mejoran sus propiedades antioxidantes, por ejemplo, el arroz (Ei y col. 2020), la soya (Dai y col. 2020) y los granos de garbanzo enriquecidos con Se (Serrano-Sandoval y col. 2019; Guardado-Félix y col. 2019) tienen mayor poder antioxidante, antiinflamatorio y propiedades anticancerígenas en comparación con granos no enriquecidos con Se. Estos hallazgos se han relacionado con una mayor concentración de formas orgánicas de Se, como la selenometionina y la selenocisteína, así como con la mejora de la biosíntesis de compuestos fenólicos.

2 Garbanzo germinado con Se y propiedades saludables

Guardado-Félix y col (2017), investigaron la germinación de garbanzo con Na_2SeO_3 sobre la actividad antioxidante de los compuestos generados durante dicho proceso, ellos encontraron que el uso de esta sal durante el remojo de los granos, presentó mejor actividad antioxidante que aquella que no tuvo el tratamiento, este efecto fue atribuido a un incremento de isoflavonas (compuesto fenólico) en los granos germinados (Guardado-Félix y col. 2017). Serrano-Sandoval y col (2019), demostraron que la germinación de garbanzo con Na_2SeO_3 es capaz de aumentar el contenido de Se en los brotes de garbanzo. La acumulación de Se durante la germinación, es capaz de modificar el perfil proteico de los brotes, y permitió obtener una fracción de glutelinas con actividad antioxidante.

Hernández-Grijalva y col (2022) estudiaron el efecto emulsificante de las proteínas de garbanzo germinado con Na_2SeO_3 . Se encontró que las fracciones de glutelina y albúmina de garbanzo germinado con Se, tenían mayor capacidad emulsificante en un 8.6% y 7.8%, respectivamente, que las fracciones de proteína sin Se. Además, la fracción de glutelina con Se demostró tener mayor actividad antioxidante celular (11%) en comparación con la glutelina control. Este estudio demuestra que las proteínas del garbanzo germinado con Se, tienen buena capacidad emulsificante, mismas que se pueden aprovechar para el desarrollo de alimentos funcionales.

Guardado-Félix y col (2019), reportaron germinados de garbanzo enriquecidos con Se con potencial de disminuir el crecimiento tumoral en ratones. Reportan una dieta rica en Se (2.29 µg/ g dieta), con capacidad de incrementar las actividades enzimáticas de GPX y TXNRD, mismas con efectos quimiopreventivos por su protección antioxidante. Por otro lado, la dieta rica en Se brindada a los ratones demostró tener capacidad de incrementar lípidos séricos como, colesterol, triglicéridos y colesterol LDL. Todo ello demuestra que los germinados de garbanzo enriquecidos con Se representan una excelente fuente de Se dietario, con potencial quimiopreventivo y podría usarse en el tratamiento del CCR (Guardado-Félix y col. 2019).

3 Importancia económica y en la nutrición humana del garbanzo

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) es una de las leguminosas más producida a nivel mundial, con aproximadamente 14,7 millones de toneladas (FAOSTAT, 2021). La India es el principal productor de garbanzo en el mundo, seguido por Australia, Etiopía, Myanmar, México, Irán, y Estados Unidos (FAOSTAT, 2021). En México, esta leguminosa es principalmente producida por los estados de Sinaloa, Michoacán, Sonora y Guanajuato. Además, Sinaloa es el líder de la producción de garbanzo (SAGARPA-SIAP 2021).

En cuanto al contenido nutricional, es una buena fuente de proteínas, carbohidratos, fibra, vitaminas, minerales, oligosacáridos, isoflavonas, por lo que se considera un excelente alimento además que se ha reportado con efectos protectores contra varias enfermedades (Gupta y col. 2016).

La proteína del garbanzo (17-22%) presenta una alta biodisponibilidad y buena digestibilidad (48-89,01%) (Wang y col. 2010; Kou y col. 2013). Los carbohidratos corresponden al componente más abundante del garbanzo (62-70%) y están formados principalmente por oligosacáridos (α- galactósidos), polisacáridos, como almidón (35% resistente y 65% disponible) y fibra dietética (18-22%), de los cuales 4 a 8% es soluble y 10 a 18% insoluble (Rachwat y col. 2015; Jukanti y col. 2012). Los lípidos se encuentran en concentraciones bajas en el garbanzo (4-10%), sin embargo, posee ácidos

grasos insaturados, principalmente linoleico (54,7-56,2%), oleico (21,6-22,2%), linolénico (0,5-0,9%), palmítico (18,9-20,4%) y esteárico (1,3-1,7%) (Rachwat y col, 2015; Jukanti y col. 2012). Además, el garbanzo es una fuente importante de vitaminas del complejo B y microelementos como Fe, Zn, Ca, Mg, K, Cu y P (Rachwat y col. 2015; Jukanti y col. 2012).

Además, el garbanzo es rico en compuestos fenólicos, saponinas e inhibidores de tripsina, los cuales brindan algunos beneficios a la salud. (Faridy y col. 2020). Los principales fitoquímicos del garbanzo incluyen flavonoides, carotenoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos (Kaur y col. 2021). Estos compuestos ejercen diferentes actividades biológicas, como antioxidante, antifúngico, antibacteriano, analgésico, enzima convertidora de angiotensina I (ACE-I) inhibición, hipocolesterolémico, anticancerígeno y antiinflamatorio (Faridy y col. 2020).

Chen y col (2014), reportaron isoflavonas de garbanzos germinados (10 a 60 μg / mL) que inhibieron significativamente la proliferación de células de cáncer de mama (SKBr3 y MCF-7), revelando tasas de inhibición para células SKBr3 de 36.1, 65.3 y 88.5% a las 24, 48 y 72 h, respectivamente; para las células MCF-7, las tasas fueron de 36,5, 76,8 y 86,9% a las 24, 48 y 72 h, respectivamente.

Sánchez-Chino y col (2019), evaluaron una dieta con un 10% de garbanzo cocido administrado a ratones con cáncer de colon inducido con azoximetano y dextrano sulfato sódico. Entre sus resultados, informaron que el consumo de esta semilla inhibió el antígeno nuclear celular proliferante (PCNA) y la expresión de la proteína Ki-67, ambos marcadores están involucrados en la proliferación celular. Igualmente, Sánchez-Chino y col (2017) demostraron que el consumo de garbanzo puede inhibir el cáncer de colon. Entre los mecanismos de protección que brinda el consumo de garbanzo se destacó la inhibición de la óxido nítrico sintasa y COX-2, ambas enzimas involucradas en procesos inflamatorios.

Cid-Gallegos y col (2020) evaluaron la actividad antioxidante de una dieta con 20% de garbanzo cocido brindada a ratones BALB / c con cáncer de colon inducido con azoximetano y sulfato de dextrano sódico. Marcadores

relacionados con el estrés oxidativo, como óxido nítrico, grupos carbonilo oxidados y malondialdehído, disminuyeron en ratones alimentados con garbanzo cocido en comparación de aquellos que solo fueron alimentados con una dieta estándar. Dicha actividad antioxidante se puede deber a uno o más compuestos en el alimento o al sinergismo, por ejemplo, compuestos fenólicos, saponinas, péptidos bioactivos, fibra soluble e insoluble, entre otros. Los autores mencionan que el garbanzo es una buena alternativa para la quimioprevención.

C MAÍZ

1 Importancia económica y en la nutrición humana del maíz

El maíz, es uno de los cereales más importantes del mundo, brinda gran aporte nutricional al organismo y es el cereal más importante en México (Agropecuarios, 2018). Los principales países productores de maíz son Estados Unidos, China y Brasil, encontrándose México en el sexto lugar de los países con mayor producción (FAOSTAT, 2021). En México, los principales estados productores son Sinaloa, Jalisco y Guanajuato (SAGARPA-SIAP, 2021).

El maíz (*Zea mays* L.) toma gran importancia en México, ya que se encuentra dentro de los alimentos básicos del país. Una gran variedad de platillos se basa en maíz o en sus productos procesados (harina y masas) (Díaz-Montes y col. 2020). Sin embargo, la principal forma de consumo de este cereal en nuestro país es en tortilla, la cual es de suma importancia en la dieta de los mexicanos, ya que se considera como un alimento base, y es consumido por el 94% de la población mexicana (Herrera-Sotero y col. 2017). El consumo anual per cápita de tortillas es cercano a los 75 kg equivalentes a más de siete tortillas por día (Solano-Pérez 2018). El proceso tradicional para elaborar tortillas consiste en la nixtamalización del maíz.

2 Nixtamalización de maíz y tortilla

La nixtamalización es un tratamiento térmico alcalino, en donde el maíz se somete a altas temperaturas en una solución de agua e hidróxido de calcio. Asimismo, este proceso brinda ciertas ventajas sobre el grano del maíz y en las tortillas, ya que mejora su valor nutricional, sabor, aroma, entre algunos otros (Serna-Saldivar, 2021).

El esquema de cocción con cal o nixtamalización consiste en cocer primero los granos en cal de calidad alimentaria (hidróxido de calcio), seguido de remojo en el agua de cocción durante 12 h y finalmente lavar los granos cocidos con cal o nixtamal y prepararlos para la molienda. El procedimiento de molienda produce una masa que luego se procesa en tortillas horneadas o bocadillos fritos (chips de tortilla y maíz) (Serna-Saldivar 2021). El principal inconveniente de este proceso es la generación de grandes cantidades de aguas residuales con alto pH y sólidos tanto solubles como insolubles, el cual es comúnmente conocido como nejayote.

Existe evidencia de que el nejayote contribuye a la contaminación del agua y del medio ambiente debido a su alta demanda biológica y química del oxígeno (Gutiérrez-Uribe y col. 2010). El nejayote está compuesto principalmente por pericarpio, compuestos solubles como proteínas, polisacáridos, azúcares, ácidos ferúlico y p-cumárico (Contreras-Jacquez y col. 2022). En el maíz, el ácido ferúlico (AF) es el ácido fenólico presente en mayor concentración, formando ácido ferúlico deshidrodímeros, trímeros. y tetrámeros, los cuales se han vinculado con beneficios a la salud. Por otro lado, Acosta-Estrada y col (2014) recuperaron sólidos del nejayote, con alto contenido de compuestos fenólicos, péptidos bioactivos y fibra y han sido utilizados como ingredientes de alimentos funcionales.

Contreras-Jácquez y col (2022) desarrollaron un sistema de membranas para separar compuestos del nejayote, tales como compuestos fenólicos y azúcares. Este sistema resultó eficaz para eliminar sólidos del nejayote de las aguas residuales, y así poder reutilizar esta agua. Además, resultó ser una tecnología adecuada para la separación y recuperación de

compuestos fenólicos (Contreras-Jácquez y col. 2022), mismos que se podrían utilizar para enriquecer alimentos.

Acosta-Estrada y col (2014) desarrollaron un pan compuesto con 9% de un aditivo alimentario el cual contenía 80% de sólidos de nejayote y 20% de gluten. Este aditivo no afectó el rendimiento general de horneado ni la calidad del pan, pero aumentó la fibra dietética en un 54 % en el pan. Además, el pan enriquecido contenía 745 veces más contenido de AF, aumentando hasta un 70% su capacidad antioxidante.

3 La tortilla como vehículo para la fortificación de micro y macronutrientes.

Las tortillas son ricas en carbohidratos, proteínas y calcio (Ca) biodisponible, el cual es considerado como uno de los minerales más relevantes en la nutrición humana (Serna-Saldivar, 2021).

Por su alto consumo, este alimento representa un excelente vehículo para el enriquecimiento de la dieta humana. En este sentido, se han propuesto varios enfoques para su enriquecimiento como la suplementación de macro y micronutrientes como proteína, fibra, vitaminas del complejo B, hierro, zinc y Se (Guardado-Félix y col. 2022) aumentando las propiedades saludables de la tortilla y la ingesta dietética de estos nutrientes.

Previamente documentamos un proceso escalable, factible, sostenible y asequible para producir tortillas de maíz enriquecidas con Se de alta calidad (0.651 $\mu\text{g Se/g bs}$), a partir de granos de maíz remojados primero con una solución de Na_2SeO_3 y luego germinados durante dos días. El tiempo de germinación se seleccionó con base en las características de textura de la tortilla (Guardado-Félix y col. 2022). Estas tortillas mostraron buena textura, sabor y aceptabilidad general. Además, el tiempo de cocción de la nixtamalización se redujo de 39.15 min a 8.42 min utilizando maíz germinado en comparación con sus homólogos no germinados. El estudio concluyó que el consumo de 250 g de tortillas enriquecidas con Se (0.651 $\mu\text{g Se/g, bs}$) proporciona el 100% de la recomendación diaria recomendada de este mineral esencial (Guardado-Félix y col. 2022).

D AMARANTO

1 Importancia económica y en la nutrición humana del amaranto

Dentro de los principales países productores de amaranto están China, India, Perú y México (FAOSTAT, 2021). Los principales estados productores de amaranto en México son Puebla y Tlaxcala (SAGARPA-SIAP, 2021).

El amaranto es un pseudocereal, los cuales son granos dicotiledóneos sin gluten y se consideran un sustituto de los cereales verdaderos (Thakur y col. 2021). Este pseudocereal, tiene una destacada composición nutricional que incluye un alto contenido de proteína (12%-17%), además es rica en aminoácidos azufrados (Márquez-Molina y López-Martínez, 2020). Por otro lado, tiene un alto contenido de aceite (6%-10%) (Bodroža-Solarov y col. 2022). En cuanto al contenido de vitaminas, este se limita a la presencia de B1, B2, B3 y E. Mientras que, en el contenido de minerales, es una excelente fuente de fósforo, calcio y hierro (Schmidt y col. 2021). También contiene fitoquímicos con alta actividad antioxidante, de los cuales los más abundantes son el ácido ferúlico, y la quercetina (Soriano-García y Aguirre-Díaz, 2020). Por su gran aporte nutricional, el amaranto se ha vinculado con muchos beneficios a la salud, tales como potencial antioxidante, hipocolesterolémico, antiinflamatorio, cardioprotectores, antidiabéticos, entre otros (Peter y Gandhi, 2017; Bodroža-Solarov y col. 2022).

Debido a su alto contenido de almidón, el amaranto se puede utilizar como otros cereales para la preparación de productos alimenticios de valor agregado (Thakur y col. 2021). Se ha demostrado que la harina de pseudocereales puede ser reemplazada por la de cereal para la preparación de productos alimenticios funcionales y sin gluten (Thakur y col. 2021).

La incorporación del amaranto en alimentos básicos como productos de panadería, galletas, pasta y/o extruidos podría ser una estrategia para la producción de alimentos funcionales (Bodroža-Solarov y col. 2022). Tobías-Espinoza y col (2019), desarrollaron extruidos con mezclas de amaranto (18.7%–229%), linaza (8.6%–9.3 %) y sémola de maíz (63.8%–67.3%) con

buenas propiedades fisicoquímicas y con alto contenido de proteínas (>12%) y alto contenido de fibra. De igual manera, Castellanos-Gallo y col (2019), elaboraron snacks con harina de amaranto (60%) y almidón de arroz (40%) con alto contenido de proteínas (10%) en comparación con snacks comerciales.

E OMEGA 3

Los omega-3 son ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) con más de un doble enlace en su cadena (Gammone y col. 2018). Entre los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (PUFA), el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6) son las dos formas bioactivas principales en humanos. Estos ácidos grasos se pueden sintetizar a partir del precursor, el ácido α -linolénico (ALA, C18:3). Sin embargo, la ruta de síntesis requiere varias reacciones químicas de elongación y desaturación, por lo que la conversión de las dos formas activas en los mamíferos es menos eficiente que la ingesta dietética. Por este motivo, se recomienda el consumo de alimentos con alto contenido en EPA y DHA (Costantini y col. 2017), como el arenque, salmón, la caballa y la sardina y el aceite de krill (Saini y col. 2018). Sin embargo, el consumo de estos alimentos suele ser muy bajo, el EPA y el DHA se pueden encontrar como suplementos nutricionales (Costantini y col. 2017).

1 Omega 3 en la nutrición y desarrollo infantil

Los ácidos grasos omega 3, son importantes a lo largo de la vida. Sin embargo, estos ácidos grasos son de suma importancia durante la infancia para tener un adecuado desarrollo y función cerebral (Roach y col. 2021). El EPA tiene propiedades antiinflamatorias y vasodilatadoras, reducen la coagulación de la sangre y aumentan el flujo sanguíneo. Este ácido graso es beneficioso para el cerebro ya que por la mejora de su flujo sanguíneo y la integridad de la barrera hematoencefálica (Roach y col. 2021). Por otro lado, El DHA, es esencial en el desarrollo del cerebro, desarrollo visual y neuronal

en la vida temprana (Djuricic y Calder, 2021). El DHA es un componente estructural de las células, en especial, se concentra en las células del sistema nervioso central, y particularmente, es un ácido graso importante en el cerebro (Gould y col. 2021).

Se ha reportado que la baja ingesta de los PUFA puede tener implicaciones en el comportamiento (Sinn, 2008). Los niveles bajos de PUFA en eritrocitos se han asociado con el trastorno por déficit por atención con hiperactividad (Bos y col. 2015). La ingesta suficiente de PUFA puede ser importante para apoyar el desarrollo de procesos conductuales/cognitivos. Previamente se ha reportado que la suplementación con PUFA ha resultado beneficioso para la memoria de trabajo, la cognición, la falta de atención y la hiperactividad en niños con déficit de atención (Widenhorn-Müller y col. 2014). Además, la ingesta de DHA podría reducir el riesgo de depresión, trastorno de bipolaridad y trastornos del estado de ánimo (Cardoso y col. 2018).

2 Alimentos enriquecidos con Omega 3

Algunos investigadores han buscado desarrollar alimentos enriquecidos con omega 3, como Álvarez y Lamas (2021) desarrollaron galletas con soya y arroz y enriquecidas con aceite de pescado encapsulado, rico en omega 3. Las galletas mostraron tener alto contenido de proteína (17%) y buena aceptabilidad, además se obtuvieron altas concentraciones de EPA y DHA. Benkhoud y col (2021) enriquecieron chips de trigo con alcachofa y aceite de pescado rico en omega 3. Este producto mejoró el perfil lipídico de los chips, al tener alto contenido de ácido linoleico, ácido linolénico, EPA y DHA, además su consumo en ratones con diabetes inducida (150 g/kg bs) redujo los niveles de triglicéridos y colesterol total.

F BOTANAS EXTRUIDAS

La industria alimentaria se ha enfocado en desarrollar snacks con alto valor nutricional, es decir, con aporte adecuado de proteínas, fibra y compuestos bioactivos. Sin embargo, para llevar a cabo este objetivo, es necesario la

modificación de los snacks, y adicionar nutrientes utilizando procesos convencionales de producción y, al mismo tiempo, lograr propiedades sensoriales atractivas, lo cual podría representar un gran desafío (Castellanos-Gallo y col. 2019). Una de las alternativas para la elaboración de snacks es la extrusión y ha sido utilizada para la incorporación de ingredientes en productos procesados (Tobias-Espinoza y col. 2019).

1 Extrusión como método para incrementar la biodisponibilidad de nutrientes

La cocción por extrusión es un proceso de altas temperaturas por un corto periodo de tiempo en donde el alimento está sujeto a temperatura, fuerzas de cizallamiento y compresión (Pasqualeno y col. 2020). Los principales efectos bioquímicos que provoca este proceso es la gelatinización del almidón, la desnaturalización de proteínas, la degradación de fibras, la formación de complejos de amilosa-lípidos, reacción de Maillard, desactivación parcial o completa de enzimas, desnaturalización de vitaminas e inactivación de factores anti nutricionales (Offiah y col. 2019; Ganjyal, 2020).

La gelatinización del almidón puede causar cierta degradación e influir en la digestibilidad del producto (Offiah y col. 2019). La funcionalidad del almidón puede influir en la humedad, la viscosidad, la textura o la consistencia y la vida útil del producto final (Offiah y col. 2019). Por otro lado, las proteínas sufren varios cambios durante la extrusión, siendo la desnaturalización la más importante (Steel y col. 2012). La desnaturalización origina menor solubilidad de las proteínas y mejora de la digestibilidad proteica (Steel y col. 2012). Los lípidos forman complejos de amilosa-lípido durante el proceso de extrusión, lo cual modifica las propiedades fisicoquímicas de los productos, incluida la expansión, la densidad aparente y el índice de solubilidad en agua (Offiah y col. 2019). La formación de dichos complejos depende de la naturaleza del almidón y los lípidos presentes en la formulación. Los niveles de lípidos por arriba del 5% pueden reducir significativamente la expansión del producto, especialmente por la gelatinización del almidón, mientras que, niveles por

debajo del 3% pueden no afectar la expansión considerablemente (Steel y col. 2012).

El proceso de extrusión se ha reportado como eficaz para reducir los niveles de factores anti nutricionales, tales como, ácido fítico, inhibidores de tripsina y taninos (Rathod y Annapure, 2016). Esto podría ser beneficioso, ya que puede mejorar la absorción de minerales (Steel y col. 2012). El contenido de vitaminas puede verse afectado por las altas temperaturas durante el proceso (Offiah y col. 2019).

2 Botanas extruidas en el mercado

Actualmente una larga variedad de cereales de desayuno y alimentos instantáneos son elaborados con esta tecnología (Shevkani y col. 2019), mismos que han tomado mucha importancia en la sociedad ya que brindan saciedad momentánea (Rivera-Mirón y col. 2020). Los alimentos más utilizados para la extrusión son granos de cereales los cuales tienen un alto contenido de almidón (Shevkani y col. 2019), el cual es necesario para lograr un producto con buena aceptación (Rivera-Mirón y col. 2020). Sin embargo, recientemente se han buscado alternativas para incrementar el valor nutricional de los productos extruidos y se han producido botanas con leguminosas añadidas (Alemayehu y col. 2019; Costantini y col. 2021). La adición de harinas de leguminosas puede mejorar el valor nutricional de los productos extruidos por su contenido de aminoácidos esenciales, fibra, proteínas y micronutrientes (Shevkani y col. 2019). Además, la extrusión es una técnica de cocción que reduce los niveles de antinutrientes de las leguminosas, como taninos, ácido fítico, inhibidores de tripsina, etc. Así como también, es capaz de incrementar la digestibilidad de almidón y proteínas (Pasqualone y col. 2020).

La mayoría de las botanas en el mercado están hechas de maíz y/o trigo, ambos ricos en almidón, y con alto contenido en azúcares para incrementar la palatabilidad. Asimismo, estas botanas son pobres a nivel nutricional, con alto contenido en carbohidratos, bajo contenido de proteínas y fibra. De acuerdo con la ENSANUT (2020), el consumo de alimentos

procesados, como botanas saladas, galletas, cereales de caja en niños se ha incrementado recientemente. Es por ello por lo que múltiples investigaciones (Shevkani y col. 2019; Altaf y col. 2020; Rivera-Mirón y col. 2020) se han enfocado en desarrollar botanas con gran aporte nutricional y propiedades nutraceuticas. En este sentido es importante brindar a los niños un alimento que les aporte proteínas de alto valor biológico, fibra, vitaminas, minerales y ácidos grasos esenciales, como son los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega 3, DHA y EPA.

IV OBJETIVO GENERAL

A OBJETIVOS GENERAL

Obtener alimentos funcionales a partir de maíz y garbanzo germinado con Se y evaluar sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas en modelos *in vitro* e *in vivo*.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Etapa 1

1. Obtener tortillas, nixtamal, y nejayote a partir de: 1) maíz sin germinar, 2) maíz germinado con Se y 3) maíz germinado sin Se.
2. Evaluar el perfil de minerales y contenido de Se en las muestras de maíz sin germinar y maíz germinado con y sin Se, así como en sus correspondientes productos: nixtamal, tortilla y nejayote.
3. Evaluar el contenido de ácido ferúlico libre y ligado en las muestras de maíz sin germinar y maíz germinado con y sin Se, así como en sus correspondientes productos: nixtamal, tortilla y nejayote.
4. Evaluar la actividad antioxidante celular en líneas Caco-2 de digeridos de las muestras de maíz sin germinar y maíz germinado con y sin Se, así como en sus correspondientes productos: nixtamal, tortilla y nejayote.
5. Evaluar la actividad antiinflamatoria en células RAW 264.7 de digeridos de las muestras de maíz sin germinar y maíz germinado con y sin Se, así como en sus correspondientes productos: nixtamal, tortilla y nejayote.

Etapa 2

1. Validar en un sistema *in vivo* el potencial anticancerígeno de una dieta con niveles supra nutricionales de Se contenido en harinas de garbanzo germinado en combinación con diferentes dosis de 5-FU a través del monitoreo del crecimiento tumoral usando un sistema iBOXScientia.

2. Evaluar el perfil lipídico en plasma sanguíneo (Triglicéridos, colesterol, colesterol-LDL y colesterol-HDL).
3. Evaluar la actividad enzimática de glutatión peroxidasa (GPX) y la tiorredoxina reductasa (TXNRD) en tejido hepático.

Etapas 3

1. Obtener botanas extruidas de harina de garbanzo germinado con Se, suplementada con harina de amaranto y omega 3.
2. Determinar la composición química (proteína, lípidos, cenizas, humedad y carbohidratos) de las harinas de garbanzo germinado con y sin Se y de las botanas obtenidas con el proceso de extrusión.
3. Determinar el contenido de Se en las botanas extruidas.
4. Evaluar la digestibilidad de proteína *in vitro* de las botanas extruidas.
5. Evaluar el perfil de ácidos grasos presentes en las botanas.

V MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

Se utilizaron granos de maíz (*Zea mays* L.) blanco Sinaloa, granos de garbanzo Kabuli (*Cicer arietinum* L.) blanco Sinaloa y semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). Todos los granos se limpiaron manualmente para eliminar impurezas, incluyendo daños quebrados y dañados. Una vez limpios, los granos se almacenaron a -20°C para su posterior uso.

B PRODUCCIÓN DE TORTILLA ENRIQUECIDA CON SELENIO

1 Germinación de maíz

Los granos de maíz se lavaron y desinfectaron para su posterior germinación a nivel industrial en la planta de alimentos, Alimentos Lee™© (Apodaca, Nuevo León, México). Los granos de maíz se hidrataron en una solución con Na₂SeO₃ (0 o 50 mg Na₂SeO₃/L) por 8 h. Posteriormente, los granos fueron germinados durante 48 h a 22 °C ± 1°C y 80% de humedad relativa. Inmediatamente después de la germinación, los granos de maíz germinadas fueron nixtamalizadas.

2 Nixtamalización y producción de tortilla

El proceso de producción de tortilla se muestra en la **Figura 2**. Los granos de maíz sin germinar y las germinadas con y sin Se se nixtamalizaron de acuerdo con la metodología reportada por Guardado-Félix y col (2022). Se preparó una solución de 9 L de agua y 1% de cal (30 g de hidróxido de calcio) para llevar a cabo la nixtamalización de tres kg de maíz sin germinar y de maíz germinado con y sin Se. El tiempo de nixtamalización del maíz sin germinar fue de 39.15 min a 95°C, mientras que los granos germinadas con y sin Se

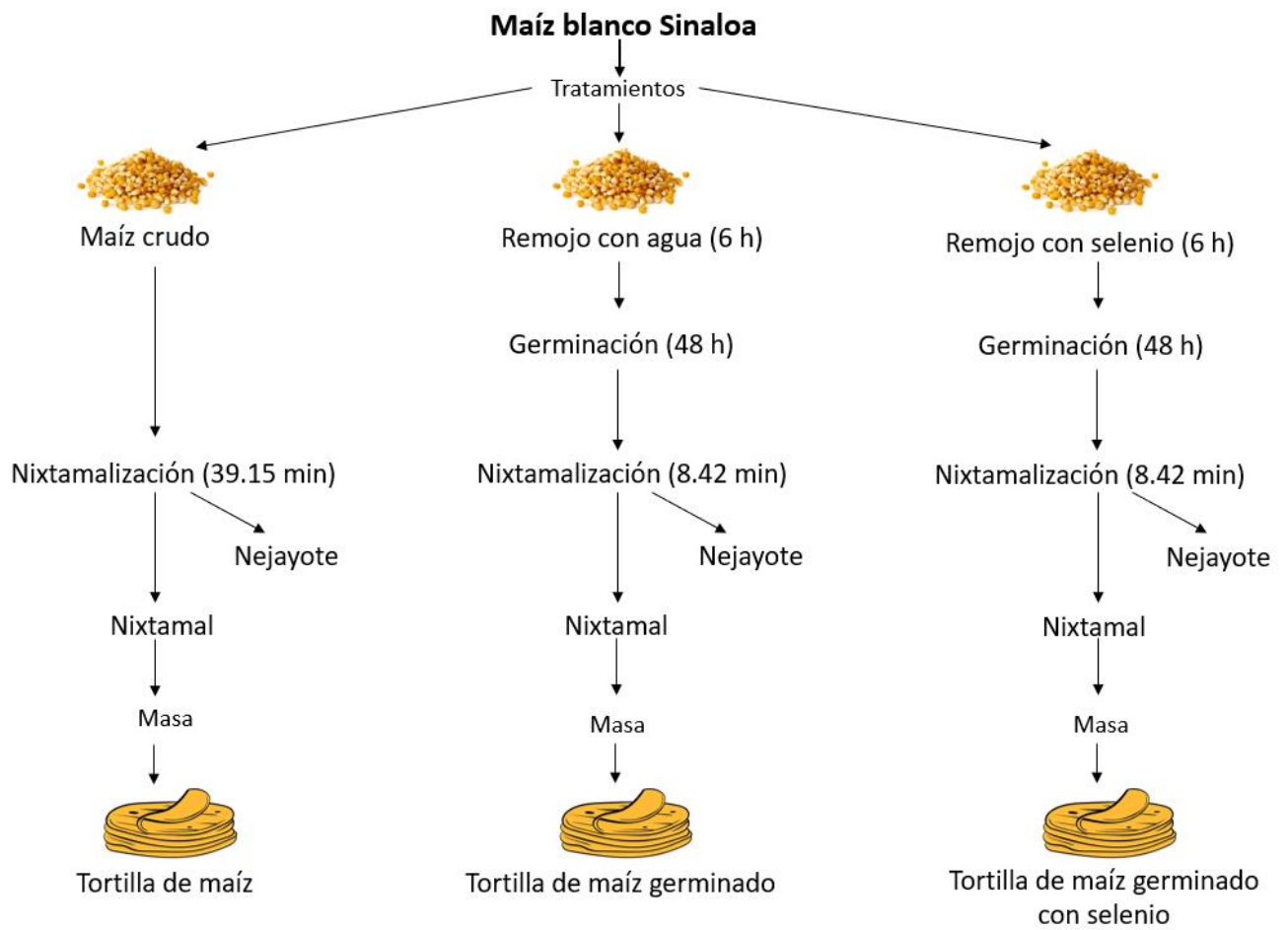


Figura 2. Proceso de elaboración de tortilla de diferentes tratamientos.

el tiempo de cocción fue de 8.42 min a 95°C. Después del cocimiento, todos los tratamientos se dejaron reposar por 16 h en la solución alcalina para obtener el nixtamal con aproximadamente 50% de humedad. El nixtamal obtenido fue lavado con agua tres veces. El agua de cocción conocida como nejayote fue recolectada para futuros análisis.

El nixtamal de todos los tratamientos fue molido en un molino de piedras para obtener la masa y posteriormente hacer las tortillas siguiendo la metodología descrita por Espinosa-Ramírez y col (2016). Se obtuvieron tortillas de maíz sin germinar, maíz germinado sin Se y de maíz germinado con Se. Muestras de nixtamal y de tortillas de los tres tratamientos (maíz crudo, maíz germinado con y sin Se) fueron secadas (Cabelas, Manitoba, Canadá) a 55 °C por 12 h para futuros análisis. Las muestras de nejayote fueron congeladas a 80°C y liofilizadas durante 72 h a -50 °C, y 0.036 mar (LABCONCO, Kansas City, Missouri). Todas las muestras fueron molidas en un molino para café (Hamilton Beach, Richmond, Virginia), y almacenadas en bolsas de plástico a -20°C. Se determinó la humedad de todas las muestras para expresar los resultados en base seca (bs).

3 Determinación de minerales

El contenido de minerales se determinó siguiendo lo reportado por Guardado-Félix y col (2017). La digestión ácida se realizó en un sistema de microondas, se mezcló 0.2 g de muestra con 4 mL de HNO₃ 77% (SCP science, Montréal, QC, Canada). La mezcla resultante fue digerida en un sistema de microondas cerrado (Mars 5 CEM, Matthews, NC, USA), con el siguiente programa: rampa de 15 min de temperatura ambiente a 180°C; se mantuvo a 180°C por 10 min, posteriormente la temperatura bajó a 50°C en 20 min. Después de la digestión, las muestras se ajustaron a 25 mL con agua desionizada doblemente, y pasados a viales de 20 mL para su almacenamiento a 4°C hasta sus análisis. El contenido de minerales después de la digestión ácida se midió usando Xseries 2 acoplado por inducción a un espectrofotómetro de plasma (ICP/MS) (Thermo scientific, Waltham, MA, USA) con un nebulizador concéntrico de vidrio tipo C (Meinhard, Golden, CO, USA). Para prevenir posibles

interferencias, se usó helio con 7% hidrógeno, y como estándares internos se usaron Ho y Tb. La intensidad del ion a una m/z 82 (^{82}Se) fue monitoreada usando un software de análisis. El contenido de sodio (Na), hierro (Fe), potasio (K), zinc (Zn), calcio (Ca), magnesio (Mg), manganeso (Mn), cobre (Cu), cromo (Cr), níquel (Ni), cobalto (Co), mercurio (Hg), plomo (Pb), cadmio (Cd) y Se se expresó como $\mu\text{g/g}$ de muestra en bs.

4 Extracción de compuestos fenólicos libres y ligados

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó siguiendo la metodología por Adom y Liu (2002) con algunas modificaciones. Para obtener los compuestos libres, 1 g de harina de todas las muestras se mezcló con 10 mL de etanol: agua (80:20 v/v) y se agitó (250 rpm) por 10 min. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 3000 g por 10 min a 4°C, el sobrenadante se recuperó al ser la fracción con los compuestos fenólicos libres, mientras que el pellet se utilizó para obtener los compuestos fenólicos ligados. La extracción se repitió una vez más. Los sobrenadantes se evaporaron (Genevac Rocket, Warminster, Pennsylvania) a 40°C por 7 h y almacenados a -20°C.

Subsecuentemente, el pellet obtenido se resuspendió en 20 mL de 2 M NaOH para la extracción de compuestos ligados. Las muestras se hidrolizaron en constante agitación a 250 rpm por 60 min a 25 °C. Posteriormente las muestras se acidificaron (pH 2) con HCl y centrifugaron a 3000 g por 10 min a 4°C. El pellet resultante se removió mientras que el sobrenadante se recolectó y se desgraso con hexano (1:1 v/v). Para remover el hexano las muestras fueron centrifugadas a 3000 g por 10 min a 4 °C. La solución desgrasada se mezcló con 10 mL de acetato de etilo (1:2 v/v) y centrifugó a las mismas condiciones, se recuperó el sobrenadante y la extracción se repitió cuatro veces más, se obtuvo un pool de sobrenadante. Las fracciones recuperadas fueron evaporadas y almacenadas a -20°C.

5 Cuantificación de ácido ferúlico por HPLC

Los extractos con compuestos libres y ligados se reconstituyeron en metanol: agua (50:50 v/v) para cuantificar ácido ferúlico por HPLC-UV (Agilent 1100,

Santa Clara, California) equipado con una columna de fase reversa Zorbax SB-Aq, 4.6 mm ID x 150 mm (3.5 μm). La medición se hizo a 320 nm para obtener los cromatogramas y se integraron por el Software HP-Agilent. La identificación de los picos de ácido ferúlico se basó en el tiempo de retención del estándar de AF (Sigma–Aldrich, St. Louis, Missouri). Los resultados se expresaron como mg de AF/100 g bs.

6 Simulación de digestión gastrointestinal *in vitro*

La fase oral se realizó con 5 g de muestra y se mezcló con una solución de α -amilasa (1500 U mL⁻¹) (Sigma–Aldrich, St. Louis, Missouri) por 2 min a 37°C en agitación constante (200 rpm). Posteriormente, para la fase gástrica, se ajustó el pH a 3.0 con 1 M HCl y se agregó pepsina (25 000 U mL⁻¹). Las muestras se incubaron por 2 h a 37°C y se mantuvieron en agitación constante (200 rpm). Finalmente, para la fase intestinal, el pH de la muestra se ajustó a 7.0 y se le agregó pancreatina (3 mg/mL) y sales biliares (8 mg/mL), se agitó por 2 h (200 rpm) a 37°C. Después de la simulación intestinal, las muestras se centrifugaron a 4500 g por 10 min a 4 °C para obtener el sobrenadante, los cuales fueron congelados y liofilizados para futuros análisis.

7 Actividad antioxidante celular (AAC)

El ensayo AAC se realizó siguiendo lo reportado por López-Barrios y col (2016). La concentración de las muestras se eligió de acuerdo con ensayos previos de citotoxicidad con una viabilidad por arriba de 95%. Para determinar la AAC, los extractos liofilizados (100 $\mu\text{g/mL}$) resultantes de la simulación gastrointestinal se evaluaron en células Caco-2. Los resultados se expresaron como porcentaje de AAC (%AAC).

8 Actividad antiinflamatoria *in vitro*

El potencial antiinflamatorio se evaluó de acuerdo con López-Barrios y col (2016). Los extractos liofilizados (50 $\mu\text{g/mL}$) obtenidos después de la simulación gastrointestinal se evaluaron en células RAW 264.7. Los

resultados se expresaron como porcentaje (%) de inhibición de la producción de óxido nítrico (ON).

9 Análisis estadístico

Las variables independientes en este estudio fueron el proceso de germinación y la concentración de Se (0 y 50 mg Na₂SeO₃/L (1:3 p/v)), las variables dependientes fueron minerales, contenido de AF, %AAC y %inhibición del ON. Los datos se sometieron a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey con un 95% de confianza, se utilizó el software JMP 13 del instituto SAS (Cary, Carolina del Norte). Los datos se reportaron como medias \pm desviaciones estándar de tres réplicas.

Etapas 2

C PRODUCCIÓN DE HARINA DE GARBANZO GERMINADO

1 Germinación

Los granos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) fueron germinados en Alimentos Lee, empresa en Apodaca, Nuevo León, México. Se utilizaron 10 kg de garbanzo blanco Sinaloa, tipo Kabuli, los cuales fueron hidratados por 6 h con 30 L de agua y 1.44 g Na₂SeO₃. La germinación se llevó a cabo por 48 h bajo las condiciones de la empresa. Una vez germinado, el garbanzo fue secado a 50°C/ 8 h y posteriormente se molió para obtener harina de garbanzo germinado con Se.

2 Determinación total de Se

La concentración total de Se en las harinas garbanzo germinado se determinó siguiendo lo reportado por Guardado-Félix y col (2017), descrito en el apartado V.B.3.

D ENSAYO *IN VIVO*

1 Cultivo celular

Células HT-29-RFP de adenocarcinoma colorrectal, fueron mantenidas en medio McCoy (Gibco, Grand Island, NY), suplementadas con 10% de suero bovino fetal, 100 U/mL de streptomicina y 100 U/mL de penicilina e incubadas a 37°C en una atmósfera que contuvo 5 % CO₂. Las células fueron subcultivadas cuando mostraron 90% de confluencia.

2 Preparación de las dietas para el estudio *in vivo*

Las dietas fueron formuladas con base a los requerimientos establecidos por el Instituto Americano de Nutrición para roedores de laboratorio (Dieta AIN-93). Las dietas experimentales fueron 3, la dieta estándar, AIN-93G, considerada como control y dos a partir de harinas de garbanzo germinado en presencia de Na₂SeO₃ y sin presencia de Na₂SeO₃. La dieta AIN-93G se formuló de acuerdo con los estándares descritos por el American Institute of Nutrition, descritos en el **Cuadro 2**. Para las dietas a base de harina de garbanzo germinado con y sin Na₂SeO₃, se utilizaron en un 30% de harina y el resto fue ajustado de acuerdo con la composición de la dieta AIN-93G. Los pellets fueron preparados manualmente, secados a 50°C por 6 horas y esterilizados a 121°C por 7 min.

Cuadro 2. Composición de las dietas experimentales

Ingredientes	Dietas experimentales		
	Control (AIN-93G)	Germinado sin Se	Germinado con Se
	g bs / 100 g dieta		
Harina de garbanzo germinado	0	30	30
Almidón ¹	39.7	20.95	20.95
Caseína ²	20.0	11.8	11.8
Maltodextrina ³	13.2	13.2	13.2
Sacarosa ⁴	10.0	10	10
Celulosa ⁵	5.0	4.04	4.04
Aceite ⁶	7.0	4.9	4.9
Minerales ⁷	3.5	3.5	0
Minerales libres de Se ⁸	0	0	3.5
Vitaminas ⁹	1.0	1.0	1.0
L-cisteína ¹⁰	0.3	0.3	0.3
Bitartrato de colina ¹¹	0.25	0.25	0.25
Terbutil Hidroquinona ¹²	0.0014	0.0014	0.0014
Total Se μ g/g dieta peso seco	0.15	0.15	2

1: Almidón PF1; 2: Caseína purificada; 3: Maltodextrina; 4: Azúcar Zulca; 5: Celulosa micro-cristalina; 6: Aceite de soya Nutrioli; 7: Mezcla de minerales AIN-76; 8: Mezcla de minerales libre de Se AIN-76; 9: Mezcla de vitaminas AIN-76; 10: L-Cisteína; 11: Colina birtartrato; 12: t-Butylhydroquinona.

3 Modelo animal xenoinjertado con células de cáncer de colon

El protocolo animal fue aprobado por el Comité Institucional para la Seguridad y Uso de Animales de Laboratorio de la Escuela de Medicina ITESM (folio 2020-002). Noventa y seis ratones macho inmunocomprometidos Nu / Nu, de edad de 6-8 semanas y peso de 19.9-22.5 g (UPEAL- CINVESTAV), se mantuvieron en condiciones libres de patógenos en cajas de vinil condicionadas con filtros de aire, con temperatura de 23 ± 1 °C, con ciclo de 12 h de luz y oscuridad. Los ratones fueron aclimatados por dos semanas, durante este periodo los ratones fueron alimentados con pellets comprimidos de dieta estándar AIN-93G. Durante todo el experimento los ratones fueron mantenidos con agua conteniendo sulfamethoxazole y trimethoprima (Bactrim) (Roche, México) a una concentración de 1 mg/mL y 0.2 mg/mL respectivamente. Después de la aclimatación los ratones fueron aleatoriamente divididos en 7 grupos (n=11), descritos en el **Cuadro 3** y asignados a cada una de las dietas experimentales descritas en el **Cuadro 2**. La estrategia experimental del protocolo *in vivo* se demuestra en la **Figura 3**.

Las dietas fueron provistas durante 63 días. Una vez por semana se registró el peso de los ratones y el alimento consumido. Se proporciono 50 g de alimento por semana a cada ratón y se cuantificó la cantidad de alimento consumido. Las dietas y el agua fueron cambiadas semanalmente. Ambas fueron esterilizadas y cuidadosamente colocadas en las cajas previamente esterilizadas. Las cajas (19x29x12 cm), así como la dieta AIN-93G, cama, agua y bebederos fueron esterilizados en conjunto en autoclave bajo las siguientes condiciones: 121°C, 15 psi, 15 min. Una vez esterilizadas, se mantuvieron con doble barrera. Los ratones se mantuvieron en condiciones de esterilidad en todo momento. Para el cambio de cajas, se contó con una caja estéril en la campana de recambio, previamente esterilizada. Al momento de manipular los ratones inmunodeficientes Nu / Nu el investigador porto gorra, cubrebocas, guantes, cubre zapatos y bata desechable en cada momento, mientras se encontraba dentro del cuarto limpio.

Cuadro 3. Tratamientos diseñados para estudiar la combinación de 5-FU con Se contenido en harinas garbanzo germinado en animales inmunocomprometidos con xenoinjertos de cáncer de colon. (n=11).

Grupo	Quimioterapéutico 5-FU mg/kg peso corporal	Selenio total (µg/g dieta en base seca)	Dieta
No-xenoinjertado	0	0.14	AIN-93G
Xenoinjertado	0	0.14	AIN-93G
Xenoinjertado	15	0.14	AIN-93G
Xenoinjertado	30	0.14	AIN-93G
Xenoinjertado	60	0.14	AIN-93G
Xenoinjertado	15	0.14	Harina de garbanzo germinado sin Se
Xenoinjertado	15	2.0	Harina de garbanzo germinado selenizado
Xenoinjertado	30	2.0	Harina de garbanzo germinado selenizado

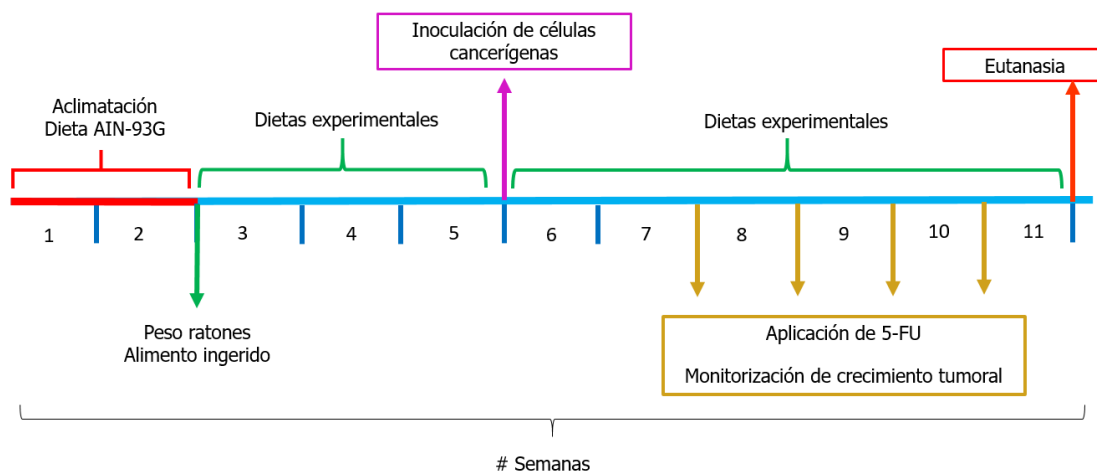


Figura 3. Estrategia experimental del protocolo *in vivo*.

a Bienestar animal

El bienestar animal se consiguió mediante el cumplimiento de los requerimientos fisiológicos (caja y cama adecuada, agua y alimento ad libitum) y psicológicos (enriquecimiento ambiental: túneles y/o columpios) para que el ratón tuviera una óptima calidad de vida durante el estudio. Además de dichos cuidados, si el animal presento anormalidades se determinó el punto final humanitario para evitar el sufrimiento, dolor y/o agobio del animal. Dichas anormalidades se detectaron por medio de los cambios de comportamiento del animal, así como también, cambios en los ojos, orejas, nariz, vibrisas y mejillas, tomando como referencia el código de las expresiones faciales de dolor en el ratón de laboratorio (Langford y col. 2010). Además, se tuvo en consideración los parámetros fisiológicos como temperatura corporal (35-39 °C), tipo de heces, respiración (84-280/min) y una pérdida de peso (\geq al 20% en un período de 2 semanas) en la estación fisiológica.

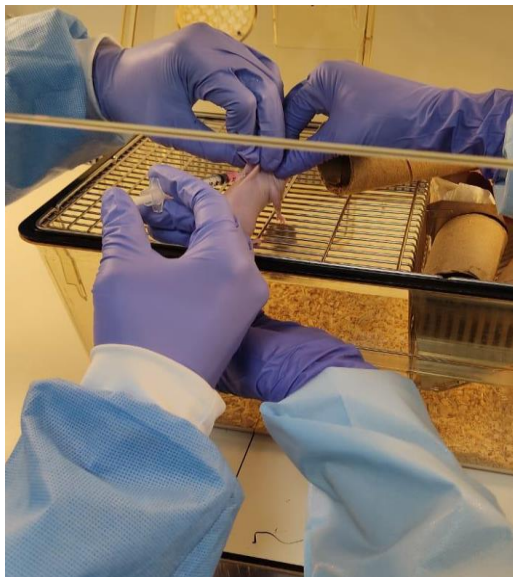
b Inoculación de células de cáncer de colon HT-29 RFP

Después de 21 días de alimentación con las dietas experimentales, los ratones fueron inoculados o xenoinjertados por inyección subcutánea en la parte dorsal con 1×10^6 células fluorescentes HT-29 RFP suspendidas en 200 μ L de medio McCoy (Gibco, Grand Island, NY) (**Figura 4a**). Se tomo al ratón y se colocó sobre la rejilla, se levantó la piel y se insertó la aguja, con cuidado de no inocular en capas inferiores a la piel. Se inyectó el volumen lentamente, al finalizar, se retiró la aguja y se presionó la piel para evitar la salida de fluidos.

c Monitorización del crecimiento tumoral

Siete días después de la inoculación, la velocidad de crecimiento tumoral fue monitoreado cada cuatro días usando un sistema de imágenes de animales iBOXScientia (UVP LLC, Upland, CA, USA) el cual, mide un área relativa del crecimiento

a)



b)



Figura 4. A) Inoculación de células HT-29 RFP en ratones inmunocomprometidos Nu/Nu. B) Quimioterapia con 5-FU.

tumoral usando el software ImageJ. Las células HT-29 RFP (Red Fluorescent Protein) emitirán fluorescencia a través de la proteína rojo fluorescente, lo que permite observar su crecimiento y proliferación. Los ratones fueron anestesiados con sevoflurano (Inducción 3.5%; Mantenimiento 3%) para permitir la lectura dentro del equipo iBOXScientia.

d Modelado del crecimiento tumoral

Los datos del volumen del tumor se utilizaron para modelar el crecimiento tumoral ajustando los valores a la función de Gompertz en Python Software®. la función contiene cuatro parámetros, y el modelo se puede expresar como:

$$W(t)=B+(A-B) \exp\left\{\frac{1}{kG}\left(-\exp\left\{\frac{1}{kG}\left(-kG(t-T_i)\right)\right\}\right)\right\}$$

Donde, A es la asíntota superior, B la asíntota inferior, kG el coeficiente de la tasa de crecimiento, T_i un parámetro que desplaza la curva de crecimiento horizontalmente llamado punto de inflexión. Cada unidad experimental fue modelada y los parámetros A, kG y T_i fueron obtenidos individualmente, y las medias y desviaciones estándar se calcularon con aquellos que estaban en el rango de tiempo de observación.

e Quimioterapia con 5-Fluorouracilo

Los grupos con tratamiento con 5-FU después de dos semanas de ser inoculados, fueron inyectados con 5-FU en una solución salina fisiológica, intraperitonealmente (**Figura 4b**) durante las semanas 7, 8, 9 y 10 (cada 7 días) con dosis de 15, 30 o 60 mg/kg de peso corporal.

f Eutanasia

Los animales fueron sacrificados después de 42 días de la inoculación de las células cancerígenas. Todos los animales se anestesiaron con sevoflurano y sacrificados por punción cardiaca para recolectar la mayor cantidad de sangre. La sangre se recolectó en tubos conteniendo K₂EDTA como anticoagulante. La sangre se centrifugó a 3000 rpm / 15 min a 20°C para

obtener el sobrenadante (suero) e inmediatamente se almacenó a -4°C para posteriores análisis.

4 Parámetros bioquímicos

La concentración de triglicéridos en plasma, colesterol total, colesterol-LDL y colesterol-HDL fueron analizados con el equipo Cobas 111 (Roche, Basilea, Switzerland).

5 Determinación de las actividades de GPX y TXNRD

Las actividades de GPX y TXNRD fueron medidas con los kits GPx MTP (ALPCO, Bensheim, Germany) y TXNRD colorimétrico (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI), respectivamente. Los reactivos requeridos fueron preparados de acuerdo con el manual proporcionado por los kits. Se cuantificó el contenido de proteína por el método BCA (Thermo Scientific, Rockford, IL) de acuerdo con las instrucciones proporcionadas. Las unidades de actividad enzimática de GPX fueron definidas como la actividad que causa la formación de 1 mmol de NADPH+ de NADPH por min a pH 8 y 25 °C en una reacción acoplada en presencia de glutatión reducida, glutatión reductasa y ter-butil hidroperóxido.

Las unidades enzimáticas de TXNRD fueron definidas como la producción de NADPH-dependientes de 2 μmol de 2-nitro-5thiobenzoato por min a 22°C. Ambas actividades enzimáticas fueron expresadas como miligramos de proteína contenida en el sobrenadante.

6 Análisis estadísticos

Todas las mediciones fueron hechas en las 11 observaciones de cada tratamiento (n=11) y los resultados fueron expresados como promedio ± error estándar (ES). Los análisis estadísticos fueron realizados por el software JMP- versión 12 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Los datos fueron analizados por un ANOVA y comparación de medias con la prueba Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Etapa 3

E BOTANAS DE AMARANTO Y GARBANZO GERMINADO CON SELENIO ENRIQUECIDAS CON OMEGA 3

1 Germinación de garbanzo

Los granos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) fueron germinados en la empresa Alimentos Lee, ubicada en el municipio de Apodaca, Nuevo León, México. Se utilizaron 6 kg de garbanzo blanco Sinaloa, tipo Kabuli, los cuales fueron hidratados en una solución con Na₂SeO₃ (0 ó 94 mg Na₂SeO₃/L) por 6 h con 18 L de agua. La germinación se llevó a cabo por 48 h bajo las condiciones de la empresa. Una vez germinado, el garbanzo fue secado a 50°C/ 8 h y posteriormente fue molido para la obtención de harina de garbanzo germinado con Se.

2 Acondicionamiento de harinas

Se realizaron 6 tratamientos para elaborar las botanas enriquecidas con omega 3 (**Cuadro 4**). Las harinas de amaranto y harina de garbanzo germinado con y sin Se, se mezclaron para obtener lotes de 200 g cada uno. Estos lotes se acondicionaron con agua purificada para alcanzar humedad del 20% y se les agregó aceite de hígado de Bacalao, LYSI (Islandia), 1 mL de este aceite contiene 216 mg de omega 3, entre ellos, 69 mg de EPA y 92 mg de DHA. A los lotes de 200 g, se les agregaron 3.7 mL de aceite, con el objetivo de cumplir con el 100% de los requerimientos diarios recomendados

Cuadro 4. Tratamientos para la elaboración de botanas enriquecidas con omega 3.

Tratamientos (GC: GSe: AM)	Harina de amaranto (%)	Harina de garbanzo control (%)	Harina de garbanzo con Se (%)
0:0:100	100	0	0
35.5:4.5:60	60	35.5	4.5
30:0:70	70	30	0
0:30:70	70	0	30
40:0:60	60	40	0
0:40:60	60	0	40

GC= garbanzo control; GSe: garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

de omega 3 en edad infantil. Las harinas acondicionadas con agua y aceite se pasaron por un tamiz (1.3 mm) y se guardaron en bolsas de polietileno. Posteriormente, fueron almacenadas a 4°C por 24 h para posteriormente llevarlas a extrusión.

3 Extrusión

La extrusión se llevó a cabo en un extrusor de laboratorio de un solo tornillo Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc., NJ, EU) equipado con un tornillo de 19 mm de diámetro, 20:1 de longitud/diámetro, relación de compresión nominal de 3:1 y abertura de troquel 3 mm. Las condiciones de extrusión para obtener botanas enriquecidas con omega 3 se basaron en lo reportado por Espinoza-Moreno y col (2016), se utilizó una temperatura de cilindro de 150°C y velocidad de tornillo de 240 rpm. Las botanas se secaron a 50°C por 10 min y se almacenaron en bolsas de aluminio a 4°C.

4 Composición química

Se determinó de acuerdo con métodos oficiales de AOAC (1999), se cuantificó la proteína cruda, grasa cruda, cenizas y humedad a las harinas de las botanas obtenidas.

a Proteína

Se utilizó el método 46.12, micro Kjeldahl, de la AOAC (1999) para la determinación de nitrógeno en un equipo Micro Kjeldahl (Labconco, Kansas City, EU). Se digirieron 20 mg de harina con 3 mL de ácido sulfúrico a una temperatura de 200°C. En la destilación de la muestra, la cual se diluyó con 10 mL de agua destilada, se emplearon disoluciones de NaOH al 40% y para recibir el destilado se utilizó ácido bórico al 4% e indicador. Posteriormente la muestra destilada fue titulada con HCl 0.1 N. Posteriormente, la proteína cruda se calculó por multiplicación del contenido de nitrógeno total por el factor 5.85.

b Lípidos

Se determinó de acuerdo con el método 920.39 de la AOAC (1999). Se utilizaron 2 g de harina. Se utilizó el equipo soxhlet, el proceso duró 4 h y se usó éter de petróleo como solvente.

c Cenizas

Se utilizó el método de la AOAC (1999). Se pesaron 1 a 2 g de muestra, la cual fue colocada en un crisol de porcelana, y se sometieron a incineración en mufla a 550°C por 24 h. El contenido de cenizas se calculó por diferencia. La prueba se realizó por triplicado.

d Humedad

Se realizó siguiendo la metodología de la AOAC (1999). Se utilizaron charolas de aluminio, las cuales se calentaron a 100°C por 24 h, al finalizar, las charolas se pesaron y se agregaron 2 g de muestra, mismas que se calentaron a 100°C por 24 h en una estufa con circulación de aire. Posteriormente las muestras se pesaron y el contenido de humedad se determinó con base a la pérdida de peso.

e Carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia con la siguiente ecuación:

$$\% \text{Carbohidratos} = 100 - (\% \text{Humedad} + \% \text{Proteína} + \% \text{Cenizas} + \% \text{Lípidos})$$

f Determinación de energía

El contenido de energía bruta se determinó mediante el cálculo de los contenidos de grasa bruta, carbohidratos y proteína bruta utilizando los factores de conversión de Atwater; La expresión matemática es la siguiente:

$$\text{Energía} = (4\text{kCal/g} \cdot \text{Proteína}) + (9\text{kCal/g} \cdot \text{Lípidos}) + (4\text{kCal/g} \cdot \text{Carbohidratos})$$

5 Determinación de Se

La concentración total de Se en las harinas garbanzo germinado, harina de amaranto y tratamientos de botanas antes y después de la extrusión, se determinó siguiendo lo reportado por Guardado-Félix y col (2017), descrito en el apartado V.B.3.

6 Digestibilidad de proteína *in vitro*

La digestibilidad de proteína *in vitro* (DPIV) de las botanas extruidas se determinó siguiendo la metodología de Wang y col (2019), basado en la metodología reportada por Hsu y col (1977). Se preparo una solución multienzimática de tripsina (16 mg), quimiotripsina (31 mg) y proteasa (13 mg) en 5 mL de agua destilada, se mezcló y se ajustó el pH a 8.0 y se mantuvo en refrigeración hasta el momento de uso. Se peso de harina lo equivalente a 312.5 mg de proteína, se rehidrato con agua (50 mL), se agito (85 rpm) por una hora a 37°C. Al finalizar, el pH fue ajustado a 8.0 con NaOH/HCl 0.1 M. Posteriormente, se le añadió la solución multienzimática preparada anteriormente y se registró el pH, se dejó en agitación por 10 min y al finalizar este tiempo se registró el pH. El cambio de pH a los 10 min de agitación (ΔpH 10 min) se utilizó para calcular el porcentaje de DPIV de las muestras con la siguiente ecuación:

$$\% \text{DPIV} = 65.66 + 18.10 (\Delta\text{pH } 10 \text{ min})$$

7 Extracción de aceite

Las botanas fueron molidas en un molino para café para posteriormente llevar a cabo la extracción de aceite. Se utilizó el equipo soxhlet y hexano como solvente. Se utilizaron 50 g de muestra, 200 mL de hexano, el proceso duró 4 horas. El aceite extraído se concentró por 8 h (Thermo Scientific Savant SpeedVac) para eliminar restos de solvente.

8 Perfil de ácidos grasos

La composición de los ácidos grasos se determinó a través de la derivatización de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES). Los FAMES de los extractos

se prepararon mezclando 0.01 g – 0.03 g de los extractos con 1 mL del estándar interno (ácido undecanoico 5000 mg/L en hexano/acetona 80:20 v/v) y 1 mL de metano/ácido sulfúrico (93:7 v/v). Estas mezclas se mantuvieron a 80°C en baño maría por 60 min y se dejaron enfriar. Posteriormente se agregaron 2 mL de hexano y las muestras se mezclaron y se formaron dos fases. Los sobrenadantes formados se pasaron a un tubo de 5 mL y la extracción de la fase polar con hexano se repitió dos veces más.

Se tomó una alícuota de 1 µL de los extractos derivatizados y se inyectó automáticamente a un cromatógrafo de gases (CG) Clauros de Perkin Elmer y espectrómetro de masas. La GC se realizó en una columna capilar TG-5 MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm) con helio como gas portador a un caudal de 1 ml/min. La temperatura inicial del horno fue 70°C por 2 min, después se incrementó 10°C/min hasta llegar a los 200°C y se mantuvo por 5 min. La segunda rampa subió 15°C/min hasta 310°C y se mantuvo por 5 min. El tiempo total de corrida fue de 32.33 min. Las temperaturas del inyector y del detector fueron 265°C y 200°C, respectivamente. Los parámetros para el análisis de espectrometría de masas con fuente de iones EI, fueron energía de electrones 70 eV, temperatura de cuadrupolos 150 °C, temperatura de interfaz 200 °C, m/z = 30–550 uma. Los cromatogramas de los compuestos se obtuvieron con el software TurboMass 6.1.1.2019. Los picos de ácidos grasos se identificaron de acuerdo con lo publicado en la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) (Versión de la biblioteca: biblioteca informática MS 2.0). Sólo los valores de correlación por encima del 85% fueron considerados. El pico correspondiente al ácido undecanoico fue identificado por el tiempo de retención del estándar y confirmado por los espectros de masas en la biblioteca NIST. Las concentraciones de ácidos grasos individuales se expresaron como porcentaje (%) de la cantidad total de lípidos en las muestras.

9 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey con un 95% de confianza, se utilizó el software JMP 13 del instituto SAS (Cary, Carolina del Norte). Los datos se reportaron como medias \pm desviaciones estándar de tres réplicas.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa 1

A PRODUCCIÓN DE TORTILLA ENRIQUECIDA CON SELENIO

1 Contenido de minerales

En el **Cuadro 5** se muestra el contenido de minerales de cada una de las muestras. De acuerdo con el contenido total de minerales, el K fue el más abundante en maíz crudo y maíz germinado con y sin Se (74.4%, 95.3% y 58.5%, respectivamente). El segundo mineral más abundante fue el Mg con 20.3%, 21.1% y 27.6% de la composición mineral total del maíz crudo y maíz germinado con y sin Se. El tercer mineral más abundante fue el Ca con alrededor de 3.3 %, 1.1 % y 9.6 % del total de minerales del maíz crudo y maíz germinado con y sin Se. En relación con los maíces germinados sin y con Se, se observó un aumento de Na (3.2- y 2.5-veces, respectivamente), Ca (2.8- y 2.5-veces, respectivamente), Fe (1.5- y 1.2-veces, respectivamente), Zn (1.3- y 1.2-veces, respectivamente) y Mg (1.2- y 1.1-veces, respectivamente) en comparación con los granos de maíz crudo.

Se ha documentado que después de la germinación de granos de lino, el contenido de Fe aumentó hasta 99.05%, de Mn 37.27% y de Zn 50.53 % (Kajla y col. 2017). Los autores relacionaron este aumento con la hidrólisis de compuestos orgánicos complejos por enzimas endógenas que liberaron más nutrientes durante el proceso de germinación (Kajla y col. 2017). Khatoon y Prakash (2006) reportaron un incremento de Fe después de la germinación de frijol mungo, garbanzo y frijol verde, el cual aumentó 75,47%, 34,24% y 21,21% respectivamente, en comparación con los granos no germinados. Estos resultados se relacionaron con la hidrólisis del Fe ligado a las proteínas durante la germinación (Khatoon y Prakash., 2006).

Cuadro 5. Contenido de minerales ($\mu\text{g/g}$ de muestra, bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados: nixtamal, nejayote y tortilla.

Tratamientos	Minerales				
	Na	Fe	Zn	K	Ca
<i>Maíz sin germinar</i>					
Maíz crudo	46.71 \pm 1.8 ^d	14.7 \pm 0.6 ^b	14.09 \pm 0.7 ^{abcde}	3265 \pm 142 ^{ab}	146.19 \pm 3.4 ^c
Nixtamal	29.87 \pm 2.4 ^d	14.2 \pm 0.3 ^b	17.5 \pm 2 ^{abc}	2495.5 \pm 93.3 ^{cdef}	2018.39 \pm 35.3 ^c
Nejayote	232.96 \pm 0 ^c	19.1 \pm 0 ^b	9.51 \pm 0 ^e	1909 \pm 0 ^g	70774.76 \pm 0 ^b
Tortilla	27.97 \pm 0.6 ^d	14 \pm 0.4 ^b	18.8 \pm 1 ^{ab}	2512.17 \pm 8.8 ^{cdef}	2389.3 \pm 122 ^c
<i>Maíz germinado sin Se</i>					
Maíz germinado	152.4 \pm 15.6 ^{cd}	22.8 \pm 1.7 ^b	19.7 \pm 1 ^a	3491.4 \pm 141.2 ^a	412.31 \pm 37.1 ^c
Nixtamal	169.02 \pm 7.3 ^{cd}	19.8 \pm 0.1 ^b	15.5 \pm 1 ^{abcd}	2887.5 \pm 131 ^{bc}	2300.21 \pm 173.1 ^c
Nejayote	1898.12 \pm 77.6 ^a	89.2 \pm 15 ^a	12 \pm 2 ^{cde}	2396.78 \pm 61.3 ^{cdefg}	120191.86 \pm 5288 ^a
Tortilla	150.86 \pm 10.6 ^{cd}	33.3 \pm 0.6 ^b	15.7 \pm 2 ^{abcd}	2852 \pm 139.2 ^{bcd}	2258.47 \pm 123.3 ^c
<i>Maíz germinado con Se</i>					
Maíz germinado	118.52 \pm 5 ^{cd}	17.9 \pm 0 ^b	18.3 \pm 1 ^{ab}	2233 \pm 188.2 ^{efg}	367.75 \pm 13.2 ^c
Nixtamal	144.89 \pm 4.2 ^{cd}	17 \pm 2.1 ^b	13.7 \pm 2 ^{bcde}	2356 \pm 169 ^{defg}	2291.44 \pm 161.5 ^c
Nejayote	1679.42 \pm 127.6 ^b	71.4 \pm 11 ^a	10.5 \pm 2 ^{de}	2723.9 \pm 85.3 ^{cde}	124098.32 \pm 3464 ^a
Tortilla	136.13 \pm 0.2 ^{cd}	25.5 \pm 1.1 ^b	13.6 \pm 0 ^{bcde}	2156 \pm 167 ^{fg}	2352.71 \pm 6.2 ^c

ND: No detectado. Los valores son las medias \pm desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Cuadro 5. Contenido de minerales ($\mu\text{g/g}$ de muestra, bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados: nixtamal, nejayote y tortilla.

Tratamientos	Minerales				
	Ni	Co	Hg	Pb	Cd
<i>Maíz sin germinar</i>					
Maíz crudo	0.17 ± 0 ^{de}	ND	0.1 ± 0 ^c	0.07 ± 0 ^d	ND
Nixtamal	0.14 ± 0 ^e	ND	ND	0.06 ± 0 ^d	ND
Nejayote	0.76 ± 0 ^c	ND	0.12 ± 0 ^{bc}	0.14 ± 0 ^{cd}	ND
Tortilla	0.15 ± 0 ^{de}	ND	0.16 ± 0 ^{abc}	0.08 ± 0 ^d	ND
<i>Maíz germinado sin Se</i>					
Maíz germinado	0.32 ± 0 ^d	ND	1.24 ± 1 ^a	0.25 ± 0 ^{bcd}	ND
Nixtamal	0.23 ± 0.1 ^{de}	ND	0.21 ± 0 ^{abc}	1.65 ± 1.9 ^{bcd}	ND
Nejayote	1.18 ± 0 ^a	0.13 ± 0 ^a	0.24 ± 0 ^{abc}	1.12 ± 0 ^a	ND
Tortilla	0.7 ± 0.6 ^{de}	ND	0.54 ± 0 ^{ab}	0.46 ± 0.2 ^{bc}	ND
<i>Maíz germinado con Se</i>					
Maíz germinado	0.23 ± 0 ^{de}	ND	0.06 ± 0 ^c	0.08 ± 0 ^d	ND
Nixtamal	0.1 ± 0 ^e	ND	0.06 ± 0 ^c	0.8 ± 0 ^d	ND
Nejayote	0.99 ± 0 ^b	0.12 ± 0 ^a	0.09 ± 0 ^c	0.63 ± 0.1 ^b	ND
Tortilla	0.15 ± 0 ^{de}	ND	0.06 ± 4 ^c	0.35 ± 0.1 ^{bcd}	ND

ND: No detectado. Los valores son las medias \pm desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Cuadro 5. Contenido de minerales ($\mu\text{g/g}$ de muestra, bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados: nixtamal, nejayote y tortilla.

Tratamientos	Minerales				
	Mg	Mn	Cu	Cr	Se
<i>Maíz sin germinar</i>					
Maíz crudo	893.30 \pm 34.9 ^{bc}	3.98 \pm 1.7 ^b	1.18 \pm 0 ^c	0.32 \pm 0 ^{bc}	ND
Nixtamal	926.95 \pm 7.5 ^{bc}	4.13 \pm 0.1 ^b	1.2 \pm 0 ^c	0.28 \pm 0 ^{cd}	ND
Nejayote	495.32 \pm 0 ^c	5.82 \pm 0 ^b	2.86 \pm 0 ^c	0.61 \pm 0 ^a	ND
Tortilla	923.81 \pm 23 ^{bc}	4.01 \pm 0 ^b	1.18 \pm 0 ^c	0.31 \pm 0 ^c	ND
<i>Maíz germinado sin Se</i>					
Maíz germinado	1098.86 \pm 31.1 ^b	4.95 \pm 0.1 ^b	2.28 \pm 0 ^c	0.25 \pm 0 ^{bc}	ND
Nixtamal	1128.26 \pm 34.8 ^b	4.41 \pm 0.2 ^b	1.82 \pm 0 ^c	0.31 \pm 0 ^c	ND
Nejayote	2333.2 \pm 350.1 ^a	9.82 \pm 1.3 ^a	17.4 \pm 2 ^a	0.61 \pm 0.1 ^a	0.4 \pm 0 ^c
Tortilla	941.69 \pm 22.4 ^{bc}	3.92 \pm 0.1 ^b	2.47 \pm 0 ^c	0.56 \pm 0.1 ^{ab}	ND
<i>Maíz germinado con Se</i>					
Maíz germinado	1052.94 \pm 17.2 ^b	4.71 \pm 0.1 ^b	1.83 \pm 0 ^c	0.05 \pm 3.5 ^d	2.87 \pm 0.3 ^b
Nixtamal	1062.93 \pm 120.3 ^b	4.07 \pm 0.4 ^b	1.23 \pm 0 ^c	0.06 \pm 0 ^d	0.86 \pm 0 ^c
Nejayote	2430.05 \pm 250 ^a	9.93 \pm 1.7 ^a	11 \pm 2 ^b	0.37 \pm 0 ^{abc}	9.32 \pm 1 ^a
Tortilla	997.82 \pm 4.3 ^{bc}	3.95 \pm 0 ^b	1.6 \pm 0 ^c	0.17 \pm 0 ^{cd}	0.76 \pm 0 ^c

ND: No detectado. Los valores son las medias \pm desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Asimismo, la quinoa negra germinada contenía contenidos más altos de Mg y K, y la quinoa blanca germinada tenía contenidos más altos de Fe y Ca (Bhinder y col. 2021). De manera similar, Mihafu y col (2017) reportaron un aumento del 50% de Fe en maíz germinado después de 72 h. Además, se ha reportado el aumento del contenido de Mg en granos germinados, tales como mijo de corral y kodo, y maní bambara en 11.5%, 11.2% y 7.3 %, respectivamente (Sharma y col. 2016; Sharma y col. 2017; Chinma y col. 2021). Demir y Bilgicli (2020) reportaron que las pérdidas de materia seca normalmente ocurren durante la germinación atribuidas principalmente a la degradación de carbohidratos y lípidos y que estas pérdidas aumentan la concentración de minerales.

No se detectó Se en granos de maíz crudos y germinados sin Se, mientras que en granos remojados con 50 mg $\text{Na}_2\text{SeO}_3/\text{L}$ y posteriormente germinados, la concentración de Se alcanzó niveles de 2.87 $\mu\text{g/g}$ (bs). Guardado-Félix y col (2022) observaron un contenido de Se de 0.722 $\mu\text{g/g}$ (bs) en maíz germinado tratado con 24 mg de $\text{Na}_2\text{SeO}_3/\text{L}$ en el agua de remojo a escala de laboratorio. De acuerdo con estos resultados, se observó que la preparación de agua de remojo con aproximadamente el doble de la concentración de Na_2SeO_3 aumentó tres veces más la acumulación de Se en los granos germinados (Guardado-Félix y col. 2022). Se informa que el Se se acumula principalmente en proteínas porque es capaz de intercalarse con el azufre (Schiavon & Pilo-Smits, 2017). Los aminoácidos selenometionina y selenocisteína son las principales formas orgánicas identificadas en los alimentos fortificados con Se (Dong y col. 2021).

Se puede notar que la nixtamalización no afectó significativamente el contenido de minerales (**Cuadro 5**). El Ca fue el segundo mineral más abundante en todos los tratamientos de nixtamal, y el aumento notorio se debe al uso de hidróxido de calcio durante el proceso de nixtamalización (Odukova y col. 2022). El contenido de Ca aumentó 13.8, 5.6 y 6.2 en nixtamal de maíz crudo, de maíz germinado sin Se y en maíz germinado con Se en comparación con los granos crudos, respectivamente. Estos valores representan el 36.6%,

35.2% y 38.8% del contenido total de minerales. Mora-Avilés y col (2007) informaron un aumento del contenido de Ca en maíz de calidad proteica y maíz regular de 17 y 11 veces, respectivamente, después del proceso de nixtamalización.

El 70% del Se contenido en el maíz germinado enriquecido con Se se lixivió al nejayote. Este efecto podría atribuirse a la concentración de Na_2SeO_3 en el pericarpio y tejidos germinales que generalmente se pierden parcialmente durante la nixtamalización y el lavado con nixtamal. Además, la pérdida significativa se puede atribuir a la solubilización de formas inorgánicas, como el selenito y el selenato en el nejayote, principalmente el Se que no estaba unido a las estructuras proteicas del maíz (Funes-Collado y col. 2015). Además, se sabe que las altas temperaturas de cocción pueden provocar la pérdida de compuestos volátiles de Se como el dimetilselenuro o el dimetildiselenuro (Dong y col. 2021).

Por otro lado, el nejayote obtuvo altas cantidades de Ca ($p < 0.05$) en comparación con los otros productos, contribuyendo con 78.0%, 94.6% y 79.7% del contenido total de minerales en muestras después de procesar maíz crudo, maíz germinado y maíz germinado con Se, respectivamente (**Cuadro 5**). Además, el contenido de Mg en el nejayote de ambos tratamientos germinados aumentó 4 veces en comparación con la muestra obtenida de maíz crudo. Esto indica una mayor solubilización de Mg en el nejayote obtenido después de la nixtamalización de los germinados y otros tratamientos. Se ha informado que, durante la germinación de otros granos como el trigo, hay un aumento en el metabolismo, movilización y distribución de Mg (Pongrac y col. 2016). Por lo tanto, de acuerdo con los resultados aquí obtenidos, es posible que formas más solubles de Mg del maíz germinado se pudo haber lixiviado hacia el nejayote durante la nixtamalización. Sin embargo, se deben realizar más estudios para probar esto.

Adicionalmente, se encontraron cantidades significativas de Se en el nejayote obtenido luego de la nixtamalización de ambas muestras de maíz germinado. Sin embargo, el nejayote obtenido de maíz germinado con Se

presentó la mayor concentración ($p < 0.05$) debido al Na_2SeO_3 suplementado durante la germinación.

En cuanto a las tortillas, el K, Ca y Mg representaron 42.6%, 40.5% y 15.6% del contenido total de minerales en tortillas de maíz crudo, mientras que en tortillas de maíz germinado fueron 45.5%, 36.07% y 15.04%, y en tortillas obtenidas de maíz germinado con Se 37.9%, 41.3% y 17.5%. Los contenidos de Ca de todas las tortillas oscilaron entre 2258.4 y 2389.3 $\mu\text{g/g}$ bs. Mora-Avilés y col (2007) reportaron contenidos similares de Ca de 2990 y 2310 mg/kg en tortillas elaboradas con maíz QPM y maíz regular. Por esta razón, la tortilla es considerada como una excelente fuente de Ca en la dieta mexicana.

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el perfil de minerales de los tres tratamientos de nixtamal y sus respectivas tortillas. Estos resultados podrían indicar que la temperatura de cocción de la tortilla no impactó negativamente en el contenido mineral. Según las recomendaciones del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos, 6 tortillas enriquecidas con Se pueden aportar alrededor del 9.6% de Fe, 12% de Ca, 6.8% de Zn, 24% de Mg, 70.3% de Se de la ingesta diaria recomendada para adultos (NIH, 2019; NIH, 2022; NIH, 2021; NIH, 2022; NIH, 2020).

2 Contenido de AF libre y ligado

El contenido de AF se evaluó en maíz crudo y germinado con y sin Se y sus respectivos productos, nixtamal, nejayote y tortilla (**Cuadro 6**). El contenido de AF ligado fue mayor en todos los tipos de muestras analizadas con respecto al contenido de AF libre. Aproximadamente el 80% de los compuestos fenólicos totales del maíz están ligados o ligados principalmente a la hemicelulosa en las paredes celulares del pericarpio (Acosta-Estrada y col. 2014).

Curiosamente, el contenido de AF ligado en el maíz germinado con Se fue del 181.74 % y 431.15 % más alto en comparación con el maíz germinado sin Se y el maíz crudo. La germinación es un proceso eficaz para mejorar la producción de compuestos fenólicos libres y ligados en el maíz (Chavarín-

Martínez y col. 2019). Asimismo, se ha reportado que el Na_2SeO_3 en el agua de remojo previa a la germinación de garbanzo y cacahuates podría causar estrés salino en los granos el cual puede incrementar ($p < 0,05$) la actividad de la enzima fenilamonioliasa (PAL), la cual es clave en la ruta de los fenilpropanoides, y deriva en un aumento del contenido fenólico (Guardado-Félix y col. 2017; Wang y col. 2016; Serrano-Sandoval y col. 2022). Por lo tanto, el maíz germinado con Se puede ser utilizado como una buena fuente de compuestos fenólicos.

El contenido total de AF en nixtamal de maíz crudo fue 64.4% y 29.5% superior al contenido en nixtamal de maíz germinado y maíz germinado con Se, respectivamente.

No hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) en el contenido de AF libres y ligados entre nejayotes. Por otro lado, el contenido de AF libre y AF ligado en todos los nejayotes fueron más de 500, y 53 veces mayores en comparación con el contenido de AF libres y ligados cuantificados en maíz crudo y maíz germinado con y sin Se, similar a lo reportado por Gutiérrez-Urbe y col (2010).

La nixtamalización del maíz libera fenólicos por la hidrólisis de la fibra; en consecuencia, la proporción de sólidos insolubles a solubles en la solución de cocción con cal aumenta significativamente, liberando fenólicos ligados en formas solubles (Acosta-Estrada y col. 2014). Las altas concentraciones de AF en el nejayote hacen que este subproducto sea atractivo y con potencial como ingrediente alimentario. Acosta-Estrada y col (2014) elaboraron un aditivo alimentario a base de sólidos de nejayote (80 %) y gluten (20 %). Los autores elaboraron pan con un 9 % de sólidos de nejayote, lo que resultó en 745 veces más AF que el pan control. Además de proporcionar propiedades nutraceuticas, el uso del nejayote podría brindar una solución a los problemas ambientales relacionados con su disposición.

Cuadro 6. Contenido de ácido ferúlico (mg/100 g bs) de maíz crudo y maíz germinado con y sin Se y sus productos nixtamalizados; nixtamal, nejayote y tortilla.

Tratamiento	Ácido ferúlico (mg/100 g bs)											
	Maíz crudo o germinado			Nixtamal			Nejayote			Tortilla		
	Libre	Ligado	Total	Libre	Ligado	Total	Libre	Ligado	Total	Libre	Ligado	Total
Sin germinar	0.34 ± 0.05 ^c	25.36 ± 5.2 _b	25.7	15.56 ± 1 ^a	41.87 ± 1 ^a	57.43	185.69 ± 25 ^a	1337.42 ± 325 ^a	1523	13.47 ± 3 ^a	22.35 ± 5 ^{ab}	35.7
Maíz germinado sin Se	2.25 ± 0.13 ^a	47.81 ± 6 ^b	50.06	9.8 ± 0.17 ^c	10.63 ± 2 ^c	20.43	150.69 ± 26 ^a	1075.9 ± 82 ^a	1226	8.48 ± 0.9 ^b	30.36 ± 5 ^a	38.7
Maíz germinado con Se	1.55 ± 0.13 ^b	134.7 ± 23 ^a	136.2	12.41 ± 0.6 ^b	28.04 ± 4 ^b	40.45	176.44 ± 18 ^a	1020.18 ± 115 ^a	1196	13.21 ± 0.4 ^a	11.82 ± 1 ^b	25

Los resultados se expresan como medias ± desviación estándar; las columnas con diferentes letras indican diferencias significativas (p<0.05). La suma de ácido ferúlico libre y ligado representa el contenido total de ácido ferúlico.

En tortillas, el contenido de AF libre fue alrededor de un 58% mayor en la tortilla obtenida de maíz crudo y la tortilla de maíz germinado con Se, en comparación con la tortilla de maíz germinado sin Se. Sin embargo, el AF ligado fue mayor en la tortilla de maíz germinado sin Se hasta un 61.07% más respecto a las otras dos tortillas.

3 Actividad Antioxidante Celular

Los resultados de %AAC de muestras digeridas de maíz crudo y germinado con y sin Se y sus respectivos productos, nixtamal, tortilla y nejayote se presentan en la **Figura 5**. Los productos obtenidos del maíz crudo (nixtamal, nejayote y tortilla) tuvo el %AAC más alto ($p < 0.05$) entre todos los productos. Los resultados de %AAC en estas muestras podría estar ligado a los compuestos fenólicos, como el AF y a péptidos bioactivos que se pudieron haber generado durante el proceso de digestión (Tomé-Sánchez y col. 2021). Otras investigaciones han demostrado la presencia de péptidos antioxidantes en el maíz (Jin y col. 2016; Wang y col. 2016). Los efectos de estos péptidos se han relacionado con aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas y residuos aromáticos, que sirven como donantes de hidrógeno para interrumpir la reacción en cadena de peroxidación radical (Zhu y col. 2019). Por otro lado, se destacó que en los granos antes del proceso de nixtamalización, el %AAC fue 53.8% mayor en el maíz germinado con Se y 21.8% en el maíz germinado sin Se en comparación con el maíz crudo (**Figura 5**). Estos resultados pueden deberse a la mayor concentración de AF ligado en el maíz germinado con Se. El AF ligado tienen una fuerte participación en las propiedades antioxidantes del maíz (Xiang y col. 2017). Aunque los péptidos selenizados no fueron caracterizados en este estudio, los compuestos selenizados podrían contribuir a aumentar la actividad antioxidante. Guo y col (2019) demostraron la presencia de péptidos selenizados en maíces enriquecidos con Se que aportaron mayores propiedades antioxidantes. Además, se ha reportado que los péptidos selenizados de garbanzos germinados tienen mayor actividad antioxidante que los obtenidos de garbanzos germinados sin Se (Serrano-Sandoval y col. 2019).

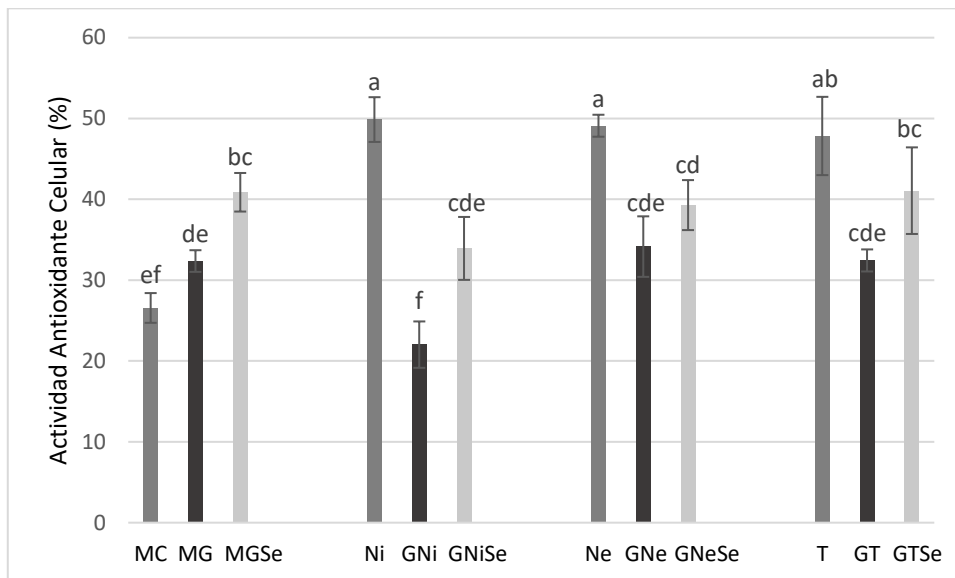


Figura 5. Actividad antioxidante celular (%AAC) *in vitro* de productos de maíz y sus productos nixtamalizados después de simulación gastrointestinal *in vitro*. Maíz crudo (MC) y sus respectivos productos, nixtamal (Ni), nejayote (Ne) y tortilla (T). Maíz germinado sin Se (MG) y sus respectivos productos, nixtamal (GNi), nejayote (GNe) y tortilla (GT). Maíz germinado con Se (MGSe) y sus respectivos productos, nixtamal (GNiSe), nejayote (GNeSe) y tortilla (GTSe). Las medias con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.5$).

Además, en este estudio se observó que después del proceso de nixtamalización, el %AAC mejoró alrededor del 90% en muestras digeridas de nixtamal, nejayote y tortilla obtenidas de maíz crudo, en comparación con la actividad antioxidante del maíz crudo sin nixtamalización. Hasta el momento, no existen otros estudios que relacionen un aumento de la actividad antioxidante en nixtamal y tortilla por efecto de la nixtamalización, ni existe evidencia sobre la comparación y caracterización de péptidos antioxidantes antes y después de la nixtamalización de maíz. Se sabe que la nixtamalización no tiene un impacto significativo en el contenido proteico del grano (Kamau y col. 2020). Sin embargo, se ha reportado que la nixtamalización aumenta la solubilidad de albúminas, globulinas y prolaminas (Chaidez-Laguna y col. 2016). Es importante realizar más estudios sobre el perfil y la especificidad de los péptidos, así como el impacto de la nixtamalización en su biodisponibilidad y su bioactividad para aclarar estos interesantes resultados observados en este estudio.

De acuerdo con los resultados de %AAC en las muestras de nejayote digerido, el nejayote obtenido de maíz crudo tuvo el %AAC más alto ($p < 0.05$), con 55.8% y 36.8% más %AAC que el nejayote de maíz germinado con y sin Se. Todas las muestras de nejayote tienen concentraciones altas de AF total, entre 1196 a 1336 mg/100 g, y no hubo diferencia significativa entre ellos, por lo que el contenido de AF no está relacionado con el %AAC observado.

Es posible encontrar un perfil diferente de compuestos fenólicos, proteínas y péptidos bioactivos en los nejayotes de ambos maíces germinados como resultado de la combinación del proceso de germinación y nixtamalización. Por lo que es necesario realizar otros estudios de caracterización de otros componentes del nejayote de maíz germinado como compuestos fenólicos, péptidos y proteínas.

Estos resultados muestran claramente el impacto negativo de la nixtamalización tradicional sobre la actividad antioxidante del maíz germinado con y sin Se. Finalmente, no existe diferencia significativa en %AAC entre la tortilla de maíz germinado nixtamalizado con Se y la tortilla de maíz crudo nixtamalizado.

4 Actividad antiinflamatoria

Las actividades antiinflamatorias *in vitro* del maíz crudo y germinado con y sin Se y sus respectivos productos, nixtamal, tortilla y nejayote después de someterlos a digestión gastrointestinal *in vitro* se muestran en la **Figura 6**. Similar a la respuesta antioxidante, el maíz crudo y sus productos derivados; nixtamal, nejayote y tortilla presentaron la mayor actividad antiinflamatoria. El % de inhibición del ON (57.74%) observada en maíz crudo se mantuvo luego del proceso de nixtamalización en nixtamal y tortilla. Estos resultados no estaban relacionados con el contenido de formas de AF libre o ligado cuantificadas en las muestras. Sin embargo, se sabe que las actividades antiinflamatorias *in vitro* de los péptidos de maíz se han asociado con la regulación de varias proteínas proinflamatorias como el factor nuclear kappa B (NF- κ B) y las vías inducidas por TNF- α . Liang y col (2020). informaron tres secuencias de péptidos de maíz (PPYLSP, IIGGAL y FLPPVTSMQ) que ejercía importantes propiedades antiinflamatorias *in vitro* a través de la inhibición de la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) en un 54% a 38.9% y la molécula de adhesión celular intercelular 1 (ICAM-1) en un 36.5% a 28.6% (Liang y col. 2018).

Asimismo, el nejayote obtenido de la nixtamalización de maíz crudo tuvo mayores propiedades antiinflamatorias, con un 36.8 % y un 55.8 % más de inhibición de ON que los nejayotes obtenidos de maíz germinado sin Se y con Se, respectivamente. Se ha informado que el nejayote obtenido de la nixtamalización de maíz crudo tiene potencial para inhibir la producción de ON a través de los ácidos hidroxicinámicos, principalmente AF y ácido p-cumárico y otros compuestos como los ácidos dehidro-diferúlico, dehidro-triferúlico, p-dicumaroil-putrescina, y diferuloilputrescina. Además, durante la nixtamalización, se liberan complejos proteicos (<13 kDa) al nejayote, que pueden interactuar con el AF y ejercen una importante actividad antiinflamatoria (Liang y col. 2018). Buitimea-Cantúa y col (2020) utilizaron ultrafiltración para recuperar fracciones de nejayote, y encontraron dos fracciones con potencial antiinflamatorio a través de la inhibición de ON de

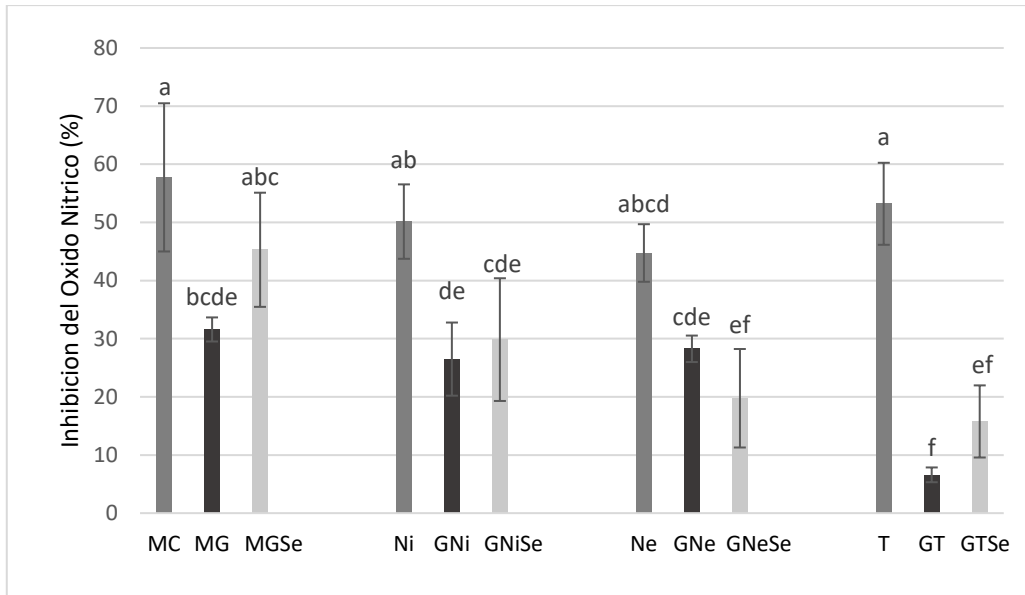


Figura 6. Actividad antiinflamatoria *in vitro* de productos de maíz sometidos a simulación gastrointestinal *in vitro*. Maíz crudo (MC) y sus respectivos productos, nixtamal (Ni), nejayote (Ne) y tortilla (T). Maíz germinado sin Se (MG) y sus respectivos productos, nixtamal (GNi), nejayote (GNe) y tortilla (GT). Maíz germinado con Se (MGSe) y sus respectivos productos, nixtamal (GNiSe), nejayote (GNeSe) y tortilla (GTSe). Las medias con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.5$).

98.34% y 96.68%, lo que podría atribuirse al efecto sinérgico de proteínas de bajo peso molecular y ácidos fenólicos, principalmente, AF y p-cumarico.

Se observó que la selenización de los granos de maíz germinados mejoró la actividad antiinflamatoria en un 43 % en comparación con las contrapartes germinadas sin Se. Esto también se observó en la tortilla obtenida a partir de maíz germinado con Se, ya que obtuvo mayor actividad antiinflamatoria que la tortilla obtenida a partir de maíz germinado sin Se. Investigaciones previas reportaron que el Se tiene propiedades antiinflamatorias debido a la inhibición de NF- κ B (Yun y col. 2007). Otro estudio reportó la eficacia de un extracto acuoso obtenido de maíz enriquecido con Se sobre la inhibición de genes proinflamatorios en células RAW264.7 (Dhanjal y col. 2019). Además, Feng y col (2021) encontraron una relación entre el contenido de Se y la actividad antiinflamatoria de los péptidos de arroz. Identificaron un péptido de arroz integral enriquecido con Se con la secuencia ALLLQAVQSQYEEK con una capacidad antiinflamatoria significativa a través de la inhibición del ON.

Etapas 2

B ENSAYO *IN VIVO*

1 Cambio en el peso corporal

Se observaron diferencias significativas en cuanto al cambio del peso corporal en la sexta, séptima y octava semana (**Figura 7**). En la sexta semana, la cual fue una semana después de la inoculación, hubo diferencias significativas con respecto a Q15Se y el estado basal. Durante la séptima semana hubo un decremento en el grupo Q15Se a comparación con el estado basal, SQ y Q15. Por otro lado, se observó una pérdida de peso significativa en la octava semana en el grupo Q15Se a comparación con el grupo basal, SQ, Q15, Q30 y Q60. No se observó ganancia o pérdida de peso significativa en el resto de las semanas.

De acuerdo con Guardado-Félix y col (2019), los ratones comienzan a perder peso cuando se administra 5-FU debido a los efectos de la

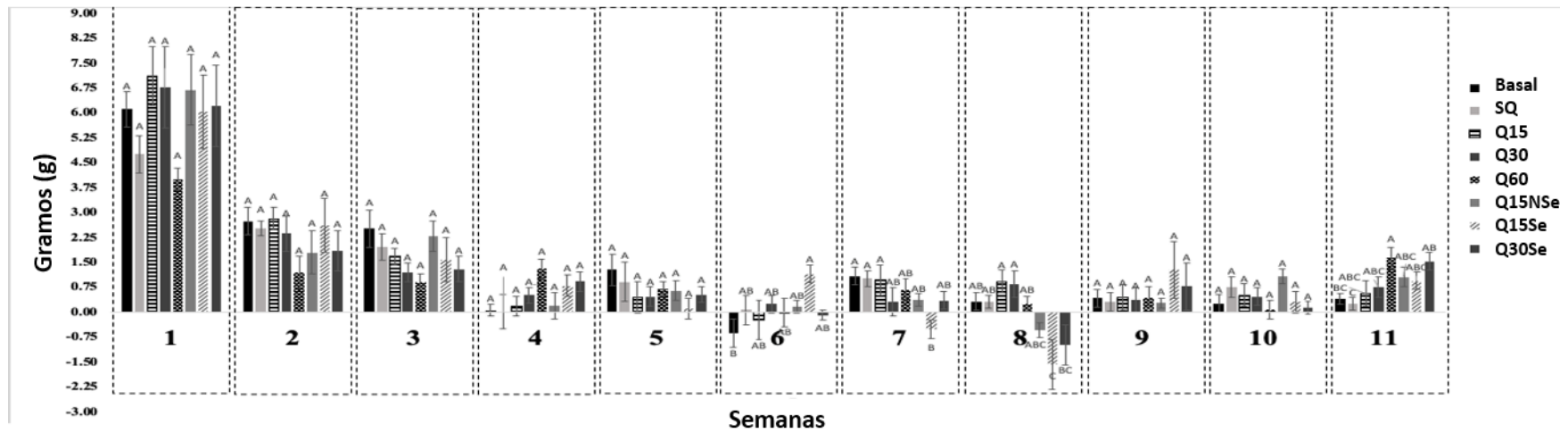


Figura 7. Cambio de peso corporal semanalmente. Grupos: Sin quimioterapia= SQ; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso= Q15; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso= Q30; Quimioterapia (5-FU) 60 mg/kg de peso= Q60; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta con garbanzo sin Se= Q15NSe; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q15Se; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q30Se.

quimioterapia. Mutschler y col (2018) reportaron que el 24.8% de los pacientes con cáncer, suelen presentar cambios en su peso corporal, 11.1% sufren pérdida y el 17.3% ganancia de peso, como causa de la quimioterapia. Por el contrario, Jung y col (2020) reportaron que no hay cambios en el peso, índice de masa o composición corporales durante la quimioterapia. De manera similar, Hsu y col (2020) demostraron que la suplementación con res aminora la pérdida de peso de ratones inducida por 5-FU, ya que en el grupo de 5-FU, se observó un decremento significativo del peso del músculo y grasa.

2 Monitoreo de crecimiento tumoral

La intensidad de fluorescencia de los tumores por parte de los grupos SQ y Q15 fue superior que el del resto de los tratamientos debido a la acumulación de un mayor número de células fluorescentes (**Figura 8**). Por el contrario, las imágenes tumorales de Q30, Q60 y del grupo Q15Se; mostraron una menor intensidad de fluorescencia en el centro de los tumores, indicando el aplanamiento de la masa tumoral. Esto representa un prejuicio/parcialidad en la calculación del volumen del tumor, ya que el programa utiliza una fórmula para el volumen basada en el área de fluorescencia, sin considerar la intensidad como indicador de la profundidad de este mismo.

Se utilizó el modelo Gompertz para determinar la tasa de crecimiento de los tumores, dicho modelo se ha utilizado para describir el comportamiento del crecimiento y proliferación de células cancerosas (Tabassum y col. 2019). En la **Figura 9A** se muestra el acoplamiento de los grupos experimentales al modelo de Gompertz. Las curvas representan la tendencia de la tasa de crecimiento. Para el grupo SQ, la tendencia muestra que la curva se localiza en el primer paso de la sigmoideal y que continúa incrementando. De manera similar, la curva correspondiente al grupo Q15NSe tiende a incrementar. La curva de Q30 muestra una reducción en cuanto a la tasa de crecimiento, sin embargo, no presenta una asíntota clara como se observa con Q15Se, Q60, Q15 y Q30Se.

En la gráfica tridimensional (**Figura 9B**) se puede observar que la asíntota superior (A) y el tiempo de inflexión (Ti) del grupo NC resultó superior

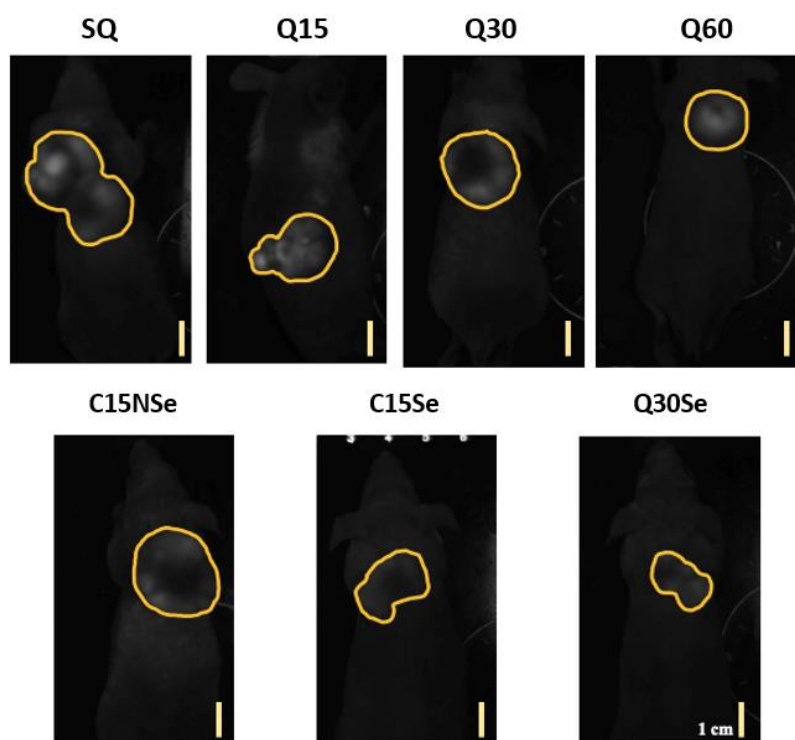


Figura 8. Imágenes obtenidas por el equipo iBOx del crecimiento tumoral después de 6 semanas de la inoculación (final del estudio) de todos los grupos experimentales. Sin quimioterapia= SQ; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso= Q15; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso= Q30; Quimioterapia (5-FU) 60 mg/kg de peso= Q60; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta con garbanzo sin Se= Q15NSe; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q15Se; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q30Se.

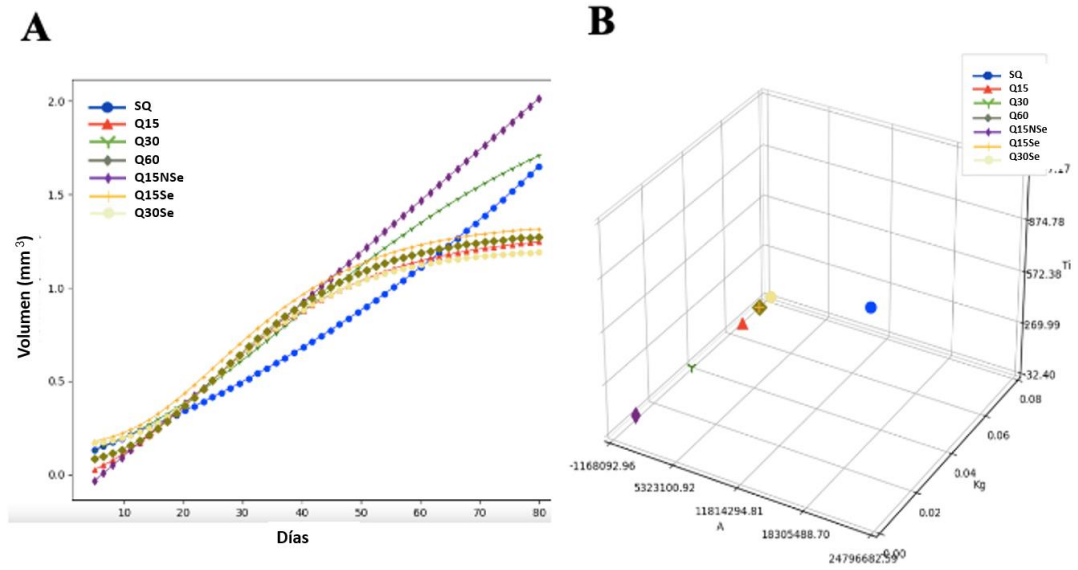


Figura 9. A) Modelo Gompertz de los grupos experimentales; eje X= tiempo (días); eje Y= volumen del tumor (mm³). B) Distribución de parámetros de las constantes de Gompertz; eje X (A)= asíntota superior; eje Y (Kg)= tasa de crecimiento; eje Z (Ti)= tiempo de inflexión.

al del resto. Los demás grupos presentaron una A y T_i similares. En el **Cuadro 7** se muestra el promedio resultante de los tres parámetros modelados para cada unidad experimental con la función de Gompertz. La asíntota superior (A) de los grupos C15 y C30 mostraron valores más altos, además de ser significativamente diferentes al grupo C60. En cambio, no se encontraron diferencias significativas en los grupos NC, C15, C30, C15NSe, C15Se y C30Se. El parámetro k_G y la tasa de crecimiento tumoral fue significativamente mayor en el grupo NC a comparación de los grupos C15, C30, C15NSe, C15Se y C30Se. El k_G se redujo un 81.3% en el grupo C30 en comparación con NC. El tiempo de inflexión (T_i) fue reducido con quimioterapias y el tratamiento selenizado. El grupo C60 obtuvo valores menores en T_i en comparación con aquel obtenido por el grupo NC. También, el T_i del grupo NC fue significativamente mayor, 1.26 veces, que el obtenido en los grupos selenizados; C15Se y C30Se. La dosis más alta de 5-FU resultó en el volumen tumoral final más pequeño, incluso cuando la tasa de crecimiento fue mayor que la obtenida a partir del resto de los tratamientos, ya que el tiempo de inflación fue significativamente menor. Los tiempos de inflación para Q15Se y Q30Se fueron similares, indicando que se requieren menores dosis de quimioterapia para la reducción del crecimiento del tumor, incluso durante la fase exponencial. La tasa de crecimiento fue menor en Q15Se y Q30Se que la tasa obtenida utilizando dosis mayores de quimioterapia (Q60). Cabe destacar que el volumen final de los tumores observado en el caso de Q15Se y Q30Se fue sobrevalorada, considerando la intensidad menor de fluorescencia, a pesar de contar con un área similar a los demás tratamientos.

Se ha reportado efectividad de la combinación del Se con los distintos fármacos quimioterapéuticos en distintos tipos de cáncer. La combinación de docetaxel (500 pM) y Se (10 μ M) se evaluó en células de cáncer de mamá. Luego de 72 h de incubación, el crecimiento celular disminuyó un 15%, a su vez, aumentó la apoptosis en un 63% (Park y col. 2015). De manera similar, Ertilav y col (2019) expuso células de glioblastoma a docetaxel (10 nM) por 10

Cuadro 7. Constantes de Gompertz de los grupos experimentales; k_G = tasa de crecimiento; T_i = tiempo de inflexión.

Grupo	A	k_G	T_i
SQ	12162.4 ± 6858.6 ^{ab}	0.16 ± 0.09 ^a	30.49 ± 6.03 ^a
Q15	16648.6 ± 12538.63 ^a	0.05 ± 0.04 ^c	26.29 ± 3.24 ^{abc}
Q30	16970.1 ± 11025.68 ^a	0.03 ± 0.04 ^c	29.62 ± 6.31 ^{ab}
Q60	7595.7 ± 2238.34 ^b	0.11 ± 0.08 ^{ab}	23.73 ± 3.95 ^c
Q15NSe	11551.8 ± 5889.06 ^{ab}	0.07 ± 0.04 ^{bc}	29.83 ± 5.14 ^{ab}
Q15Se	11565 ± 3740.4 ^{ab}	0.06 ± 0.04 ^{bc}	24.25 ± 5.17 ^{bc}
Q30Se	10403 ± 3667.6 ^{ab}	0.07 ± 0.01 ^{bc}	24.24 ± 4.41 ^{bc}

Los valores son las medias ± desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Sin quimioterapia= SQ; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso= Q15; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso= Q30; Quimioterapia (5-FU) 60 mg/kg de peso= Q60; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta con garbanzo sin Se= Q15NSe; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q15Se; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q30Se.

h y Se (11 μM) por 10 h. La combinación inhibió la proliferación y viabilidad celular.

Por otro lado, Sakallı y col (2016) reportaron una terapia con Na_2SeO_3 (200 nM) y un cisplatino quimioterapéutico (40 μM) contra células de cáncer de mama (MCF-7). La combinación demostró tener un efecto apoptótico. La combinación de moléculas de Se con cisplatino disminuyó la viabilidad celular, induciendo así, apoptosis (Wu y col. 2017). La combinación de MSeA (2.5 μM -20 μM) y Gemcitabina (2.5 mM-20 mM) por 24 h obtuvo un efecto anticancerígeno sinergia en células de cáncer pancreático (BxPC-3). Dicha combinación promovió la apoptosis mientras que disminuyó cualquier signo de proliferación celular (Woolen y col. 2022).

Además, Wu y col (2019) combinó y evaluó una terapia que incluye Na_2SeO_3 (3 mg/kg) y el profármaco de Adrimicina (10 mg/kg) en un modelo *in vivo* con células de cáncer gástrico. Esta conjugación como terapia promueve la apoptosis. Paclitaxel (50 μM) combinada con Na_2SeO_3 (5 μM) ha demostrado contar con actividad anticancerígena en células de cáncer MCF-7 (Guler & Ovey, 2020).

3 Evaluación de lípidos en suero y lipoproteínas

No hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales y el grupo basal en cuanto al colesterol total (**Cuadro 8**). Es importante destacar que la desviación estándar fue considerablemente alta. La única diferencia significativa encontrada en cuanto al colesterol HDL en plasma fue entre los grupos Q30Se y SQ, además de entre Q30 y Q30Se. Q15NSe resultó de 1.4- y 1.95 veces significativamente mayor en colesterol LDL que SQ y el grupo basal, respectivamente. Los triglicéridos del grupo basal fueron significativamente mayores en comparación con los grupos Q15, Q30, Q15NSe y Q30Se. Las reducciones fueron en un rango de 22-28% en los grupos experimentales.

Durante el cáncer, se genera un desbalance en los niveles de lípidos lo que origina desórdenes en el metabolismo de lípidos (Zhang y col. 2014). En pacientes en etapas avanzadas de cáncer, es usual observar decrementos

Cuadro 8. Niveles de lípidos séricos en grupos experimentales.

Grupo	Colesterol	HDL	LDL	Triglicéridos
Basal	86.1 ± 4.9 ^a	65.1 ± 2.6 ^{ab}	4.6 ± 1.3 ^c	101.7 ± 21.9 ^a
SQ	82.7 ± 4.7 ^a	61.9 ± 3.5 ^{bc}	6.4 ± 1.4 ^{bc}	83.2 ± 32.9 ^{ab}
Q15	91.1 ± 14.8 ^a	62.8 ± 8.3 ^{abc}	6.3 ± 0.6 ^{abc}	79.7 ± 25.4 ^b
Q30	84.2 ± 15.9 ^a	59.6 ± 5.6 ^c	6.9 ± 1.1 ^{abc}	79.4 ± 18.68 ^b
Q60	90.0 ± 15.4 ^a	65.3 ± 4.2 ^{ab}	6.4 ± 1.5 ^{abc}	93.5 ± 8.5 ^{ab}
Q15NSe	86.8 ± 8.6 ^a	62.1 ± 5.8 ^{abc}	9.0 ± 2.4 ^a	73.4 ± 23.2 ^b
Q15Se	92.8 ± 10.7 ^a	65.8 ± 3.8 ^{ab}	6.5 ± 1.1 ^{abc}	84.5 ± 23.8 ^{ab}
Q30Se	89.3 ± 16.5 ^a	66.8 ± 5.7 ^a	7.3 ± 2.9 ^{ab}	79.8 ± 26.3 ^b

Los valores son las medias ± desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Sin quimioterapia= SQ; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso= Q15; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso= Q30; Quimioterapia (5-FU) 60 mg/kg de peso= Q60; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta con garbanzo sin Se= Q15NSe; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q15Se; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q30Se.

en cuanto a las concentraciones de colesterol en sangre (Wang y col. 2017). Kush y Khosrow (2021) reportaron que los oncogenes son capaces de estimular la biosíntesis de colesterol, asimismo, el colesterol puede incrementar las vías oncogénicas. Cabe destacar que en este estudio no se encontraron diferencias significativas con respecto a los niveles de colesterol. Los biomarcadores correspondientes al metabolismo de lípidos como altos niveles de colesterol total y LDL y niveles bajos de HDL están asociados con el aumento en el desarrollo y progresión del cáncer (Zhou y col. 2018). Existe evidencia que altos niveles de HDL pueden disminuir el riesgo de cáncer colorrectal, aumentando la tasa de supervivencia (Zeljko y col. 2021). Una investigación de la Investigación Prospectiva Europea sobre el Cáncer y la Nutrición (EPIC) demuestra que altos niveles de HDL en plasma están asociados con un menor riesgo de padecer cáncer colorrectal (Van Duijnhoven y col. 2011). Las vías inflamatorias pueden ser moduladas por las concentraciones de HDL, debido a que bajos niveles de este en el plasma pueden aumentar la presencia de citocinas proinflamatorias como interleucina 6, mientras que niveles altos de HDL pueden incrementar citoquinas antiinflamatorias como interleucina 10 (Van Duijnhoven y col. 2011). Kush y Khosrow (2021) expresaron que solo altas concentraciones de HDL en suero reduce ERO, viabilidad celular, migración e invasión de células cancerígenas. Esto se puede observar en el grupo Q30Se, el cual tuvo concentraciones significativamente mayores de HDL en comparación con SQ y Q30.

Al contrario que lo observado con Q60 y Q30Se, Lofterød y col. (2018) reportaron que triglicéridos altos y HDL promueven el crecimiento tumoral y su progresión. El grupo Q15NSe no mostró efecto inhibitorio en cuanto al crecimiento tumoral, esto puede estar relacionado con los niveles de LDL, contrarios a los observados en los grupos Q60, Q15Se y Q30Se. Cantidades altas de LDL y altos niveles de colesterol se asocian con una peor supervivencia y potencialmente podrían ser marcadores de pronósticos de la progresión del cáncer (Maran y col. 2021; Lin y col. 2020). Asimismo, Shyamananda y col (2021) establecieron que altos niveles de colesterol y LDL

en sangre está significativamente correlacionado con el riesgo de progresión del cáncer ya que beneficia la rápida proliferación de células cancerígenas.

De manera similar, Wang y col (2017), observaron que LDL puede aumentar los niveles de ERO en células cancerígenas, lo que puede causar la secreción de citoquinas proinflamatorias. Además, LDL parece aumentar el crecimiento y la progresión de células de CCR en ratones desnudos (Wang y col. 2017). Liao y col (2015), encontraron niveles elevados de LDL y bajos niveles de HDL en suero de pacientes con CCR metastásico. Por consiguiente, esto altera el perfil lipídico, pudiendo beneficiar el crecimiento y división de células cancerosas. Por otro lado, un aumento en los niveles de LDL en plasma, está relacionado con un pronóstico pobre en pacientes con cáncer colorrectal metastásico.

Adicionalmente, durante el cáncer colorrectal ocurre una alteración en el catabolismo de los triglicéridos. Las células cancerígenas pueden activar a los adipocitos, para catabolizar sus triglicéridos y así liberar ácidos grasos que luego pasan a ser captados por las células cancerosas (Corn y col. 2020). Zhang y col (2014) no encontraron asociación alguna entre los niveles de triglicéridos en suero con el riesgo de padecer cáncer colorrectal. Otros autores reportan una asociación significativa entre triglicéridos y la progresión de CCR, en pacientes de CCR en etapa III (Chen y col. 2020). Los niveles de triglicéridos del grupo basal resultaron significativamente mayores que aquellos medidos en los grupos Q15, Q30, Q15NSe y Q30Se.

4 Evaluación enzimática de TXNRD y GPX

La actividad enzimática de GPX aumentó 2-, 1.6- y 1.9- veces en ratones alimentados con tratamientos selenizados en comparación con el grupo basal, SQ y Q15, respectivamente (**Cuadro 9**). La actividad de GPX aumentó en los grupos con dieta con Se (Q15Se y Q30Se) y en ratones tratados con una dosis mayor de quimioterapia (Q60). En nuestra investigación, no se observaron diferencias significativas en la actividad enzimática de TXNRD debido a la desviación estándar elevada.

Cuadro 9. Actividad enzimática de la glutatión peroxidasa (GPX) en grupos experimentales.

Grupo	GPX ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}/\text{mg}$ proteína)	TXNRD ($\text{nmol}/\text{min}/\text{mL}/$ mg proteína)
Basal	11.8 \pm 2.3 ^d	114.6 \pm 31.2 ^a
SQ	15.1 \pm 4.6 ^{cd}	137.5 \pm 67.1 ^a
Q15	12.6 \pm 4.4 ^{cd}	97.2 \pm 90.5 ^a
Q30	16.6 \pm 4.4 ^{bc}	94.4 \pm 70.4 ^a
Q60	20.1 \pm 3.6 ^{ab}	99.1 \pm 40.1 ^a
Q15NSe	20.7 \pm 4.4 ^{ab}	62 \pm 55.8 ^a
Q15Se	23.8 \pm 6.7 ^a	68.4 \pm 35.8 ^a
Q30Se	21.7 \pm 6.1 ^a	68.8 \pm 40.6 ^a

Los valores son las medias \pm desviación estándar de dos réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Sin quimioterapia= SQ; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso= Q15; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso= Q30; Quimioterapia (5-FU) 60 mg/kg de peso= Q60; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta con garbanzo sin Se= Q15NSe; Quimioterapia (5-FU) 15 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q15Se; Quimioterapia (5-FU) 30 mg/kg de peso y dieta de garbanzo con Se= Q30Se.

Es bien sabido que la suplementación con Se estimula la sobreexpresión y aumento de la actividad enzimática de GPX, principalmente porque el Se se incorpora a las selenoenzimas, siendo una de las más importantes, la GPX (Razaghi y col. 2021). Los germinados de garbanzo enriquecidos con Se ($>2 \mu\text{g/g}$) aumentaron la actividad de GPX y TXNRD (Guardado-Félix y col. 2019). Como adición, las selenopartículas, ($1.8 \mu\text{M Se}$) lograron aumentar la GPX y TXNRD (Liu y col. 2020). Otro estudio demostró que una dieta de hongos enriquecidos con Se (1 g Se/g) incremento la actividad de la GPX (Maseko y col. 2014). También, la suplementación enriquecida en Se de *Saccharomyces cerevisiae* ($>200 \mu\text{g/kg}$ peso) a pollos de engorda demostró aumentar ambas enzimas (Hou y col. 2020).

Asimismo, en el presente estudio, el grupo experimental con la dosis más alta de quimioterapia mostró tener un aumento en cuanto a GPX como consecuencia del aumento de ERO (Zhang y col. 2020). Además, el garbanzo que no fue enriquecido con Se (Q15NSe) mejoró la actividad enzimática, en comparación con el grupo únicamente con quimioterapia (Q15). Se correlacionó una baja expresión de GPX con una baja tasa de supervivencia en pacientes con adenocarcinoma pancreático que recibieron quimioterapia (Meng y col. 2018).

Etapas 3

C BOTANAS DE AMARANTO Y GARBANZO GERMINADO CON SELENIO ENRIQUECIDAS CON OMEGA 3

1 Composición química

Se llevaron a cabo varias formulaciones para los tratamientos de botanas con la finalidad de obtener un producto con un balanceado aporte nutricional y buenas propiedades sensoriales y estructurales. Se recomienda no exceder del 40% en el contenido de leguminosas al elaborar productos extruidos listos para comer, ya que mayores cantidades podría impactar negativamente en las propiedades sensoriales del producto (Pasqualeno y col. 2020).

La composición química de las harinas de garbanzo germinado control y garbanzo germinado con Se, harina de amaranto crudo y los diferentes tratamientos de las botanas obtenidas por extrusión se muestra en el **Cuadro 10**.

El contenido de proteína en las harinas de garbanzo germinado control y garbanzo germinado con Se fue similar a lo reportado por Sofi y col (2020) quienes reportan un contenido de 24.19% de proteína en garbanzo germinado por 48 h. Por otro lado, Kierulf y col (2020) reportaron valores inferiores (17.37%) de proteína en la harina de amaranto a los encontrados en este estudio, esto se podría deber a diferentes variedades de amaranto utilizados. En cuanto al contenido de proteína de las botanas obtenidas por extrusión, se encontró valores menores a las harinas de garbanzo germinado control, garbanzo germinado con Se y amaranto. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre estas harinas y los tratamientos extruidos. En promedio, los extruidos en este estudio tienen 18.7 g de proteína/ 100 g, lo que indica que una porción de 60 g de estos extruidos tendría 11.2 g de proteína, mientras que una porción de 60 g de cereal comercial (Zucaritas) tiene 2.7 g, con estas cantidades se estarían cubriendo un 46.8% y 11.2%, respectivamente, de los requerimientos diarios recomendados para niños de 4-6 años.

El contenido de lípidos en garbanzo germinado es inferior a lo reportado por Xu y col (2019), quienes reportaron 7.19% en garbanzo germinado por 48 h. Estas diferencias se podrían deber a las diferentes variedades de garbanzo utilizadas. En cuanto al amaranto, se han reportado valores de 5.8 – 7.14% (Guadianelli y col. 2019), valores similares a los encontrados en este estudio.

Cuadro 10. Composición química de harinas de garbanzo germinado con y sin Se, harina de amaranto y tratamientos de botanas extruidas.

Muestra	% proteína/ g en bs	% Lípidos/ g en bs	%Cenizas/ g en bs	%Humedad	%Carbohidratos / g en bs	Energía kcal (100 g)
<u>Harinas</u>						
GC	22.77 ± 1.08 ^{ab}	5.42 ± 0.91 ^{ab}	3.03 ± 0.11 ^a	8.39 ± 0.01 ^b	60.38 ± 1.9 ^{bc}	381.38 ± 4.85 ^a
GSe	24.12 ± 0.47 ^{ab}	5.70 ± 0.17 ^a	3.11 ± 0.03 ^a	8.79 ± 0 ^b	58.26 ± 0.39 ^c	380.89 ± 0.96 ^a
Amaranto	19.05 ± 3.94 ^{abc}	6.3 ± 0.33 ^a	2.93 ± 0.37 ^a	9.06 ± 0.09 ^b	62.66 ± 3.93 ^{abc}	383.53 ± 3.10 ^a
<u>Extruidos</u>						
<u>GC: GSe: AM</u>						
0:0:100	16.55 ± 0 ^c	5.17 ± 0.09 ^{abc}	2.76 ± 0.25 ^a	11.96 ± 0.08 ^a	63.54 ± 0.29 ^{abc}	366.97 ± 1.02 ^b
35.5:4.5:60	18.38 ± 2.05 ^{abc}	4.32 ± 0.13 ^{bcd}	2.56 ± 0.23 ^a	8.39 ± 0.18 ^b	66.34 ± 2.14 ^a	377.81 ± 1.58 ^{ab}
30:0:70	17.68 ± 2.71 ^{bc}	3.41 ± 0.93 ^d	2.48 ± 0.28 ^a	8.37 ± 0.23 ^b	68.04 ± 1.99 ^a	373.62 ± 3.99 ^{ab}
0:30:70	19.22 ± 2.32 ^{abc}	4.13 ± 0.3 ^{bcd}	2.54 ± 0.15 ^a	8.67 ± 0.25 ^b	65.44 ± 2.33 ^{ab}	375.63 ± 2.01 ^{ab}
40:0:60	19.30 ± 0.45 ^{abc}	3.94 ± 0.31 ^{cd}	2.64 ± 0.17 ^a	8.46 ± ^b	65.64 ± 0.33 ^{ab}	375.33 ± 1.33 ^{ab}
0:40:60	21.27 ± 1.84 ^{abc}	3.39 ± 0.12 ^d	2.68 ± 0.16 ^a	8.64 ± .01 ^b	64.0 ± 1.87 ^{abc}	371.67 ± 1.29 ^b

Los valores son las medias ± desviación estándar de tres réplicas. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas (p < 0.05). GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

En cuanto a los tratamientos extruidos, se encontró menores concentraciones de lípidos en todos los tratamientos en comparación con las harinas de garbanzo control, garbanzo germinado con Se y amaranto. Los tratamientos de botanas con Se, 30%GSe/70% amaranto y 40%GSe/60% amaranto, redujeron significativamente ($p>0.05$) el contenido de lípidos un 27.5% y 40.5% con respecto al garbanzo germinado con Se. El mismo efecto se observó en los tratamientos de botanas elaborados con harina de garbanzo control y amaranto, 30%GC/70% amaranto y 40%GC/60% amaranto, los cuales disminuyeron significativamente ($p>0.05$) su contenido de lípidos aproximadamente un 37.08% y 27.3% con respecto a la harina de garbanzo control. Por otro lado, el tratamiento de botana a base de 100% amaranto no obtuvo diferencias significativas con la harina de amaranto.

Por otro lado, en el **Cuadro 11** se puede apreciar el efecto de la extrusión sobre el contenido de lípidos en las harinas antes y después del proceso. Se encontró que todos los tratamientos disminuyen significativamente ($p>0.05$) su contenido de lípidos. El alto contenido de lípidos en los tratamientos antes de la extrusión se debe a la presencia de aceite de pescado utilizado para acondicionar las harinas. Sin embargo, al someterse a extrusión, el contenido de aceite llegó a disminuir hasta 50%. El efecto de la extrusión sobre el contenido de lípidos en botanas obtenidas por extrusión ya ha sido reportado por varios autores como Cervantes-Ramírez y col (2020), Félix-Medina y col (2021). Este efecto puede ser atribuido a la temperatura, velocidad de tornillo y presión durante la extrusión que pueden formar complejos lipídicos, como amilosa-lípidos y proteínas-lípidos, lo que puede dificultar su extracción y cuantificación (Félix-Medina y col. 2021), así como también se pueden oxidar ciertos lípidos o ser degradados por las altas temperaturas empleadas en el proceso (Estrada-Giron y col. 2015).

Cuadro 11. Porcentaje de lípidos/ g (bs) contenido en tratamientos acondicionados (previos a extrusión) y tratamientos después de extrusión.

Muestra GC: GSe: AM	%Lípidos/ g bs (previo a extrusión)	%Lípidos/ g bs (después de extrusión)
0:0:100	9.3 ± 0.5 ^a	5.17±0.09 ^b
35.5:4.5:60	8.43 ± 0.19 ^a	4.32±0.14 ^b
30:0:70	7.5 ± 0.16 ^a	3.41±0.93 ^b
0:30:70	7.75 ± 0.15 ^a	4.13±0.3 ^b
40:0:60	7.95 ± 0.04 ^a	3.95±0.31 ^b
0:40:60	8.08 ± 0.32 ^a	3.4±0.13 ^b

Los valores son las medias ± desviación estándar de tres réplicas. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

El contenido de cenizas no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) en las harinas de garbanzo germinado control y germinado con Se y en los tratamientos extruidos. Asimismo, no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de carbohidratos y calorías de las botanas.

2 Determinación de Se

En el **Cuadro 12** se muestra la concentración de Se en las harinas de garbanzo germinado control y garbanzo germinado con Se. El uso de Na_2SeO_3 (1.7 g/L) en el agua de remojo incremento 56.4 veces la concentración de Se en el garbanzo germinado por 48 h, mientras que Guardado-Félix y col (2017), reportaron un incremento de 59 a 115 veces en el contenido de Se en garbanzo germinado a nivel laboratorio por 4 días en presencia de Na_2SeO_3 (2.0 mg/100 g). Estas diferencias se pueden deber a que, en nuestro estudio, la germinación se llevó a cabo a nivel industrial, donde se utiliza más agua para el remojo del garbanzo que a nivel laboratorio, esto ocasiona mayores pérdidas de agua y menor retención de Se por los granos.

En cuanto al amaranto, se obtuvieron valores inferiores a lo reportado por Akin-Idowu y col (2017), quienes reportan un rango desde 0.23-0.82 $\mu\text{g Se/g}$. Esto se puede deber a una mayor concentración de Se en los suelos donde se sembraron las semillas, dando como resultado mayor contenido de Se.

En el **Cuadro 13** se muestra la concentración de Se de las harinas previas a la extrusión y después de la extrusión. Se puede observar que La extrusión disminuyó el contenido de Se en los tratamientos, lo que se puede deber a las altas temperaturas empleadas en el proceso lo que podría generar pérdidas de compuestos volátiles de Se (Dong y col. 2021). Sin embargo, no hay diferencias significativas ($p < 0.05$) con las harinas acondicionadas y su respectivo tratamiento extruido.

Cuadro 12. Contenido de Se ($\mu\text{g/g bs}$) en harinas de garbanzo germinado con y sin Se y harina de amaranto.

Muestra	Se ($\mu\text{g/g bs}$)
GC	0.15 ± 0.01^b
GSe	8.61 ± 0.32^a
AM	0.05 ± 0.01^b

Los valores son las medias \pm desviación estándar de tres réplicas. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

Cuadro 13. Contenido de Se ($\mu\text{g/g}$ bs) en harinas acondicionadas y en tratamientos de botanas sometidos a extrusión.

Muestra GC: GSe: AM	Se ($\mu\text{g/g}$ bs) (previo a extrusión)	Se ($\mu\text{g/g}$ bs) (después de extrusión)
0:0:100	0.06 ± 0.1 ^{aC}	0.04 ± 0 ^{aC}
35.5:4.5:60	0.79 ± 0.23 ^{aC}	0.44 ± 0.01 ^{aC}
30:0:70	0.06 ± 0.02 ^{aC}	0.06 ± 0 ^{aC}
0:30:70	2.93 ± 0.41 ^{aAB}	2.49 ± 0.28 ^{aB}
40:0:60	0.10 ± 0.03 ^{aC}	0.09 ± 0.02 ^{aC}
0:40:60	3.58 ± 0.16 ^{aA}	3.33 ± 0.42 ^{aA}

Los valores son las medias \pm desviación estándar de tres réplicas. Letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$), letras mayúsculas diferentes en todos los datos indican diferencias significativas ($p < 0.05$). GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

Se ha reportado el efecto de un estado óptimo de Se en edad infantil ya que impacta positivamente en la función cognitiva de los niños (Skröder y col. 2017). La dosis diaria recomendada para niños de Se es de 30 µg /día y el límite máximo recomendado es de 150 µg /día (NIH, 2019). De acuerdo con los tratamientos de 35.5%GC/ 4.5%GSe/ 60% amaranto, 30%GSe/ 70% amaranto y 40%GSe/ 60% amaranto, una porción de 60 g de cada uno, proporciona 26.4 µg Se, 149.4 µg Se y 200 µg Se, respectivamente. Esto indica que el tratamiento de 35.5%GC/ 4.5%GSe/ 60% amaranto, aporta 88% de la dosis de Se recomendada y su consumo podría ayudar a cumplir con estas demandas.

3 Digestibilidad de proteína *in vitro* (DPIV)

De acuerdo con los resultados obtenidos de DPIV (**Cuadro 14**) se puede observar que el proceso de extrusión incrementó la DPIV de los tratamientos de botanas al comparar los tratamientos con las harinas de garbanzo germinado control, garbanzo germinado con Se y amaranto. Los únicos tratamientos que tuvieron valores de DPIV significativamente mayores fueron el 100% amaranto y 30%GC / 70% amaranto. Se observó un incremento del 11.7% de la DPIV en el tratamiento de 100% de amaranto en comparación con la harina de amaranto. En cuanto al tratamiento de 30% GC/ 70% amaranto, este incremento 6.35% y 7.73% su DPIV con respecto al garbanzo germinado control y amaranto, respectivamente.

Previamente se ha reportado el incremento de la DPIV en las harinas sometidas a extrusión, tal es el caso de Silvestre-De-León y col (2020), quienes reportaron un incremento de 4.4% en DPIV en garbanzo después de ser extruido a 150°C. Por otro lado, Wang y col (2020), reportaron un incremento de 7.8% y 4.6% en garbanzo y maíz sometidos a extrusión a 150°C. Los autores reportan que el incremento de la DPIV se puede deber a la inactivación de inhibidores enzimáticos (inhibidores de tripsina y quimiotripsina).

Cuadro 14. Digestibilidad de proteína *in vitro* (%DPIV) en harinas de garbanzo germinado con y sin Se, harina de amaranto y en tratamientos de botanas obtenidas por extrusión.

Muestra	DPIV (%)
GC	71.09 ± 0 ^{cd}
GSe	72.09 ± 0 ^{bcd}
AM	70.18 ± 0 ^d
<u>GC: GSe: AM</u>	
0:0:100	78.33 ± 0 ^a
35.5:4.5:60	73.80 ± 0 ^{bc}
30:0:70	75.61 ± 0 ^{ab}
0:30:70	72.9 ± 0 ^{bcd}
40:0:60	73.8 ± 0 ^{bc}
0:40:60	74.71 ± 0 ^b

Los valores son las medias ± desviación estándar de tres réplicas. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto.

Además, la desnaturalización de las proteínas inducida por el calor y por fuerzas de fricción durante el proceso de extrusión, puede mejorar la accesibilidad de los sitios sensibles a la proteólisis lo que podría facilitar la digestión enzimática (Pasqualone y col. 2020).

4 Perfil de ácidos grasos en botanas obtenidas por extrusión

En el **Cuadro 15** se puede apreciar el perfil de ácidos grasos de las harinas acondicionadas con aceite de pescado (previas a extrusión) y de los tratamientos después de la extrusión. Se identificaron 9 ácidos grasos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) en las harinas acondicionadas y tratamientos de botanas, los cuales incluyen ácidos grasos saturados (palmítico y esteárico), monoinsaturado (oleico) y poliinsaturados (linoleico, linolénico, DHA y EPA) y un ácido graso trans (elaídico). El aceite de pescado LYSI, utilizado para enriquecer las harinas contiene DHA y EPA, por lo que se espera el contenido de estos ácidos grasos en los tratamientos. El ácido graso más abundante en todas las muestras fue el linoleico (40.55%-14.73%).

En todos los tratamientos se observó la misma tendencia, ya que la concentración de ácidos grasos presentes en las harinas acondicionadas fue mayor que en los tratamientos extruidos. Este resultado está relacionado con la concentración de lípidos presentes en la muestra, como se mencionaba anteriormente, el porcentaje de lípidos también disminuyó en los tratamientos extruidos con respecto a las harinas acondicionadas. Sin embargo, el contenido de lípidos extraídos con hexano en los tratamientos se tomó como indicador del contenido disponible de lípidos libres, mismos que se utilizaron para la cuantificación de ácidos grasos. Se ha reportado que el hexano no puede romper las interacciones iónicas de hidrógeno o hidrofóbicas y solo puede extraer lípidos libres (Thachil y col. 2014). Esto puede indicar que la

Cuadro 15. Perfil de ácidos grasos (%) presentes en las harinas acondicionadas y en las botanas obtenidas por extrusión.

Ácido graso (%)	Tratamientos								
	GC: GSe: AM								
	0:0:100			35.5:4.5:60			30:0:70		
Acon	Ext	% de recuperación	Acon	Ext	% de recuperación	Acon	Ext	% de recuperación	
Palmítico (C16:0)	18.17	15.52	85.42	13.18	8.6	65.25	15.66	12.91	82.44
Palmitoleico (C16:1)	3.63	3.46	95.32	3.81	2.27	59.58	4.23	3.08	72.81
Estearato (C18:0)	3.88	3.25	83.76	4	2.44	61.00	4.36	3.38	77.52
Elaídico (C18:1)	23.39	19.74	84.40	19.1	12.81	67.07	21.82	18.03	82.63
Oleico (C18:1)	1.06	0.94	88.68	1.06	0.61	57.55	1.16	0.91	78.45
Linoleico (C18:2)	40.55	33.15	81.75	36.57	23.76	64.97	41.54	33.48	80.60
Linolénico (C18:3)	0.95	0.81	85.26	1.36	0.82	60.29	1.42	1.12	78.87
EPA (C20:5)	1.43	1.24	86.71	1.47	0.86	58.50	1.67	1.1	65.87
DHA (C22:6)	2.54	2.17	85.43	2.63	1.58	60.08	2.99	1.97	65.89

GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto; Acon= harinas acondicionadas; Ext= harinas extruidas.

Cuadro 15. Perfil de ácidos grasos (%) presentes en las harinas acondicionadas y en las botanas obtenidas por extrusión.

Ácido graso (%)	Tratamientos								
	GC: GSe: AM								
	0:30:70			40:0:60			0:40:60		
Acon	Ext	% de recuperación	Acon	Ext	% de recuperación	Acon	Ext	% de recuperación	
Palmítico (C16)	17.06	7.93	46.48	13.39	1.13	8.44	14.49	5.32	36.71
Palmitoleico (C16:1)	4.14	1.89	45.65	3.73	2.81	75.34	3.58	ND	-
Estearato (C18)	4.67	2.06	44.11	4.02	3.14	78.11	4.15	1.41	33.98
Elaídico (C18:1)	24.43	11.38	46.58	19.4	16.3	84.02	21.08	8.26	39.18
Oleico (C18:1)	1.19	0.53	44.54	1.04	0.8	76.92	1.06	0.38	35.85
Linoleico (C18:2)	44.23	20.59	46.55	37.52	30.86	82.25	39.19	14.73	37.59
Linolénico (C18:3)	1.41	0.65	46.10	1.39	1.1	79.14	1.33	0.48	36.09
EPA (C20:5)	1.63	0.7	42.94	1.43	1	69.93	1.34	ND	-
DHA (C22:6)	2.94	1.29	43.88	2.51	1.8	71.71	2.41	0.95	39.42

ND= no detectado; GC= garbanzo germinado control; GSe= garbanzo germinado con Se; AM= amaranto; Acon= harinas acondicionadas; Ext= harinas extruidas.

disminución observada en los ácidos grasos en los tratamientos extruidos se puede deber a la interacción de los lípidos con otros compuestos durante la extrusión, generando que los lípidos libres antes de la extrusión sean menos accesibles a la extracción con hexano después de la extrusión. Estas interacciones se pueden generar con proteínas, carbohidratos o ambas fracciones (Thachil y col. 2014). Durante la extrusión, el almidón sufre modificaciones estructurales en presencia de lípidos y la acción simultánea del calor, el esfuerzo cortante y la presión puede provocar la formación de complejos de amilosa-lípidos (Cervantes-Ramirez y col. 2020).

El tratamiento extruido elaborado con 100% amaranto presentó mayores porcentajes (95.3% - 81.7%) de retención de ácidos grasos con respecto a los otros tratamientos. Se puede observar que los tratamientos elaborados con garbanzo germinado con Se, presentaron un menor porcentaje de ácidos grasos comparándolos con los tratamientos con garbanzo germinado control. El tratamiento con menor contenido de Se (35.5%GC/ 4.5%GSe/ 60%AM) tuvo mayores porcentajes de retención en todos los ácidos grasos con respecto a los tratamientos con mayor contenido de Se (30%GSe/ 70%AM y 40%GSe/ 60%AM). Es posible que el Se en altas concentraciones actúa como prooxidante e impacte negativamente en la concentración de los ácidos grasos.

La ingesta de ácidos grasos poliinsaturados como DHA y EPA durante la infancia presenta varios beneficios, tales como el desarrollo y la función del cerebro, mejora la visión, la cognición, el comportamiento y reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular (Parasannanavar y col. 2021). Según la FAO (2012), la dosis diaria recomendada de DHA + EPA en edades de 4–6 años es de 150-200 mg y de 6-10 años es de 200-250 mg. De acuerdo con el contenido de DHA y EPA en una porción de 60 g de los tratamientos de botanas de 100% AM y 35.5%GC/ 4.5%GSe/ 60%AM, se podría cubrir el 53% y el 32%, respectivamente, de 200 mg de la dosis recomendada. El efecto beneficioso de la suplementación con PUFA, ya ha sido investigado por Portillo-Reyes y col (2014) quienes reportaron que el consumo de tres cápsulas diarias de ácidos grasos omega (60 mg DHA y 90 mg EPA por

cápsula) tomadas por niños desnutridos de 8 a 12 años mejoró la velocidad de procesamiento, coordinación visomotora, integración perceptiva, atención y función ejecutiva en más del 70% de los niños suplementados con omega-3.

Por otro lado, resulta importante estudiar la formación de complejos de amilosa-lípidos y/o proteína-lípidos después de la extrusión de las harinas, lo cual sería beneficioso para el producto, ya que con estos complejos disminuiría la concentración de lípidos libres sujetos a oxidación y por ende impactarían positivamente en la vida útil del producto final.

VII CONCLUSIONES

1. La germinación del maíz mejoró los minerales importantes para la salud humana, como Ca (+182%), Fe (+54.8%), Zn (+39.9%) y Mg (+23%). Sin embargo, el perfil de minerales fue similar entre los granos de maíz, nixtamal, nejayote y tortilla de todos los tratamientos.
2. La germinación de maíz en presencia de selenito de sodio es una estrategia eficaz para aumentar el contenido de Se en los granos de maíz, su capacidad antioxidante y su contenido de ácido ferúlico.
3. El maíz germinado con Se obtuvo la mayor actividad antioxidante (+53.8%) y ácido ferúlico ligado (+431.15%) respecto al maíz crudo.
4. El maíz germinado obtuvo mayor concentración de ácido ferúlico ligado (181%), mayor actividad antioxidante (32%) y mayor actividad antiinflamatoria que los granos de maíz germinados sin Se.
5. El proceso de nixtamalización del maíz germinado con y sin Se impactó negativamente en la actividad antioxidante de los granos y de sus respectivos productos, nixtamal, nejayote y tortilla.
6. El nejayote obtenido de los tres tratamientos presentó altas concentraciones de compuestos antioxidantes, los cuales pueden ser recuperados y utilizados como ingredientes de alimentos funcionales.
7. La tortilla de maíz germinado con Se (0.76 µg/g) representa una excelente opción para incrementar la ingesta de Se en la población.
8. De acuerdo con el modelo Gompertz, la K_G predijo que la tasa de crecimiento tumoral fue mayor en el grupo xenoinjertado y sin quimioterapia en comparación con casi todos los tratamientos.
9. El tiempo de inflexión del crecimiento tumoral observado para el grupo SQ fue mayor que el observado en los grupos con dieta rica en Se y con quimioterapia de 15 y 30 mg/kg (Q15Se y Q30Se).
10. El grupo Q30Se no mostró diferencias significativas de colesterol total y colesterol HDL con respecto al grupo basal.

11. El grupo Q30Se mostró mejores resultados en cuanto al Ti y mayor concentración de colesterol HDL en comparación con los grupos SQ y Q30.
12. Una dieta enriquecida con Se en combinación con 5-FU para el tratamiento de cáncer mostró mejores resultados con respecto al tratamiento de 5-FU por sí solo.
13. La extrusión disminuyó significativamente la concentración de lípidos libres en las botanas.
14. El %DPIV fue mejor en los tratamientos extruidos con respecto a las harinas de garbanzo germinado control, garbanzo germinado con Se y harina de amaranto.

VIII BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O. (2014). Bound phenolics in foods, a review. *Food Chemistry*, 152, 46-55
- Acosta-Estrada, B.A., Lazo-Vélez, M.A., Nava-Valdez, Y., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O. (2014). Improvement of dietary fiber, ferulic acid and calcium contents in pan bread enriched with nejayote food additive from white maize (*Zea mays*). *Journal of Cereal Science*, 60 (1), 264-269.
- Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (21), 6182-6187.
- Agropecuarios. (2018). Maíz grano cultivado representativo de México.
- Akin-Idowu, P. E., Odunola, O. A., Gbadegesin, M. A., Ademoyegun, O. T., Aduloju, A. O., Olagunju, Y. O. (2017). Nutritional evaluation of five species of grain amaranth—an underutilized crop. *International Journal of Science*, 3(01), 18-27.
- Alemayehu, H., Emire, S. A., Henry, C. (2019). Effects of extrusion process parameters on the quality properties of ready-to-eat pulse-based snacks. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1641903.
- Altaf, U., Hussain, S.Z., Qadri, T.; Ishrat, S.A., Kanojia, V. (2020). Optimization of extrusion process for development of nutritious snacks using rice and chickpea flour. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 79, 430–436.
- Álvarez, T. S., Lamas, D. L. (2021). Chemical characteristics and sensory properties of novel snacks produced with okara fortified with omega-3 from fish oil. *International Journal of Food Studies*, 10.
- Ávila, F., W., Yang, Y., Fquin, V., Ramos, S. J., Guilherme, L., R., Thannhauser, T. W., Li, L. (2014). Impact of selenium supply on Se-

methylselenocysteine and glucosinolate accumulation in selenium-biofortified Brassica sprouts. *Food Chemistry*, 165: 578-586.

Avery, J. C., Hoffmann, P. R. (2018). Selenium, selenoproteins, and immunity. *Nutrients*, 10(9), 1203.

Bargellini, A., Marchesi, I., Rizzi, L., Cauteruccio, L., Masironi, R., Simioli, M., Borella, P. (2008). Selenium interactions with essential and toxic elements in egg yolk from commercial and fortified eggs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22 (3) 234-241.

Benkhoud, H., Baâti, T., Njim, L., Selmi, S., Hosni, K. (2021). Antioxidant, antidiabetic, and antihyperlipidemic activities of wheat flour-based chips incorporated with omega-3-rich fish oil and artichoke powder. *Journal of Food Biochemistry*, 45(3), e13297.

Bodroža-Solarov, M. I., Šimurina, O. D., Kojić, J. S., Krulj, J. A., Filipović, J. S., Cvetković, B. R., Ilić, N. M. (2022). Utilization of *Amaranthus* spp. grains in food. *Food and Feed Research*, 49(1), 37-52.

Bos, D.J., Oranje, B., Veerhoek, E.S., Van Diepen, R.M., Weusten, J.M., Demmelmair, H., Durston, S. (2015). Reduced symptoms of inattention after dietary omega-3 fatty acid supplementation in boys with and without attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacology*, 40(10), 2298-2306.

Brown, I., Lee, J., Sneddon, A. A., Cascio, M. G., Pertwee, R. G., Wahle, K. W., Rotondo, D., Heys, S. D. (2020). Anticancer effects of n-3 EPA and DHA and their endocannabinoid derivatives on breast cancer cell growth and invasion. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 156, 102024.

Calder, P. (2018). Very long-chain n-3 fatty acids and human health: Fact, fiction, and the future. *Proceedings of the Nutrition Society*, 77(1), 52-72.

- Cardoso, C., Afonso, C., Bandarra, N.M. (2018). Dietary DHA, bioaccessibility, and neurobehavioral development in children. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(15), 2617-2631.
- Castellanos-Gallo, L., Galicia-García, T., Estrada-Moreno, I., Mendoza-Duarte, M., Márquez-Meléndez, R., Portillo-Arroyo, B., Soto-Figueroa, C., Leal-Ramos, Y., Sanchez-Aldana, D. (2019). Development of an expanded snack of rice starch enriched with amaranth by extrusion process. *Molecules*, 24(13), 2430.
- Cervantes-Ramírez, J. E., Cabrera-Ramirez, A. H., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M. E., de la Luz Reyes-Vega, M., Ramírez-Jiménez, A. K., Gaytán-Martínez, M. (2020). Amylose-lipid complex formation from extruded maize starch mixed with fatty acids. *Carbohydrate Polymers*, 246, 116555.
- Chaidez-Laguna, L. D., Torres-Chavez, P., Ramírez-Wong, B., Marquez-Ríos, E., Islas-Rubio, A. R., Carvajal-Millan, E. Corn proteins solubility changes during extrusion and traditional nixtamalization for tortilla processing: A study using size exclusion chromatography. *Journal of Cereal Science*, 2016, 69, 351-357.
- Chang, J. P. C., Su, K. P., Mondelli, V., Satyanarayanan, S. K., Yang, H. T., Chiang, Y. J., Pariante, C. M. (2019). High dose eicosapentaenoic acid (EPA) improves attention and vigilance in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and low endogenous EPA levels. *Translational psychiatry*, 9(1), 303.
- Chavarín-Martínez, C.D., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, J.X.K., Cuevas-Rodríguez, E.O., Milán-Carrillo, J., Reyes-Moreno, C. (2019). Germination in optimal conditions as effective strategy to improve nutritional and nutraceutical value of underutilized Mexican blue maize seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74 (2), 192-199.

- Chen, X., Wu, P., Liu, D., Yan, S., Shen, X., Yang, L. (2020). Prognostic significance of high triglyceride and apolipoprotein B levels in patients with stage III and high-risk stage II colorectal cancer undergoing curative surgery. *Oncology Letters*, 20, 705-714.
- Chinma, C. E., Abu, J. O., Asikwe, B. N., Sunday, T., Adebo, O. A. (2021). Effect of germination on the physicochemical, nutritional, functional, thermal properties and in vitro digestibility of Bambara groundnut flours. *LWT-Food Science Technology*, 140, 110749.
- Cid-Gallegos, M., Sánchez-Chino, X., M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V., R., Baltiérrez-Hoyos, R., Villa-Treviño, S., Benkhoud, H., Baâti, T., Njim, L., Selmi, S., Hosni, K. (2021). Antioxidant, antidiabetic, and antihyperlipidemic activities of wheat flour-based chips incorporated with omega-3-rich fish oil and artichoke powder. *Journal of Food Biochemistry*, 45(3), e13297.
- Costantini, L., Molinari, R., Farinon, B., Merendino, N. (2017). Impact of omega-3 fatty acids on the gut microbiota. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2645.
- Costantini, M., Sabovics, M., Galoburda, R., Kince, T., Straumite, E., Summo, C., Pasqualone, A. (2021). Effect of die configuration on the physicochemical properties, anti-nutritional compounds, and sensory features of legume-based extruded snacks. *Foods*, 10(12), 3015.
- Contreras-Jácquez, V.; Valenzuela-Vázquez, U.; Grajales-Hernández, D. A.; Mateos-Díaz, J. C.; Arrellano-Plaza, M.; Jara-Marini, M. E.; Asaff-Torres, A. (2022). Pilot-scale integrated membrane system for the separation and concentration of compounds of industrial interest from tortilla industry wastewater (Nejayote). *Waste and Biomass Valorization*. 13 (1), 345-360.

- Corn, K. C., Windham, M. A., Rafat, M. (2020). Lipids in the tumor microenvironment: From cancer progression to treatment. *Progress in lipid research*, 80, 101055.
- D'Amato, R., Fontanella, M.C., Falcinelli, B., Beone, G.M., Bravi, E., Marconi, O., Benincasa, P., Businelli, D. (2018). Selenium Biofortification in Rice (*Oryza sativa* L.) Sprouting: Effects on Se yield and nutritional traits with focus on phenolic acid profile. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(16): 4082-4090
- D'Amato, R., Proietti, P., Onofri, A., Regni, L., Esposto, S., Servili, M., Businelli, D., Selvaggini, R. (2017). Biofortification (Se): Does it increase the content of phenolic compounds in virgin olive oil (VOO)? *PLoS one*, 12(4): e0176580.
- Dai, H., Wei, S., Twardowska I. (2020) Biofortification of soybean (*Glycine max* L.) with Se and Zn and enhancing its physiological functions by spiking these elements to soil during flowering phase. *Science of the Total Environment*, 740, 139648.
- Dávila-Vega, J. P., Gastelum-Hernández, A. C., Serrano-Sandoval, S. N., Serna-Saldívar, S. O., Guitiérrez-Urbe, J. A., Milán-Carrillo, J., Guardado-Félix, D. (2022). Metabolism and Anticancer Mechanisms of Selocompounds: Comprehensive Review. *Biological Trace Element Research*, 1-19.
- Di-Gioia, F., Renna, M., Santamaria, P. (2017). Sprouts, Microgreens and “Baby Leaf” Vegetables. En. *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables*, Springer. 403-432.
- Díaz-Montes, E., Barragán-Huerta, B. E., & Yáñez-Fernández, J. (2020). Identification and evaluation of antioxidant activity of hydroxycinnamic acids extracted by ultrafiltration from three varieties of Mexican maize. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 1799-1808.

- Demir., B., Bilgicli, N. (2020). Changes in chemical and anti-nutritional properties of pasta enriched with raw and germinated quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) flours. *Journal of Food Science and Technology*.
- Dhanjal, N. I., Sharma, S., Skalny, A. V., Skalnaya, M. G., Ajsuvakova, O. P., Tinkov, A. A., Zhang, F., Guo, X., Prabhu, K. S., Prakash, N. T. (2019). Selenium-rich maize modulates the expression of prostaglandin genes in lipopolysaccharide-stimulated RAW264. 7 macrophages. *Food & Function journal*, 10 (5), 2839-2846.
- Djuricic, I., Calder, P.C. (2021). Beneficial outcomes of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids on human health: An update for 2021. *Nutrients*, 13(7), 2421.
- Dong, Z., Liu, Y., Dong, G., Wu, H. (2021). Effect of boiling and frying on the selenium content, speciation, and in vitro bioaccessibility of selenium-biofortified potato (*Solanum tuberosum* L.). *Food Chemistry*.
- Ei, H., Zheng, H.T., Farooq, M.U. (2020). Impact of selenium, zinc and their interaction on key enzymes, grain yield, selenium, zinc concentrations, and seedling vigor of biofortified rice. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 16940–16949.
- ENSANUT (2020). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (Ensanut) 2020, disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2020/doctos/informes/ensanutCovid19ResultadosNacionales.pdf>. (Visitado el 03/feb/2023).
- Ertlav, K., Nazıroğlu, M., Ataizi, Z.S., Braidı, N. (2019). Selenium enhances the apoptotic efficacy of docetaxel through activation of TRPM2 channel in DBTRG glioblastoma cells. *Neurotox Research*, 35(4):797–808
- Espinoza-Moreno, R. J., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., López-Valenzuela, J. A., Paredes-López, O., Gutiérrez-Dorado, R. (2016).

- Healthy ready-to-eat expanded snack with high nutritional and antioxidant value produced from whole amarantin transgenic maize and black common bean. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(2), 218-224
- Espinosa-Ramírez, J., De la Rosa-Millan, J., Pérez-Carrillo, E., Serna-Saldívar, S.O. (2021). Assessment of the quality of fresh nixtamalized maize doughs with different degrees of cooking and milling: a comparison of Mixolab and RVA analyses. *Journal of Cereal Science*, 102, 103321.
- FAOSTAT (2021). Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL> (visitado 28/02/2023).
- Faridy, J.C.M., Stephanie, C.G.M., Gabriela, M.M.O., Cristian, J.M. (2020). Biological activities of chickpea in human health (*Cicer arietinum* L.). A review. *Plant Foods for human Nutrition*, 75, 142-153.
- Félix-Medina, J. V., Gutiérrez-Dorado, R., López-Valenzuela, J. A., López-Ángulo, G., Quintero-Soto, M. F., Perales-Sánchez, J. X. K., Montes-Ávila, J. (2021). Nutritional, antioxidant and phytochemical characterization of healthy ready-to-eat expanded snack produced from maize/common bean mixture by extrusion. *LWT - Food Science and Technology*, 142, 111053.
- Feng, M., Wang, X., Xiong, H., Qiu, T., Zhang, H., Guo, F., Jiang, L., Sun, Y. (2021). Anti-inflammatory effects of three selenium-enriched brown rice protein hydrolysates in LPS-induced RAW264.7 macrophages via NF- κ B/MAPKs signaling pathways. *Journal of Functional Foods*, 76, 104320.
- Fontagne-Dicharry, S., Veron, V., Larroquet, L., Godin, S., Wischhusen, P., Aguirre, P., Kaushik, S. J. (2020). Effect of selenium sources in plant-based diets on antioxidant status and oxidative stress-related parameters in rainbow trout juveniles under chronic stress exposure. *Aquaculture*. 529: 735684.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. Data of Crops Production. Acceso, julio, 2021. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Funes-Collado, V., Rubio, R., López-Sánchez, J.F. (2015). Does boiling affect the bioaccessibility of selenium from cabbage? *Food Chemistry*, 181, 304-309.
- Gammelgaard, B., Rasmussen, L.H., Gabel-Jensen, C., Steffansen, B. (2011). Estimating intestinal absorption of inorganic and organic selenium compounds by in vitro flux and biotransformation studies in Caco-2 Cells and ICP-MS Detection. *Biological Trace Element Research*, 145(2) 248–256.
- Gammone, M.A., Riccioni, G., Parrinello, G., D'orazio, N. (2018). Omega-3 polyunsaturated fatty acids: benefits and endpoints in sport. *Nutrients*, 11(1), 46.
- Gandin, V., Khalkar, P., Braude, J., Fernandes, A.P. (2018). Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 80–97
- Ganjyal, G.M. (2020). *Extrusion Cooking: Cereal Grains Processing*, 2nd ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 564.
- Gao, X., Zhang, Z., Li, Y., Shen, P., Hu, X., Cao, Y., Zhang, N. (2016). Selenium Deficiency Facilitates Inflammation Following S. Aureus Infection by Regulating TLR2-Related Pathways in the Mouse Mammary Gland. *Biological Trace Element Research*, 172, 449–457.
- Garousi, F. (2017). The essentiality of selenium for humans, animals, and plants, and the role of selenium in plant metabolism and physiology. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 10(1), 75–90.
- Golob, A., Novak, T., Maršić, N. K., Šircelj, H., Stibilj, V., Jerše, A., Germ, M. (2020). Biofortification with selenium and iodine changes morphological

- properties of *Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*) and increases their contents in tubers. *Plant Physiology and Biochemistry*, 150, 234-243.
- Gould, J.F., Roberts, R.M., Makrides, M. (2021). The influence of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, docosahexaenoic acid, on child behavioral functioning: a review of randomized controlled trials of DHA supplementation in pregnancy, the neonatal period and infancy. *Nutrients*, 13(2), 415.
- Guardado-Félix, D., Antunes-Ricardo, M., Rocha-Pizaña, M.R., Martínez-Torres, A.C., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldivar, S.O. (2019). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts containing supranutritional levels of selenium decrease tumor growth of colon cancer cells xenografted in immune-suppressed mice. *Journal of functional foods*, 53: 76-84.
- Guardado-Félix, D., Pérez-Carrillo, E., Heredia-Olea, E., Serna-Saldivar, S. O. (2022). Comparison of regular and selenium-enriched tortillas produced from sprouted corn kernels. *Plant Foods for Human Nutrition*, 1-7.
- Guardado-Félix, D., Serna-Saldivar, S.O., Cuevas-Rodríguez, E.O., Jacobo-Velázquez, D.A., Gutiérrez-Urbe, J.A. (2017). Effect of sodium selenite on isoflavonoid contents and antioxidant capacity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. *Food chemistry*, 226: 69-74.
- Guler, Y., Ovey, I.S. (2020) Selenium enhances the TRPM2 mediated effect of paclitaxel on human breast cancer cells. *Annals of Medical Research*, 27(4), 1150–1156.
- Guo, C.H., Hsia, S., Chung, C.H., Lin, Y.C., Shih, M.Y., Chen, P.C., Li, Z. (2021) Nutritional supplements in combination with chemotherapy or targeted therapy reduces tumor progression in mice bearing triple-negative breast cancer. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 87:108504
- Guo, D., Zhang, Y., Zhao, J., He, H., Hou, T. (2019). Selenium-biofortified corn peptides: Attenuating concanavalin A—Induced liver injury and structure

- characterization. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 51, 57-64.
- Gupta, R.K., Gupta, K., Sharma, A., Das, M., Ansari, I., A., Dwivedi, P.D. (2016). Health Risks and Benefits of Chickpea (*Cicer arietinum*) Consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(1): 6–22.
- Gutiérrez-Urbe, J.A., Rojas-García, C., García-Lara, S., Serna-Saldivar, S.O. (2010). Phytochemical analysis of wastewater (nejayote) obtained after lime-cooking of different types of maize kernels processed into masa for tortillas. *Journal of Cereal Science*, 52, 410-416.
- Ha, H.Y., Alfulaij, N., Berry, M.J., Seale, L.A. (2019) From selenium absorption to selenoprotein degradation. *Biological Trace Element Research*, 192:26–37
- Hamid, M., Abdulrahim, Y., Liu, D., Qian, G., Khan, A., Huang, K. (2018). The Hepatoprotective Effect of Selenium-Enriched Yeast and Gum Arabic Combination on Carbon Tetrachloride-Induced Chronic Liver Injury in Rats. *Journal of Food Science*, 83, 525–534
- He, Y.T., Liu, D.W., Ding, L.Y., Li, Q., Xiao, Y.H. (2004). Therapeutic effects and molecular mechanisms of antifibrosis herbs and selenium on rats with hepatic fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*, 10:703-6
- Hernández-Grijalva, M. I., Serrano-Sandoval, S. N., Gutiérrez-Urbe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Milán-Carrillo, J., Antunes-Ricardo, M., Villela-Castrejon, J., Guardado-Félix, D. (2022). Application of protein fractions from selenized sprouted chickpeas as emulsifying agents and evaluation of their antioxidant properties. *Food and Bioproducts Processing*, 136, 59-66.
- Hinrichsen, S., Planer-Friedrich, B. (2016). Cytotoxic activity of selenosulfate versus selenite in tumor cells depends on cell line and presence of amino acids. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(9), 8349–8357

- Hou, L., Qiu, H., Sun, P., Zhu, L., Chen, F., Qin, S. (2020). Selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae* improves the meat quality of broiler chickens via activation of the glutathione and thioredoxin systems. *Poultry Science*, 99(11), 6045-6054
- Hsu, H.W., Vavak, D.L., Satterlee, L.D. Miller, G.A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science* 42(5), 1269–1273.
- Hsu, T.H., Hung, S.W., Wu, C.Y., Chiu, C.C., Hong, H.T., Lee, G.C., Chen, C.C., Lin, J., S., Wu, C.P. (2020). Supplementation of beef extract improves chemotherapy-induced fatigue and toxic effects in mice. *Journal of Functional Foods*, 75, 104232.
- Jin, D.X., Liu, X.L., Zheng, X.Q., Wang, X.J., He, J.F. (2016). Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification, and evaluation of three novel corn antioxidant peptides. *Food Chemistry*, 204, 427-436.
- Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C.L., Chibbar, R.N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108: S11-S26
- Jung, G.H., Kim, J.H., Chung, M.S. (2020). Changes in weight, body composition, and physical activity among patients with breast cancer under adjuvant chemotherapy. *European Journal of Oncology Nursing*, 44, 101680.
- Kajla, P., Sharma, A., Sood, D.R. (2017). Effect of germination on proximate principles, minerals, and anti-nutrients of flaxseeds. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 36 (1), 52-57.
- Kamau, E. H., Nkhata, S.G., Ayua, E.O. (2020). Extrusion and nixtamalization conditions influence the magnitude of change in the nutrients and bioactive components of cereals and legumes. *Food Science & Nutrition*, 8 (4), 1753-1765.

- Khatoon, N., Prakash, J. (2006). Nutrient retention in microwave cooked germinated legumes. *Food Chemistry*, 97 (1), 115-121.
- Kierulf, A., Whaley, J., Liu, W., Enayati, M., Tan, C., Pérez-Herrera, M. You, Z., Abbaspourrad, A. (2020). Protein content of amaranth and quinoa starch plays a key role in their ability as Pickering emulsifiers. *Food Chemistry*, 126246.
- Kou, X., Gao, J., Xue, Z. (2013). Purification and identification of antioxidant peptides from chickpea (*Cicer arietinum* L.) albumin hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 50:591–598.
- Kuršvietienė, L., Mongirdienė, A., Bernatoniene, J., Šulinskienė, J., Stanevičienė, I. (2020). Selenium anticancer properties and impact on cellular redox status. *Antioxidants*, 9 (1), 80.
- Kush, K. P., Khosrow K. (2021). Lipoproteins and cancer: The role of HDL-C, LDL-C, and cholesterol-lowering drugs. *Biochemical Pharmacology*, 114654.
- Lazo-Vélez, M.A., Guardado-Félix, D., Avilés-González, J., Romo-López, I. Serna-Saldívar, S.O. (2018). Effect of germination with sodium selenite on the isoflavones and cellular antioxidant activity of soybean (*Glycine max*). *LWT - Food Science and Technology*, 93: 64-70.
- Liang, Q., Chalamaiah, M., Ren, X., Ma, H., Wu, J. (2018). Identification of new anti-inflammatory peptides from zein hydrolysate after simulated gastrointestinal digestion and transport in Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (5), 1114-1120.
- Liang, Q., Ren, X., Chalamaiah, M., Ma, H. (2020). Simulated gastrointestinal digests of corn protein hydrolysate alleviate inflammation in caco-2 cells and a mouse model of colitis. *Journal of Food Science and Technology*, 57 (6), 2079-2088.

- Liao, F., He, W., Jiang, C., Yin, C., Guo, G., Chen, X., Qiu, H., Rong, Y., Zhang, B., Xu, D., Xia, L. (2015). A high LDL-C to HDL-C ratio predicts poor prognosis for initially metastatic colorectal cancer patients with elevations in LDL-C. *OncoTargets and therapy*, 8, 3135.
- Lin, F., Zheng, R., Yu, C., Su, Y., Yan, X., Qu, F. (2020). Predictive role of serum cholesterol and triglycerides in cervical cancer survival. *International Journal of Gynecologic Cancer*.
- Lintschinger, J., Fuchs, N., Moser, J., Kuehnelt, D. Goessler, W. (2000). Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11): 5362-5368
- Liu, K., Chen, F., Zhao, Y., Gu, Z., Yang, H. (2011). Selenium accumulation in protein fractions during germination of Se-enriched brown rice and molecular weights distribution of Se-containing proteins. *Food Chemistry*, 127: 1526-1531.
- Liu, T., Xu, L., He, L., Zhao, J., Zhang, Z., Chen, Q. (2020). Selenium nanoparticles regulates selenoprotein to boost cytokine-induced killer cells-based cancer immunotherapy. *Nano Today*, 35, 100975
- Lofterød, T., Mortensen, E.S., Nalwoga, H., Wilsgaard, T., Frydenber, H., Risberg, T., Eggen, E.A., McTiernan, A., Aziz, S., Wist, E.A., Stensvold, A., Reitan, J.B., Akslen, L.A., Thune, I. (2018). Impact of pre-diagnostic triglycerides and HDL-cholesterol on breast cancer recurrence and survival by breast cancer subtypes. *BMC Cancer*, 18, 654.
- López-Barrios, L., Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A. (2016). Changes in antioxidant and antiinflammatory activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates due to germination and enzymatic digestion. *Food Chemistry*, 203, 417-424.

- Malagoli, M., Schiavon, M., Pilon-Smits, E.A. (2015). Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in plant science*, 6: 280.
- Maran, L., Hamid, A., Sahul-Hamid, S. (2021). Lipoproteins as markers for monitoring cancer progression. *Journal of Lipids*, 8180424.
- Margaret, P. (2012). Selenium and human health. *The Lancet*, 379 (9822), 1256-1268.
- Márquez-Molina, O., Lopez-Martinez, L. X. (2020). Effect of various process conditions on the nutritional and bioactive compounds of amaranth. *Nutritional value of amaranth*, 1-11.
- Maseko, T., Howell, K., Dunshea, F.R., Ng, K. (2014). Selenium-enriched *Agaricus bisporus* increases expression and activity of glutathione peroxidase-1 and expression of glutathione peroxidase-2 in rat colon. *Food Chemistry*, 146, 327–333.
- Meng, Q., Shi, S., Liang, C., Liang, D., Hua, J., Zhang, B., Xu, J., Yu, X. (2018). Abrogation of glutathione peroxidase-1 drives EMT and chemoresistance in pancreatic cancer by activating ROS-mediated Akt/GSK3 β /Snail signaling. *Oncogene*, 37, 5843–5857.
- Metere, A., Frezzotti, F., Graves, C. E., Vergine, M., De Luca, A., Pietraforte, D., Giacomelli, L. (2018). A possible role for selenoprotein glutathione peroxidase (GPx1) and thioredoxin reductases (TrxR1) in thyroid cancer: Our experience in thyroid surgery. *Cancer cell international*, 18 (1), 1-8.
- Mihafu, F., Laswai, H.S., Gichuhi, P., Mwanyika, S., Bovell-Benjamin, A.C. (2017). Influence of soaking and germination on the iron, phytate and phenolic contents of maize used for complementary feeding in rural Tanzania. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 6 (2), 111-117.

- Mora-Avilés, A., Lemus-Flores, B., Miranda-López, R., Hernández-López, D., Pons-Hernández, J.L., Acosta-Gallegos, J.A., Guzmán-Maldonado, S.H. (2007). Effects of common bean enrichment on nutritional quality of tortillas produced from nixtamalized regular and quality protein maize flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87 (5), 880-886.
- Mutschler, N., Scholz, C., Friedl, T., Zwingers, T., Fasching, P.A., Beckmann, M.W., Fehm, T., Mohrmann, S. (2018). Prognostic impact of weight change during adjuvant chemotherapy in patients with high-risk early breast cancer: results from the ADEBAR study. *Clinical Breast Cancer*, 18 (2), 175-183.
- National Institutes of Health (NIH). (2019). Available in: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-DatosEnEspanol/> (Visited 24/06/2022).
- National Institutes of Health (NIH). (2022). Available in: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-DatosEnEspanol/> (Visited: 28/08/2022).
- National Institutes of Health (NIH). (2021). Available in: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Calcium-DatosEnEspanol/> (Visited: 28/08/2022).
- National Institutes of Health (NIH). (2022). Available in: <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Zinc-DatosEnEspanol.pdf> (Visited: 28/08/2022).
- National Institutes of Health (NIH). (2020). Available in: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Magnesium-DatosEnEspanol/> (Visited: 28/08/2022).
- Nettleford, S.K., Prabhu, K.S. (2018). Selenium and Selenoproteins in Gut Inflammation-A Review. *Antioxidants*, 7, 36.

- Odukoya, J.O., De Saeger, S., De Boevre, M., Adegoke, G.O., Audenaert, K., Croubels, S., Antonissen, G., Odukoya, J.O., Njobeh, P.B. (2022). Influence of nixtamalization cooking ingredients on the mineral's composition of nixtamalized maize and sorghum. *Journal of Cereal Science*, 103.
- Offiah, V., Kontogiorgos, V., Falade, K. O. (2019). Extrusion processing of raw food materials and by-products: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59 (18), 2979-2998.
- Ouazib, M., Dura, A., Zaidi, F., Rosell, C. M. (2016). Effect of partial substitution of wheat flour by processed (germinated, toasted, cooked) chickpea on bread quality.
- Pasqualone, A., Costantini, M., Coldea, T. E., Summo, C. (2020). Use of legumes in extrusion cooking: A review. *Foods*, 9 (7), 958.
- Parasannanavar, D., Gaddam, I., Bukya, T., Banjara, S. K., Salvadi, B. P. P., Kumar, N., Rajkumar, H. (2021). Omega-3 polyunsaturated fatty acid intake and plasma fatty acids of school going Indian children-a cross-sectional study. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 170, 102294.
- Park, S.O., Yoo, Y.B., Baek, K.J., Yang, J., Choi, P.C., Lee, J.H., Lee, K.R., Park, K.S. (2015). Effects of combination therapy of docetaxel with selenium on the human breast cancer cell lines MDA-MB-231 and MCF-7. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 88(2), 55.
- Peter, K., & Gandhi, P. (2017). Rediscovering the therapeutic potential of *Amaranthus* species: A review. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4 (3), 196-205.
- Pick, D., Degen, C., Leiterer, M., Jahreis, G., Einax, J.W. (2013). Transport of selenium species in Caco-2 cells: analytical approach employing the

- Ussing chamber technique and HPLC-ICP-MS. *Microchemical Journal*, 110, 8–14.
- Pongrac, P., Kump, P., Budič, B., Vogel-Mikuš, K. (2016). Magnesium and phosphorus distributions in developing tartary buckwheat cotyledons/Razporeditev magnezija in fosforja v razvijajočih se kličnih listih tatarske ajde. *Folia Biologica et Geologica*, 57 (2), 45-56.
- Portillo-Reyes, V., Pérez-García, M., Loya-Méndez, Y., Puente, A.E. (2014). Clinical significance of neuropsychological improvement after supplementation with omega-3 in 8–12 years old malnourished Mexican children: A randomized, double-blind, placebo and treatment clinical trial. *Research in Developmental Disabilities*, 35 (4), 861–870.
- Rachwat R., D., Nebesny, E., Budryn, G. (2015). Chickpeas composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55, 1137–1145.
- Rathod, R.P., Annapure, U.S. (2016). Effect of extrusion process on antinutritional factors and protein and starch digestibility of lentil splits. *LWT- Food Science and Technology*, 66:114–23.
- Rayman, M.P. (2008). Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British journal of nutrition*, 100 (2), 254-268.
- Razaghi, A.M., Poorebrahim, D., Björnstedt, M. (2021). Selenium stimulates the antitumour immunity: Insights to future research. *European Journal of Cancer*, 155, 256-267.
- Řezáčová K., Čáňová, K., Bezrouk, A., Rudolf, E. (2016). Selenite induces DNA damage and specific mitochondrial degeneration in human bladder cancer cells. *Toxicology In Vitro*, 32, 105–114.
- Rezanka, T., Sigler, K. (2008). Biologically active compounds of semi-metals. *Phytochemistry* 69, 585–606.

- Rivera-Mirón, M.I., Torruco-Uco, J.G., Carmona-García, R., Rodríguez-Miranda, J. (2020). Optimization of an extrusion process for the development of a fiber-rich, ready-to-eat snack from pineapple by-products and sweet whey protein based on corn starch. *Journal of Food Process Engineering*, 43(11), e13532.
- Roach, L.A., Byrne, M. K., Howard, S.J., Johnstone, S.J., Batterham, M., Wright, I.M., Meyer, B. J. (2021). Effect of omega-3 supplementation on self-regulation in typically developing preschool-aged children: Results of the omega kid pilot study—a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrients*, 13 (10), 3561.
- Saeed, M., Mohamed, R., Amhed, M. (2019). The pro-oxidant, apoptotic and anti-angiogenic effects of selenium supplementation on colorectal tumors induced by 1,2-dimethylhydrazine in BALB/C Mice. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*, 8 (3), 215–226.
- SAGARPA-SIAP (2021). Disponible en: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Visitado 28/02/2023).
- Saini, R.K., Keum, Y.S. (2018). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance—A review. *Life sciences*, 203, 255-267.
- Sakallı, E., Nazıroğlu, M., Çiğ, B., Övey, I.S., Aslan-Koşar, P. (2016). Selenium potentiates the anticancer effect of cisplatin against oxidative stress and calcium ion signaling-induced intracellular toxicity in MCF-7 breast cancer cells: involvement of the TRPV1 channel. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 37 (1), 84–93.
- Sánchez-Chino, X.M., Jiménez-Martínez, C., León-Espinosa, E.B., Garduño-Siciliano, L., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V.R., Baltiérrez-Hoyos, R., Dávila-Ortiz, G. (2019). Protective effect of chickpea protein hydrolysates on colon carcinogenesis

- associated with a hypercaloric diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 38, 162–170.
- Sánchez-Chino, X.M., Jiménez-Martínez, C., Vásquez-Garzón, V.R. (2017). Cooked chickpea consumption inhibits colon carcinogenesis in mice induced with azoxymethane and dextran sulfate sodium. *Journal of the American College of Nutrition*, 36, 391–398.
- Sarika, K., Jayathilakan, K., Lekshmi, R.G.K., Priya, E.R., Greeshma, S.S., Rajkumar, A. (2019). Omega-3 enriched Granola bar: Formulation and evaluation under different storage conditions.
- Schiavon, M., Pilon-Smits, E.A. (2017). The fascinating facets of plant selenium accumulation–biochemistry, physiology, evolution, and ecology. *New Phytologist*, 213 (4), 1582-1596.
- Schmidt, D., Verruma-Bernardi, M.R., Forti, V.A., Mendes Ribeiro Borges, M.T. (2021). Quinoa and amaranth as functional foods: A review. *Food Reviews International*, 1-20.
- Seale, L.A., Ha, H.Y., Hashimoto, A.C., Berry, M.J. (2018). Relationship between selenoprotein P and selenocysteine lyase: insights into selenium metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 182–189.
- Serna-Saldivar, S.O. (2021). Understanding the functionality and manufacturing of nixtamalized maize products. *Journal of Cereal Science*, 99, 103205.
- Serrano-Sandoval, S.N., Guardado-Félix, D., Gutiérrez-Urbe, J.A. (2019). Changes in digestibility of proteins from chickpeas (*Cicer arietinum* L.) germinated in presence of selenium and antioxidant capacity of hydrolysates. *Food Chemistry*, 285, 290–295.
- Serrano-Sandoval, S.N., Guardado-Felix, D., Gutierrez-Urbe, J.A. (2022). Deglycosylation of isoflavones in selenized germinated chickpea flours due to convection drying. *LWT - Food Science and Technology*, 153.

- Sharma, S., Saxena, D.C., Riar, C.S. (2016). Analysing the effect of germination on phenolics, dietary fibres, minerals, and γ -amino butyric acid contents of barnyard millet (*Echinochloa frumentaceae*). *Food Bioscience*, 13 (1), 60-68.
- Sharma, S., Saxena, D.C., Riar, C.S. (2017). Using combined optimization, GC–MS and analytical technique to analyze the germination effect on phenolics, dietary fibers, minerals, and GABA contents of Kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*). *Food Chemistry*, 233, 20-28.
- Shevkani, K., Singh, N., Rattan, B., Singh, J. P., Kaur, A., Singh, B. (2019). Effect of chickpea and spinach on extrusion behavior of corn grit. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 2257-2266.
- Shyamananda, S.M., Abhijeet, S., Ajay, D.P., Manoj, K.B. (2021). Influence of cholesterol on cancer progression and therapy, *Translational Oncology*, 14(6).
- Silvestre-De-León, R., Espinosa-Ramírez, J., Heredia-Olea, E., Pérez-Carrillo, E., Serna-Saldívar, S.O. (2020). Biocatalytic degradation of proteins and starch of extruded whole chickpea flours. *Food and Bioprocess Technology*, 13, 1703-1716.
- Silvestrini, A., Mordente, A., Martino, G., Bruno, C., Vergani, E., Meucci, E. (2020). The role of selenium in oxidative stress and in nonthyroidal illness syndrome (NTIS): an overview. *Current Medicinal Chemistry*, 27(3), 423–449.
- Sinn, N. (2008). Nutritional and dietary influences on attention deficit hyperactivity disorder. *Nutrition reviews*, 66 (10), 558-568.
- Singh Sibian, M., & Singh Riar, C. (2021). Optimization and evaluation of composite flour cookies prepared from germinated triticale, kidney bean, and chickpea. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e14996.

- Sofi, S.A., Singh, J., Muzaffar, K., Mir, S. A., Dar, B.N. (2020). Effect of germination time on physico-chemical, functional, pasting, rheology and electrophoretic characteristics of chickpea flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*.
- Solano-Pérez, J.R. (2018). GRUMA: Inicio de Cobertura. Grupo Financiero Monex, 1-10.
- Soriano-García, M., Aguirre-Díaz, I. (2020). Nutritional value and therapeutic utilization of amaranth. In V.Y. Waisundara (Ed.), *Nutritional value of amaranth*, 1-18.
- Sugihara S, Kondo M, Chihara Y, Yuji, M., Hattori, H., Yoshida, M. (2004). Preparation of selenium-enriched sprouts and identification of their selenium species by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 68 (1), 193-199.
- Steel, C., Leoro, M., Schmiele, M., Ferreira, R., Chang, Y. (2012). Thermoplastic extrusion in food processing. In *Thermoplastic elastomers*, ed.
- Sun, L., Zhang, J., Yang, Q.S.Y., Liu, Y., Wang, Q., Han, F., Huang, Z. (2017). Synergistic effects of SAM and selenium compounds on proliferation, migration, and adhesion of HeLa cells. *Anticancer Research*, 37, 4433–4444.
- Tabassum, S., Rosli, N.B., Mazalan, M.S.A.B. (2019). Mathematical modeling of cancer growth process: a review. *In Journal of Physics: Conference Series*, 1366 (1), 012018.
- Takahashi, K., Suzuki, N., Ogra, Y. (2018). Effect of administration route and dose on metabolism of nine bioselenocompounds. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 49, 113–118.

- Thachil, M. T., Chouksey, M. K., Gudipati, V. (2013). Amylose-lipid complex formation during extrusion cooking: effect of added lipid type and amylose level on corn-based puffed snacks. *International Journal of Food Science & Technology*, 49 (2), 309–316.
- Thakur, P., Kumar, K., Ahmed, N., Chauhan, D., Rizvi, Q. U. E. H., Jan, S., Dhaliwal, H. S. (2021). Effect of soaking and germination treatments on nutritional, anti-nutritional, and bioactive properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.), quinoa (*Chenopodium quinoa* L.), and buckwheat (*Fagopyrum esculentum* L.). *Current Research in Food Science*, 4, 917-925.
- Tobe, R., Mihara, H. (2018). Delivery of selenium to selenophosphate synthetase for selenoprotein biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1835 (11), 2433–2440.
- Tobias-Espinoza, J.L., Amaya-Guerra, C.A., Quintero-Ramos, A., Pérez-Carrillo, E., Núñez-González, M. A., Martínez-Bustos, F., Ortega-Gutiérrez, J. A. (2019). Effects of the addition of flaxseed and amaranth on the physicochemical and functional properties of instant-extruded products. *Foods*, 8(6), 183.
- Tomé-Sánchez, I., Martín-Diana, A.B., Peñas, E., Frias, J., Rico, D., Jiménez-Pulido, I., Martínez-Villaluenga, C. (2021). Bioprocessed wheat ingredients: characterization, bioaccessibility of phenolic compounds, and bioactivity during in vitro digestion. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- Van Duijnhoven, F.J., Bueno-De-Mesquita, H. B., Calligaro, M., Jenab, M., Pischon, T., Jansen, E. H., Frohlich, J., Ayyobi, A., Overvad, K., Toft-Peterson, A., P., Tjonneland, A., Hansen, L., Boutron, R., M., C., Clavel, C., F., Cottet, V., Palli, D., Tagliabue, G., Panico, S., Tumino, R., Vineis, P., Kaaks, R., Teucher, B., Boeing, H., Drogan, D., Trichopoulou, A., Lagiou, P., Dilis, V., Peeters, P., H., M., Siersema, P., D., Rodriguez, L., Gonzales, C., A., Molina, M., E., Dorransoro, M., Tormo, M., J.,

- Barricarte, A., Palmqvist, R., Hallmans, G., Khaw, K., T., Tsilidis, K., K., Crowe, F., L., Chajes, V., Fedirko, V., Rinaldi, S., Norat, T., Riboli, E. (2011). Blood lipid and lipoprotein concentrations and colorectal cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Gut*, 60 (8), 1094-1102.
- Wang, C., Li, P., Xuan, J., Zhu, C., Liu, J., Shan, L., Du, Q., Ren, Y., Ye, J. (2017). Cholesterol enhances colorectal cancer progression via ROS elevation and MAPK signaling pathway activation. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 42 (2), 729-742.
- Wang, G., Wu, L., Zhang, H., Wu, W., Zhang, M., Li, X.F., Wu, H. (2016). Regulation of the Phenylpropanoid pathway: A mechanism of selenium tolerance in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Wang, L., Ding, L., Yu, Z., Zhang, T., Ma, S., Liu, J. (2016). Intracellular ROS scavenging and antioxidant enzyme regulating capacities of corn gluten meal-derived antioxidant peptides in HepG2 cells. *Food Research International*, 90, 33-41.
- Wang, S., Nosworthy, M. G., House, J. D., Niefer, S. H., Nickerson, M.T. (2020). Effect of barrel temperature and feed moisture on protein quality in pre-cooked Kabuli chickpea, sorghum, and maize flours. *Food Science and Technology International*, 26 (3), 265-274.
- Wang, X., Gao, W., Zhang, J. (2010). Subunit, amino acid composition and in vitro digestibility of proteins isolates from Chinese kabuli and desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Research International*, 43, 567–572.
- Wang, Y., Fang, W., Huang, Y., Hu, F, Wancai, Y., Xiong, B. (2015). Reduction of selenium-binding protein 1 sensitizes cancer cells to selenite via elevating extracellular glutathione: a novel mechanism of cancer-specific cytotoxicity of selenite. *Free Radical Biology and Medicine*, 79:186–196.

- Wastney, M.E., Combs, G.F., Canfield, W.K., Taylor, P.R., Patterson, K.Y., Hill, A.D., Moler, J.E., Patterson, B.H. (2011). A human model of selenium that integrates metabolism from selenite and selenomethionine. *Journal of Nutrition*, 141 (4), 708–717.
- Wu, F., W. Cao, H. Xu, M. Zhu, J. Wang, Ke, X. (2017). Treatment with a selenium-platinum compound induced T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma cells apoptosis through the mitochondrial signaling pathway. *Oncology Letters*, 13(3), 1702–1710.
- Wu, B., Ge, J., Zixiong-Zhang, Z., Huang, C., Li, X., Tan, C., Fang, X., Sun, J. (2019). Combination of sodium selenite and doxorubicin prodrug Ac-Phe-Lys-PABC-ADM affects gastric cancer cell apoptosis in xenografted mice. *BioMedical Research International*, 1–8.
- Xiang, N., Guo, X., Liu, F., Li, Q., Hu, J., (2017). Brennan, C.S. Effect of light and dark-germination on the phenolic biosynthesis, phytochemical profiles, and antioxidant activities in sweet corn (*Zea mays* L.) sprouts. *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (6), 1246.
- Xu, M., Jin, Z., Simsek, S., Hall, C., Rao, J., Chen, B. (2019). Effect of germination on the chemical composition, thermal, pasting, and moisture sorption properties of flours from chickpea, lentil, and yellow pea. *Food Chemistry*.
- Xu, J., Gong, Y., Sun, Y., Cai, J., Liu, Q., Bao, J., Yang, J., Zhang, Z. (2020). Impact of selenium deficiency on inflammation, oxidative stress, and phagocytosis in mouse macrophages. *Biological trace element research*, 194, 237-243.
- Yin, H., Qi, Z., Li, M., Ahammed, G. J., Chu, X., Zhou, J. (2019). Selenium forms and methods of application differentially modulate plant growth, photosynthesis, stress tolerance, selenium content and speciation in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 911–917.

- Yun, C.H., Yang, J.S., Kang, S.S., Yang, Y., Cho, J.H., Son, C.G., Han, S.H. (2007). NF- κ B signaling pathway, not IFN- β /STAT1, is responsible for the selenium suppression of LPS-induced nitric oxide production. *International Immunopharmacology*, 7 (9), 1192-1198.
- Zeljko, A., Vekic, J., Mihajlovic, M., Gojkovic, T., Vladimirov, S., Zeljkovic, D., Spasojevic-Kalimanovska, V., Trifunovic, B. (2021). Revealing the role of high-density lipoprotein in colorectal cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (7), 3352.
- Zhang, M.L., Wu, H.T., Chen, W.J., Xu, Y., Ye, Q.Q., Shen, J.X., Liu, J. (2020). Involvement of glutathione peroxidases in the occurrence and development of breast cancers. *Journal of Translational Medicine*, 18, 247.
- Zhang, X., Zhao, X. W., Liu, D. B., Han, C. Z., Du, L. L., Jing, J. X., Wang, Y. (2014). Lipid levels in serum and cancerous tissues of colorectal cancer patients. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20 (26), 8646.
- Zhang, Y., Li, H., Zhang, J., Zhao, C., Lu, S., Oiao, J., Han, M. (2020). The combinatory effects of natural products and chemotherapy drugs and their mechanisms in breast cancer treatment. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1179–1197.
- Zhang, Z., Gao, X., Cao, Y., Jiang, H., Wang, T., Song, X., Guo, M., Zhang, N. (2015). Selenium Deficiency Facilitates Inflammation Through the Regulation of TLR4 and TLR4-Related Signaling Pathways in the Mice Uterus. *Inflammation*, 38, 1347–1356.
- Zhou, P., Li, B., Liu, B., Chen, T., Xiao, J. (2018). Prognostic role of serum total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol in cancer survivors: a systematic review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*, 477, 94-104.

Zhu, B., He, H., Hou, T.A. (2019). Comprehensive review of corn protein-derived bioactive peptides: Production, characterization, bioactivities, and transport pathways. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18 (1), 329-345.