



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químico-Biológicas
Programa de Posgrado Integral en Biotecnología
Maestría en Ciencias con Orientación en Biotecnología
Agroalimentaria



Impacto de la adición de frijol tépari procesado secuencialmente por fermentación/extrusión en propiedades nutricionales, normolipídicas y antihiper glucemiantes de tortilla de maíz azul nixtamalizado

TESIS

Que presenta:

IBQ. Samantha Ochoa Sandoval

Como requisito para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en
Biotecnología Agroalimentaria

Directores de tesis:

Dra. Saraid Mora Rochín
Dr. Luis Martín Sánchez Magaña

Culiacán Sinaloa, México. Julio 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



AGRADECIMIENTOS

Expreso mis agradecimientos a la **Universidad Autónoma de Sinaloa** y al **Programa de Posgrado Integral en Biotecnología** por permitirme realizar este posgrado. Al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT)** y a **Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI)** por el financiamiento otorgado para la realización del proyecto.

A la **Dra. Saraid Mora Rochín** y el **Dr. Luis Martín Sánchez Magaña** por aceptarme en su equipo de trabajo y brindarme la confianza de realizar este proyecto y a las instalaciones del **Laboratorio 18**. Al **Dr. Ulises Osuna Martínez** por su dedicación y apoyo, así también a todo el equipo de trabajo del **Laboratorio de Investigación en Farmacia, Farmacobiología y Toxicobiología** de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas quienes se volvieron mis amigos durante este camino. Al Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias en el **Instituto Tecnológico de Sonora Campus Obregón** y al **Dr. Jaime López Cervantes** por permitirme realizar una pequeña estancia en su laboratorio.

A mis papás, al Akamaru y Jaken, a mis amigos dentro y fuera de los laboratorios.

*A **Keith** y **Joel**... Gracias por estar.*

PRESENTACIÓN

El presente trabajo de investigación titulado “Impacto de la adición de frijol tépari procesado secuencialmente por fermentación/extrusión en propiedades nutricionales, normolipídicas y antihiper glucemiantes de tortilla de maíz azul nixtamalizado” se llevó a cabo en el “Laboratorio de Nutraceuticos y Alimentos Funcionales” y “Laboratorio de Investigación en Farmacia Farmacología y Toxicobiología” en la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, así como también en el "Laboratorio de Tecnología de Alimentos, adscrito al departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias” en el Instituto Tecnológico de Sonora, Campus Obregón. Los C. Dra. Saraíd Mora Rochín y Dr. Luis Martín Sánchez Magaña, participaron como Directores de Tesis; los C. Dr. Lorenzo Ulises Osuna Martínez, Dr. Jaime López Cervantes y Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno, participaron como Asesores Académicos. Para la realización de la investigación se obtuvo financiamiento a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI), Universidad Autónoma de Sinaloa (Convocatoria 2022). La IBQ Samantha Ochoa Sandoval recibió "Beca de Estudios para Maestría" del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) durante la realización de la mencionada investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	6
A Problemas de salud pública y enfermedades crónico degenerativas	6
B Alimentos nutracéuticos	8
C Frijol tépari (<i>Phaseolus acutifolius</i> A. Gray)	8
1 Estructura del grano de frijol	9
2 Composición química de frijol	10
3 Compuestos fenólicos de frijol	13
4 Factores antinutricionales de frijol	17
5 Propiedades nutracéuticas de frijol	18
6 Propiedades antidiabéticas de frijol	18
7 Propiedades antioxidantes de frijol	19
D Maíz (<i>Zea mays</i> L)	19
1 Estructura anatómica del grano de maíz	21
2 Composición química del grano de maíz	21
3 Valor nutricional del grano de maíz	24
4 Compuestos bioactivos del grano de maíz azul	24

5	Ácidos fenólicos en maíz	25
6	Antocianinas en maíz	25
7	Propiedades nutraceuticas del rano de maíz azul	29
8	Actividades antidiabéticas en maíz	30
9	Actividad antioxidante en maíz	32
10	Formas de consumo de maíz	33
E	Alimentos elaborados con mezclas de maíz-frijol	35
F	Métodos de procesamiento de ingredientes alimenticios	37
1	Fermentación en Estado Sólido (FES)	38
a	Tempe	38
b	Efecto de la FES en propiedades nutraceuticas y compuestos bioactivos	41
2	Extrusión	43
a	Efecto de la extrusión en propiedades nutricionales y nutraceuticas	45
G	Procesamiento secuencial Fermentación/Extrusión	48
IV	JUSTIFICACIÓN	49
V	HIPÓTESIS	50
VI	OBJETIVOS	51
A	Objetivo general	51
B	Objetivos específicos	51
VII	MATERIALES Y MÉTODOS	52
A	Lugar de trabajo	52
B	Criterios de bioética	52

C	Materiales	52
1	Animales de experimentación	52
D	Métodos	53
1	Proceso de Fermentación en Estado Sólido (FES)	53
2	Obtención de Harina de frijol Tépari Fermentado/Extrudido	53
3	Composición nutrimental	54
a	Humedad	54
b	Proteína	54
c	Lípidos	55
d	Cenizas	56
e	Carbohidratos	56
4	Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i>	56
5	Perfil de aminoácidos	57
6	Compuestos bioactivos y antinutricionales	57
a	Compuestos fenólicos	58
b	Taninos condensados	59
c	Ácido fítico	60
d	Lectinas	60
e	Inhibidores de tripsina	61
f	Saponinas	62
7	Actividad antioxidante	63
a	Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)	63
b	Actividad antioxidante ABTS	64

	c	Ensayo de la actividad hemolítica	64
8		Actividad antihiperglucemiante	65
	a	Inhibición de la enzima α -glucosidasa	65
	b	Inhibición de la enzima α -amilasa	66
9		Evaluaciones <i>in vivo</i>	67
	a	Peso corporal y consumo de alimentos	67
	b	Medición de niveles séricos de glucosa	67
	c	Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral (CTGO)	68
	d	Colección de sangre y órganos de ratones	68
	e	Medición del peso de hígado, riñón y tejido adiposo	68
	f	Procesamiento de muestras histológicas de hígado y riñón	68
	g	Tinción de muestras con tinción de hematoxilina y eosina	69
	h	Análisis histológico de hígado y riñón	70
E		Análisis estadístico	70
VIII		RESULTADOS Y DISCUSIONES	72
A		Composición proximal de frijol tépari y tortillas	72
	1	Composición proximal de frijol tépari	72
	2	Compuestos proximal de tortillas	75
B		Perfil de aminoácidos y digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (DPIV) de frijol tépari y tortillas	77
	1	Perfil de aminoácidos y DPIV <i>in vitro</i> de frijol	77
	2	Perfil de aminoácidos y DPIV <i>in vitro</i> de tortillas	81
C		Compuestos antinutricionales de frijol tépari y tortillas	84
	1	Compuestos antinutricionales de frijol tépari	84

2	Compuestos antinutricionales de tortilla	93
D	Compuestos bioactivos de frijol tépari y tortilla	95
1	Compuestos bioactivos de frijol tépari	95
2	Compuestos bioactivos de tortilla	98
E	Actividad antioxidante en harinas de frijol tépari y tortillas	102
1	Actividad antioxidante de frijol tépari	102
2	Actividad antioxidante de tortillas	104
3	Actividad antioxidante por el método de eritrocitos en HFFE	107
F	Actividad antihiper glucemiante de frijol tépari y tortillas	113
1	Actividad antihiper glucemiante de frijol tépari	113
2	Actividad antihiper glucemiante de tortillas	117
G	Estudios <i>in vivo</i>	118
1	Ingesta de alimento y ganancia de masa corporal en ratones	118
2	Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral	124
3	Cambios de peso en hígado, riñon y tejido abdominal	128
4	Análisis histológico de hígado	130
a	Parénquima hepático	130
b	Vena central	133
c	Estructuras portales	133
5	Análisis histológicos de riñon	133
a	Corteza renal	136
b	Médula	136
XI	CONCLUSIONES	139

X	BIBLIOGRAFÍA	141
XI	ANEXOS	178

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Partes anatómicas de la semilla de frijol	11
2	Estructura del grano de maíz	22
3	Estructura química de 6 antocianinas en el maíz azul	28
4	Proceso de nixtamalización	34
5	Tempe de frijol Tépari	39
6	Proceso de elaboración de tempe	40
7	Morfología del hongo filamentoso <i>Rhizopus oligosporus</i>	42
8	Partes principales de un extrusor cocedor	44
9	Cinética de actividad antioxidante del AAPH sobre eritrocitos humanos tratado con HFFE. Fitoquímicos libres.	108
10	Cinética de actividad antioxidante del AAPH sobre eritrocitos humanos tratado con HFFE. Fitoquímicos ligados.	110
11	Consumo de alimento semanal en ratones C57BL/6N con dieta experimental (TaHFFE) y dieta estándar (SD).	121
12	Ganancia de peso semanal en ratones C57BL/6N con dieta experimental (TaHFFE) y dieta estándar (SD).	122
13	Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral. Grupo estándar (SD).	125
14	Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral. Dieta experimental (TaHFFE).	126

15	Pesos de hígado, riñón y tejido adiposo de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y con dieta experimental (TaHFFE).	129
16	Parénquima hepático de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) dieta experimental (TaHFFE).	131
17	Venas centrales hepáticas de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE).	134
18	Estructuras portales de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar y tratamiento experimental (TaHFFE).	135
19	Corteza renal de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE).	137
20	Médula renal de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE).	138

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Composición química de variedades de frijol consumidas en México	12
2	Contenido de antocianinas y taninos condensados de frijol común	14
3	Contenido de flavonoides de diversas variedades de frijol	14
4	Contenido de compuestos fenólicos de variedades de frijol	15
5	Actividad antioxidante de diferentes variedades de frijol	20
6	Composición química del grano de maíz	23
7	Perfil de ácidos fenólicos y antocianinas en granos de maíz azul	26
8	Principales antocianinas y ácidos fenólicos reportados en granos de maíz azul	27
9	Actividad antidiabética de extractos de maíz	31
10	Valor nutritivo de la tortilla	36
11	Composición química de frijol tépari	73
12	Composición química de tortillas	76
13	Perfil de aminoácidos esenciales y digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> de frijol tépari	78
14	Perfil de aminoácidos esenciales digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> de tortilla	82
15	Contenido de compuestos antinutricionales frijol tépari	86

16	Contenido de compuestos antinutricionales de tortilla	94
17	Contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de frijol tépari	96
18	Contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de tortillas	100
19	Actividad antioxidante de frijol tépari	103
20	Actividad antioxidante de tortillas	106
21	Efecto antihiperglucemiante de frijol tépari	116
22	Efecto antihiperglucemiante de tortillas	119

I.RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) azul y el frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) son fuente importante de energía, proteínas, compuestos bioactivos y otros nutrimentos. La principal manera de ingesta de maíz en México es la tortilla nixtamalizada. Recientemente se ha señalado el potencial que brinda la combinación de cereales y leguminosas debidamente procesados como alimentos nutraceuticos por la función que tienen algunos de sus compuestos bioactivos en la prevención de enfermedades crónico-degenerativas. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la adición de frijol tépari procesado secuencialmente en propiedades nutricionales, normolípicas y antihiper glucemiantes de tortillas de maíz azul nixtamalizado. El proceso secuencial incrementó ($p < 0.05$) el contenido de proteína en frijol (45 %), mejoró la digestibilidad proteínica *in vitro* (81.6 %), y disminuyó ($p < 0.05$) compuestos antinutricionales (ácido fítico, saponinas, inhibidores de tripsina y taninos condensados). El contenido de fenólicos totales (31 %), y actividad antioxidante (ABTS y ORAC, 47% y 94 %) incrementaron ($p < 0.05$) por efecto del proceso secuencial. Asimismo, fue observado un efecto retardante ($p < 0.05$) en la presencia de radicales libres mediante el método de eritrocitos. Los aminoácidos esenciales como Met, Cys, Phe y Thr fueron incrementados ($p < 0.05$) por el proceso secuencial. Mientras que la tortilla de maíz azul nixtamalizada adicionada con harina de frijol tépari procesado secuencialmente mostró un mayor ($p < 0.05$) contenido de proteína (>20 %), fenólicos (>14 %), actividad antioxidante (7 y 20 %, ABTS y ORAC), y un mayor efecto antidiabético, con respecto a la tortilla control. Los ensayos *in vivo* mostraron un retraso en la elevación de la glucosa posprandial, y no se encontraron anomalías en las histologías evaluadas en hígado y riñón por el consumo de la tortilla adicionada. Los resultados indicaron que la adición de frijol tépari procesado secuencialmente a la tortilla de maíz azul nixtamalizada es una alternativa para favorecer el estado nutricional y de salud de algunas poblaciones donde la tortilla es básica en su dieta.

Palabras clave: *Zea mays* L, *Phaseolus acutifolius*, Fermentación en Estado Sólido, Estrusión, nutraceutico, antidiabético.

ABSTRACT

The blue corn (*Zea mays* L.) and tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) are an important source of energy, proteins, bioactive compounds, and other nutrients. The main form of maize consumption in Mexico is nixtamalized tortilla. Recently, the potential provided by the combination of properly processed cereals and legumes as nutraceutical foods has been highlighted due to the function of some of their bioactive compounds in the prevention of chronic-degenerative diseases. The objective of this work was to evaluate the impact of the addition of sequentially processed tepary bean on the nutritional, normolipidic, and anti-hyperglycemic properties of nixtamalized blue corn tortillas. The sequential process increased ($p<0.05$) the protein content in tepary bean (45 %), improved *in vitro* protein digestibility (81.6 %), and decreased ($p<0.05$) antinutritional compounds (phytic acid, saponins, trypsin inhibitors, and condensed tannins). The total phenolic content (31%) and antioxidant activity (ABTS and ORAC, 47% and 94%) increased ($p<0.05$) due to the sequential process. Likewise, a delaying effect ($p<0.05$) was observed in the presence of free radicals using the evaluation of antioxidant activity based on inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis. Essential amino acids such as Met, Cys, Phe, and Thr were increased ($p<0.05$) by the sequential process. Meanwhile, nixtamalized blue corn tortilla supplemented with sequentially processed tepary bean flour showed a higher ($p<0.05$) protein content (>20 %), phenolics (>14 %), antioxidant activity (7 % and 20%, ABTS and ORAC), and a greater antidiabetic effect compared to the control tortilla. *In vivo* assays showed a delay in the rise of postprandial glucose, and no anomalies were found in the histologies evaluated in liver and kidney due to tortilla consumption. The results indicated that the addition of sequentially processed tepary bean to nixtamalized blue corn tortilla is a good alternative to promote the nutritional and health status of some populations where tortillas are basic in their diet.

Keywords: *Zea mays* L., *Phaseolus acutifolius*, Solid-State Fermentation, Extrusion, nutraceutical, antidiabetic.

II. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea Mays* L.) es el segundo grano más cultivado en el mundo y el de mayor importancia económica para el consumo humano, ganadería, o como materia prima para productos industriales. Según la Secretaría de Economía, México es el séptimo productor de este grano en el mundo (Secretaría de Economía, 2023). Desde principios del siglo pasado, los cambios ecológicos, demográficos, económicos, sociales y culturales, así como los avances en la salud pública, han modificado las características de México e incidido en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades como características relacionadas con la presencia de patologías o muertes en la población de México. En los últimos años se ha observado un “*cambio de riesgo*”. En la primera mitad del siglo XX, las poblaciones estuvieron expuestas a riesgos en países que se encontraban en las primeras etapas de desarrollo social y desarrollo de infraestructura, que cambiaron a medida que aumentaron el desarrollo y la urbanización. Esto ha provocado cambios en el estilo de vida y la aparición de otros “*tipos de riesgo*” que contribuyen principalmente a las enfermedades. Estos incluyen estrés, tabaquismo, presión arterial alta, falta de ejercicio, hábitos alimentarios, alimentos ricos en energía, sobrepeso, obesidad y niveles altos de colesterol (Álvarez-Gasca y col., 2014).

Las dietas ricas en cereales integrales y legumbres se asocian con concentraciones más bajas de lípidos y niveles más altos de fitoquímicos naturales en estos cereales. Los alimentos pueden tener un efecto sinérgico y controlar la hiperlipidemia al regular varios genes implicados en el metabolismo de los lípidos (Song y col., 2016; AlKhaldi y col., 2020).

El maíz es un alimento funcional rico en compuestos fenólicos y se considera el grano de cereal con mayor actividad antioxidante (Adom y Lui, 2002; Adom, 2006). El frijol, por otro lado, es un alimento completo y rico en carbohidratos complejos, proteínas, fibra y almidón (Mojica y de Mejía, 2015). Entre otros beneficios, se ha informado que cereales como los frijoles y el maíz

contienen compuestos bioactivos que actúan como inhibidores de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, lo que acelera la absorción de glucosa y puede reducir la hiperglucemia posprandial. Los inhibidores de las enzimas digestivas se encuentran comúnmente en alimentos funcionales que contienen compuestos bioactivos como los polifenoles (León-López y col., 2019; Sánchez-Magaña y col., 2014; 2019; León-Murillo y col., 2021; Secretaría de Economía, 2023).

Diversos tipos de procesamiento permiten el consumo de cereales y leguminosas al lograr un incremento en la digestibilidad de proteínas, valor nutricional y contenido de fenólicos totales (Mora-Rochín y col., 2010; Aguayo-Rojas y col., 2012; Reyes-Moreno y col., 2018; Mora-Uzeta y col., 2019).

Uno de los procesos más utilizados para los granos de maíz es la nixtamalización, un tratamiento tradicional en el que se agrega cal y el maíz se cuece a alto pH y altas temperaturas. La adición de hidróxido de calcio incorpora calcio al grano y mejora su valor nutricional. Las tortillas son un tipo de alimento nixtamalizado muy extendido en México y se elaboran a base de maíz (Astorga-Gaxiola y col., 2023). La tortilla brinda el 49.1 % del calcio en la dieta diaria de un mexicano promedio (Morales-Ramírez y Tapia-García, 2021; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

El tempe, por otro lado, es un producto alimenticio que se obtiene mediante la fermentación en estado sólido (FES) de cereales y leguminosas, proceso por el cual se ha observado una mejora en el valor nutricional y compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes e hipoglucemiantes (Mora-Uzeta y col., 2019). Durante la producción de tempe, la actividad de los microorganismos (principalmente *R. oligosporus*) hidrolizan diferentes componentes complejos, lo que genera una fácil digestión y liberación de compuestos fenólicos (Nout y Kiers, 2005; Ahnan-Winarno y col., 2021).

Otra tecnología alternativa que puede mejorar las propiedades funcionales, organolépticas y nutricionales de los alimentos es la cocción por extrusión. Esta tecnología es un proceso continuo

de alta temperatura y corto tiempo que combina corte mecánico y calor para mejorar la digestibilidad de las proteínas mientras retiene compuestos bioactivos y fibra soluble, así como compuestos antinutricionales que pueden causar una disminución. Por otro lado, también se ha observado que este proceso puede inhibir microorganismos e inactivar algunas enzimas (Reyes-Moreno y col., 2018; Espinoza Moreno y col., 2021).

La incorporación de alimentos procesados ricos en compuestos bioactivos puede mejorar la calidad nutricional y nutracéutica de la dieta, especialmente cuando se utilizan mezclas de cereales y legumbres para compensar las deficiencias en aminoácidos esenciales. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la adición de frijol tépari procesado secuencialmente mediante fermentación/extrusión sobre propiedades nutricionales, normolipídicas y antihiperglucemiantes de tortillas de maíz azul nixtamalizado.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A Problemas de salud pública y enfermedades crónico degenerativas

Las modificaciones recientes en la calidad de vida, la dieta y el aumento de esperanza de vida han cambiado los patrones de morbilidad y mortalidad en México y el mundo. El sistema de salud debe poder responder a las necesidades cambiantes y desarrollar nuevas estrategias para abordar los desafíos actuales de salud, satisfacer el aumento en las necesidades de los pacientes y cambiar las tendencias en enfermedades prevenibles (Velázquez-Monroy y col., 2003; González-Baltazar y col., 2014; Guamán-Tacuri y López-Pérez, 2023).

La obesidad y las enfermedades relacionadas están provocando el colapso del sistema de salud pública de México. Más del 70 % de los adultos en este país tienen sobrepeso u obesidad, al igual que el 35 % de los adolescentes y casi el 10 % de los niños menores de cinco años. Las enfermedades graves asociadas con estas cifras están aumentando. Las comorbilidades asociadas a la obesidad se asocian con la muerte de 170,000 mexicanos anualmente. Cuatro de las cinco significativas, causan la muerte en México, y están asociadas con altos índices de obesidad. De manera similar, más de 113,000 personas fallecen cada año por causa de enfermedades cardiovasculares, y el 50 % de ellas son obesas. Mientras tanto, la diabetes es la segunda causa de muerte en este país, con alrededor de 100,000 personas cada año (el 80 % de ellas se relaciona a la obesidad) y más de 34,000 personas con enfermedad de hígado graso (el 36 % de ellas causada por sobrepeso) (Calvillo y Székely, 2018).

La prevalencia de diabetes en México fue de 16.8 % en 2018, convirtiendolo en la segunda causa de muerte, y la primera causa de discapacidad en el país (Secretaría de Salud en México, 2018; Velázquez-Monroy y col., 2003; González-Baltazar y col., 2014; Basto-Abreu y col., 2023). Los principales factores de riesgo para desarrollar diabetes incluyen obesidad, desnutrición, falta

de actividad física, consumo de alcohol, estrés severo y prolongado, y el uso de medicamentos que afectan el metabolismo de los carbohidratos (tiazidas, glucocorticoides, difenilhidantoína y bloqueadores beta-adrenérgicos, entre otros) (NOM-015-SSA2, 1994). Partiendo de un enfoque de prevención primaria, es necesario fortalecer el desarrollo de medidas que contribuyan a elecciones ambientales y poblacionales saludables para reducir la incidencia de esta enfermedad, como la reducción de la ingesta de bebidas azucaradas y alimentos altamente procesados (comida chatarra), así como aumentar el consumo de agua, alimentos naturales y frescos, y aumentar la actividad física desde edades tempranas (Barquera y col., 2022).

Un enfoque terapéutico para tratar la diabetes es reducir la hiperglucemia, esto se puede lograr inhibiendo enzimas que hidrolizan los carbohidratos, como la α -glucosidasa y la α -amilasa, e inhibiendo la difusión de glucosa durante la digestión gastrointestinal (Bhandari, 2008; Inocente-Camones y col., 2019). La α -amilasa participa en la descomposición de los carbohidratos de cadena larga, y la α -glucosidasa participa en la descomposición del almidón y los disacáridos en glucosa. Los inhibidores de α -glucosidasa se utilizan como medicamentos orales para tratar la diabetes tipo II. Actúan como inhibidores competitivos de las enzimas α -glucosidasas, necesarias para la digestión de carbohidratos (Avellaneda, 2013; Inocente-Camones y col., 2019). Sin embargo, los fármacos utilizados actualmente que inhiben la enzima, provocan efectos secundarios gastrointestinales como diarrea y flatulencias (Inocente-Camones y col., 2019).

Algunos inhibidores de la α -glucosidasa y la α -amilasa derivados de fuentes vegetales se pueden utilizar como una terapia alternativa eficaz para tratar la hiperglucemia posprandial con efectos secundarios mínimos o nulos (Alejandro-Espinosa, 2013; Inocente-Camones y col., 2019).

B Alimentos nutracéuticos

El desarrollo de la desnutrición y enfermedades crónico-degenerativas (ECD) se debe, al menos en parte, a una dieta desequilibrada o inadecuada, un consumo excesivo de calorías, un estilo de vida sedentario o una predisposición genética, información de la cual existe evidencia epidemiológica (Liu, 2007; Reyes-Moreno y col., 2014; Sachdeva y col., 2020).

Los llamados nutracéuticos son alimentos o complementos dietéticos que contienen ingredientes biológicamente activos con propiedades beneficiosas para la salud. Se proporciona una visión general de los complementos dietéticos, explicando sus propiedades y los diferentes tipos disponibles en el mercado. Estos productos son cada vez más populares debido a su potencial para promover la salud y prevenir enfermedades (Sangacha-Arias y col., 2023).

Recientemente, se ha demostrado que los cereales integrales y las legumbres desempeñan un papel en la prevención de ECD, como la obesidad, hipertensión, diabetes, enfermedades cardiovasculares, y el cáncer debido a algunos de sus compuestos bioactivos cuando se procesan adecuadamente como alimentos nutracéuticos (Reyes-Moreno y col., 2018; ; Sánchez-Magaña y col., 2019).

Los alimentos más indicados como portadores de complementos nutricionales son aquellos de alta producción y demanda, especialmente el maíz y el frijol, que forman parte de la dieta básica de todos los mexicanos, y son considerados los cultivos más importantes del mundo. El sector agrícola nacional, que cumple diversas funciones nutricionales y socioeconómicas, ha permitido superar esto hasta la fecha (de los Santos-Ramos y col., 2017).

C Frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray)

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) es una especie dicotiledónea de la familia Fabaceae (leguminosas) (Freytag y Debouck, 2002). Originaria del sur de Arizona y el norte de

México. El frijol tépari está adaptada a temperaturas extremas, y condiciones de sequía del desierto de Sonora y diversas elevaciones (Anaya-López y col., 2021). Hasta la fecha, los frijoles tepari se han utilizado principalmente como donantes de un número limitado de genes de interés para los mejoradores de frijol. Además, en los últimos años se han realizado esfuerzos para cultivar y mejorar el propio tepari, aprovechando su inherente tolerancia a la sequía y al calor, elemento clave para enfrentar los futuros desafíos climáticos en la producción de proteína vegetal (Jiménez-Galindo y Acosta-Gallegos, 2012;Porch y col., 2013; Bornowski y col., 2023).

A pesar de estas características destacables del frijol Tépari, su demanda comercial es baja. Este tipo de grano es localizado principalmente en Sinaloa y Sonora, la mayor parte de su producción es para autoconsumo (Jiménez-Galindo y Acosta-Gallegos, 2012; Bornowski y col., 2023)

1 Estructura del grano de frijol

En el grano de frijol, el embrión consta de dos cotiledones y un complejo hipocótilo formado por las dos primeras hojas y el propio hipocótilo. En la punta del hipocótilo, encima del nódulo cotiledonario, hay una yema joven que rodea la yema apical. En las semillas de frijol, la cáscara representa el 8.9 % y el porcentaje restante corresponde al embrión, el cual se distribuye en los cotiledones (89.9 %) y los hipocotilos (1.2 %) (Barrios-Gómez y col., 2014). La cubierta de la semilla es la capa más externa de la semilla y protege las estructuras embrionarias del daño causado por la absorción de agua y la contaminación microbiana.

La **Figura 1** muestra las características anatómicas de las semillas de frijol. El hilio (un gran agujón ovalado) y el micropilo (una pequeña abertura en la cubierta de la semilla) regulan la absorción de agua en la semilla. La estructura interna de una semilla incluye el brote (tejido de la hoja) que consta de dos cotiledones, y el hipocótilo que contiene el epicótilo (punta del tallo), el hipocótilo (tallo) y la radícula (raíz). El espesor de la cubierta de la semilla, el volumen de la semilla, el tamaño del filo, el contenido de proteína y almidón influyen en la absorción de agua (Uebersax y Occeña, 2003; Recek y col., 2021)

2 Composición química de frijol

El **Cuadro 1** muestra la composición química de los diferentes tipos de frijol que se consumen en México. El principal beneficio nutricional de los frijoles tépari reside en las semillas maduras, que contienen entre un 21 y un 31.9 % de proteínas, entre un 0.9 y un 1.17 % de lípidos, y entre un 65.3 y un 69.1 % de carbohidratos. Sin embargo, el consumo de semillas de frijol tépari es muy bajo y no se aprovecha su alto contenido en proteínas y carbohidratos (Sheerens y col., 1983; Mora-Uzeta y col., 2019). Otra característica nutricional de los frijoles tépari es el contenido de lisina (7.7 g/100 g de proteína para el tépari silvestre y 6.9 g/100 g de proteína para el tépari domesticado) y aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina 10.2 g/100) en tepari silvestre y 8.8 g/100 g de proteína en tepari de cultivo. Aunque las proteínas de las leguminosas son deficientes en aminoácidos azufrados (Met y Cys) y triptófano, los frijoles tépari tienen niveles más altos de aminoácidos azufrados que los recomendados por laFAO (2013) (2.43 g/100 g de proteína), de igual manera para el triptófano. Del mismo modo, la suplementación con proteína de maíz o arroz (deficiente en Lys pero rica en Met y Cys) mejora su valor biológico, aumentando así el valor de la proteína consumida (Sheerens y col., 1983; Salas-López y col., 2018).

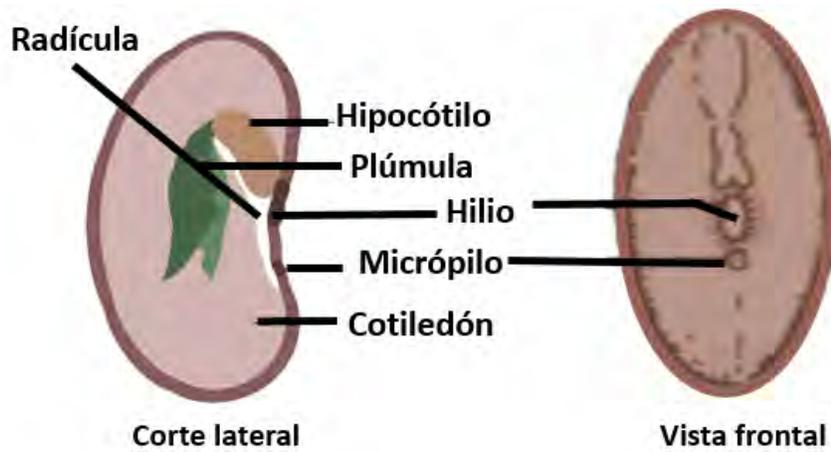
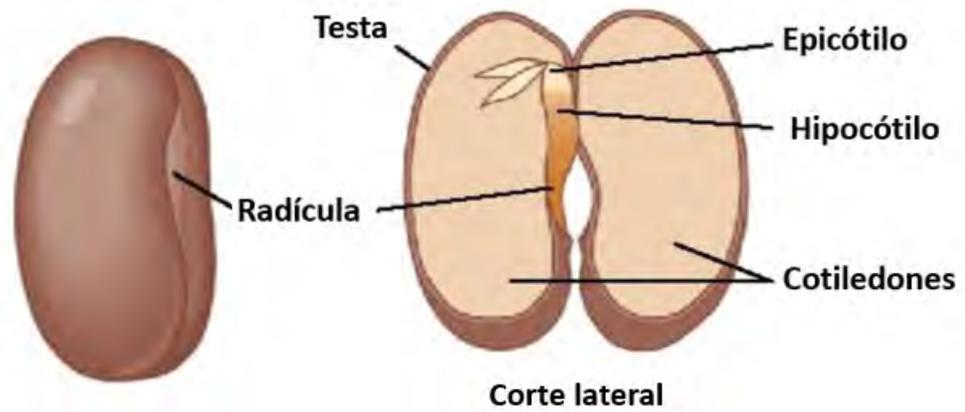


Figura 1. Partes anatómicas de la semilla de frijol.

Imágenes adaptadas de Chaffey, (2014), Urry (2017) y Recek y col. (2021).

Cuadro 1. Composición química de variedades de frijol consumidas en México

Variedad de frijol	Parámetros químicos (%)						
	Ceniza	Lípidos	Humedad	Fibra	CHO'S	Proteína	(Kcal)
Bayo	4.0	0.9	1.6	5.5	39.1	43.5	337.4
Pinto	2.5	0.8	2.5	7.1	39.0	48.9	326.5
Peruano	3.6	0.4	2.2	7.0	60.0	28.3	322.2
Negro	3.3	0.9	2.2	12.2	39.2	39.7	284.5
Alubia	4.3	1.6	2.2	19.8	38.0	35.4	222.9
Flor de Mayo	3.8	0.9	0.1	7.5	46.8	40.9	328.4
Ejote entero	8.2	1.3	0.7	18.6	34.6	36.3	221.5
Vaina	8.3	0.5	0.6	13.2	38.1	39.0	261.1
Semilla	7.8	1.3	3.6	11.3	26.8	49.3	270.1

Adaptada de Fernández-Valenciano y Sánchez Chávez (2017)

Comer frijoles se asocia con un menor riesgo de cáncer y enfermedades cardíacas. Estos efectos fisiológicos pueden deberse a varios fitoquímicos abundantes en los granos, incluidos los polifenoles (Aparicio-Fernández, 2006; Reyes-Moreno y col., 2014; Quintero-Fernández y col., 2022).

3 Compuestos fenólicos de frijol

Rochín-Medina y col. (2021) determinaron el contenido de antocianinas, flavonoides, taninos condensados y fenólicos totales en nueve tipos de frijol cultivados en Zacatecas. Los contenidos de antocianinas, flavonoides y taninos varían de 0.22 - 3.45 mg/100 g de equivalente de cianidina-3-glucósido (EC-3-G), de 16 a 103 mg/100 g de equivalente de catequina (EC) y de 474 a 587 mg EC/100 g, bs. Mientras tanto, la concentración de fenólicos totales varió entre 67 y 204 mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/100 g, bs. Las mayores cantidades de fenólicos totales (64–93 %) y flavonoides totales (55–81 %) se encontraron en la fracción ligada. Por otro lado, Salas-López y col. (2018) y Mora-Uzeta y col. (2019) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos libres, compuestos fenólicos ligados y compuestos fenólicos totales en frijoles tépari. Los autores informaron valores medios de 15, 92 y 107 mg de EAG/100 g, respectivamente, en base seca. Además, estos investigadores encontraron que el contenido de flavonoides en las fracciones libres, insolubles y totales de los granos están en un rango de 30, 54 y 84 mg de equivalentes de quercetina (EQ) por 100 g de muestra, respectivamente (**Cuadros 2, 3 y 4**). Al igual que las variedades de frijol común estudiado por Rochín-Medina y col. (2021), encontraron que el mayor contenido de compuestos fenólicos en los frijoles tépari fue encontrado en la fracción ligada o insoluble del grano.

Cuadro 2. Contenido de antocianinas y taninos condensados de frijol común

Variedad	Antocianinas	Taninos
	(mg C3G/100 g)	(mg EC/100 g)
Alubia Grande	0.25 ± 0.15 ^h	474.45 ± 1.41 ^g
Alubia Chica	0.26 ± 0.17 ^g	587.00 ± 1.28 ^a
Pinto Saltillo	0.35 ± 0.13 ^e	504.70 ± 1.72 ^d
Bayo	0.23 ± 0.11 ⁱ	510.16 ± 1.42 ^c
Negro San Luis	3.46 ± 0.14 ^a	500.55 ± 1.23 ^e
Garbancillo	0.30 ± 0.19 ^f	488.19 ± 2.17 ^f
Flor de Mayo	0.40 ± 0.09 ^d	537.64 ± 1.48 ^b
Japonés	0.47 ± 0.15 ^c	488.19 ± 1.10 ^f
Flor de Junio	0.64 ± 0.14 ^b	587.09 ± 1.23 ^a

Medias con una letra común en la columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); mg C3E/100 g: miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de muestra; mgEC/100g: miligramos equivalentes de catequina/100g de muestra. Tomado de Rochín-Medina y col. (2021).

Cuadro 3. Contenido de flavonoides de diversas variedades de frijol.

Variedades de frijol	Flavonoides (mg EC/100g)			Referencia
	Libres	Ligados	Totales	
Pinto Saltillo	7.81±1.04 ^f	27.12±1.83 ^d	34.93±1.77 ^e	1
Bayo	13.28±2.28 ^e	54.66±1.06 ^d	67.94±1.60 ^d	1
Negro San Luis	16.49±1.87 ^d	72.92±1.75 ^a	89.41±1.20 ^b	1
Garbancillo	9.79±1.95 ^f	29.68±1.35 ^f	39.47±1.54 ^f	1
Flor de Mayo	21.71±1.92 ^b	55.62±1.21 ^e	77.33±1.53 ^e	1
Japonés	21.54±1.59 ^c	40.91±1.48 ^e	62.45±1.56 ^e	1
Flor de Junio	32.57±2.16 ^a	70.82±1.32 ^b	103.39±1.11 ^a	1
Frijol Tépari*	29.53±0.47	53.93±1.96	83.46±1.87	2

Medias con una letra común en la misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); mg EC/100g: miligramos equivalentes de catequina/ 100g; *concentración expresada en mg equivalentes de quercetina/100 g de muestra.

¹Rochín-Medina y col. (2021); ²Mora-Uzeta y col. (2019).

Cuadro 4. Contenido de compuestos fenólicos de variedades de frijol

Compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)*				
Variedad de frijol	Libres	Ligados	Totales	Referencia
Alubia Chica	24.35±1.13 ^e	43.55±1.13 ⁱ	67.90±1.49 ⁱ	1
Alubia Grande	7.32±1.85 ⁱ	64.41±1.40 ^h	71.73±1.59 ^h	1
Pinto Saltillo	7.34±1.69 ^h	94.58±1.31 ^g	101.92±1.25 ^g	1
Bayo	12.66±1.66 ^f	133.26±1.04 ^c	145.92±1.02 ^e	1
Negro San Luis	31.96±1.41 ^c	139.45±1.43 ^b	171.41±1.48 ^b	1
Garbancillo	8.87±1.01 ^g	119.41±1.00 ^f	128.28±1.44 ^f	1
Flor de Mayo	38.91±1.59 ^b	121.39±1.40 ^e	160.30±1.21 ^c	1
Japonés	25.00±1.61 ^d	125.19±1.66 ^d	150.19±1.49 ^d	1
Flor de Junio	45.87±1.23 ^a	158.50±1.47 ^a	204.37±1.31 ^a	1
Frijol Tépari	15.38±1.15	92.25±0.38	110.64±1.34	2

Nota. Medias con una letra común en la columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); *mg EAG/100 g: miligramos equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra en base seca: ¹Rochín-Medina y col. (2021); ²Mora-Uzeta y col. (2019)

4 Factores antinutricionales de frijol

Las legumbres contienen muchas sustancias bioactivas como inhibidores de enzimas, lectinas, fitatos, oligosacáridos y compuestos fenólicos, que desempeñan un papel metabólico en humanos y animales que consumen estos alimentos con frecuencia. Algunas de estas sustancias se consideran agentes antinutricionales porque afectan la calidad de la dieta. Los inhibidores de enzimas y los inhibidores de lectinas pueden reducir la digestibilidad de las proteínas y la absorción de nutrientes, respectivamente, pero ambos tienen poco efecto después de la cocción. Por otro lado, se ha reportado que el ácido fítico puede reducir la biodisponibilidad de minerales (León-López y col., 2018).

Algunos compuestos fenólicos pueden disminuir la digestibilidad de las proteínas y la biodisponibilidad de minerales, y los galactooligosacáridos pueden provocar hinchazón. Asimismo, estos compuestos pueden ejercer efectos protectores contra tipos diferentes de cáncer. El ácido fítico tiene efectos antioxidantes y se dice que protege el ADN. Los taninos condensados e hidrolizados se consideran poderosos agentes antioxidantes, antimutagénicos y anticancerígenos. Los compuestos fenólicos como los flavonoides y los ácidos fenólicos muestran propiedades antioxidantes y otras propiedades específicas, y los galactooligosacáridos pueden ejercer actividad prebiótica (Messina, 2014; León-López y col., 2018; Nath y col., 2022)

Es importante señalar que algunos de estos factores son termolábiles y pueden inactivarse o reducirse mediante procesos como cocción, escaldado, tostado y extrusión. Por otro lado, procesos como el germinado, remojo, fermentación, cocción y/o escaldado eliminan factores termoestabilizadores, lo que conduce a una mayor digestibilidad y mejores propiedades organolépticas del producto (Elizalde y col., 2009; Brea-Maure y col., 2022).

5 Propiedades nutracéuticas de frijol

Recientemente, el interés en diferentes tipos de frijoles ha aumentado, ya que la ingesta de esta leguminosa se ha relacionado con un riesgo reducido de enfermedades crónicas degenerativas, como las cardiovasculares, diabetes, hipertensión y obesidad (Reynoso-Camacho y col., 2007; Hayat y col., 2014; Rochín-Medina y col., 2021). Diversos estudios han informado sobre la relación inversa entre el consumo de frijol y el cáncer de colon (Vergara-Castañeda y col., 2010; Cruz-Bravo y col., 2011; Rochín-Medina y col., 2021). Los efectos fisiológicos anteriormente mencionados se deben principalmente a la presencia de compuestos bioactivos con propiedades anticancerígenas y antioxidantes. (Thompson y col., 2012; Hayat y col., 2014; Rochín-Medina y col., 2021).

Los principales compuestos bioactivos en las legumbres son compuestos fenólicos como ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, y antocianinas (Guajardo-Flores y col., 2013; Wang y col., 2013; Hayat y col., 2014; Rochín-Medina y col., 2021).

6 Propiedades antidiabéticas de frijol

Algunos ingredientes bioactivos pueden actuar inhibiendo el mecanismo de acción de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, reduciendo la tasa de absorción de glucosa y la hiperglucemia posprandial. Los inhibidores de enzimas digestivas se encuentran comúnmente en alimentos funcionales que contienen compuestos bioactivos como polifenoles (Nawaz y col., 2022).

Las condiciones hiperglucémicas también promueven la producción de radicales libres generando un estado de estrés oxidativo en el organismo. El estrés oxidativo reduce la secreción de insulina e inhibe la absorción de glucosa en los músculos y los adipocitos (Hasim y col., 2017). Por lo tanto, el cuerpo requiere alimentos ricos en antioxidantes para prevenir el estrés oxidativo de las condiciones hiperglucémicas. Por tanto, para evaluar el potencial antidiabético de los

alimentos funcionales es importante determinar la actividad antioxidante y la concentración de inhibidores de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Rochín-Medina y col., 2021).

7 Propiedades antioxidantes de frijol

Rochín-Medina y col. (2021) evaluaron la capacidad antioxidante de siete variedades de frijol común mediante la prueba DPPH (**Cuadro 5**), estos autores observaron valores que oscilaron entre 243 y 1,282 μmol equivalentes de Trolox (TE)/100 g. Por otro lado, Mora-Uzeta y col. (2019) informaron que los valores de actividad antioxidante de los frijoles tépari fueron 6,885 μmol ET/100 gramos de muestra, y 8,169 μmol ET/100 gramos de muestra, en ensayos ORAC y ABTS, respectivamente.

D Maíz (*Zea mays* L.)

Es el grano más cultivado en el mundo y es fuente importante de energía, proteínas y otros nutrientes para humanos y animales. Sin embargo, la calidad de la proteína del maíz es deficiente debido a la falta de aminoácidos esenciales como lisina (Lys) y triptófano (Trp) (FAOSTAT, 2020; Anaya-López y col., 2021). El Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) de México y el Instituto Nacional Forestal, Agrícola y Ganadero (INIFAP) desarrollaron 26 híbridos y variedades de maíz de alta calidad proteica (QPM) con rendimientos e importantes propiedades agronómicas similares al maíz, pero con una calidad proteica superior al contener casi el doble de Lys y Trp que el maíz normal (Gutiérrez-Dorado y col., 2008; Escalante-Aburto y col., 2019).

La producción nacional de maíz en 2021 superó los 27 millones de toneladas. México es el séptimo productor mundial de este grano. Su participación en la producción nacional de cereales es del 88.2 % y se cultiva en 32 estados del país.

Cuadro 5. Actividad antioxidante de diferentes variedades de frijol

Variedades	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$)*			Referencia
	Libres	Ligadas	Total	
Alubia Grande [†]	53.05 \pm 1.10 ⁱ	190.54 \pm 1.01 ⁱ	243.59 \pm 1.00 ⁱ	1
Alubia Chica [†]	150.87 \pm 1.34 ^f	242.13 \pm 1.39 ^h	393.00 \pm 1.42 ^h	1
Pinto Saltillo [†]	118.97 \pm 1.33 ^h	421.06 \pm 1.42 ^f	540.03 \pm 1.32 ^g	1
Bayo [†]	172.10 \pm 1.35 ^e	387.99 \pm 1.10 ^g	560.09 \pm 1.12 ^f	1
Negro San Luis [†]	218.07 \pm 1.34 ^d	1064.63 \pm 13.45 ^a	1282.70 \pm 15.30 ^a	1
Garbancillo [†]	120.36 \pm 1.44 ^g	661.66 \pm 1.50 ^c	782.02 \pm 1.45 ^e	1
Flor de Mayo [†]	355.25 \pm 1.32 ^b	602.69 \pm 1.36 ^d	957.94 \pm 1.18 ^c	1
Japonés [†]	307.42 \pm 1.28 ^c	589.88 \pm 1.16 ^e	897.30 \pm 1.04 ^d	1
Flor de Junio [†]	376.10 \pm 0.98 ^a	721.00 \pm 1.41 ^b	1097.10 \pm 13.13 ^b	1
Frijol Tepari [§]	2446 \pm 317	4438 \pm 169	6885 \pm 205	2
Frijol Tepari [¶]	2302 \pm 87	5867 \pm 60	8169 \pm 147	

Medias con una letra común en la columna no son significativamente diferentes ($p > 0.05$); * $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$: micromol equivalentes de trolox/ 100 g de muestra; [†]actividad antioxidante evaluada por el método DPPH; [§]actividad antioxidante evaluada por el método ORAC; [¶]actividad antioxidante evaluada por el método ABST; ¹Rochín-Medina y col. (2021); ²Mora-Uzeta y col. (2019)

Entre los principales estados productores se encuentran Sinaloa, Jalisco, México, Guanajuato y Michoacán (Secretaría de Economía, 2023).

1 Estructura anatómica del grano de maíz

El grano de maíz maduro (**Figura 2**) es un fruto que consta de 4 partes principales: el tallo, el endospermo, el pericarpio (cáscara o salvado) y el germen o embrión. El tallo es la estructura celular que une el grano a la mazorca. Consiste en un haz vascular que termina en la base del pericarpio y está compuesto por una capa externa exfoliada que sella la punta del grano maduro. A esta capa le sigue una serie de células parenquimatosas en forma de estrella que se unen en sus puntas para formar una estructura frágil y porosa. La cáscara o pericarpio es la cáscara o cubierta exterior del grano que actúa como elemento protector. El endospermo es el almacén de energía del grano, representa hasta el 80 % del peso del grano y contiene aproximadamente un 90 % de almidón y un 9 % de proteína. El germen contiene una gran cantidad de energía en forma de aceite, que tiene la función de nutrir a la planta al inicio de la temporada de crecimiento, así como muchas otras sustancias necesarias para el proceso de germinación y crecimiento (Watson, 1987; Wolf y col., 1990; Asturias, 2004; Mora-Rochín y col., 2019).

2 Composición química del grano de maíz

Los granos de maíz son una materia prima rica en carbohidratos, principalmente almidón, cuyo contenido oscila entre 58.0 y 71.5 % (**Cuadro 6**). El contenido de proteína de las variedades azules es superior al de las variedades de maíz amarillo y blanco, oscilando entre el 9.1 y el 13.1 %. El contenido de lípidos de las variedades azules es del 4.5 al 6 % (Mutlu y col., 2018; Mora-Rochín y col., 2019). Los ácidos grasos más abundantes en el grano de maíz son los insaturados, como el ácido linoleico y el ácido oleico (aproximadamente 12 % cada uno). También contiene ácidos grasos saturados, como el ácido esteárico y el ácido palmítico en menor cantidad.

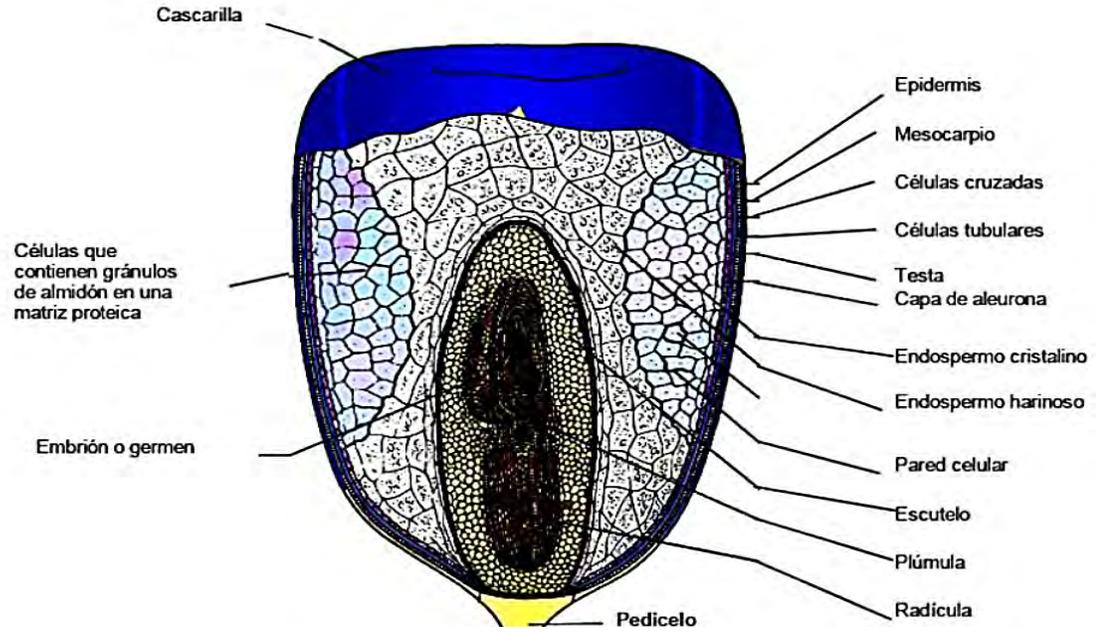


Figura 2. Estructura del grano de maíz.

Imagen adaptada de Hosney y Faubion, (1992)

Cuadro 6. Composición química del grano de maíz

Fracción del grano	Componente (%)				
	Almidón	Proteína	Lípidos	Azúcares	Cenizas
Grano entero	71.5	10.3	4.8	2.0	1.4
Endospermo	86.4	9.4	0.8	0.6	0.3
Germen	8.2	18.8	34.5	10.8	10.1
Pericarpio	1.3	3.7	1	0.3	0.8
Pedicelo	5.3	9.1	3.8	1.6	1.6

Imagen adaptada de Wolf y col. (1990).

La composición del maíz azul es variable y depende de muchos factores, incluidas las condiciones climáticas, la variedad, el método de cultivo y fertilización (Camelo-Méndez y col., 2017; Mutlu y col., 2018; Nankar y col., 2020; Smorowska y col., 2021; Mora-Rochín y col., 2023)

3 Valor nutricional del grano de maíz

La proteína del maíz se considera nutricionalmente desequilibrada porque la zeína, la proteína de almacenamiento más abundante, no contiene cantidades suficientes de aminoácidos esenciales como lisina, triptófano y metionina (Gayral y col., 2016). La deficiencia de aminoácidos esenciales en el maíz ha dado lugar a dos estrategias para afrontarla. La primera es incorporar proteínas con composición de aminoácidos complementarios, como las proteínas de las leguminosas, en productos de maíz como las tortillas. En segundo lugar, estos productos se complementan con L-aminoácidos libres como lisina y triptófano en las concentraciones requeridas (Akalu y col., 2010; Astorga-Gaxiola, 2023).

De elegir la primera opción, se debe considerar que agregar otra fuente de proteína cambiará las propiedades sensoriales. En la segunda opción se debe controlar la adición de aminoácidos, ya que una suplementación excesiva de aminoácidos puede provocar efectos tóxicos y antagonismo de aminoácidos (Astorga-Gaxiola, 2023).

4 Compuestos bioactivos del grano de maíz azul

Los fitoquímicos más importantes de los cereales existen en forma libre, ligada y ligada soluble. Los compuestos bioactivos más abundantes en los granos de maíz azul incluyen los ácidos fenólicos y las antocianinas, que son los más significativos (Liu, 2007; Sammán y col., 2022).

Los ácidos fenólicos y antocianinas más abundantes en el maíz azul se enumeran en los **Cuadros 7 y 8, y Figura 3.**

5 Ácidos fenólicos de maíz

Los ácidos fenólicos son un grupo de compuestos que se encuentran en altas concentraciones en los granos de maíz (Liu, 2007). Tienen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo en su estructura (Xiao y col., 2015). En el maíz azul, la mayoría de los ácidos fenólicos se encuentran en forma conjugada o unidos mediante enlaces éster a componentes de la pared celular como celulosa, proteínas y hemicelulosa, y solo unas pocas formas son libremente solubles y pueden extraerse fácilmente sin tener que hidrolizarse (Cuevas-Montilla y col., 2011; Astorga-Gaxiola y col., 2023). Se ha informado que existen más de nueve ácidos fenólicos diferentes en el maíz azul (**Cuadro 7**) (Cuevas-Montilla y col., 2011; Žilić y col., 2012). Entre estos, el ácido ferúlico es el más común (90 %), seguido del ácido diferúlico y el ácido cumárico (Mora-Rochín y col., 2010; Urias-Lugo y col., 2015; Sammán y col., 2022).

6 Antocianinas en maíz

La estructura base de las antocianinas consta de dos anillos aromáticos (A y B) conectados por un heterociclo de tres carbonos (C) que contiene oxígeno (**Figura 3**). En su forma natural, esta estructura está esterificada en uno o más glúcidos y es denominada antocianina simple. La glicosilación en la posición tres de la estructura es la más común. Los glúcidos más comúnmente vinculados son la glucosa, ramnosa, galactosa, xilosa y arabinosa. Si una molécula tiene un residuo acilo además de un azúcar, se denomina antocianina acilada un ácido orgánico aromático como el ácido ferúlico o el ácido cafeico (Francis y Markakis, 1989).

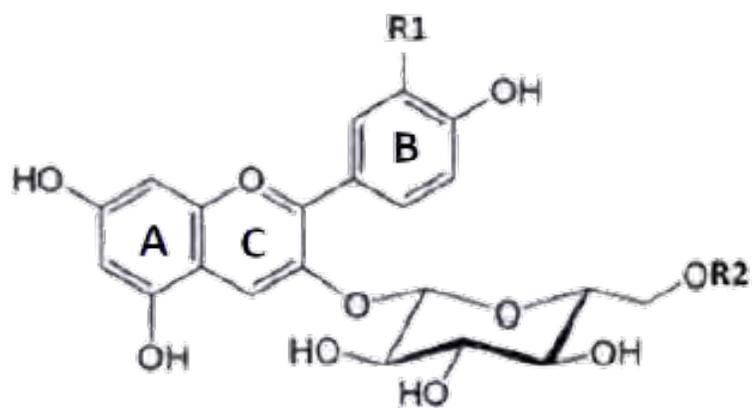
Cuadro 7. Perfil de ácidos fenólicos y antocianinas en granos de maíz azul

Contenidos de fenólicos de variedades de maíz azul (mg/kg)				
Ácido fenólico	CHIH 365	CHIH 367	CHIH 503	OPOKA
Ácido gálico	154.01 ± 8.76 ^c	163.75 ± 8.63 ^b	108.85 ± 6.92 ^d	190.48 ± 9.11 ^a
Ácido protocatéquico	9.09 ± 0.65 ^c	9.78 ± 0.79 ^b	10.78 ± 0.78 ^b	36.87 ± 2.85 ^a
(-)- Epicatequina	-	15.67 ± 1.08 ^b	21.57 ± 1.87 ^a	9.07 ± 0.86 ^c
Ácido clorogénico	95.66 ± 4.98 ^b	87.13 ± 4.05 ^c	165.42 ± 8.66 ^a	72.94 ± 3.61 ^d
Ácido neoclorogénico	66.21 ± 2.11 ^c	118.25 ± 7.04 ^b	134.34 ± 5.78 ^a	23.18 ± 2.02 ^d
Procianidina B2	101.96 ± 6.77 ^b	93.18 ± 4.888 ^c	154.38 ± 6.93 ^a	76.12 ± 4.13 ^d
Ácido caféico	304.65 ± 12.28 ^c	323.79 ± 13.12 ^b	544.65 ± 15.28 ^a	274.97 ± 11.32 ^d
Ácido ferulico	185.24 ± 9.26 ^c	105.35 ± 6.94 ^d	246.88 ± 10.73 ^a	230.07 ± 10.98 ^b
Ácido cinámico	4.56 ± 0.51 ^c	3.99 ± 0.26 ^d	7.70 ± 0.54 ^a	7.04 ± 0.47 ^b
Total	921.38	920.89	1394.57	920.74

a-d: grupos homogéneos según la prueba de Duncan. Adaptada de Smorowska y col. (2021)

Cuadro 8. Principales antocianinas y ácidos fenólicos reportados en granos de maíz azul

Antocianinas	Ácidos fenólicos	Referencias
Cianidina-3-glucósido	Ácido gálico	Mora-Rochín y col. (2016), Lao y Giusti (2016), Urias-Lugo y col. (2015), Yang y Zhai (2010), Castañeda-Ovando y col. (2008). Žilić y col. (2012), Sánchez-Madrigal y. (2015), Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007)
Pelargonidina-3-glucósido	Ácido vanílico	Mora-Rochín y col. (2016), Urias-Lugo y col. (2015), Castañeda-Ovando y col. (2008), Sánchez-Madrigal y col. (2015). Escalante-Aburto y col. (2016). Pedreschi y Cisneros-Zevallos (2007)
Peonidina-3-glucósido	Ácido siríngico	Zhao y col. (2008), Salinas-Moreno y col. (2003), Castañeda-Ovando y col. (2008)
Cianidina-3-(6''-malonilglucósido)	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Žilić y col. (2012), Salinas-Moreno y col. (2003), Cuevas-Montilla y col. (2011), Yang y Zhai (2010)
Pelargonidina-3-(6''-malonilglucósido)	Ácido oprotocatéquico	Lao y Giusti (2016), Zhao y col. (2008), Žilić y col. (2012), Cuevas-Montilla y col. (2011)
Peonodina-3-(6''malonilglucósido)	Ácido ferúlico	Cuevas-Montilla y col. (2011). Yang y Zhai (2010), Urias-Lugo y col. (2015)
Cianidina-3-(succinilglucósido)	Ácido caféico	Lao y Giusti (2016), Urias-Lugo y col. (2015)
Cianidina-3-4-diglucósido	Ácido sinápico	Escalante-Aburto y col. (2016), Žilić y col., (2012)
Cianidina-3-succinilglucósido	Ácido <i>p</i> -cumárico	Mora-Rochín . (2016), Abdel-Aal y Hucl (1999), de la Parra y col. (2007)
Cianidina-3-rutinósido	Ácido <i>di</i> -ferúlico	Abdel-Aal y Hucl (1999), Žilić y col. (2012), Urias-Lugo y col. (2015), del Pozo-Insfran y col. (2007)



Antocianinas	R1	R2
Cianidina-3-glucósido	OH	H
Pelargonidina-3-glucósido	H	H
Ponidina-3-glucósido	OCH ₃	H
Cianidina-3-(6''-malonilglucósido)	OH	COCH ₂ COOH
Pealrgonidina-3-(6''-malonilglucósido)	H	COCH ₂ COOH
Peonidina-3-(6''-malonilglucósido)	OCH ₃	COCH ₂ COOH

Figura 3. Estructura química de 6 antocianinas en el maíz azul. Adaptada de Lao y Giusti (2016) y Menchaca-Armenta (2020)

Entre los cereales, el maíz azul es una de las fuentes importantes de antocianinas (Mora-Rochín y col., 2016; Somavat y col., 2018). El maíz azul debe su color a la acumulación de antocianinas en la capa de aleurona que rodea el endospermo de los granos (Mora-Rochín y col., 2016). La estructura examinada de las antocianinas en las variedades azules mostró 16 antocianidinas diferentes, incluida, en mayor cantidad cianidina-3-glucósido que constituye aproximadamente el 75 % de las antocianidinas, seguida por pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido (**Figura 3**) (Nankar y col., 2016; Mutlu y col., 2018). Un estudio reportado por Smorowska y col. (2021) en maíz azul, encontró que las antocianinas en mayor cantidad fueron pelargonidina, seguida de la cianidina-3-glucósido y otros derivados de glucósidos.

7 Propiedades nutracéuticas del grano de maíz azul

Las propiedades nutracéuticas del maíz azul se encuentran asociadas a su actividad biológica (antioxidantes) resultante de su contenido de metabolitos secundarios (ácidos fenólicos y antocianinas) (Visioli, 2000). Estos compuestos tienen efectos antidiabéticos y antiobesidad, y actúan como agentes neuroprotectores (Prior y col., 2005; Tsuda, 2012), disminuyen la inflamación la mutagénesis (Zhao y col., 2008; Zhu y col., 2013), y el desarrollo de células cancerosas (Urias-Lugo y col., 2015). De manera similar, ejercen efectos protectores cardiovasculares (Li y col., 2012), y también tienen efectos protectores contra nefropatía que se desarrolla en pacientes diabéticos tipo II (Li y col., 2012; Sammán y col., 2022).

Los compuestos orgánicos polifenólicos contenidos en el grano de maíz azul, tienen una serie de actividades biológicas, incluida la actividad antidiabética (Damian-Medina y col., 2020), y antioxidante (Gaxiola-Cuevas y col., 2017). Participan en interacciones celulares y en la activación de enzimas y receptores, regulan la apoptosis y apoyan el sistema nervioso (Ozcan y col., 2014; Bhuyan, 2017). Además, desarrollan un rol importante en la prevención de enfermedades

cardiovasculares, se utilizan en la terapia contra el cáncer y también contribuyen a la prevención de la obesidad, la hipoglucemia y la diabetes (Miguel, 2011; Szaniawska y col., 2015; Smorowska y col., 2021).

Por otro lado, los alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas, taninos y fitoesteroles presentes en los extractos etanólicos de seda de maíz, han demostrado actividad inhibidora contra la α -amilasa y α -glucosidasa, en comparación con la acarbosa estándar (Sabiú y col., 2016; Gámez-Valdez y col., 2021).

8 Propiedades antidiabéticas de maíz

De acuerdo con un estudio que realizó Smorowska y col. (2021), demuestra que diferentes variedades de maíz azul en estudio, fueron más ricas en compuestos bioactivos (compuestos polifenólicos—antocianinas, especialmente cianidin-3-(6'-malonilglucósido) y pelargonidina-3-(6'-malonilglucósido) que las variedades de maíz amarillo estudiadas, mientras que la fracción lipídica (rico en ácidos grasos oleico y linoleico) fue responsable de la actividad inhibidora de la α -amilasa más que la fracción de polifenoles.

Los resultados en cuanto a la actividad antidiabética (**Cuadro 9**) muestran que los extractos de las variedades de maíz azul y amarillo, en ausencia de dilución, inhiben el efecto de la α -amilasa en un 100 %. Con una dilución de 5 veces, los extractos de KUSKUN inhiben la actividad enzimática probada en un 90 %. Con una dilución de 10 veces, y una dilución de 25 veces, solo el extracto de maíz azul CHIH 365 inhibió la actividad de la α -amilasa en un 100 %. El otro maíz en estudio mostró una inhibición del 55 al 29 %, el extracto de OPOKA fue del 12 %, y el extracto de KUSKUN no mostró actividad para esta propiedad.

Cuadro 9. Actividad antidiabética de extractos de maíz

Variedad de de maíz	% de inhibición de α -amilasa					
	Extracto crudo	Dilución 1:5	Dilución 1:10	Dilución 1:25	Dilución 1:50	Dilución 1:100
CHIH 365	100	100	100	100	75	55
CHIH 367	100	100	73	60	50	50
CHIH 503	100	100	61	58	32	28.9
OPOKA	100	100	47	40	33.3	12.3
KUSKUN	100	90	51.7	42.3	No cuantificable	No cuantificable

Adaptada de Smorowska y col. (2021)

9 Propiedades antioxidantes de maíz

Las reacciones en cadena provocadas por radicales libres se aceptan generalmente como un mecanismo de oxidación degenerativa en los tejidos biológicos. La capacidad antioxidante es la aptitud de erradicar radicales reactivos de oxígeno, superóxido, oxígeno singlete, peróxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (Li-Shu y Stoner, 2008). Las propiedades antioxidantes del maíz azul se han estudiado ampliamente en pruebas celulares *in vitro* y experimentos con animales *in vivo*. Los métodos *in vitro* incluyen la reducción de la actividad antioxidante del hierro, la actividad quelante de metales, y la capacidad de eliminación de radicales del DPPH y ABTS. Los modelos *in vivo*, por otro lado, incluyen estudios con ratas y ratones. Una investigación realizada por Zhang y col. (2014) demostró que la ingesta de una dieta con maíz azul a ratas las cuales presentaban daño oxidativo en el hígado y riñón aumentó la capacidad antioxidante de estos órganos y redujo el daño oxidativo.

Es bien sabido que los fitoquímicos como los ácidos fenólicos y las antocianinas tienen una excelente capacidad antioxidante dependiendo de su estructura (Cai y col., 2006; Rashmi y Negi, 2020). El poder antioxidante de las antocianinas está influenciado por: (a) Número de grupos hidroxilo; (b) catecol en el anillo B; (c) ion oxonio en el anillo C; (d) patrones de hidroxilación y metilación; (e) acilación; (f) glicosilación (Yang y Zhai, 2010; Rashmi y Negi, 2020). La glicosilación de antocianinas reduce su capacidad para deslocalizar electrones, lo que reduce su actividad eliminadora de radicales en comparación con las agliconas (Li-Shu y Stoner, 2008; Rashmi y Negi, 2020).

El aporte de los sustituyentes sobre el anillo B crea la eficiencia de la capacidad antioxidante, y el poder de estos grupos es: OH >> OCH₃ >>>> H, por lo que la capacidad antioxidante es del orden de delphinidina > petunidina > malvidina >> > cianidina > peonidina > pelargonidina (Rossetto y col., 2007; Rashmi y Negi, 2020). Además, los átomos de oxígeno de las moléculas de antocianina

están cargados positivamente, lo que las convierte en fuertes donantes de átomos de hidrógeno (Kong y col., 2003; Rashmi y Negi, 2020).

En este sentido, algunas antocianinas y sus agliconas asimilan la actividad de antioxidantes que se conocen como Trolox y α -tocoferol, y se ha informado que superan la actividad antioxidante del ácido ascórbico (Kähkönen y Heinonen, 2003; LaFountain y Yuan, 2021)

10 Formas de consumo de maíz

La nixtamalización es la forma principal de procesamiento del maíz en México y Centroamérica. El proceso de nixtamalización (**Figura 4**), que tiene su origen en el náhuatl nixtlitli (ceniza) y tamari (masa), se transmitió de generación tras generación en Mesoamérica y aún se realiza hoy como en la época prehispánica. Se comienza agregando aproximadamente un 1 % de solución de cal en dos partes al maíz. Hervir esta preparación durante 50-90 minutos, luego remojar en agua de cocción durante 14-18 horas. Luego del remojo, se retira el agua de cocción, la cual se conoce como nejayote, y se lava el maíz de 2 o 3 veces con agua suficiente y con cuidado de no desprender el pericarpio ni el germen del maíz. Así se obtiene el maíz nixtamalizado o nixtamal. El maíz nixtamalizado se muele en metate para hacer una masa, a partir de la cual se forman discos a mano y luego se cocinan en comal de barro para hacer tortillas (Mora-Rochín y col., 2019; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

La masa también es el ingrediente básico para hacer totopos, tostadas o totopos de maíz o fritos. Los productos elaborados con maíz también son muy populares en Estados Unidos y otros países europeos. Dos excelentes bocadillos nixtamalizados, los chips de tortilla y las tostadas, son los segundos bocadillos más vendidos en el mundo después de las papas fritas (Mora-Rochín y col., 2019)

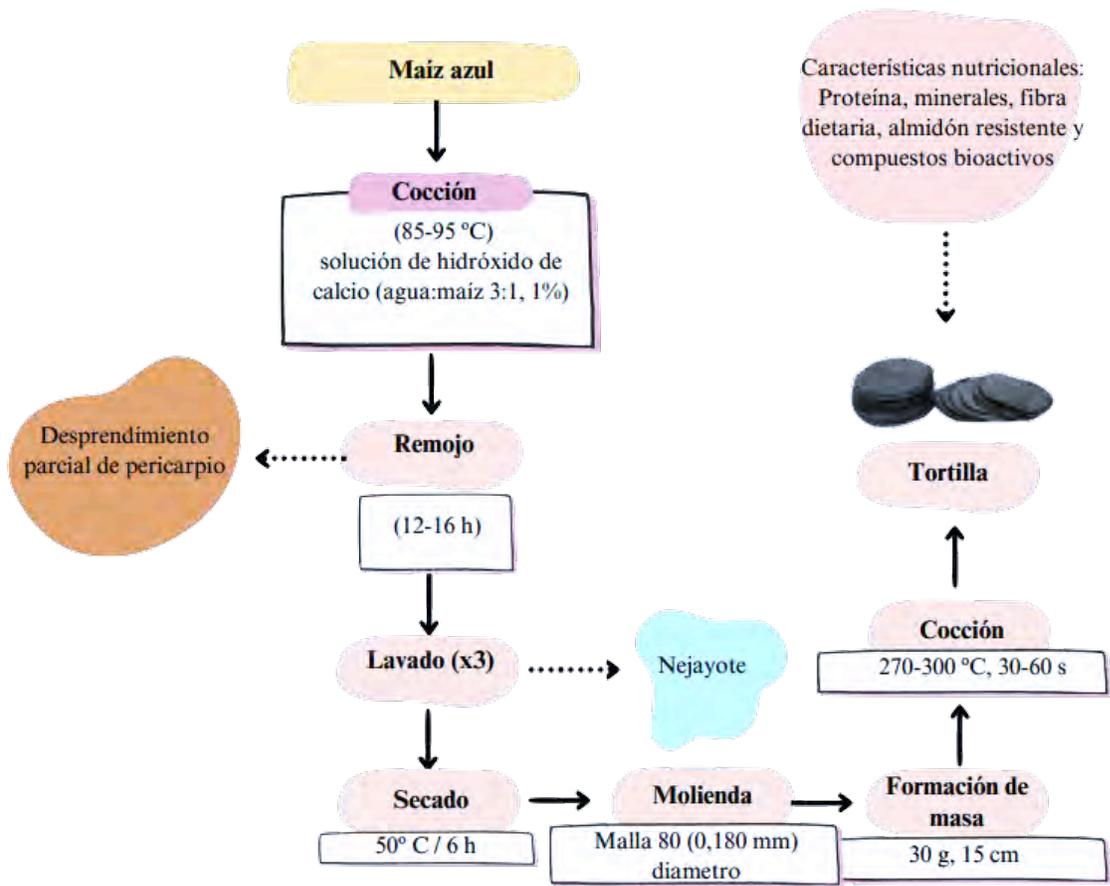


Figura 4. Proceso de nixtamalización. Fuente: Adaptado de (Astorga-Gaxiola, 2023)

Después de nixtamalizar el maíz para hacer tortillas, el contenido proteínico no se ve afectado significativamente. Las diferencias en el contenido de proteínas en los informes existentes se deben al hecho de que existen variedades y diferencias en el contenido de proteínas entre las distintas variedades del maíz. La digestibilidad de las proteínas se reduce ligeramente tanto en el nixtamal como en las tortillas, pero esto se relaciona con el tiempo de cocción y las concentraciones de hidróxido de calcio, debido a que la cocción altera prolaminas, haciéndolas menos digeribles. El contenido de triptófano y lisina no se ve alterado significativamente, incluso posteriormente de que el maíz se somete a nixtamalización y producción de tortillas, se produce una pequeña pérdida (Astorga-Gaxiola y col., 2023).

El **Cuadro 10** muestra el valor nutricional de las tortillas. Otra gran ventaja es que durante este proceso permanece sobre el grano una membrana semipermeable llamada aleurona, minimizando la pérdida de nutrientes en el Nejayote a través de un fenómeno llamado lixiviación (Asturias, 2004; Mora-Rochín y col., 2010; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

Con aproximadamente 12 millones de toneladas de tortillas consumidas por persona al año, este alimento étnico es la más buscada en el país. Las zonas rurales aportan aproximadamente el 70 % de las calorías y el 50 % de las proteínas que consume la población cada día. Por lo tanto, en México las tortillas son un excelente medio para mejorar la calidad nutricional de la dieta, ya que son el producto más consumido por la población mexicana (Mora-Rochín y col., 2019; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

E Alimentos elaborados con mezclas maíz-frijol

A pesar de todos los beneficios que se derivan de la nixtamalización, es claro que los alimentos provenientes de esta técnica deben complementarse con otros granos como el frijol,

Cuadro 10. Valor nutritivo de la tortilla

Composición	Cantidad (g)
Humedad	45.89
Energía	218 Kcal
Proteína	5.7
Lípidos	2.85
Carbohidratos	44.64
Fibra total	6.3
Cálcio	81

Fuente: FDA (2020)

frutas y vegetales, que son parte de la dieta tradicional mexicana (Asturias, 2004; León-López y col., 2021; Astorga-Gaxiola y col., 2023). En general, el maíz y el frijol forman una mezcla perfecta para producir alimentos nutritivos y saludables. La parte proteica de los granos de maíz y frijol se complementan entre sí, y aportan grandes cantidades de sus respectivos aminoácidos limitantes (Grajales-García y col., 2011; Reyes-Moreno y col., 2014; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

Además de su complementación nutricional, las mezclas de maíz-frijol pudieran contener una mayor variedad de compuestos bioactivos que contribuyen a diversificar las propiedades biológicas de los materiales individuales de partida, generando un alimento funcional más completo.

F Métodos de procesamiento de ingredientes alimenticios

Los métodos de procesamiento afectan la idoneidad de los ingredientes para producir diversos productos alimenticios. Estos métodos cambian las propiedades de las matrices alimentarias como la capacidad de hinchamiento, capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, estabilidad de la emulsión, densidad aparente, gelatinización, solubilidad en agua, capacidad de formación de espuma, gelificación, viscosidad y la emulsificación (Ifeanacho y Ezecheta, 2020). Además, en leguminosas como el frijol, estas deben ser procesadas antes del consumo humano, ya que el procesamiento no solo altera e inactiva los factores antinutritivos, sino que también pueden mejorar la digestibilidad o el contenido de aminoácidos de los productos obtenidos (Nosworthy y col., 2018).

Dentro de estos métodos de procesamiento se encuentran la fermentación en estado sólido (FES) y la extrusión, los cuales son ampliamente utilizados en leguminosas y cereales, y además se ha observado que mejoran características nutricionales, contenido fitoquímico y propiedades nutraceuticas y organolépticas con respecto a los granos no procesados (Mora-Rochín y col., 2010;

Reyes-Moreno y col., 2018; Sánchez-Magaña y col., 2014; 2019). Estos métodos y sus beneficios serán abordados en las siguientes secciones de este documento.

1. Fermentación en Estado Sólido (FES)

El procesamiento por FES por definición se conoce como la proliferación de microorganismos, principalmente hongos, de manera superficial en sustratos sólidos, húmedos y porosos. Esta humedad es suficiente para sostener el desarrollo y el metabolismo de los microorganismos. El proceso se lleva a cabo con poca o ninguna agua entre los granos utilizados. Esta condición beneficia al crecimiento de hongos filamentosos gracias a su especial capacidad para colonizar los espacios interpartículas de matrices sólidas (Ahnan-Winarno y col., 2021). La FES es una forma sencilla y económica de favorecer el valor nutricional de los cereales, ya que los cereales provocan cambios deseables en la disponibilidad de nutrientes, textura, propiedades sensoriales, propiedades antioxidantes y nutracéuticas de las matrices alimentarias (Sánchez-Magaña y col., 2014; Mora-Uzeta y col., 2019).

a Tempe

El tempe es un pastel blanco grisáceo (**Figura 5**) que se obtiene mediante la fermentación en estado sólido de granos de soya. Sin embargo, también se han usado otros sustratos como granos de cereales y leguminosas para producir tempe con excelentes características organolépticas, nutricionales y nutracéuticas (Rochín-Medina y col., 2015; Mora-Uzeta y col., 2019; Sánchez-Magaña y col., 2019).

El tempe es originario de Indonesia, donde se considera un alimento común que proporciona proteínas en la dieta. La producción de tempe incluye el remojo, descascarillado, lavado, ebullición, el drenaje, enfriamiento, inoculación y envasado (**Figura 6**). Los métodos tradicionales de producción de tempe varían mucho, hay al menos 8 variaciones de cómo y en qué orden se



Figura 5. Tempe de frijol tépari. Obtenida de Ochoa-Sandoval (2024)



Figura 6. Proceso de elaboración de tempe. Tomada de Sánchez-Magaña y col. (2014).

siguen los pasos principales (Ahnan, 2021).

El hongo filamentoso *Rhizopus oligosporus* (**Figura 7**) es el principal hongo utilizado para producir tempe, y el cual es considerado como GRAS (Generally Recognized as Safe [Generalmente Reconocida como Segura]) (Rochín-Medina y col., 2015; Mora-Uzeta y col., 2019; Sanchez-Magaña y col., 2019; Mora-Rochin y col., 2024).

b Efecto de la FES en propiedades nutracéuticas y compuestos bioactivos

La FES aumenta el contenido fenólico, la actividad antioxidante y la inhibición de las enzimas α -amilasa y la α -glucosidasa en leguminosas fermentadas con hongos, aumentando las posibles funciones relacionadas con la salud de estos alimentos (Madeira-Junior y col., 2015; Bhanja Dey y col., 2016; Mora-Uzeta y col., 2019). Se ha reportado que *Rhizopus oligosporus* se ha inoculado en sustratos (soya negra, garbanzo, frijol común) para incrementar el contenido de fenólicos totales y la actividad antioxidante (Sánchez-Magaña y col., 2014; Mora-Uzeta y col., 2019; Mora-Rochin y col., 2025). El incremento de la actividad antioxidante de los alimentos a base de granos fermentados por FES es debido al aumento de compuestos fenólicos y flavonoides que fue causado por la hidrólisis enzimática de los hongos involucrados (Hur y col., 2014; Mora-Uzeta y col., 2019). Las enzimas implicadas en la liberación de compuestos fenólicos dependen de los microorganismos utilizados para la fermentación. Estas enzimas hidrolizan los enlaces éster en las paredes celulares de los gránulos que se unen a los compuestos fenólicos. Esto significa que tanto los compuestos fenólicos libres como las formas unidas están fácilmente disponibles para la extracción. Entre estas enzimas, la β -glucosidasa cataliza la hidrólisis de los enlaces β -1-4 del grupo alquil y aril- β -d-glucósido para liberar las fracciones de aglicona fenólica (Nguyen-Thai y col., 2014; Mora-Uzeta y col., 2019). Estos autores informaron que la actividad de la β -glucosidasa

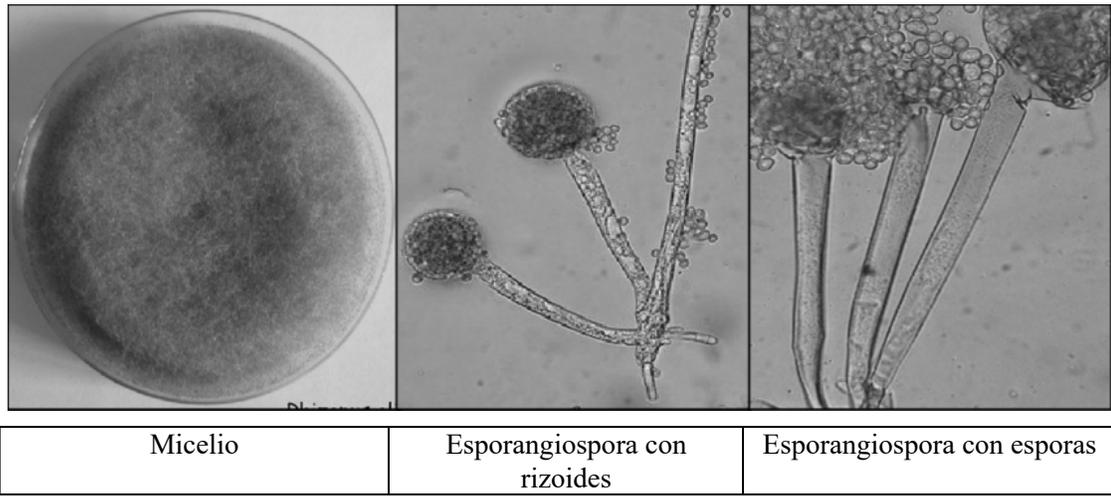


Figura 7. Morfología del hongo filamentoso *Rhizopus oligosporus*. Adaptada de Feng (2006)

incrementó con el tiempo de fermentación, lo que llevó a la acumulación de agliconas fenólicas.

1 Extrusión

El proceso de extrusión, es un tipo de cocción que utiliza altas temperaturas y tiempos cortos, lo que puede ahorrar energía y aumentar la productividad en comparación con los procesos tradicionales. Además, esta tecnología también tiene la ventaja de que no se producen aguas residuales nocivas para el medio ambiente (Omosebi y col., 2018; Ramos-Enríquez y col., 2018; Reyes-Moreno y col., 2018). Este proceso tecnológico se caracteriza por obligar a los ingredientes a fluir a través de una matriz destinada a darles forma, secarlos y fermentarlos bajo una o más condiciones de mezcla, calentamiento y corte para crear una variedad de productos (Fellows, 2000; Tas y Shah, 2021).

El extrusor consta de cinco partes principales (**Figura 8**): (1) Sistema de preacondicionamiento. (1) Tolva de alimentación que puede alimentar el extrusor. (2) Tornillos o rotores que realizan operaciones de mezclado, amasado, corte, cocción y conformado final. (3) Un cilindro, cañón o cañón que realiza operaciones de mezcla, corta materiales y aumenta la temperatura de los productos manufacturados. (4) La boquilla o matriz le da al producto final la forma deseada (cilindro, estrella, anillo, etc.) (Riaz, 2000; Steel y col., 2012).

El cilindro y el tornillo tienen cuatro secciones donde se realiza la función de extrusión. (1) La zona de alimentación donde se reciben, transportan y comprimen los materiales hacia la zona de cocción. (2) Una zona de transición, zona de compactación o zona de fusión es un área donde los alimentos sólidos experimentan un comportamiento similar a la fusión. (3) Zona de cocción, recibe el material comprimido, lo homogeneiza y lo pasa por la boquilla bajo presión constante. (4) Zona de expansión. En la región del extremo del tornillo donde el alimento está bajo alta

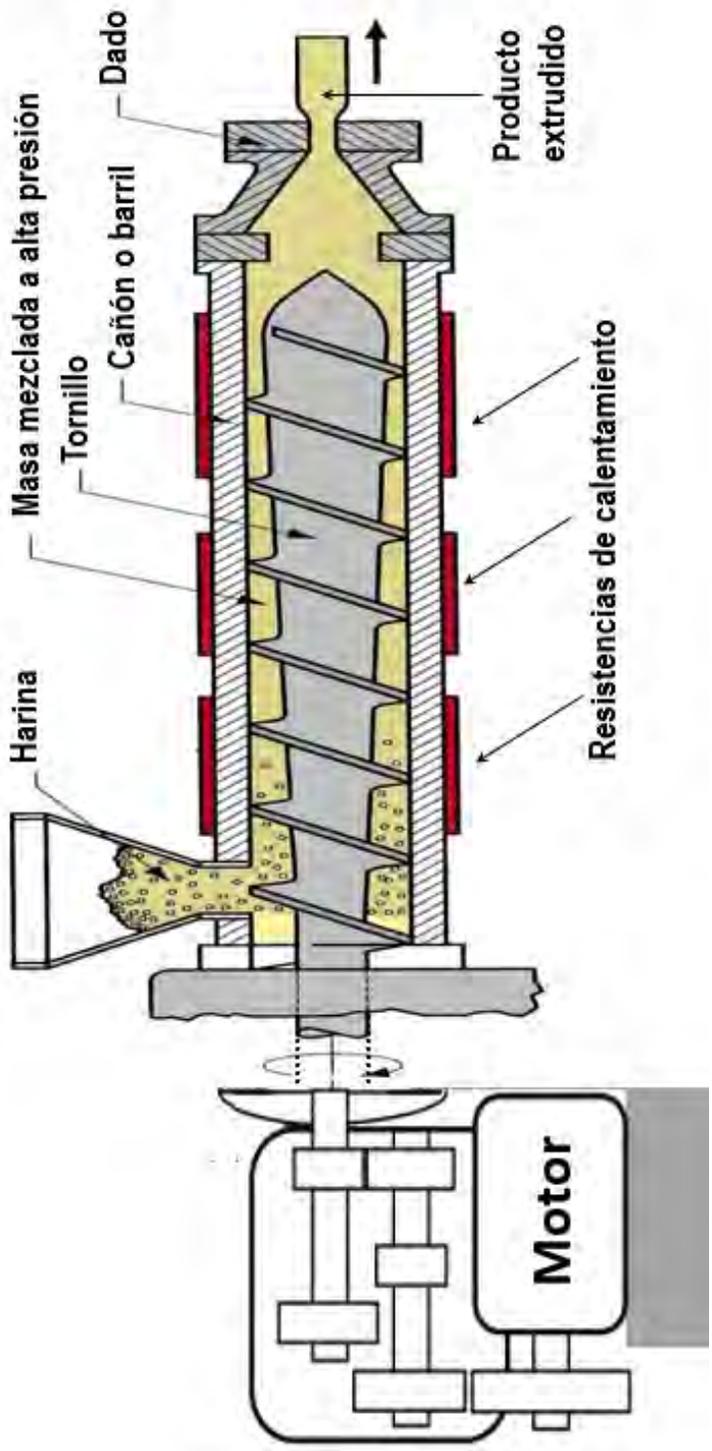


Figura 8. Partes principales de un extrusor cocedor. Imagen adaptada de FaFareed-Nagy (2013)

presión, la presión cae drásticamente cuando sale del extrusor (Fellows, 2000; Riaz, 2000; Steel y col., 2012)

Las características deseadas en un producto se pueden lograr ajustando la humedad de la alimentación, la temperatura del cilindro, la velocidad del tornillo, la presión, el diámetro del tornillo y otros parámetros de extrusión. Las ventajas de la tecnología de extrusión incluyen su velocidad, alta productividad, gran versatilidad y bajo consumo de energía.

También puede mezclar varios ingredientes, lo que resulta útil e interesante para el desarrollo de nuevos productos. Otro aspecto relacionado con este proceso es que es una tecnología limpia, no genera residuos, debido a que todo lo que entra al sistema, sale para su uso en forma de producto (Faraj y col., 2004; Yi y col., 2022).

a Efecto de la extrusión en propiedades nutricionales y nutraceuticas

La extrusión se ha utilizado para inactivar compuestos antinutricionales y estabilizar los ingredientes y productos alimentarios (Sharma y col., 2012; Omosebi y col., 2018; Tas y Shah, 2021). La combinación de las condiciones de alta temperatura, presión y cizallamiento en un período corto, mejora la digestibilidad del almidón y proteínas, además incrementa la retención de compuestos bioactivos y fibra soluble. La extrusión provoca acomplejamiento de lípidos, inactivación de enzimas y microorganismos, y la formación de componentes volátiles (Omosebi y col., 2018; Ramos-Enríquez y col., 2018; Reyes-Moreno y col., 2018).

Asimismo, la extrusión modifica propiedades fisicoquímicas de los productos sometidos bajo este proceso, incluida la composición de la fibra dietética. Provoca gelatinización de moléculas de almidón, reticulación de proteínas, inactivación de enzimas endógenas, destrucción de factores antinutricionales y daño mecánico a las paredes celulares (Reyes-Moreno y col., 2018).

También, genera el desarrollo del sabor, aumenta la biodisponibilidad de minerales y ácidos fenólicos (Salmenkallio-Marttila y col., 2008; Solanas y col., 2008; Zhang y col., 2011; Hole y col., 2013; Yi y col., 2022).

Otro aporte importante del proceso de extrusión está relacionado con su uso como herramienta para inactivar enzimas lipolíticas, como el salvado de arroz y maíz. Los cuales después de la inactivación pueden almacenarse por un tiempo relativamente más largo, a la espera de ciertos procesos posteriores. En este caso se trata de un tratamiento ligero, sin mayores transformaciones en el almidón y/o proteína (Mujahid y col., 2005; Paesani y col., 2020).

La cocción por medio de extrusión modifica la estructura, mejora la solubilidad, el poder de hinchamiento, viscosidad de la masa y la capacidad de retención del agua en el producto final (Reyes-Moreno y col., 2018). Además, la cocción por extrusión se ha utilizado para inactivar parcial o totalmente varios compuestos antinutricionales que limitan el uso generalizado de frijol como alimento básico. También se ha reportado que la extrusión es el método más eficaz para mejorar la digestibilidad de proteínas y el almidón en frijol (Alam y col., 2016; Hejdysz y col., 2022).

Por otro lado, la cocción por extrusión reduce la actividad de inhibidores de tripsina/quimiotripsina, además de reducir el contenido de hemaglutinina. La digestibilidad de proteína de frijol aumenta después de la cocción por extrusión, posiblemente debido a la reducción de la actividad del factor antinutritivo. La extrusión no altera el contenido de proteínas del frijol, sin embargo, es posible que la composición de aminoácidos se vea afectada (Nosworthy y col., 2018; Hejdysz y col., 2022)

Mukhopadhyay y Bandyopadhyay (2003) observaron que la tecnología de cocción por extrusión logró reducir la concentración de taninos (considerados como compuestos

antinutricionales en los alimentos) en harina de sésamo (*Seamum indicum*). Las condiciones de extrusión tienen un impacto importante en la actividad antioxidante de varios materiales alimenticios. Diversos investigadores (Mora-Rochín y col., 2010; Aguayo-Rojas y col., 2012; León-López y col., 2019; Félix-Medina y col., 2020; Espinoza Moreno y col., 2021; León-Murillo y col., 2021) han estudiado el efecto de la cocción por extrusión sobre la capacidad antioxidante de varios productos alimenticios, principalmente tortillas. Sharma y col. (2012) reportaron que la actividad antioxidante, fenólicos totales, flavonoides en cebada se ve afectada por este proceso.

Arribas y col. (2019) investigaron los efectos de la cocción por extrusión en la composición proximal, el contenido de almidón y fibra y la digestibilidad de las proteínas *in vitro* de varias formulaciones de leguminosas y arroz. La fortificación de la algarroba y los frijoles dio como resultado extrudidos con el doble contenido de proteínas, un contenido de lípidos 10 veces menor, y la misma cantidad de carbohidratos cuando fue comparado con el arroz extruido comercial. De acuerdo con la formulación no extruida (control), la extrusión no cambió el contenido de proteínas, pero mostró un decremento en el contenido de proteínas solubles (80–89 %) y lípidos (>81 %). Posteriormente a la cocción por extrusión, se observó un ligero aumento en el contenido total de almidón (1-6 %), y la relación amilosa/amilopectina disminuyó ligeramente. Las digestibilidades proteicas *in vitro* de las muestras extruidas alcanzaron valores superiores al 90 %. Mientras, que después de la extrusión, se observó una disminución en la fibra total (20-25 %) y una redistribución de las proporciones de fibra soluble e insoluble. Por tanto, estos nuevos alimentos sin gluten (centrados en recetas con algarrobas) no sólo son alimentos nutritivos y funcionales, sino que también pueden considerarse alternativas más saludables en comparación con los snacks comerciales.

G Procesamiento secuencial Fermentación / Extrusión

Actualmente no se dispone de mucha información acerca del proceso secuencial de fermentación / extrusión aplicado a frijol Tepari. Sin embargo, los efectos benéficos de ambos procesos podrían utilizarse para mejorar propiedades nutricionales y nutracéuticas de los granos sometidos a estos procesamientos. En ese sentido, Rani y col. (2018) reportaron que fenólicos totales y actividad antioxidante de harina mixta de arroz y garbanzo negro, aumentaron con el procesamiento secuencial (fermentación y extrusión).

Harina de tempe de frijol puede ser considerada para la fortificación de productos alimenticios elaborados a base de leguminosas de gran consumo, y también para la prevención de patologías relacionadas al estrés oxidativo (Reyes-Bastidas y col., 2010; Uuh Narvaez y col., 2023)

Es por ello que el objetivo de esta investigación fue procesar secuencialmente frijol Tepari para posteriormente ser adicionado a harina de maíz azul nixtamalizada y su posterior elaboración de tortilla, esto podría mejorar propiedades nutricionales y nutracéuticas del producto final, el cual es ampliamente consumido por diversos sectores de la población mexicana.

IV. JUSTIFICACIÓN

El maíz azul y el frijol tépari, son fuente de macromoléculas y compuestos bioactivos como fenólicos, carotenoides y flavonoides como las antocianinas. Estos compuestos se encuentran asociados con efectos benéficos para la salud. La fermentación en estado sólido y el proceso de cocción por extrusión, son procesos que mejoran la calidad, características nutricionales y nutraceuticas del grano de frijol. Además, se ha demostrado que los biocompuestos que se presentan en estos granos están asociados con diversas actividades biológicas, como antibacterianas, antidiabéticas, anticancerígenas y antioxidantes. La popularidad de los productos nutraceuticos recientemente nos ha brindado la oportunidad de mejorar nuestra alimentación, y resultan una buena opción para mejorar el estilo de vida de la población. En este sentido la dieta podría ser una opción viable para la prevención de enfermedades crónico-degenerativas. En México, las tortillas son la base de la alimentación, por lo que la elaboración de una tortilla de maíz adicionada con una leguminosa con alto valor nutricional, y además sumergido a las tecnologías de FES / extrusión, resulta una idea interesante para la elaboración de un nuevo alimento funcional con características nutricionales y nutraceuticas incrementadas, cuyo consumo podría ser la alternativa perfecta para la prevención de diversas enfermedades.

V. HIPÓTESIS

La adición de frijol tépari procesado secuencialmente por fermentación / extrusión incrementa propiedades nutricionales, normolipídicas y antihiper glucemiantes de tortillas de maíz azul nixtamalizado.

VI. OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto de la adición de frijol tépari procesado secuencialmente por fermentación/extrusión en propiedades nutricionales, normolipídicas y antihiperoglucemiantes de tortillas de maíz azul nixtamalizado.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar la composición química, aminoácidos y digestibilidad proteica en tortilla de maíz azul adicionada con harina de frijol tépari obtenida por el proceso secuencial FES/Extrusión.
2. Evaluar fenólicos totales en tortilla de maíz azul adicionada con harina de frijol tépari obtenida por proceso secuencial FES/Extrusión.
3. Determinar la actividad antioxidante de tortillas de maíz azul adicionada con harina de frijol tépari obtenida por proceso secuencial FES/Extrusión.
4. Evaluar la actividad inhibitoria de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa *in vitro* de tortillas.
5. Evaluar efecto normolipídico y antihiperoglucemiante en modelos *in vivo*.

VII.MATERIALES Y MÉTODOS

A Lugar de trabajo

El presente proyecto de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Alimentos Funcionales y Nutraceuticos, Laboratorio de Investigación en Farmacia, Farmacología y Toxicobiología de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas y Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, Campus Cd. Obregón

B Criterios de bioética

Todos los procedimientos realizados fueron sometidos al Comité Científico y Ético de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Nutrición y Gastronomía, y fueron desarrollados de acuerdo con las especificaciones técnicas de la Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-, 1999)

C Materiales

Como materiales de estudio se utilizaron frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) recolectado en Culiacán y granos de maíz azul (*Zea mays* L.) del estado de Sinaloa. Para la fermentación de frijol tépari se utilizó la cepa NRRL2710 de *Rhizopus oligosporus*, y para la determinación de la actividad antioxidante en eritrocitos se utilizaron eritrocitos humanos del grupo sanguíneo A provenientes de dos donadores.

1 Animales de experimentación

Para el estudio *in vivo* se utilizaron ratones machos C57BL/6N, los cuales fueron seleccionados de manera aleatoria para formar dos grupos (n=8), se mantuvieron en condiciones controladas (24 °C y 58 % de humedad), con ciclos alternados de 12 horas de luz/obscuridad. Los animales fueron alimentados con LabDiet #5001, PMI International, Redwood, CA, USA, tuvieron

acceso libre al agua y se llevó un control de alimento (60 g por semana) para monitorear si el compuesto a evaluar disminuye el apetito del sujeto de prueba. Los ratones fueron monitoreados diariamente en cuanto a su estado general. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo con los principios y cuidados del "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" (NIN guide; 1996). La dieta estándar (SD) fue LabDiet #5001 (PMI International, Redwood, CA, EE. UU.); la dieta experimental fue SD suplementada con tortilla de maíz nixtamalizada (10 %).

D Métodos

1 Proceso de Fermentación en Estado Sólido (FES)

Para la elaboración de tempe de frijol tépari se utilizó el procedimiento descrito por Rochín-Medina y col. (2015) con algunas modificaciones. Un lote de 100 g de frijol se remojó en agua (relación 1:3, 16 h 25 °C), se descartó el agua para luego descascarillar los granos, obteniendo los cotiledones que fueron cocidos en una solución de ácido acético 0.2 % (relación 1:3, 90 °C, 30 min), se eliminó el agua de cocción y se dejaron enfriar los granos a 25 °C, procurando eliminar la humedad superficial. Posteriormente los cotiledones se inocularon con una suspensión de esporas de *Rhizopus oligosporus* (1×10^6 esporas/ mL) y se colocaron en bolsas de polietileno perforadas cada 4 cm, donde se permitió que fermenten a temperatura de 37 °C, por 3 días para obtener finalmente el producto de la fermentación elaborado a partir de frijol tépari. El producto se conservó en bolsas de polietileno a -20 °C hasta su utilización.

2 Obtención de Harina de frijol Tépari Fermentado/Extrudido

Para la obtención de la Harina de Frijol Tépari Fermentada/Extrudida (HFFE), fue utilizado el método descrito por Milán-Carrillo y col. (2012) con ligeras modificaciones. La harina de frijol teparina fermentada (HFF) se humedeció hasta un 24 % y se dejó a 4-12 °C durante 12 h. Después

del período de reposo, la harina se reposó a temperatura ambiente (25 °C) por 2 horas. La harina equilibrada se introdujo en un extrusor de un solo tornill con un diámetro de 1.9 mm. Relación longitud-diámetro 20:1; relación compresor 1:1 y boquilla de salida de 3 mm. Las condiciones de operación del extrusor fueron temperatura de extrusión (TE = 137 °C) y velocidad del tornillo (VT = 220 rpm). Los extruidos se posicionaron en bandejas de aluminio con orificios, luego se enfriaron y reposaron a temperatura ambiente por 12 horas. Los extruidos resultantes del reposo fueron triturados. La harina de frijol tépari fermentada extruida se envasó en bolsas de plástico y se almacenó a 4 °C hasta su uso.

3 Composición nutrimental

a Humedad

Para evaluar el contenido de humedad de las muestras se utilizó el método 44.15 de la AOAC (1999). Para esta determinación se utilizaron charolas de aluminio (previamente llevadas a peso constante) en las cuales se pesaron aproximadamente 2 g de muestra, las cuales se calentaron a 70 °C/12 h, después se realizó un incremento de temperatura a 130 °C/3 h en una estufa de circulación de aire. Los resultados fueron expresados como % de humedad y se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde: P_i = peso inicial de la muestra; P_f = Peso final de la muestra

b Proteína

El contenido de proteína se determinó utilizando el método de nitrógeno total 979.09 (microKjeldahl) de la AOAC (1999). Una porción de 0.2 g de la muestra se digirió con 5 ml de H_2SO_4 y 1.625 g de catalizador (92,30 g de K_2SO_4 y 7,70 g de $CuSO_4$) en un microtubo Kjeldahl a una temperatura de 550 °C durante 6 h. En sistemas Kjelttec (Mod 1009 y 1002, Tecator, Suecia).

Después del periodo de digestión, los tubos se enfriaron, se agregaron 10 mL de agua destilada, se agitaron (marca Fisher Scientific) y se agregó NaOH al 40 % hasta obtener un color marrón oscuro. Se destiló el contenido del tubo y el destilado se recogió en un matraz Erlenmeyer de 250 mL al que previamente se agregaron 15 mL de H₃BO₃ al 4 % con 3 gotas del indicador. Luego se tituló esta mezcla con una solución de titulación de HCl 0.1 N hasta que fue observado un cambio de color (de verde a morado intenso). Luego se registró la cantidad de HCl consumido durante la titulación. El contenido de proteína se calculó mediante la siguiente fórmula y fue representado en porcentaje:

$$\% \text{ prot} = \frac{\text{Molaridad de HCl} * \text{mL de HCl gastados} * \text{PA de N} * \text{FC}}{\text{PM} * 1000} * 100$$

Donde: PA=peso atómico; PM= peso de la muestra; FC= factor de la conversión (6.25)

La determinación se realizó por triplicado.

c Lípidos

El contenido de lípidos se realizó mediante el método 920.39 de la AOAC (1999). 2 g de harina se pesaron en papel filtro formando un cartucho; el cartucho se cerró y se introdujo en una corneta. Y fue colocada en el equipo Saxtec System HT1043 Extraction Unit (Tecator, Suecia) junto con un matraz bola, previamente llevado a peso constante (se tomó el peso del matraz antes de su uso). Posteriormente se agregó de 100 a 150 mL de éter de petróleo como disolvente. El equipo se acopló a un recirculador a 12 °C (marca VMR) y una placa térmica (Thermolyne MIRAK) a 155 °C. A partir de que inició la primera recirculación, se tomó el tiempo hasta alcanzar 4 h. Una vez concluido el tiempo, se retiró el matraz (manipulación con guantes) y se dejó secar en la estufa a 50 °C hasta evaporar el éter (aprox. 2 h). Finalmente se pesó el matraz con los residuos de grasa. La prueba se realizó por triplicado.

d Cenizas

El porcentaje de cenizas (minerales) se calculó utilizando el método 923.03 de AOAC (1999). Se utilizaron crisoles de porcelana (previamente llevados a peso constante y pesados) en los cuales se pesaron 2 g de harina y se sometieron a incineración en mufla (Thermolyne Mod. 48000) a 550 °C durante aproximadamente 12 h. Los crisoles se enfriaron en un desecador y se pesaron cuando la muestra calcinada alcanzó la temperatura ambiente. La prueba fue realizada por triplicado y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Cenizas = Pf/Pi * 100$$

Pf: Peso final de la muestra; Pi: Peso inicial de la muestra

e Carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se realizó restando al 100 % los porcentajes de proteína, lípidos y cenizas en base seca.

4 Digestibilidad de proteína *in vitro* (DPIV)

Se utilizó la técnica *in vitro* para la digestión de proteínas según lo llevado a cabo por Tinus y col. (2012) basado en Hsu y col. (1977). Se pesaron 62.5 mg de proteína de la harina y se rehidrató con ayuda de 10 mL de agua destilada a 37 °C/1 h y fue mantenida en agitación (85 rpm), luego el pH fue ajustado a 8,0 con NaOH/HCl 0.1 M. Se prepararon 10 mL de solución multienzimática compuesta por 16 mg de tripsina (tripsina T-0303 de páncreas porcino, tipo IX-S 15.600 unidades/mg sólido – 16,200 mg de proteína) y 31 mg de quimotripsina (α -quimotripsina tipo C4129 de páncreas bovino) II 54 unidades/mg de quimotripsin sólido- 60 unidades/mg de proteína) y 13 mg de proteasa (proteasa P5147 de *Streptomyces griseus* tipo XIV, P3,5 unidades/mg de sólido). Fue utilizada proteasa de *S. griseus* en lugar de una peptidasa discontinua (peptidasa Sigma P7500 de mucosa intestinal porcina, 50–100 unidades/g de sólidos). El pH de la solución multienzimática fue ajustado a 8.0 y se mantuvo a 37 °C hasta el análisis. Después de la

rehidratación, se agregó 1 mL de solución multienzimática a la dispersión de la muestra y se midieron los valores de pH inicial y final después de 10 minutos mientras se mantenían en agitación (85 rpm). Pasados 10 minutos de digestión se tomó el dato de pH ($\Delta\text{pH } 10 \text{ min}$) para calcular el % DPIV con la siguiente fórmula:

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

5 Perfil de aminoácidos

La composición de aminoácidos totales fue determinada utilizando la metodología descrita por López-Cervantes y col. (2006). Se comenzó mezclando 50 mg de harina con 10 mL de HCl 6M y se incubaron durante 24 h a 100 °C. Se filtró la muestra hidrolizada y el extracto fue diluido 200 veces con agua miliQ. Se obtuvo una alícuota de 300 μL del extracto y se derivatizó con 300 μL de cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (FMOC). Se analizó una alícuota de 20 μL utilizando una escala analítica (4.6 mm * 250 mm) columna SGE Hypersil ODS C18 (SGE, Dandenong, Australia) mientras se mantuvo a 30 °C y conectada a HPLC equipado con un detector de fluorescencia LC 5100. La fase móvil utilizada fueron las siguientes:

A: fosfato de amonio 30 mM (pH=6.5) en metanol/agua 15:85 (v/v).

B: metanol/agua 15:85 (v/v)

C: Acetonitrilo/agua 90:10 (v/v)

La detección de fluorescencia fue de 270 para excitación y 316 nm de emisión. La curva de calibración se construyó utilizando una mezcla de aminoácidos estándar.

6 Compuestos bioactivos y antinutricionales

a Compuestos fenólicos

Para extraer los compuestos fenólicos libres y ligados fue realizado la metodología de Adom y Liu (2002) con algunas modificaciones. Se extrajeros los fitoquímicos libres de 0.5 mg de muestra, que se colocó en un vial eppendorf de 2 mL y se añadió 1 ml de etanol acuoso al 80 %. El vial fue colocado en un agitador orbital (marca OVAN NR50-E) durante 10 minutos. Después de algún tiempo, los tubos se centrifugaron (2500 xg/10 °C/10 min). La sección sobrenadante se recogió y se secó en un concentrador (Thermo Scientific Concentrator, Mod SC250EXP) a 45 °C. El extracto seco se reconstituyó con metanol al 50 %. Los extractos se almacenaron a 4 °C hasta su uso.

Para la extracción de fitoquímicos ligados fue realizado el procedimiento según lo descrito por Adom y Liu (2002), con algunas modificaciones por Mora-Rochín y col. (2010). La sección precipitada del extracto de fenol libre se hidrolizó alcalinamente con 1 mL de NaOH 2 M, se trató térmicamente en un baño de agua a 95 °C durante 30 min y luego se mantuvo en agitación a temperatura ambiente (25 °C) durante 1 h. La mezcla fue neutralizada con 200 µL de HCl concentrado, luego se mantuvo en agitación durante 1 min, se homogeneizó en un sonicador durante 5 min y luego se agitó por 10 min e inmediatamente después se agregaron 500 µL de hexano. El mismo procedimiento de agitación se realizó mediante sonicación y centrifugación a 3000 x g/10 °C/10 min para extraer el hexano, agregando 500 µL de acetato de etilo, agitación durante 3 s y centrifugación durante 5 min y luego sonicación. La mezcla fue centrifugada a 3000 x g/10 °C/10 min, y el acetato de etilo se recogió y almacenó en un vial Eppendorf de 2 mL. Esta extracción fue realizada cuatro veces. La sección de acetato de etilo fue evaporada hasta sequedad en un concentrador (SpeedVac Concentrator Thermo Scientific SC250EXP). Los compuestos extraídos fueron recostituidos en 200 µL de metanol al 50 % y fueron almacenados a 4 °C hasta su posterior uso.

Los compuestos fenólicos fueron evaluados utilizando la metodología propuesta por Singleton y col. (1999). Se mezclaron 20 μL del extracto o muestra estándar en una placa transparente de 96 pocillos, en combinación de 180 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 con agua destilada), y por último 50 μL de carbonato de sodio al 7 %. La placa transparente de 96 pocillos se incubó en oscuridad por 90 min a 25 °C; transcurrido el tiempo la absorbancia se registró en un lector de microplacas (synergy TM HT Multidetector, Biotek, Inc., Winooski, VT) a 750 nm. Se utilizó como estándar ácido gálico (AG), del cual fue preparada una disolución concentrada a partir de 1,000 ppm y con las diluciones fue construida una curva de calibración. El contenido de fenólicos fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico /100 g de muestra en base seca (mg EAG/ 100 g, bs). Las evaluaciones se realizaron por cuadruplicado.

b Taninos condensados

Se realizó según el método descrito por Deshpande y Cheryan (1985) para la cuantificación de taninos condensados. 0.5 g de muestra fueron pesados en un tubo de centrifuga de 15 ml y se añadieron 5 ml de HCl al 1%. El tubo se agitó en un agitador orbital durante 20 min a 25 °C. Al finalizar el período de agitación, el extracto se recogió mediante centrifugación (4500 rpm, 10 min) (centrífuga Eppendorf modelo 5804R). La solución estándar fue preparada disolviendo 0.05 g de catequina en 25 mL de HCl hasta una concentración final de 1000 ppm. A partir de esta solución fueron realizadas diluciones con acetona en concentraciones de: 25, 50, 100, 200, 400, 600, 8000 y 1000 ppm. 50 μL de cada dilución fueron colocados en una celda, y se añadieron 200 μL de reactivo MeOH-vainillina al 0.5% (0,5 g de vainillina en 100 ml de metanol). Por último, se registró la absorbancia a 520 nm frente a un estándar (blanco) de reactivo (50 μL de extracto, 200 μL de HCl al 4%). La absorbancia fue registrada y el valor fue interpolada en la curva de catequina. La

cantidad de taninos condensados (CTC) fue expresada como mg de equivalentes de catequina (mg EC) por 100 g de muestra en base seca. El CTC se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{CTC} = \mu\text{g catequina} \times [1/\text{PM (g)}] \times 10 \times [1\text{mg} / 1,000 \mu\text{g}] \times 100$$

Donde: PM= Peso de la muestra.

Las evaluaciones de extracción se realizaron por triplicado.

c Ácido fítico

Técnica determinada por espectrometría, basada en la metodología propuesta por Vaintraub y Lapteva (1988), se basa en la destrucción del complejo Fe_3^+ -ácido sulfosalicílico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$) (reactivo de WADE), y utiliza una disminución de la absorbancia como señal analítica. El color púrpura del reactivo de WADE se debe a la interacción entre los iones de hierro y $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S}$, y la absorbancia máxima es de 500 nm. La presencia de fitato se une al éster de fosfato y evita que reaccione con el ácido sulfosalicílico, lo que provoca una disminución del color. Para la extracción se pesaron 0.5 g de harina y se añadieron 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 2.4% v/v. La mezcla fue agitada con rotación durante 6 horas. Posteriormente fue centrifugada a 400 rpm/10 min. El sobrenadante se considera el extracto y se separó después de la centrifugación. Para la evaluación, fueron tomados 150 μL de sobrenadante (o su dilución), 600 μL de agua destilada y 250 μL de reactivo WADE, se homogenizó la mezcla y se registró la absorbancia a una longitud de onda de 500 nm en un espectrofotómetro.

d Lectinas

La determinación de lectinas fue realizada con base en el método propuesto por Calderón de la Barca y col. (1985) de las diluciones seriadas con eritrocitos lavados en solución buffer de fosfatos (PBS). Para la extracción se pesaron 0.9 g de cloruro de sodio, se disolvieron en un matraz aforado a 100 mL con agua destilada y se mezcló hasta su disolución. Posteriormente 1 g de las

muestras fue pesado y se agregaron 10 mL de agua con cloruro de sodio. Se llevó a 2 h en vortex giratorio. Fue centrifugado a 3000 rpm durante 15 min y el extracto se separó.

Para su valoración se tomaron 50 μ L de la suspensión de eritrocitos al 2 % y se colocó esta cantidad en cada celda de una microplaca desde la B hasta la H. Se hizo una dilución seriada tomando 50 μ L del extracto y se colocó en la celda B, fue mezclado y se tomaron 50 μ L de la mezcla y se pasó a la celda C, y así consecutivamente hasta llegar a la H, logrando la dilución del extracto. El resultado fue expresado como el inverso de la máxima dilución donde se observó aglutinación.

e Inhibidores de tripsina

La cuantificación de inhibidores de tripsina se elaboró por la metodología reportado por Liu (2019), de igual manera basado en el de Kakade y col. (1974), con algunas modificaciones. El método permite determinar la capacidad que tiene la muestra para inhibir la actividad que ejerce la tripsina sobre el sustrato sintético α -N-Benzoil-DL- argininap- nitroanilida (BAPNA). Para la extracción de los inhibidores de tripsina, fueron pesados 0.25 g de muestra y fueron añadidos 10 mL de HCl 0.05 M. Se mantuvo en agitación durante 1h a 25 °C. Posterior a este tiempo fueron centrifugados los tubos (5000 x g / 10 min) y se colocaron en baño de hielo hasta su cuantificación. De igual manera en microtubos que fueron mantenidos a baño maría a 37 °C fue preparado el control, el blanco de control y la muestra. Al control se le agregaron 200 μ L de *tris* al 7.5 (33.025 g de *tris* aforado a 500 mL y ajustado el pH a 7.5) y 200 μ L de solución de tripsina (1 mg de tripsina de 16,700 unidades/mg de proteína disuelta en 500 mL de HCl 1mM). Posterior a la inhibición enzimática (2 min), se adicionaron 500 μ L de solución BTC (BAPNA en dimetilsulfóxido + Tris-HCl 0.05M a pH 8.2 y cloruro de calcio 1M). Después de 10 min de incubación, la reacción enzimática fue detenida con 100 μ L de ácido acético al 30 %. Al blanco de control se le agregaron

200 μL de tris y 7.5 y 200 μL de solución de tripsina. Posterior al tiempo de inhibición enzimática (1 min), se agregaron 100 μL de ácido acético al 30 %. Pasado de 1 min se adicionaron 500 μL de solución BTC. Para la preparación de la muestra fueron agregados 200 μL de extracto y fueron añadidos 200 μL de tripsina. Posterior al tiempo de inhibición enzimática (2 min), se adicionaron 500 μL de solución BTC. Luego de 10 min de incubación, la reacción enzimática fue determinada con 100 μL de ácido acético al 30 %. Se centrifugó la muestra ($3,800 \times g / 10 \text{ min}$) y se midió su absorbancia a una longitud de onda de 410 nm en un espectrofotómetro (marca Thermo Scientific, modelo GENESYS 10 UV-Visible). A esta absorbancia (410 nm) el sustrato criogénico BAPNA (amida), al ser hidrolizado por la tripsina, libera un compuesto colorido de *p*-nitroanilina.

La actividad del inhibidor de tripsina fue expresado en términos de unidades tripsina inhibidas, de manera que una unidad de inhibidores de tripsina (UIT) es la cantidad de inhibidores que reduce 0.01 unidades de absorbancia, en relación con la reacción de control de tripsina y en las condiciones anteriormente definidas. El cálculo para obtener el número UIT se llevó acorde a la siguiente fórmula:

$$\text{UIT} = (\text{Abs control de tripsina} - \text{Abs muestra}) / 0.01$$

f Saponinas

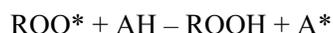
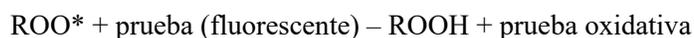
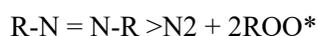
La determinación de saponinas totales fue calculada por el método mejorado de Le y col. (2018). Este método se basa en la reacción colorimétrica propuesta por Hiai y col. (1976), usando la vainillina y H_2SO_4 para la generación de grupos cromóforos con saponinas. Para la determinación 0.5 g de muestra fueron extraídos con 10 mL de etanol absoluto en un equipo de agitación rotativa (20 rpm) durante 16 h. Para la valoración se utilizaron tubos de vidrio en los que se colocaron 100 μL de cada extracto a 25 $^\circ\text{C}$, luego fue transferido a un baño de hielo y se agregaron 100 μL del reactivo de vainillina al 8 % en metanol absoluto, se dejaron por un minuto y se retiraron del baño de hielo para adicionarles 1000 μL de ácido sulfúrico al 72 % v/v, y esta

mezcla se calentó a 60 °C por 10 min, transcurrido el tiempo se llevaron nuevamente al baño de hielo por 2 minutos y se dió lectura a 520 nm. Se utilizó una curva de diosgenina (800-50 ppm) en etanol absoluto. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de diosgenina por 100 g de muestra en base seca (mg ED/100 g bs).

7 Actividad Antioxidante

a Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)

La AAox fue determinada utilizando el método desarrollado para compuestos hidrofílicos (Ou y col., 2001; Prior y col., 2005) de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC = Oxygen radical absorbance capacity). La degradación térmica del compuesto 2-2'-Azobis-aminopropano (AAPH) produce radicales peroxilo (ROO), los cuales oxidan al compuesto fluorescente, diclorofluoresceína (DCFH) al compuesto no fluorescente diclorofluoresceína (DCF). La inhibición de los antioxidantes (fitoquímicos) atrapa los radicales libres. Fue preparada una solución generadora de radicales libres (2-2'-Azobis-aminopropano) AAPH donde se agregaron 0.207 g del reactivo y se aforó en un matraz de 5 mL. La fluoresceína fue preparada a una concentración de 0.1 µM, a 25 mM, a cada muestra se le adicionó 150 µL de fluoresceína y se mezcló por medio de agitación a 1,200 rpm por 20 seg la reacción inició al agregar 25 µL de AAPH. La pérdida de fluorescencia de la fluoresceína fue registrada a 485 nm y 583 nm de excitación y emisión respectivamente. La reacción de los radicales peroxilo generó la pérdida de fluorescencia con el tiempo como se indican en la siguiente reacción:





El efecto de un antioxidante es integrado por el área neta bajo la curva sobre la pérdida de la fluorescencia (AUC) (AUCAOX – AUC AOX). Los resultados se expresaron como micromoles (μmol) Equivalentes de trolox (ET) por 100 g de base seca (μmol de ET/100g, bs).

b Actividad antioxidante ABTS

Para evaluar la actividad antioxidante por el método ABTS, se siguió el procedimiento descrito por Re y col. (1999), el cual implica generar el radical ABTS^+ mediante la reacción en oscuridad del ABTS (7 mmol/L) con persulfato potásico (2.45 mmol/L) durante 16 h a 25 °C. Posteriormente la solución de ABTS^+ fue diluida con agua desionizada para la obtención de una solución de trabajo de ABTS^+ . La reacción entre la solución de trabajo de ABTS^+ con extractos a diferentes concentraciones se realizaron a temperatura ambiente durante 10 min. Al igual que con una curva estándar de trolox, los datos fueron expresados como μmol equivalentes de Trolox (ET)/100g de muestra en base seca. Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

c Ensayo de la actividad hemolítica

Para determinar la actividad hemolítica del extracto de harina de frijol Tepari fermentado extrudido (HFPE) se realizó utilizando la metodología propuesta por (Cruz-Silva y col., 2000). De manera breve, se obtuvieron 5 mL de sangre periférica de un individuo sano mediante uso de vacutainer. Los eritrocitos humanos fueron separados de la sangre total con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). La sangre total fue centrifugada a 2000 rpm durante 10 min en una centrifuga modelo Spinplus de la marca TopScience. Posteriormente se realizaron tres lavados con solución salina. En el último lavado las células fueron centrifugadas nuevamente a 2000 rpm/10 min, para así obtener el paquete globular. Las células fueron incubadas a 37 °C durante 5 min. Después se tomaron alícuotas de 500 μL que fueron colocados en tubos de ensayo. Posteriormente se resuspendieron con 3.5 mL de solución salina, enseguida se adicionaron 500 μL

de diferentes concentraciones a evaluar del extracto de HFFE, para obtener respectivamente 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ en cada uno de los microtubos asignados, donde cada concentración fue evaluada por triplicado. Como control de hemólisis al 100 % se utilizó agua destilada, tal que 500 μL de células sanguíneas se llevaron a 4.5 mL con agua destilada, se procedió a agitarse suavemente para homogenizar e incubar hasta 60 min, realizándose lecturas a 550 nm a los 0 y 60 minutos, utilizando un lector de placas de ELISA modelo EliRead de la marca KontroLab. Los resultados se presentaron como porcentaje de hemólisis, el cual fue calculado mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Hemólisis} = 100 \times \text{Abs de la muestra} / \text{Abs del control}.$$

8 Actividad antihiper glucemiante

a Inhibición de la enzima α -glucosidasa

La inhibición de la α -glucosidasa se evaluó según lo reportado por Da Silva Pinto y col. (2008) y López-Angulo y col. (2019) con algunas modificaciones. En una placa de 96 pocillos, se mezclaron alícuotas de muestra (50 μL) a diferentes concentraciones con 100 μL de α -glucosidasa (0.5 U/mL) en tampón de fosfato (0.1 M, pH 6.9); la microplaca fue incubada durante 10 min a 37 °C y fueron añadidos 50 μL de *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranosido en tampón de fosfato (5 mmol/L) a cada pocillo. Se incubó la microplaca (37 °C / 10 min) y la absorbancia fue registrada con un lector de microplacas bicromáticas Multistak. Se utilizó como blanco una solución sin muestra y una solución sin sustrato. Se utilizó acarbosa como control positivo. El ensayo se realizó por triplicado y calculó el porcentaje de inhibición de la α -glucosidasa usando la ecuación:

$$(\%) = [(A - B) / A] 100$$

A: Absorbancia de control (mezcla de reacción sin muestra)

B: Absorbancia de la mezcla de reacción con la muestra / estándar.

b Inhibición de la enzima α -amilasa

El ensayo de inhibición de α -amilasa se realizó mediante la técnica de Nickavar y col. (2008) con ligeras modificaciones. La solución de almidón (1 %) se obtuvo hirviendo y agitando 250 mg de almidón soluble en 25 mL de buffer 6.7 mmol/L pH 6.9, durante 15 min. La solución enzimática se preparó a 2U/mL. El reactivo color (DNS: Ácido 3,5-dinitrosalicílico) se preparó disolviendo 438 mg de DNS (DNS: Ácido 3,5-dinitrosalicílico) en 20 mL de buffer a 50-70 °C con agitación constante. Posteriormente se disolvieron en 12 mL de buffer a 50-70 °C el tartrato de potasio (12 g de tartrato potásico en 8 mL de NaOH 2M, sin ebulir). El reactivo color se almacenó en un recipiente ámbar (la solución es estable durante 6 meses). Se preparó acarbosa 2 mmol/L como control positivo y actividad enzimática sin inhibidor como control negativo. A cada una de las muestras se le añadió su blanco correspondiente: 100 μ L de buffer y 50 μ L de extracto. A cada tubo de 2 mL se les añadió 50 μ L extracto, 100 μ L de enzima, 100 μ L almidón y 100 μ L del reactivo color para posteriormente llevarlo a tratamiento térmico 100 °C/15 min y finalmente añadir 800 μ L de buffer. Se utilizó una curva de maltosa al 0.4 %, utilizando 44.6 mg de maltosa monohidratada en 10 mL de buffer. De cada tubo se tomaron 200 μ L y fueron colocados en una placa de 96 pocillos y se realizó una lectura de 540 nm de longitud de onda en espectrofotómetro (marca Thermo Scientific, modelo GENESYS 10 UV-Visible).

El porcentaje de inhibición de α -amilasa se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$100 - (\text{maltosa } (\mu\text{M}) \text{ de la muestra} * 100 / \text{maltosa } (\mu\text{M}) \text{ del C-})$$

μ m: micromol

C- : Control negativo

9 Evaluaciones *in vivo*

a Peso corporal y consumo de alimentos

Los pesos corporales de los ratones se registraron una vez por semana en una balanza electrónica de precisión (BAPRE-3, Rhino, CDMX, México). Para medir el peso corporal, los ratones se colocaron individualmente dentro de una canasta de metal colocada sobre una balanza tarada y los resultados fueron expresados en gramos (g). El consumo de alimentos fue registrado diariamente en una balanza electrónica de precisión (BAPRE-3). Para calcular el consumo de alimentos se registró la cantidad de alimento colocado en la jaula y se pesó el alimento sobrante en la báscula previamente tarada al día siguiente. Para determinar la cantidad consumida, se restaron los gramos de alimento dado inicialmente y los gramos de alimento sobrante.

b Medición de niveles séricos de glucosa

Los niveles de glucosa fueron determinados una vez por semana empleando un glucómetro ACCU-CHEK® *Performa*. Para llevar a cabo esta metodología se pinchó con una lanceta ACCU-CHEK® *Softclix* la punta de la cola de cada animal extrayendo una gota de sangre la cual fue depositada en una tira reactiva ACCU-CHEK® *Performa* previamente cargada en el glucómetro; a partir de los datos obtenidos se calculó el valor promedio por grupo experimental y se registró en bitácora. Se muestran los resultados mediante un gráfico de barras y su EEM.

c Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral (CTGO)

Después de 12 horas, se obtuvo una muestra de sangre en ayunas para determinar la concentración de glucosa en sangre (glucemia). Posteriormente se le administra a los ratones una carga de glucosa, (1.75 g por cada kg de peso corporal) y después se tomaron muestras de sangre a intervalos regulares de tiempo, se tomó una gota de sangre cada 10 min durante 3 h, con la

finalidad de recaudar información para la contribución de detectar de manera temprana, el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo II. Posteriormente se registraron los datos y se creó una cinética que demostró los intervalos de tiempo que comenzó con el estado basal en el tiempo 0 y posteriormente el aumento y disminución de glucosa en sangre.

d Colección de sangre y órganos de ratones

Después de 4 semanas de alimentación con las cuatro dietas diferentes, los ratones fueron preparados para la eutanasia. Las muestras de sangre se recogieron mediante punción cardíaca en tubos. El suero se separó mediante centrifugación a 2500 rpm durante 8 min y luego se almacenó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un congelador de temperatura ultrabaja (Forma 900 Series, Thermo Fisher, Waltham, MA, EE. UU.) hasta el análisis. A los ratones se les extrajo tejido adiposo abdominal y órganos como el hígado y riñones para luego pesarlos.

e Medición del peso de hígado, riñón y tejido adiposo

Tras el sacrificio se cuantificó el peso de los órganos y el tejido adiposo pesando lo extraído de cada ratón en una báscula analítica Sartorius® TE64; con la información de los datos obtenidos se calculó el peso promedio por grupo experimental, y se registró en bitácora. Se presentan los resultados mediante un gráfico de barras con su respectivo error estándar de la media (EEM).

f Procesamiento de muestras histológicas de hígado y riñón

Los órganos recuperados tras el sacrificio (hígado y riñón) fueron almacenados en tubos Eppendorf de 15 mL con formalina al 5 %, los cuales se mantuvieron en la oscuridad y a una temperatura de $23 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se llevó a cabo la preparación de las muestras mediante fijación e inclusión de los tejidos en parafina de acuerdo con las instrucciones del manual de métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (Prophet y col., 1995). Primeramente, se realizaron cortes longitudinales para después

colocarlos en un casete de fijación para parafina. Después se inició con el proceso de deshidratación y aclaramiento sumergiendo las muestras en alcohol absoluto (J.T. Baker) por 14 h, después se pasaron a Xilol absoluto (J.T. Baker) por 2 h y finalmente 2 h en parafina a 65 °C. Terminado el proceso de deshidratación/ aclaramiento, los casetes de fijación para parafina que contuvieran la muestra se llevaron al incluidor de tejidos Leica® EG1150 H; donde se adicionó parafina (Leica® Paraplast) en estado líquido a 65 °C hasta que se cubriera todo el interior y exterior del casete. Una vez que se completó la inclusión en parafina, se colocó el casete en una placa fría Leica® EG1150 C a 4 °C para su solidificación. Posteriormente se retiró el bloque de parafina del interior del casete y se realizó un corte de 3 micras empleado un micrótopo rotativo Leica® RM 2145, una vez realizado el corte, las tiras de las muestras fueron colocadas en un baño de flotación Leica® HI1210 con agua destilada para su extensión, posteriormente se recolectaron las muestras en portaobjetos y se llevaron a un horno BINDER® a 60 °C para eliminar el exceso de parafina. Una vez realizado el desparafinado se procedió con la tinción de hematoxilina y eosina (H&E).

g Tinción de muestras con tinción de hematoxilina y eosina

Para la tinción con H&E fue utilizada la metodología reportada en el manual de métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (Prophet y col., 1995). Se inició con el desparafinado de la muestra, posteriormente se hidrató utilizando baños en soluciones de Xileno, alcohol absoluto, alcohol al 96 % y agua destilada. Se realizó la tinción en solución de hematoxilina de Mayer [50 g de alumbre de potasio ($KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$), 1 g cristales de hematoxilina, 0.2 g yodato de sodio ($NaIO_3$), 1 g de ácido cítrico ($C_6H_8O_7$), 50 g hidrato de cloral ($C_2H_3Cl_3O_2$), 1000 mL de agua destilada] por 8 min. Posteriormente, se lavó la muestra con agua corriente por 1 min, después con agua destilada, y al final se sumergió en etanol al 80 % en presencia de la solución de eosina-floxina 1 g floxina B, 100

mL agua destilada; 780 mL etanol al 96 %, 4 mL ácido acético glacial) por 2 min. Después se contrastó en solución de eosina-floxina por 3 min, y se deshidrató y aclaró a través de dos cambios de 2 min cada uno en etanol al 96 %, etanol absoluto y Xileno, finalmente se montó en un medio resinoso y las muestras fueron observadas empleando el microscopio ZEISS Primo Star LED.

h Análisis histológico de hígado y riñón

El análisis histológico se realizó por duplicado con la participación de dos expertos en análisis histopatológico mediante el análisis de al menos 40 campos a 10 X, y acorde a lo reportado por Plazas Guerrero y col. (2021) y Quiñonez-Bastidas y col. (2022) con modificaciones.

La morfología hepática se analizó con el objetivo de identificar si alguna de las dietas conducía a muerte celular por apoptosis o necrosis, alteraciones estructurales asociadas a inflamación y fibrosis, así como alteraciones metabólicas como esteatosis y presencia de células balonadas. Por su parte, en el riñón se buscó apreciar muerte celular a través de apoptosis o necrosis, alteraciones estructurales asociadas a inflamación e insuficiencia renal, así como alteraciones funcionales como glomerulopatía o reducción de la cápsula de Bowman. Los resultados se presentaron como imágenes compuestas por fotografías a 10X y 40X indicando los cambios histopatológicos más relevantes que se observaron en la mayoría de los individuos del respectivo grupo.

10 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos entre las tortillas fueron analizados por una prueba *t* student para la comparación de muestra \pm la desviación estándar utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 5.0. Los resultados obtenidos fueron recolectados en una base de datos en Microsoft Excel y posteriormente exportados al software estadístico GraphPad Prism 5.0 donde fueron analizados.

Para las muestras de frijol los datos se realizaron aplicando una ANOVA unifactorial, mediante el paquete estadístico Minitab 19, y para la comparación de medias se utilizó la prueba

de Tukey con una nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Las variables de consumo de alimento, masa corporal y niveles séricos de glucosa fueron procesadas mediante una ANOVA de una vía de medidas repetidas seguido por una prueba post-hoc de Tukey. Los resultados de estas variables se presentan como medias \pm el error estándar de la media. Para todas las evaluaciones se establece un valor de $p \leq 0.05$ para considerarse estadísticamente significativo.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A Composición proximal de frijol tépari y tortillas

1 Composición proximal de frijol tépari

El **Cuadro 11** se observa el contenido químico proximal del frijol tépari crudo, fermentado y fermentado /extrudido. La FES mostró un efecto positivo en el contenido de proteínas, donde se puede observar un incremento significativo del 31.6 % (25 vs 32.9 %) con respecto al grano sin procesar. Por otro lado, el proceso de cocción por extrusión también mostró un efecto favorable en este parámetro, donde se puede observar un incremento ($p \leq 0.05$) del 10 % (32.9 vs 36.4), cuando la harina fermentada de frijol tépari fue procesada en el extrusor. Asimismo, el proceso secuencial muestra un aumento del 42 % en la cantidad de proteína. Este impacto favorable que fue observado en el proceso secuencial, pudiera ser debido a que tanto la fermentación en estado sólido y la cocción por extrusión favorecen la degradación de algunos compuestos antinutricionales, los cuales pudieran estar interviniendo con algunas proteínas. Mientras que la extrusión también favorece la desnaturalización de proteínas (Mora-Uzeta y col., 2019; Gámez-Valdez y col., 2021).

Resultados similares fueron reportados por Sánchez-Magaña y col. (2014), quienes mostraron contenidos de proteína en tempe de garbanzo del 31 %. Sin embargo, otros autores reportaron contenidos menores (25.33 %) en proteína en frijol tépari fermentado (Mora-Uzeta y col., 2019).

La diferencia en el contenido de proteína con estos autores podría atribuirse a la utilización de diferentes variedades o genotipos de grano, así como a las diferentes condiciones en el proceso de fermentación y/o extrusión. Por ejemplo, en un estudio realizado por Abu-Salem y Abou-Arab (2011) durante la elaboración de tempe de garbanzo, no adicionaron la testa al producto final,

Cuadro 11. Composición química de frijol tépari

Propiedad (%)	Muestra		
	HFC	HFF	HFFE
Proteínas	25.0 ± 2.4 ^c	32.9 ± 1.74 ^b	36.4 ± 0.0 ^a
Lípidos	1.2 ± 0.05 ^b	2.3 ± 0.09 ^a	0.5 ± 0.05 ^c
Cenizas	4.7 ± 0.2 ^a	2.8 ± 0.02 ^b	2.8 ± 0.03 ^b
Carbohidratos	70.4 ± 2.6 ^a	60.0 ± 1.6 ^b	65.2 ± 0.4 ^b

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$); Frijol crudo (HFC) Frijol Fermentado (HFF); Frijol fermentado extrudido (HFFE).

la cual si fue recuperada y adicionada en nuestro estudio. Es importante señalar que esta fracción anatómica puede diluir la concentración de proteína en tempe, ya que presenta un bajo contenido de este componente nutricional.

El contenido de lípidos mostró un aumento (92 %) significativo cuando el grano de frijol tépari fue sometido al bioproceso de fermentación en estado sólido (1.2 vs 2.3 %). Este aumento pudiera ser debido a que *R. oligosporus* sintetiza lipasas que liberan ácidos grasos (Mora-Uzeta y col., 2019), los cuales pueden ser cuantificados por la metodología utilizada en el presente proyecto de investigación. Por otro lado, el proceso de cocción por extrusión en la harina fermentada causó una disminución significativa del 78 % (2.3 vs 0.5 %). Se ha reportado que la cantidad de lípidos disminuye durante el proceso de cocción por extrusión como consecuencia de las condiciones del proceso (temperatura alta, velocidad del tornillo, presión, fuerza de cizallamiento), las cuales inducen la formación de complejos entre lípidos y otras macromoléculas (almidón) en la harina de frijol tépari fermentado extrudido (HFFE), por lo que pudo dificultar la extracción y causar un decremento aparente del contenido de lípidos en las muestras analizadas (Reyes-Moreno y col., 2018; Félix-Medina y col., 2020).

En un estudio con cebada procesada secuencialmente (fermentación en estado sólido/extrusión) observaron una disminución significativa del 60 % de lípidos cuando la harina fermentada fue sometida al proceso de cocción por extrusión (Xiao y col., 2022). Este efecto ocasionado por la cocción por extrusión tiene ventajas cuando se requieren elaborar alimentos con bajo contenido en lípidos, lo que pudiera generar un enfoque más saludable.

El contenido de cenizas fue menor en las muestras procesadas con respecto al grano crudo. En este estudio fue observado una disminución ($p \leq 0.05$) del 40 % cuando el grano de frijol tépari fue sometido al bioproceso de fermentación en estado sólido (4.7 vs 2.8%). Esta disminución significativa pudiera ser debida a las características de la fermentación. Durante este bioproceso se

da un remojo de 16 h, previó a la cocción, además durante la etapa de cocción y remojo se pudieron lixiviar minerales al líquido de cocción y remojo, lo que ocasionó la disminución de minerales con respecto al grano sin procesar. Por otro lado, el procesamiento por extrusión no generó cambios con respecto a la harina fermentada.

2 Composición química proximal de tortillas

En el **Cuadro 12** se observa la composición química de la tortilla adicionada con harina de frijol tépari fermentado/extrudido (TaHFFE) y la tortilla control o tortilla sin adicionar (TC). La adición de harina de frijol tépari fermentado/extrudido (HFFE) en la harina nixtamalizada de maíz para elaborar tortillas, mostró un incremento favorable ($p \leq 0.05$) cerca del 35 % en el contenido de proteína en comparación con la TC. Este incremento era de esperar, dado que el frijol tépari tiene valores de proteína más altos que el maíz (**Cuadro 11**). Además, los niveles de proteína en el grano de frijol se incrementan después de ser bioprocesado por fermentación en estado sólido, y extrudido, tal como lo han reportado diversos investigadores (Mora-Uzeta y col., 2019; Gámez-Valdez y col., 2021). Estos resultados le otorgan una gran ventaja a la tortilla desarrollada en este trabajo de investigación, ya que la adición de proteína vegetal rica en aminoácidos como triptófano y lisina (provenientes del frijol procesado secuencialmente) a la tortilla de maíz azul, puede incrementar su valor nutricional por complementación de sus aminoácidos limitantes (Treviño-Mejía y col., 2016). Sin embargo, algunos estudios donde han reportado el enriquecimiento de la tortilla con alguna leguminosa, no han mostrado una aceptabilidad positiva, sobre todo en el aspecto sensorial (Malovany y col., 2004). Argüello-García y col. (2017) informaron que el contenido de proteína de tortillas adicionadas con 20 % de harina *Jatropha curcas* incrementó 6.20 %, valores inferiores con respecto a las tortillas analizadas en nuestro estudio.

Cuadro 12. Composición química de tortillas

Propiedad (%)	Muestra	
	TC	TaHFFE
Proteínas	11.1 ± 1.6 ^b	15.1 ± 2.5 ^a
Lípidos	3.8 ± 0.01 ^a	3.1 ± 0.02 ^b
Cenizas	1.6 ± 0.05 ^a	1.8 ± 0.04 ^a
Carbohidratos	83.2 ± 1.9 ^a	79.9 ^a

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística *t*-student ($p \leq 0.05$). Tortilla control (TC), Tortilla adicionada con frijol fermentado/extrudido (TaHFFE)

Al igual que lo reportado por Argüello-García y col. (2017) la cantidad de lípidos disminuyó en TaHFFE; este resultado se puede atribuir al menor contenido de lípidos en la HFFE (0.5 %) con respecto a la tortilla de maíz azul (3.8 %). Por último, no fue observada diferencia significativa entre los dos tipos de tortillas con respecto al contenido de cenizas. Sin embargo, el contenido de carbohidratos disminuyó de manera significativa en TaHFFE o tortilla adicionada.

B Perfil de aminoácidos y digestibilidad proteínica *in vitro* (DPIV) de frijol tépari y tortillas

1 Perfil de aminoácidos y DPIV de frijol tépari

Los aminoácidos esenciales, son aminoácidos que los humanos y otros vertebrados no pueden sintetizar a partir de intermediarios metabólicos. Estos aminoácidos deben obtenerse de forma exógena a través de la dieta, ya que el cuerpo humano carece de las vías metabólicas necesarias para su síntesis (Hou y col., 2015; Hou y Wu, 2018; Lopez y Mohiuddin, 2024). Una excelente fuente de proteína vegetal son las leguminosas, principalmente proteínas de almacenamiento (albúminas, globulinas y glutelinas), asimismo, también se ha reportado que son fuente importante de aminoácidos como Lys, Leu, Asp y Arg, sin embargo, carecen de Met + Trp (Bessada y col., 2019; Arnal y col., 2023).

En este estudio, fue obtenido el contenido del perfil de aminoácidos evaluados por el método de HPLC (**Cuadro 13**) para las harinas de frijol crudo (HFC), fermentado (HFF), y la harina de frijol bajo el proceso secuencial (fermentado/extrudido) (HFFE). De acuerdo con el método utilizado, no fue observado diferencia significativa entre los aminoácidos His, Thr, Val y Lys, mientras que el perfil de aminoácidos de las harinas de HFC, HFF y HFFE, mostró cambios significativos ($p \leq 0.05$) en ciertos aminoácidos esenciales.

Cuadro 13. Perfil de aminoácidos esenciales de frijol tépari

AAE	HFC	HFF	HFFE	FAO
His	2.41 ± 0.03 ^a	2.90 ± 0.25 ^a	2.88 ± 0.02 ^a	1.60
Thr	3.725 ± 0.3 ^a	4.025 ± 0.38 ^a	3.81 ± 0.05 ^a	2.50
Val	3.93 ± 0.16 ^a	4.01 ± 0.11 ^a	4.14 ± 0.15 ^a	4.00
Met+Cys	2.28 ± 0.14 ^c	3.18 ± 0.09 ^a	2.88 ± 0.07 ^b	2.30
Ile	4.18 ± 0.20 ^a	3.43 ± 0.09 ^b	3.30 ± 0.02 ^b	3.00
Leu	7.85 ± 0.47 ^a	7.16 ± 0.04 ^b	6.99 ± 0.08 ^b	6.10
Phe+Tyr	7.59 ± 0.59 ^b	9.41 ± 0.47 ^a	9.22 ± 0.07 ^a	4.10
Lys	6.32 ± 0.37 ^a	6.30 ± 0.005 ^a	6.12 ± 0.11 ^a	4.80
Trp	1.07 ± 0.05 ^a	1.1 ± 0.06 ^a	0.09 ± 0.009 ^b	0.66
Total	39.38	41.52	39.46	28.4
% DPIV	75.6 ± 0.3 ^c	78.2 ± 1.1 ^b	81.6 ± 1.4 ^a	

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$). (g/100g de proteína). **AAE**: Aminoácidos esenciales. Harina de Frijol crudo (**HFC**), Harina de Frijol fermentado (**HFFE**), Harina de Frijol Fermentado/Extruido (**HFF**). **FAO**: Requerimientos de AAE para niños de 3 años y mayores. **DPIV**: digestibilidad proteínica *in vitro*.

La HFF mostró un incremento ($p \leq 0.05$) del 39.4 % en Met y Cys con respecto a HFC, sin embargo, fue observado una disminución de 10 % de estos mismos aminoácidos al someter la HFF al proceso de cocción por extrusión. También se observa un incremento significativo ($p \leq 0.05$) en Phe + Tyr en HFF y HFFE (23 y 21 %) con respecto al grano sin procesar (HFC).

El proceso de FES ocasionó un incremento de los aminoácidos Met y Cys, Phe + Tyr, este efecto por el bioproceso de *Rhizopus oligosporus* puede deberse a la transformación de algunos aminoácidos a otros. La FES estimula la actividad de la proteasa endógena del frijol al disminuir el pH (Arnal y col., 2023; Dallagnol y col., 2013), hidrolizando proteínas y aumentando el contenido de aminoácidos libres. Por lo tanto, las proteasas producidas por microorganismos durante la fermentación también podrían hidrolizar la proteína del frijol (Arnal y col., 2023; Capuani y col., 2013).

De igual manera a lo reportado en este estudio, Hu y col., (2019) demostraron que la proporción de aminoácidos esenciales aumentaba después de la fermentación en estado sólido, como Thr, Val e Ile. Asimismo, Mao y col. (2020) reportaron que aumentaron significativamente los contenidos de Tyr, Phe, Ile, Val, y otros aminoácidos esenciales después del proceso de fermentación.

El contenido en algunos de los aminoácidos disminuyó después de la cocción por extrusión, como Ile (21 %), Leu (10 %) y Trp (91.6%), con respecto al grano sin procesar, lo que puede deberse a la conversión y descomposición de los aminoácidos en pequeñas moléculas de amoníaco bajo la influencia de altas temperaturas y altas presiones durante este proceso (Urbano y col., 2005; Arnal y col., 2023).

La cocción por extrusión es llevada por alta temperatura y alto cizallamiento utilizado en la texturización de alimentos que se ha popularizado en los últimos tiempos. Se utiliza ampliamente en el procesamiento de snacks, cereales, carne, y una variedad de otros productos. Las altas temperaturas, y las presiones de corte utilizadas durante la cocción por extrusión, pueden desnaturalizar o degradar proteínas y aminoácidos, y afectar la calidad de las proteínas de forma positiva o negativa, dependiendo de los aminoácidos presentes en la matriz alimenticia, y de la temperatura utilizada durante el proceso (Pasqualone y col., 2020).

Adeleye y col. (2020) reportaron que la cocción por extrusión a 100 °C disminuyó de manera significativa la concentración de algunos aminoácidos, sin embargo, Met, Cys, Glu, Pro, Ser y Tyr, no fueron afectados a esta temperatura. Por otro lado, el uso de 140 °C en el proceso, redujo la concentración de todos los aminoácidos, excepto Tyr. La pérdida de aminoácidos presentes en la matriz alimentaria durante el proceso de cocción por extrusión puede deberse a las altas temperaturas, velocidad de tornillo y contenido de humedad de la muestra. Sin embargo, se ha reportado que una de las variables que más influye en la degradación de aminoácidos, es la velocidad de tornillo del extrusor. Asimismo, debido a las condiciones del proceso, se favorece la reacción de Maillard, donde el grupo amino de la Lys, reacciona con el glúcido reductor, por lo tanto, este aminoácido podría disminuir (Félix-Medina y col., 2021).

Referente a la digestibilidad proteínica *in vitro* en las muestras evaluadas en este estudio, fueron observados valores que oscilan entre 75.6 a 81.62 % (**Cuadro 13**), donde el menor promedio (75.6 %) corresponde al grano de frijol tépari sin procesar o grano crudo (HFC), sin embargo, se observó que la biotransformación del grano de frijol en tempe, aumentó ($p \leq 0.05$) el 3.4 % con respecto a la HFC. Mientras que la cocción por extrusión del grano fermentado también favoreció el incremento ($p \leq 0.05$) de la la digestibilidad proteínica *in vitro* (4.35 %). Es importante resaltar

que con respecto a la HFC, la HFFE mostró un incremento ($p \leq 0.05$) en la digestibilidad proteica del 8 %.

El cambio en la digestibilidad de las proteínas causado por el tratamiento térmico puede estar relacionado con la desnaturalización de la proteína durante el proceso de cocción por extrusión y la reducción de compuestos antinutricionales (observada en este estudio), lo que resulta en cambios en la conformación de las proteínas que provoca y promueve mayores valores de digestión. La interacción con proteasas promueve la hidrólisis de enlaces peptídicos y aumenta la degradación de proteínas (Peng y col., 2014; Gámez-Valdez y col., 2021).

2 Perfil de aminoácidos y DPIV de tortillas

El **Cuadro 14** muestra el contenido de aminoácidos esenciales de la tortilla de maíz azul nixtamalizada o tortilla control (TC), y tortilla de maíz azul adicionada con harina de frijol tépari fermentado/extrudido (TaHFFE). El contenido total de AAE en la TaHFFE fue superior al sugerido por la FAO (2013) para niños (3 años y mayores), adolescentes y adultos. Por otro lado, es importante mencionar que los aminoácidos Lys e Ile resultaron los aminoácidos limitantes en ambas tortillas. Estos resultados son similares a lo reportado por Gámez-Valdez y col. (2021), quienes enriquecieron tortilla con harina de amaranto extrudido, e informaron que el aminoácido Lys en la tortilla enriquecida y sin enriquecer, también fue el limitante.

La adición de HFFE a la harina de maíz azul nixtamalizada para la elaboración de tortilla en el presente proyecto, favoreció el incremento ($p \leq 0.05$) de los aminoácidos Thr (7.49 %), Phe + Tyr (23.52 %), y Lys (9.24 %) respectivamente.

Cuadro 14. Perfil de aminoácidos esenciales de tortillas de maíz

AAE	TC	TaHFFE	FAO
His	2.45 ± 0.07 ^a	2.35 ± 0.07 ^a	1.60
Thr	2.67 ± 0.04 ^b	2.87 ± 0.05 ^a	2.50
Val	4.53 ± 0.48 ^a	4.48 ± 0.45 ^a	4.00
Met+Cys	3.22 ± 0.33 ^a	2.73 ± 0.11 ^a	2.30
Ile	2.63 ± 0.15 ^a	2.78 ± 0.19 ^a	3.00
Leu	10.13 ± 0.54 ^a	9.73 ± 0.32 ^a	6.10
Phe+Tyr	7.61 ± 0.26 ^b	9.40 ± 0.29 ^a	4.10
Lys	2.38 ± 0.06 ^b	2.6 ± 0.33 ^a	4.80
Trp	0.59 ± 0.04 ^a	0.58 ± 0.04 ^a	0.66
Total	36.24	37.55	28.4
% DPIV	76.88 ± 0.1 ^a	77.6 ± 0.2 ^a	

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$) (g/100g de proteína). **AAE**: Aminoácidos esenciales. Tortilla control (**TC**), Tortilla adicionada con Harina de Frijol Fermentado/Extrudido (**TaHFFE**). **FAO**: Requerimientos de AAE para niños de 3 años y mayores. **DPIV**: digestibilidad proteínica *in vitro*.

El aumento de estos aminoácidos puede deberse a que la HFFE muestra un mayor contenido de estos aminoácidos que la tortilla control.

Con respecto a la DPIV (**Cuadro 14**), se observó que las tortillas enriquecidas con frijoles tepari tratados continuamente mostraron el porcentaje más alto en comparación con las tortillas de control (77.6 vs. 76.88 %). Dado el alto consumo en México, agregar a las tortillas tradicionales ingredientes que puedan aumentar el valor nutricional sin cambiar las propiedades sensoriales es una alternativa efectiva. La adición de harina de frijol fermentada/extruida y harina de maíz nixtamalizada en una proporción de 15:85 proporciona beneficios nutricionales, incluido un aumento significativo en algunos AAE.

La adición de HFFE no generó un aumento significativo en el % de DPIV en la TaHFFE, aunque se ha reportado que el bioproceso de fermentación en estado sólido incrementa la DPIV en leguminosas como consecuencia de la liberación de enzimas proteolíticas por el hongo al realizar una predigestión de los macronutrientes del sustrato (Kiers y col., 2000; Reyes-Bastidas y col., 2010; Mora-Uzeta y col., 2019; Mora-Rochin y col., 2024) es probable que la cantidad agregada de HFFE (15 %) no haya sido suficiente para generar un cambio significativo.

Otros factores que afectan DPIV son las condiciones del proceso de extrusión. Durante este tratamiento, la digestibilidad de las proteínas de los granos utilizados aumenta debido a la erradicación de factores antinutricionales (principalmente inhibidores de enzimas) y la desnaturalización de las proteínas a través de diversas combinaciones de variables del proceso (temperatura, velocidad, tornillo, humedad y temperatura). se ha observado un aumento. resistencia al corte (León-López y col., 2019). Estos resultados fueron observados directamente en el grano de frijol procesado secuencialmente (HFFE) (**Cuadro 13**) Sin embargo, los resultados no fueron significativos después del enriquecimiento de la tortilla control.

Argüello-García y col. (2017) realizaron una investigación con la finalidad de encontrar la mejor proporción de ingredientes para enriquecer tortillas de maíz, y aumentar su calidad nutricional sin modificar sus características organolépticas, enriqueciendo con valores de 5, 10, 15 y hasta 20 %, estos autores reportaron mediante un análisis sensorial buena aceptación de la proporción (15:85) con el ingrediente enriquecedor, y la tortilla de maíz respectivamente, aunado a esto, al evaluar pruebas nutricionales mostraron resultados positivos en el aumento de las proteínas de hasta un 20 % y sin modificaciones reológicas.

La fortificación y el enriquecimiento de los alimentos básicos se considera la estrategia más eficaz para proporcionar mejoras en la calidad nutricional de la población. Anteriormente, se informó que el consumo de proteínas, especialmente proteínas de bajo costo, como las contenidas en frijol, aumenta el valor nutricional (fortificación) de las tortillas de maíz (Chuck Hernández y Serna-Saldivar, 2019).

Hernández-Hernández y col. (2023), recomiendan que las proporciones agregadas para la elaboración de tortillas al incorporar un ingrediente enriquecedor es importante, ya que esta cantidad puede variar respecto a distintos factores organolépticos al realizar un producto, lo que nos lleva a la importancia de considerar este aspecto si se pretende realizar un alimento nutracéutico.

C Compuestos antinutricionales de frijol tépari y tortillas

1 Compuestos antinutricionales en frijol tépari

La presencia de compuestos antinutricionales como ácido fítico, taninos e inhibidores de tripsina son las principales razones de la baja biodisponibilidad de proteínas y minerales en las legumbres. Estos antinutrientes forman complejos con proteínas y minerales (como el hierro y el zinc) e inhiben la biodisponibilidad de las proteínas en el cuerpo. Por ello, es importante disminuir o eliminar este tipo de compuestos para mejorar la biodisponibilidad de los nutrientes con

capacidad biológica en el organismo. Por otro lado, existen métodos y técnicas tradicionales que se pueden usar individualmente o en combinación para reducir la concentración de estos factores que se cree que inhiben la nutrición. Estos incluyen pelado, remojo, fermentación en fase sólida, germinación, pelado, esterilización y extrusión, entre otros (Yadav y col., 2019; Pathaw y col., 2022).

En este estudio se pudieron observar disminuciones de 13.8 % cuando el grano de frijol fue bioprocesado por FES, asimismo, la cocción por extrusión del grano fermentado ocasionó disminuciones del 17 %, mientras que el proceso secuencial logró disminuir el 29 % de este compuesto (18.1 vs 12.9 mg EAF/g, bs) (**Cuadro 15**). Lo anterior demuestra que las tecnologías aplicadas al grano de frijol tépari si lograron disminuir de manera favorable el contenido de ácido fítico.

El ácido fítico es capaz de unirse a minerales como el calcio, hierro y zinc, disminuyendo su absorción y aprovechamiento. La reducción de ácido fítico, que se encuentra en forma de mioinositol hexafosfato (IP6) en cereales y leguminosas podría atribuirse a la producción de la enzima fitasa durante la fermentación (por el hongo utilizado), proceso que facilita el bioproceso de degradación (Selle y col., 2000; Troesch y col., 2013). La fitasa puede producirse de forma natural (fitasa endógena) o por microorganismos (fitasa exógena). Se sabe que la temperatura óptima para la actividad de la fitasa oscila entre 35 °C y 45 °C (Sindhu y Khetarpaul, 2001).

En el presente estudio, la temperatura utilizada durante la fermentación fue de 37 °C lo que favorece el proceso eficaz de reducción de fitato mediante la enzima fitasa.

Cuadro 15. Contenido de compuestos antinutricionales de frijol tépari.

Factor antinutricional	Frijol tépari		
	HFC	HFF	HFFE
Acido Fítico (mg EAF/g)	18.1±0.2 ^a	15.6 ± 1.3 ^b	12.9 ± 1.8 ^c
Saponinas (mg ED/g)	17.39±0.53 ^b	26.02±0.38 ^a	8.23±0.37 ^c
Inhibidores de tripsina (UTI/g)	154.71±4.94 ^a	8.8±0.41 ^b	2.82±0.12 ^c
Taninos condensados (mg EC/ g)	53.5±4.0 ^a	7.5±0.5 ^b	ND
Lectinas (UHA)	ND	ND	ND

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$). mg EAF/g: miligramos equivalentes de ácido fítico/ g de muestra en base seca; mg ED/g: miligramos equivalentes de diosgenina/ de muestra en base seca; UTI/g: unidades de tripsina inhibidas/ de muestra en base seca; mg EC/g: miligramos equivalentes de catequina/ g de muestra en base seca; UHA/g: unidades de actividad hemaglutinante/ g de muestra en base seca; HFC: Frijol crudo HFF: Frijol fermentado; HFFE: Frijol fermentado extrudido.

Mientras que durante la cocción por extrusión fueron utilizadas altas temperaturas por cortos tiempos, lo cual también pudiera ser una de las razones por el cual el ácido fítico fue disminuido.

Las fitasas tienen la capacidad de desfosforilar el fitato de forma gradual a una serie de ésteres inferiores de fosfato de inositol (mioinositol pentafofosfato al mioinositol monofosfato) y ultimamente, al inositol y al fósforo inorgánico (Selle y col., 2000). Esta enzima rompe el enlace fosfato y reduce aún más el hexafofosfato de inositol más reactivo en el monofosfato de inositol menos reactivo (Terefe y col., 2021). Por lo tanto, la desfosforilación del fitato es un requisito previo para incrementar el valor nutricional de los alimentos con diversos métodos de procesamiento, porque la eliminación de los grupos fosfato del anillo de inositol disminuye la fuerza de unión mineral del fitato (Terefe y col., 2022).

Los metabolitos secundarios como las saponinas [del latín sapon (jabón)] están presentes en las plantas como triterpenos en forma de glúsidos. Estos compuestos se consideran hidrófilos y tienen un alto peso molecular. La estructura proporciona la capacidad de formar espumas y emulsiones. Generalmente se caracterizan por un sabor amargo y astringente, pudiendo ser insípidos dependiendo de la estructura del alimento y de los tratamientos durante su procesamiento. Estos compuestos interactúan con las membranas de las células de la mucosa intestinal, cambiando su permeabilidad, provocando irritación, alterando el transporte de nutrientes y reduciendo la absorción de nutrientes a través de la mucosa. Sin embargo, tomarlo en concentraciones bajas puede resultar beneficioso. Su capacidad para interactuar con nutrientes como el colesterol dificulta la absorción, reduciendo el riesgo de hipercolesterolemia y enfermedades cardiovasculares (Campos-Vega y col., 2010; Singh y col., 2017; Martín-Cabrejas, 2019; Kumar y col., 2022).

Las leguminosas son fuente importante de saponinas, se han reportan en garbanzo, alubias, lentejas y chicharos. Se trata de un compuesto antinutricional termoestable, y está relacionado con

diferentes propiedades biológicas como son, anticolesterolémicas, anticancerígenas y anti-hepatotóxicas. En frijol se ha informado que pueden inhibir el desarrollo de tumores *in vivo* e *in vitro*, utilizando modelos de cáncer de colon (Sharma y col., 2021).

En este estudio fue observado que las harinas de frijol mostraron un incremento ($p \leq 0.05$) del 49.6 % (17.39 vs 26.02 mg ED/g) en frijol fermentado, y una disminución ($p \leq 0.05$) del 68.4 % (26.02 vs 8.23 mg ED/g) cuando la harina fermentada fue sometida al proceso de cocción por extrusión. Además, es importante señalar que el proceso secuencial (fermentación/extrusión) logró disminuir ($p \leq 0.05$) el 47.32 % (8.23 vs 17.39 mg ED/g, bs) el contenido de seponinas con respecto al grano crudo (**Cuadro 15**).

Los inhibidores de tripsina o proteasas digestivas se consideran compuestos que interfieren en el proceso digestivo de algunas proteínas durante la absorción y/o utilización metabólica de los aminoácidos. Las proteasas o peptidasas pueden controlar diversos procesos fisiológicos en el cuerpo humano. Una de sus principales funciones es catalizar la ruptura de enlaces peptídicos, realizar la hidrólisis de proteínas y realizar la digestión y/o utilización de aminoácidos presentes en los alimentos (Avilés-Gaxiola y col., 2018).

En este estudio fue observado, que tanto la fermentación en estados sólido y la cocción por extrusión, disminuyeron de manera significativa inhibidores de tripsina. El bioproceso de fermentación en estado sólido del grano de frijol tépari causó una reducción del 94 % (8.8 vs 154.71 UTI/g, bs), respectivamente. Asimismo, fue observado que el tratamiento térmico de cocción por extrusión del tempe de frijol, mostró también una disminución ($p \leq 0.05$) del 68 % (2.82 vs 8.8 UTI/g, bs). Mientras que el proceso secuencial (fermentación en estado sólido/extrusión) del grano crudo logró disminuir el 98 % (2.82 vs 154.71 UTI/g, bs), respectivamente (**Cuadro 15**).

La disminución de los inhibidores de tripsina utilizando diferentes tratamientos térmicos, han sido una herramienta ampliamente estudiada, y en este estudio se pudo observar que los tratamientos de manera secuencial lograron disminuir de manera efectiva este compuesto antinutricional.

La tripsina es una enzima que secreta el páncreas, y que es esencial para la digestión de proteínas en el tracto gastrointestinal. La presencia de inhibidores de esta enzima en las legumbres las hace resistentes a la acción de la pepsina y al pH ácido del estómago, perjudicando su actividad proteolítica (Bessada y col., 2019). En particular, los inhibidores de tripsina se unen a los aminoácidos esenciales lisina, arginina, tirosina, triptófano y fenilalanina (Kumar y col., 2022). Como resultado, la digestibilidad de las proteínas de las leguminosas disminuye y aumenta la pérdida de nitrógeno fecal. Estudios en pollos y ratas también han observado que su presencia puede provocar pancreatitis y defectos de crecimiento (Ros-Berruezo y Periago-Castón, 2017 Sin embargo, también se considera que tienen propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas (Áviles-Gaxiola y col., 2018; Kumar y col., 2022).

Las legumbres con los niveles más altos de inhibidores de tripsina y quimotripsina incluyen la soja (*Glycine max*) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*). Sin embargo, estas enzimas son termolábiles y los tratamientos culinarios comunes de las legumbres reducen la actividad enzimática (Kumar y col., 2022).

Abu-Salem y col. (2014), en un estudio con tempe de soya, reportaron que el tratamiento térmico de cocción fue el más efectivo en la reducción de este factor antinutricional. También se ha reportado que, en soja y guisantes, la fermentación puede disminuir los inhibidores de tripsina (Ahnman-Winarno y col., 2021). En guisantes, la fermentación redujo el nivel de inhibidor de

tripsina en un 99 %, y el paso de cocción contribuyó al mayor nivel de reducción (Stodolak y Starzyńska-Janiszewska, 2008).

Morales-Zazueta y col. (2015) informaron que la cocción por extrusión (160 °C, 17 % de humedad) redujo efectivamente el contenido de ácido fítico en los bocadillos de harina de lentejas y lo hizo casi por completo inactivando los inhibidores de tripsina y lectina. De manera similar, Ciudad-Mulero y col. (2020) redujeron oligosacáridos en la harina de lentejas al 85 %, ácido fítico y lectinas, utilizando una temperatura de cocción por extrusión de 140 a 160 °C y un 17 % de humedad hasta en un 90%.

Por este motivo, el proceso de cocción por extrusión es uno de los procesos más eficaces para la disminución de los compuestos antinutricionales ya que reduce el 88 % del ácido fítico, el 99 % de los inhibidores de tripsina, el 99 % de las lectinas y el 98 % de taninos, además contribuye al mejoramiento de la digestibilidad del almidón y las proteínas (Offiah y col., 2019).

Las legumbres contienen diversos compuestos fenólicos como los taninos condensados. Se trata de compuestos fenólicos solubles en agua que tienen un sabor amargo y astringente. Los taninos pueden formar complejos con proteínas y minerales (hierro, magnesio, zinc o calcio), reduciendo su digestibilidad y absorción, lo que resulta en la pérdida de un buen perfil nutricional (Kumar y col., 2022).

El uso de proteínas en seres humanos y animales se ve afectada de forma negativa por la presencia de taninos condensados presentes en la cáscara del grano de frijol (0.2 %, según la variedad). El efecto de los taninos presentes en los alimentos es la asociación con proteínas, generando la precipitación de estas mediante interacciones hidrofóbicas, así como por puentes de hidrógeno, quedando como no biodisponibles para ser utilizadas por el organismo (Das y col., 2020). Por esa razón durante mucho tiempo se les ha considerado como factores antinutricionales.

Estos ahora se consideran ingredientes bioactivos gracias a su capacidad para ligarse a los carbohidratos y los radicales libres. Estas propiedades antioxidantes y la inhibición de la absorción de azúcares en el intestino tienen efectos positivos para la salud, ya que pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, etc. (Martín-Cabrejas, 2019).

Por lo anterior, en este estudio fue observada una disminución ($p \leq 0.05$) del 85 % de taninos cuando el grano de frijol fue transformado por fermentación en estaso sólido (53.5 vs 7.5 mg EC/g, bs), asimismo, la cocción por extrusión del grano fermentado afectó la estabilidad de este metabolito secundario (**Cuadro 15**).

Esta reducción de componentes antinutrientes se puede atribuir al proceso de remojo, que es un paso prefermentativo. Remojar los granos reduce el contenido de compuestos que bloquean los nutrientes. Esto se debe a que los granos se disuelven en agua y se activan las enzimas degradantes. Además, acelera la gelificación del almidón y la desnaturalización de las proteínas, lo que reduce el tiempo de cocción. El remojo permite la eliminación o reducción de compuestos antinutricionales como el ácido fítico mediante la activación de fitasa y compuestos antinutricionales, como son taninos, saponinas, glucósidos cianogénicos, inhibidores de enzimas y oligosacáridos mediante lixiviación en el agua de remojo. Asimismo, el descascarillado antes de la cocción mejora la difusión de compuestos antinutricionales (Abbas y Ahmad, 2018; Kumar y col., 2022). El remojo reduce otros nutrientes como son proteínas y vitaminas solubles en agua.

Las lectinas, también conocidas como hemagglutininas, son glicoproteínas que pueden unirse de manera reversible a glicoproteínas en la superficie del tracto gastrointestinal, impidiendo así la absorción de nutrientes (Muzquiz y col., 2012; Martín-Cabrejas, 2019). Las lectinas tienen la capacidad de aglutinar o coagular los glóbulos rojos mediante la unión de residuos de carbohidratos (Ros-Berruezo y Periago-Castón, 2017). También afecta la digestibilidad de las proteínas al alterar

la actividad de algunas enzimas digestivas y reducir la absorción de nutrientes cuando las lectinas se unen a las células epiteliales de la pared intestinal. A pesar de estos efectos negativos para la salud, consumir pequeñas cantidades de hemaglutinina puede tener efectos positivos para la salud, que incluyen: efectos antitumorales, prebióticos, reducción de la obesidad y la regularización de los niveles de azúcar en sangre, imitando los efectos de la insulina (Muzquiz y col., 2012). Debido a que son termolábiles, los efectos tóxicos en los humanos sólo se asocian con el consumo de frijoles crudos o poco cocidos. Sin embargo, estos compuestos no fueron identificados en ninguna de las muestras evaluadas en este proyecto (**Cuadro 15**).

Finalmente, la fermentación es un proceso que puede reducir y eliminar diversos componentes antinutricionales presentes en las legumbres, especialmente los compuestos que son resistentes al calor. Durante la fermentación ocurren reacciones enzimáticas y no enzimáticas, dando como resultado procesos de hidrólisis y solubilización de macromoléculas como proteínas y polisacáridos como el almidón, lo que mejora la digestibilidad. Además, dependiendo del microorganismo responsable de la fermentación, unos u otros compuestos antinutricionales se ven afectados. Mientras que los oligosacáridos son utilizados por los microorganismos responsables de la fermentación para realizar sus actividades, son hidrolizados por la enzima α -galactosidasa producida por estos microorganismos. Los compuestos fenólicos como el ácido fítico y los taninos se descomponen mediante enzimas producidas durante la fermentación. Por otro lado, las legumbres se consumen después de tratamientos térmicos como cocción a presión atmosférica, cocción a alta presión y alta temperatura, microondas, extrusión o autoclave, fritura y tostado. (Jeyakumar y Lawrence, 2022).

Por lo anterior se consideró que se trataba respectivamente de compuestos antitroxicos termolábiles o termoestables. Sin embargo, los taninos, el ácido fítico, las saponinas y algunos factores flatulentos se consideran termoestables. Los inhibidores de proteasas, las lectinas y los glucósidos de cianuro se consideran compuestos termolábiles, por lo que su reducción se basa en

su desnaturalización. Sin embargo, durante la cocción, los taninos se acomplejan con las proteínas, y los oligosacáridos se hidrolizan con el calor y se convierten en disacáridos y monosacáridos, reduciendo así su capacidad de provocar flatulencias. De todas formas, no todos los tratamientos térmicos son efectivos. A la hora de cocinar en casa, lo mejor es combinar el remojo (tiempo de remojo prolongado, 24 horas) con la cocción para asegurar la ingesta de compuestos termolábiles y antinutricionales (Martínez-Martí y Larrea-Santos, 2023)

2 Compuestos antinutricionales de tortillas

Respecto a la identificación de compuestos antinutricionales en las tortillas en estudio, la determinación de ácido fítico no mostró diferencia significativa (14.9 vs 14.3 mg EAF/g, bs), sin embargo, fue observada una ligera disminución del 8.6 % de ácido fítico cuando la tortilla fue adicionada con frijol tépari fermentado/extrudido (**Cuadro 16**). Esta ligera disminución pudo ser debido a que el frijol procesado de manera secuencial presenta un menor contenido de este compuesto antinutricional que la correspondiente tortilla control (12.9 vs 14.9 mg EAG/g, bs).

Por lo anterior, es conveniente que el ácido fítico en los alimentos se encuentre en bajas concentraciones, este antinutriente puede unirse a minerales como el calcio, hierro y zinc, disminuyendo su absorción y aprovechamiento (Abdulwaliyu y col., 2019), sin embargo, los resultados obtenidos en nuestro estudio fueron relativamente bajos, y no serían perjudiciales para la salud. Sin embargo, algunos reportes mencionan que este compuesto a bajas concentraciones es deseable, ya que actúa como un antioxidante natural (Silvia y Bracarense, 2016).

Por otro lado, no fue observado un cambio en el contenido de saponinas por la adición

Cuadro 16. Contenido de compuestos antinutricionales de tortillas.

Factor antinutricional	Tortillas	
	TC	TaHFFE
Acido Fítico (mg EAF/g)	14.9 ± 0.7 ^a	14.3 ± 0.7 ^a
Saponinas (mg ED/g)	8.52±0.18 ^a	8.50±0.18 ^a
Inhibidores de tripsina (UTI/g)	ND	ND
Taninos condensados (mg EC/ g)	ND	ND
Lectinas (UHA)	ND	ND

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). mg EAF/g: miligramos equivalentes de ácido fítico/ g de muestra en base seca; mg ED/g: miligramos equivalentes de de diosgenina/ de muestra en base seca; UTI/g: unidades de tripsina inhibidas/ de muestra en base seca; mgEC/g: miligramos equivalentes de catequina/ g de muestra en base seca; UHA/g: unidades de actividad hemaglutinante/ g de muestra en base seca; TC: tortilla control sin enriquecer; TaHFEE: tortilla adicionada con frijol fermentado extrudido.

de HFFE a la harina nixtamalizada de maíz azul para elaborar tortillas. Además, el resto de los factores antinutricionales (inhibidores de tripsina, taninos condensados y lectinas) no fueron detectados en ninguna de las tortillas en estudio (**Cuadro 16**).

El bajo contenido de factores antinutricionales en la harina de frijol tépari fermentada/extruida (HFFE) indica la importancia de agregar esta harina a la producción de tortillas de maíz azul nixtamalizado sin comprometer su valor nutricional. Estos resultados pueden indicar que el procedimiento desarrollado para eliminar estos componentes fue exitoso. Utilizamos la fermentación en estado sólido y la reducción de cocción por extrusión propuestas en este estudio. Por lo tanto, se espera que se proporcionen en la dieta alimentos que contengan niveles suficientes de factores antinutricionales que protejan las proteínas, aminoácidos, minerales y vitaminas de la dieta y promuevan su uso para influir positivamente en la salud del individuo.

D Compuestos bioactivos de frijol tépari y tortillas

1 Compuestos bioactivos de frijol tépari

El **Cuadro 17** muestra el contenido de compuestos bioactivos presentes en el grano de frijol procesado de manera secuencial (fermentación en estado sólido / extrusión).

En este estudio fue observado que la biotransformación del grano de frijol tépari en tempe ocasionó la disminución ($p \leq 0.05$) del 38 % en el contenido de antocianinas totales (2.6 vs 1.6 mg C3G/100 g, bs) (**Cuadro 17**). Asimismo, la cocción por extrusión del grano bioprocesado por fermentación en estado sólido, ocasionó la degradación de este metabolito secundario.

Las antocianinas son afectadas por factores como altas temperaturas (Mora-Rochín y col., 2016), las cuales fueron utilizadas durante ambos procesos utilizados en este estudio.

Cuadro 17. Contenido de compuestos fenólicos y antocianinas de frijol tépari

	HFC	HFF	HFFE
Antocianinas	mg de Cianidina-3-glucósido / 100 g bs		
	2.6 ± 0.6 ^a	1.6 ± 0.2 ^b	ND
Fracción de compuestos fenólicos	Contenido de fenólicos de frijol (mg EAG/ 100 g)¹		
<i>Libres</i>	125.3 ± 11.4 ^b	198.9 ± 11.3 ^a	219.5 ± 11.2 ^a
<i>Ligados</i>	165.8 ± 11.6 ^b	226.6 ± 15.2 ^a	234.8 ± 17.9 ^a
Totales	291.1 ± 11.5 ^c	425.6 ± 13.2 ^b	454.6 ± 14.6 ^a

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$); mg EAG/100 g: miligramos equivalentes de ácido gálico / 100 gramos de muestra en base seca; HFC: Frijol crudo; HFF: Frijol fermentado; HFFE: Frijol fermentado extrudido. ND: No detectada

Por otro lado, fue observado que el contenido de fenólicos totales en el grano procesado por fermentación en estado sólido aumentó de manera significativa (425.6 vs 291.1 mg EAG/100 g, bs; 46 %) con respecto al grano sin procesar. La cocción por extrusión de la harina fermentada de frijol tepari mostró un incremento del 6.8 % (454.6 vs 425.6 mg EAG/100 g, bs), mientras que el procesamiento secuencial de fermentación/extrusión incrementó ($p \leq 0.05$) 56% veces más el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) con respecto al grano sin procesar (**Cuadro 17**).

El incremento en el contenido de CFT pudiera ser posible a que durante la fermentación en estado sólido el hongo utilizado puede generar enzimas como la beta-glucosidasa, lo que produce una liberación de agliconas por parte del sustrato y, por lo tanto, incrementa su contenido total de fenólicos (Mora-Uzeta y col., 2019). Por otro lado, el incremento observado en la cocción por extrusión (6.8 %) del grano fermentado, pudiera ser debido a que durante este proceso ocurre hidrólisis de la pared celular, y se genera liberación de ácidos fenólicos de menor peso molecular (Félix-Medina y col., 2020; León-Murillo y col., 2021).

Wang y col. (2022) sometieron harina de colza al proceso secuencial de fermentación/extrusión, y demostraron un aumento en el contenido de fenólicos totales con respecto a la harina sin procesar, los autores mencionaron que el proceso combinado de FES/EXT podría ser el enfoque más efectivo para aumentar el contenido de fenólicos totales. Sin embargo, en este proyecto de investigación se puede observar que el proceso de fermentación en estado sólido fue el que aportó el mayor incremento (46 %).

Como informaron otros autores, la fermentación en estado sólido de los frijoles tepari también aumenta el contenido de compuestos fenólicos libres y ligados (Mora-Uzeta y col., 2019). Estos investigadores atribuyeron este aumento principalmente a la acción de las enzimas celulolíticas, degradantes de lignina y pectinolíticas producidas durante el desarrollo microbiano.

Estas enzimas degradan los componentes químicos de las paredes celulares de las plantas, provocando rompimiento de los enlaces éter que unen los compuestos fenólicos a la matriz de la pared celular y a los materiales lignocelulósicos. Esto significa que tanto los compuestos fenólicos libres como las formas unidas se liberan más eficientemente de la matriz vegetal. Entre estas enzimas, la β -glucosidasa es una enzima responsable de la hidrólisis de enlaces glicosídicos de los grupos alquil y aril β -diglucósido y la liberación de agliconas fenólicas (Bornowski y col., 2023).

En el presente proyecto de investigación se puede observar que la transformación del grano de frijol tépari a tempe incrementó ($p \leq 0.05$) la porción de fenólicos libres (31.4 %: 198.9 vs 125.3 mg EAG/100 g, bs). Asimismo, la cocción por extrusión de la harina fermentada de frijol tépari también mostró un incremento del 10 % (no significativo) en la misma fracción (**Cuadro 17**).

Por otro lado, la fracción de fenólicos ligados también mostró un incremento significativo en los dos procesos utilizados (36.7 y 3%), sin embargo, el mayor incremento fue observado por la biotransformación del grano de frijol a tempe (37 %).

El proceso secuencial (fermentación/extrusión) del grano de frijol tépari mostró un efecto positivo en la fracción de fenólicos ligados, observándose un incremento ($p \leq 0.05$) del 41.6 %. Esta fracción de fenólicos es importante en el colon, debido a que la microbiota colónica fermenta esta parte indigerible, generando las enzimas necesarias para ocasionar la hidrólisis de los ácidos fenólicos ligados a la fracción de la lignina o hemicelulosas. Esta liberación de fenólicos genera un ambiente antioxidante en el colón, y de esta manera se evita el desarrollo de células malignas (Astorga-Gaxiola y col., 2023; Astorga-Gaxiola y col., 2024).

2 Compuestos bioactivos de tortilla

Las antocianinas son los principales compuestos responsables del color azul/morado de las semillas de maíz y los subproductos resultantes. Las antocianinas se consideran antioxidantes

naturales presentes especialmente en el pericarpio y/o la capa de aleurona de los granos de maíz (Mora-Rochín y col., 2010; Astorga-Gaxiola, y col. 2023)

El contenido de antocianinas en las tortillas en estudio se observa en el **Cuadro 18**. La tortilla control o tortilla de maíz azul nixtamalizada, presenta la concentración más alta de este metabolito secundario (6.3 mg de cianidina-3-glucósido/100 g, bs) con respecto a la tortilla adicionada con frijol tépari procesado secuencialmente (3.8 mg C3G/100 g, bs).

La disminución en el contenido de antocianinas al adicionar frijol procesado secuencialmente a la harina de maíz azul nixtamalizada para la elaboración de tortillas, es debido a que el frijol tépari no representa concentraciones importantes de este metabolito secundario, además, la harina procesada secuencialmente no mostró este metabolito secundario (**Cuadro 18**).

Es importante mencionar que las bajas concentraciones de antocianinas en las tortillas en estudio, es debido a las características del proceso tradicional de nixtamalización. Este proceso utiliza altas temperaturas y pH alcalinos (aproximadamente 10) (condiciones que afectan la estabilidad de las estructuras de las antocianinas que se encuentran en el grano de maíz), lo que ocasiona hasta > 50 % de la pérdida de compuestos bioactivos con diferentes actividades biológicas (Mora-Rochín y col., 2016; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

Cuadro 18. Contenido de compuestos fenólicos y antocianinas en tortillas.

	TC	TaHFFE
Antocianinas	mg de Cianidina 3 glucósido (C3G) / 100 g bs	
	6.3 ± 0.6 ^a	3.8 ± 0.2 ^b
Fracción de compuestos fenólicos	Contenido de fenólicos de tortillas (mg EAG/ 100 g)¹	
<i>Libres</i>	54.5 ± 3.1 ^b	67.9 ± 2.3 ^a
<i>Ligados</i>	125.4 ± 4.1 ^a	138.4 ± 8.3 ^a
Totales	179.9 ± 2.3 ^b	206.3 ± 7.1 ^a

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$) mg EAG/100 g: miligramos equivalentes de ácido gálico / 100 gramos de muestra en base seca; TC: tortilla control sin enriquecer; TaHFFE: tortilla adicionada con frijol fermentado extrudido.

Es bien conocido que los metabolitos secundarios como las antocianinas, son potentes antioxidantes naturales, actúan como secuestradores de radicales libres, así como también se han relacionados con la inhibición de procesos antiinflamatorios (Gaxiola-Cuevas y col., 2017).

La cantidad de antocianinas en las tortillas en estudio es similar a lo reportado por Astorga-Gaxiola y col. (2023), donde estos autores encontraron contenidos de 6.61 mg C3G/100 g, bs en tortilla de maíz azul.

Por otro lado, cuando la harina obtenida por proceso secuencial (HFFE) fue adicionada a la harina de maíz azul nixtamalizada y fueron elaboradas tortillas (TaHFFE), se observó un incremento ($p < 0.05$) del 14.7 % en el contenido de fenólicos totales (206.3 vs 179.9 mg EAG/100 g, bs) (**Cuadro 18**). Este ligero incremento es debido a que la HFFE solo fue adicionada en un 15 %, sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio son superiores a lo reportado por Bon-Padilla y col. (2022), quienes elaboraron tortillas de maíz azul enriquecidas con un 30 % de garbanzo extrudido, y obtuvieron un contenido de FT (fenólicos totales) de 150 mg EAG/100 g, bs. Distintos autores han reportado resultados similares en el aumento de compuestos fenólicos, Treviño-Mejía y col. (2016) en un estudio con tortillas adicionadas con frijol común, observaron un aumento de fenólicos totales, destacándose su mayor parte en los fenólicos ligados.

Asimismo, en la presente investigación, puede observarse que la fracción de fenólicos libres y ligados en la tortilla adicionada con harina de frijol tépari fermentada / extrudida mostró un incremento ($p < 0.05$) del 24.6 % (67.9 vs 54.5 mg EAG/100 g, bs), y 10.36 % (138.4 vs 125.4 mg EAG/100 g, bs) con respecto a la tortilla control o tortilla de maíz azul (**Cuadro 18**).

Es importante destacar que, en ambas tortillas, la fracción ligada de fenólicos representa > 60 %. De manera general, la adición de HFFE para elaborar tortillas de maíz azul (TaHFFE)

incrementó 24, 14 y 10 % la cantidad de compuestos fenólicos libres, ligados y totales, respectivamente.

Los contenidos fenólicos de granos integrales se encuentran en dos formas: fracción libre o de fácil extracción, y en mayor grado en forma ligada a componentes anatómicos del grano. Esta fracción puede representar hasta un 70 % del contenido fenólico total del maíz azul crudo y nixtamalizado. Dentro de los fenólicos ligados destaca el ácido ferúlico, considerado también como el fenólico más abundante de este cereal. La naturaleza ligada de este fitoquímico se atribuye a su polimerización mediante enlaces éter fuertes para constituir la lignina, un polímero rígido de la pared celular. También contribuye a esta fracción ligada la formación de dímeros de ácido ferúlico que se conectan a heteropolisacáridos de xilosa y arabinosa de la pared celular (Mora-Rochín y col., 2010). Estos enlaces son resistentes a la digestión gastrointestinal impidiendo la absorción de estos fitoquímicos, los cuales se comportan como fibra dietética en el organismo humano. Sin embargo, la acción de bacterias colónicas libera estos compuestos ejerciendo actividades anticarcinogénicas y otros efectos protectores *in situ* y sistémicos cuando son absorbidos a nivel de intestino grueso (Velderrain-Rodríguez y col., 2014; Astorga-Gaxiola y col., 2023; Astorga-Gaxiola y col., 2024).

E Actividad antioxidante en harinas de frijol tépari y tortillas

1 Actividad antioxidante de frijol tépari

En el **Cuadro 19** se puede observar que los dos métodos utilizados (ABTS y ORAC) para evaluar la actividad antioxidante (AAOX) de las harinas en estudio, mostraron un incremento significativo en esta propiedad. Lo anterior demuestra que los procesos aplicados al grano de frijol tépari favorecen el incremento de la actividad antioxidante.

Cuadro 19. Actividad antioxidante de frijol tépari

Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) ¹	Muestras		
	HFC	HFF	HFFE
ABTS			
<i>Libres</i>	1,198.9 \pm 23.8 ^c	2,964.4 \pm 54.9 ^a	2,761.1 \pm 54.0 ^b
<i>Ligados</i>	2,750.3 \pm 82.8 ^b	2,865.6 \pm 67.2 ^b	3,224.5 \pm 110.5 ^a
Totales	3,949.2 \pm 53.3 ^c	5,830.1 \pm 60.9 ^b	5,985.6 \pm 82.3 ^a
ORAC			
<i>Libres</i>	2,426 \pm 158.6 ^b	6,594.8 \pm 182.8 ^a	6,270.87 \pm 91.42 ^a
<i>Ligados</i>	2,712.9 \pm 267.9 ^b	3,362.06 \pm 91.4 ^a	3,419.17 \pm 124.4 ^{a,b}
Totales	5,138.9 \pm 45.7 ^b	9,956.8 \pm 137.1 ^a	9,690 \pm 45.7 ^a

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$). ¹ $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$: miligramos equivalentes de trolox / 100 gramos de muestra en base seca; HFC: Frijol crudo; HFF: Frijol Fermentado; HFFE: Frijol fermentado/extrudido.

La AAOX total evaluada por ABTS y ORAC muestra un incremento ($p < 0.05$) del 47 y 94 % cuando el grano de frijol fue sometido al proceso de fermentación en estado sólido (5,830.1 vs 3,949.2, ABTS; 5,138.9 vs 9,956.8 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$, bs, ORAC). Asimismo, es importante mencionar que el proceso secuencial (fermentación / extrusión) mostró un incremento ($p < 0.05$) del 51 y 88.6 % (5,985.6 vs 3,949.2 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$, bs, ABTS; 9,690 vs 5,138.9 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$, bs, ORAC) con respecto al grano sin procesar (**Cuadro 19**). Lo anterior demuestra que los procesos aplicados al frijol tépari son una herramienta que permite incrementar esta propiedad.

Con respecto a la fracción libre, se puede observar que el grano sin procesar muestra la menor actividad antioxidante (1,198.9 y 2,426 $\mu\text{mol ET}/100 \text{ g}$, bs) evaluada por ABTS y ORAC, sin embargo, el bioproceso de fermentación en estado sólido muestra incrementos ($p < 0.05$) de 147 y 171 % (ABTS y ORAC), mientras que el proceso de cocción por extrusión del grano fermentado mostró una ligera disminución (3 y 5 %) por ambos métodos (**Cuadro 19**). Sin embargo, es importante resaltar que la cocción por extrusión de la HFF mostró incrementos significativos (12 %) en la fracción ligada por el método de ABTS.

Se había comprobado que la fermentación en estado sólido podría mejorar la actividad antioxidante, principalmente debido a que libera compuestos bioactivos causados por la acidificación y actividad enzimática microbiana.

Un resultado similar fue informado por Chu y col. (2019) con salvado de mijo, y Mao y col. (2020) con salvado de trigo. Sin embargo, una investigación realizada por Xiao y col. (2022), quienes utilizaron el proceso secuencial en harina de cebada, mencionaron que el proceso de cocción por extrusión probablemente causó la degradación de fenólicos, mientras que la fermentación ayudó a disolver los fenoles y mejorar la eficiencia de la extracción, por lo tanto, obtuvieron un mayor contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante.

2 Actividad antioxidante de tortillas

La AAOX total (suma de la fracción de fenólicos libres y ligados) para la tortilla control (tortilla de maíz azul nixtamalizada, TC) y la tortilla de maíz azul adicionada (85:15) con harina de frijol tépari procesado secuencialmente (FES/EXT) (TaHFFE) se evaluó por los métodos químicos de ABTS y ORAC (**Cuadro 20**).

De manera general se observa que TaHFFE mostró incrementos significativos en la actividad antioxidante con respecto a la TC (7 y 20 %, ABTS y ORAC). Estos ligeros incrementos (3,800.7 y 5,203 $\mu\text{mol ET} / 100 \text{ g, bs}$) pudiera ser debido a que la HFFE solo fue adicionada solo en un 15 % (**Cuadro 20**).

En la TaHFFE el mayor aporte a la actividad antioxidante correspondió a los fitoquímicos ligados (>50 %). Algunos estudios ya han reportado que el maíz y sus productos aportan propiedades antioxidantes donde la fracción de fenólicos ligados contribuye con la mayor actividad antioxidante (Mora-Rochín y col., 2010; Aguayo-Rojas y col., 2012; Gaxiola-Cuevas y col., 2017; Astorga-Gaxiola y col., 2023).

Por otro lado, es importante señalar que el adicionar HFFE a la harina nixtamalizada de maíz azul, causó incrementos de la actividad antioxidante (26 y 46 %, ABTS y ORAC) de la fracción libre, respectivamente. Resultados parecidos fueron reportados por Treviño-Mejía y col. (2016), estos investigadores observaron un aumento en la actividad antioxidante por el método de ABTS al enriquecer una tortilla de maíz con frijol común, además reportaron que la mayor parte de estos compuestos se encuentran en la fracción ligada.

3 Actividad antioxidante por el metodo de eritrocitos en HFFE

El ensayo cinético de la actividad hemolítica, mediante la técnica de AAPH, es un método indirecto para determinar la AAOX de moléculas bioactivas a diferentes concentraciones.

Cuadro 20. Actividad antioxidante de tortillas.

Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET}/100\text{g}$) ¹	Muestras	
	TC	TaHFFE
ABTS		
<i>Libres</i>	759.3 \pm 0.8 ^b	1,014.9 \pm 1.1 ^a
<i>Ligados</i>	2,761.4 \pm 2.9 ^a	2,785.8 \pm 141.7 ^a
Totales	3,520.8 \pm 44.4 ^b	3,800.7 \pm 76.8 ^a
ORAC		
<i>Libres</i>	1,591.5 \pm 30 ^b	2,394.6 \pm 125.6 ^a
<i>Ligados</i>	2,748.0 \pm 111.6 ^b	2,808.3 \pm 30.7 ^a
Totales	4,339.5 \pm 70.8 ^b	5,203.004 \pm 156.3 ^b

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). $\mu\text{mol ET}/100\text{g}$: microgramos equivalentes de trolox / 100 gramos de muestra en base seca; TC: tortilla control sin enriquecer; TaHFFE: tortilla adicionada con frijol fermentado extrudido.

En este sentido, las moléculas con mayor capacidad antioxidante lograron proteger del daño a la membrana celular de los eritrocitos.

Para este trabajo se probó una solución de Trolox (equivalente de la vitamina E) a una concentración de 8000 ppm, y concentraciones de fenólicos de 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 y 1 mg/mL de las fracciones libres y ligadas de frijol tépari procesado secuencialmente por fermentación / extrusión (HFFE). Como control se usó eritrocitos en presencia del radical y sin extracto.

El porcentaje de hemólisis se indujo con AAPH a una concentración de 76 mM en presencia de todos los extractos (a las diferentes concentraciones), control y trolox en un intervalo de 0-480 min. Al estar en contacto las diferentes concentraciones de la HFFE en una suspensión de eritrocitos, se observó que no mostró efecto hemolítico (no hubo rompimiento celular de los eritrocitos), esto permitió continuar con la evaluación de su efecto antioxidante.

En la **Figura 9**, que representa a los extractos libres de HFFE, se observa que el grupo control de eritrocitos con AAPH 76 mM presenta en el tiempo de referencia de 0 minutos un porcentaje de hemólisis de 4.8 %; para los tiempos de 60, 120, 180 y 240 minutos, este grupo presenta porcentajes de hemólisis de 3.4, 3.2, 6.4 y 6 % respectivamente, sin presentar diferencia significativa con el tiempo de referencia. A los 300 min presentó un % de radicales libres de 10.3 %, y a los 360 minutos, este grupo presentó un porcentaje de presencia de radicales libres de 34.62 %, siendo significativamente mayor en 7.09 veces que en el tiempo 0; a los 360 minutos presentó un porcentaje de presencia de radicales libres de 67.91 %, lo que representa un aumento significativo de 13.9 veces respecto al tiempo 0; al tiempo de 480 minutos este grupo presenta un porcentaje de hemólisis de 88.1 %, el cual representa un aumento significativo de 18.04 veces en comparación al tiempo 0.

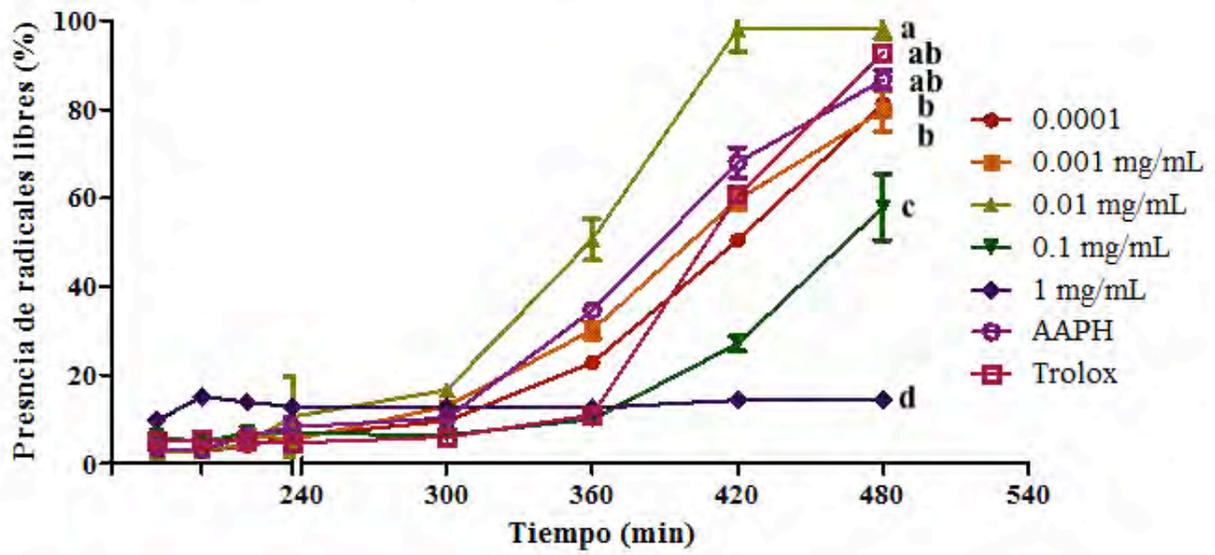


Figura 9. Cinética de actividad antioxidante del AAPH sobre eritrocitos humanos tratado con HFFE. Fitoquímicos libres.

En cuanto a los extractos ligados (**Figura 10**), se observa que el grupo control de eritrocitos con AAPH 76 mM presenta en el tiempo de referencia de 0 minutos, un porcentaje de presencia de radicales libres de 4.8 %; para los tiempos de 60, 120, 180 y 240 minutos este grupo presenta porcentajes de hemólisis de 4.8, 5.4, 5.0 y 5.4 % respectivamente, sin presentar diferencia significativa con el tiempo de referencia. A los 300 y 360 minutos, este grupo presentó un porcentaje de hemólisis de 7.48 y 25.2 %, respectivamente, siendo significativamente mayor en 5.3 veces que en el tiempo 0; a los 360 minutos presentó un porcentaje de hemólisis de 53.8 %, y por último, pasados los 480 minutos, alcanzó un % de presencia de radicales libres del 92.77 %.

En las **Figuras 9 y 10** se observa que el control y las concentraciones de 0.0001 a 0.01 mg/mL de los extractos libres y ligados presentaron un incremento exponencial del porcentaje de presencia de radicales libres a partir de los 300 min. En trolox se observó un incremento importante solo después de los 360 min.

El grupo tratado con HFFE a concentración 0.0001 mg/mL presentó a los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos, porcentajes de presencia de radicales libres de 3.7, 3.4, 4.3, 5.8, 12.3, 9.2, 47.9, 61.7 y 100 % para extractos libres, presentando una diferencia significativa de 6.13 % menos con respecto a la presencia de radicales libres del AAPH a los 480 minutos (**Figura 9**). Mientras, que a los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos se presentaron 3.9, 3.5, 5.7, 6.3, 25.7, 65, 85.6 y 84.6 % de presencia de radicales libres para extractos ligados, sin presentar diferencia estadísticamente significativa frente al grupo de eritrocitos respectivamente, para fenólicos ligados en comparación a AAPH 76 mM a los 480 minutos (**Figura 10**).

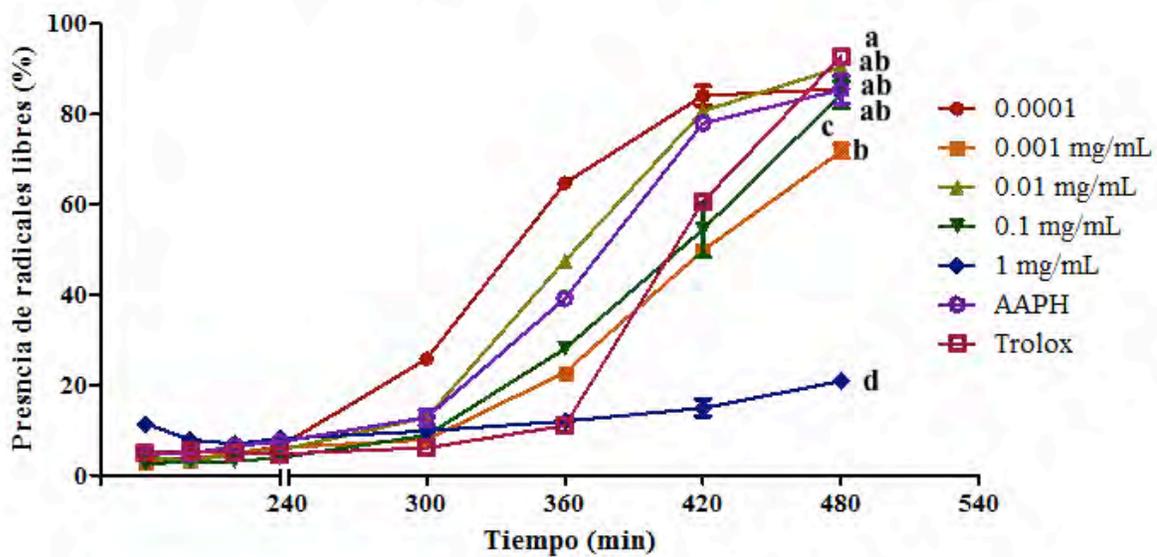


Figura 10. Cinética de actividad antioxidante del AAPH sobre eritrocitos humanos tratado con HFFE. Fitoquímicos ligados.

El grupo tratado con HFFE a concentración de 0.001mg/mL para extractos libres, a los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 minutos, presentaron porcentajes de presencia de radicales libres de 7, 5.8, 5.9% y 7.6, 15.8, 13.6, 24.9, 44.8 y 84.4 % sin presentar diferencia significativa frente al grupo de AAPH 76 mM a los 480 minutos de experimentación. (**Figura 9**), y a los 2.9, 3.4, 5 y 6, 7.8, 22.8, 50.4 y 70.7 % para extractos ligados, los cuales representan diferencia estadísticamente significativa de 15.91 % menos presencia de radicales libres en el extracto ligado comparados con el grupo de eritrocitos con AAPH 76 mM a los 480 minutos (**Figuras 10**).

El tratamiento de HFFE 0.01mg/mL, en extractos libres, en los tiempos de 60, 120, 180, 240, 360, 420 y 480 mostraron un porcentaje de hemólisis de 3.4, 3.4, 4.3, 5.8, 12.7, 30.5, 56.4 y 84.4 %. Pasados los 480 minutos este extracto alcanzó una diferencia significativa de 1.75 % más presencia de radicales libres en comparación con AAPH 76 mM (**Figura 9**).

En extractos ligados a los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 minutos, se obtuvieron 3.8, 3.2, 5.5, 5.9, 12.8, 46.8, 81.5, y 89.5 % de presencia de radicales libres, los cuales presentan diferencia estadísticamente significativa de 5.88 % menos presencia de radicales libres en el extracto comparados con el grupo de eritrocitos con AAPH 76mM a los 480 minutos (**Figura 10**).

El grupo tratado con HFFE 0.1mg/mL, para los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos generó presencia de radicales libres de 3.5, 3.8, 4.2, 5.5, 9.4, 8.8, 28, 54 % para extractos libres. Al pasar los 480 minutos, este extracto representó 42.09 % menos presencia de radicales libres en comparación con el AAPH 76mM.

Para los tiempos de 60, 120, 240, 300, 360, 240, 300, 360, 420 y 480 min generó 2.5, 2.9, 3.1, 3.8, 8.5, 28, 54 y 100 % para extractos ligados, lo cual representa una diferencia estadísticamente significativa del 75.56 % menos presencia de radicales libres a los 480 minutos con respecto al control AAPH 76mM. (**Figura 10**).

Finalmente, el tratamiento con HFFE en concentración de 1mg/mL presentaron a los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos, porcentajes de hemólisis de 3.6, 3.3, 3.3, 3.4, 4.1, 13.6, 16.4 y 38.7 % respectivamente, los cuales presentaron diferencia estadísticamente significativa frente al grupo control de eritrocitos con AAPH 76mM de 85.56 % menos presencia de radicales libres para extractos libres (**Figura 9**) y para la misma concentración, pero en extracto ligado (**Figura 10**), a los tiempos 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 minutos los porcentajes de hemólisis de 11.4, 7.8, 6.9, 8.2, 9.8, 12 y 14.7 y 20% lo cual representa un diferencia estadísticamente significativa del 75.56 % menos presencia de radicales libres a los 480 minutos con respecto al control AAPH 76mM

Como se pudo observar, la HFFE no generó disminución en la presencia de radicales libres en las concentraciones 0.0001, 0.001 y 0.01mg/mL, lo cual sugiere que el extracto no presenta actividad antioxidante a tales concentraciones; sin embargo, en concentraciones como 0.1mg/mL, y 1 mg/mL, se observó como a partir del tiempo de 300 minutos, no aumenta de manera exponencial la presencia de radicales libres, en comparación al grupo con AAPH 76mM; esto puede deberse a la presencia de un efecto antioxidante en los extractos de HFFE tanto libres como ligados.

Respecto a la concentración de 0.1 mg/mL del extracto libre, este mantuvo porcentajes de hidrólisis de hasta 9.4 % durante 300 min, después de este tiempo se observó un incremento sustancial hasta llegar a un valor promedio de 52 % de hemólisis a los 420 min de la prueba. Sin embargo, el extracto ligado evaluado a esta misma concentración presentó un incremento en el

porcentaje de presencia de radicales libres a partir de 300 min, alcanzando valores de 75.3 % a los 480 min del ensayo.

Finalmente, el extracto libre probado a 1 mg/mL mostró variación significativa ($p \leq 0.05$) en el porcentaje de hemólisis durante todos los tiempos probados, manteniendo porcentajes de 3.6, 3.3, 3.3, 3.4, 4.1, 13.6, 16.4 y 38.7 % en los tiempos de 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 min.

De forma similar el extracto ligado a una concentración de 1 mg/mL mantuvo constante el porcentaje de hemólisis durante los tiempos probados, solo se observó un ligero incremento a los 480 min donde se alcanzó una hemólisis de 20.8 %. Esto significa que ambos extractos mostraron actividades similares a esta concentración.

Si bien los experimentos de evaluación *in vitro* utilizando glóbulos rojos no son comparables a las pruebas *in vivo*, si brindan cierto nivel de apoyo para el desarrollo de productos adicionales, ya que no existen enzimas u otros elementos que puedan interferir con las reacciones desarrolladas en los productos experimentales. Si ofrecen resultados que aportan fiabilidad. Las pruebas permiten realizar controles complejos (Dueñas-Rivadeneira y col., 2014). De igual forma, estas pruebas generan información respecto a si el producto evaluado tiene potencial como antioxidante. Aquí radica la importancia de esta evaluación para la harina de frijol tepari procesada continuamente. Esto se debe a que la harina de frijol tépari se utilizaba como ingrediente en la elaboración de tortillas de harina de maíz azul nixtamalizado. Se encontró que el extracto HFFE evaluado contenía concentraciones inhibitoras aceptables de APPH (generador de radicales libres), lo que indica que la harina tiene actividad antioxidante y no presenta problemas de toxicidad.

F Actividad antihiper glucemiante de las harinas de frijol tépari y tortillas

1 Actividad antihiper glucemiante de frijol tépari

La α -amilasa participa en el rompimiento de enlaces del almidón durante el proceso digestivo, y es importante en el control de los niveles de azúcar en sangre posprandial (Milán-Carrillo y col., 2017). Una terapia alternativa importante para tratar las etapas debutantes de la diabetes tipo II es reducir la hidrólisis del almidón y controlar la absorción de glucosa, lo cual se realiza inhibiendo las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. Los ensayos clínicos en humanos que utilizan inhibidores naturales de la α -amilasa y la α -glucosidasa de cereales (maíz blanco) han mostrado excelentes resultados sin causar los efectos secundarios comúnmente asociados con su uso, como diarrea, secreciones intestinales, vómitos y flatulencias, los cuales se encuentran comúnmente en fármacos disponibles que se proporcionan como inhibidores terapéuticos de la α -amilasa y la α -glucosidasa (Barrett y Udani, 2011; Gámez-Valdez y col., 2021)

Rara vez se utilizan hongos filamentosos como *Rhizopus oligosporus*. Este hongo es considerado GRAS (Generalmente considerado seguro) y es un microorganismo que crece rápidamente entre 34 y 45 °C (Anigboro y col., 2020). *R. oligosporus* se utiliza en la FES para la producción de alimentos, porque no producen sustancias tóxicas y por su facilidad de cultivo y ausencia de capacidad patogénica (Sugiharto, 2019a, 2019b). Algunos alimentos, como la yuca, es considerada con alto valor nutricional, y se ha observado el crecimiento de hongos y otros microorganismos. Algunos de estos microorganismos pueden secretar enzimas extracelulares que digieren los sustratos y, por tanto, los utilizan principalmente como fuente de carbono (Kohli y col., 2020; Tanaka y col., 2020).

Melnichuk y col. (2020) realizaron FES utilizando residuos agroindustriales para la generación de α -amilasa utilizando al hongo *Aspergillus oryzae*. Asimismo, también se ha reportado la producción de α -amilasa y β -glucosidasa con este mismo bioproceso utilizando *Aspergillus niger*. También se ha informado anteriormente sobre la fermentación de sustratos de desechos de biomasa a partir de cáscara de arroz, bagazo y mazorca de maíz (Aliyah y col., 2017).

En este estudio fue observado que las harinas de frijol procesado mostraron una inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa de 74.9 y 89.1 % (frijol fermentado) y 70 y 59.8 % (frijol fermentado/extrudido), presentando diferencia significativa con respecto al grano crudo (**Cuadro 21**). Por lo anterior, se puede observar que la cocción por extrusión mostró una menor inhibición (en ambas enzimas), esto podría deberse a que este proceso utiliza altas temperaturas, presión, y esfuerzo de corte alto, durante tiempos cortos. Lo anterior pudiera generar transformaciones moleculares y reacciones químicas en la matriz alimenticia, que pudieran estar afectando la actividad de los compuestos responsables de las enzimas ya mencionadas (Mora-Rochín y col., 2024).

Anteriormente, investigadores ya han reportado que el proceso de cocción por extrusión mejora la digestibilidad de proteínas y almidón; así como también incrementa la retención de compuestos bioactivos y fibra dietaria soluble, además, de la inactivación de algunas enzimas y microorganismos (Omosebi y col., 2018) lo cual favorece la vida de anaquel.

Sin embargo, la reducida activación de estas enzimas puede verse afectada por procesos de extrusión que combinan tratamientos de calor húmedo y gelatinización en la misma operación, promoviendo la formación de almidón resistente.

Cuadro 21. Efecto antihiper glucemiante de frijol tépari.

% de Inhibición	Muestras		
	HFC	HFF	HFFE
α-amilasa	47.8 \pm 0.003 ^c	74.9 \pm 0.004 ^a	70.0 \pm0.001^b
α-glucosidasa	51.9 \pm 0.09 ^c	89.1 \pm 0.009 ^a	59.8 \pm0.008^b

a-c Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística Tuckey ($p \leq 0.05$). HFC: Frijol crudo; HFF: Frijol fermentado; HFFE: Frijol fermentado/extrudido.

Además, el proceso de extrusión puede mejorar el almidón resistente al incorporar materiales como legumbres que son ricos en macromoléculas como proteínas, lípidos y compuestos fenólicos que interactúan con el almidón para formar complejos y redes estructurales (Jiang y col., 2020; Ma y col., 2020).

Asimismo, la capacidad hipoglucemiante en la HFFE puede deberse a los efectos combinados de la FES y extrusión. Sánchez-Magaña y col. (2014) reportaron incrementos en el % de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa por efecto de la FES del garbanzo. Es conocido que los microorganismos utilizados en los procesos fermentativos son excelentes productores de enzimas hidrolíticas, como proteasas, amilasas, celulasas y lipasas (de Castro y Sato, 2013; Ohara y col., 2018). Por lo tanto, es posible inferir que los principales efectos de la fermentación sobre propiedades biológicas de las leguminosas están relacionados con la liberación de compuestos fenólicos ligados en las paredes celulares por hidrólisis, en la que los compuestos fenólicos se vuelven solubles con el consiguiente aumento del contenido de estos.

2 Actividad antihiper glucemiante de tortillas

En los últimos años, las fuentes naturales con capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa han atraído gran atractivo debido a la investigación de alternativas a los fármacos con inhibidores sintéticos de enzimas como acarbosa, metformina y tetrahidrolipostatina, que han reportado efectos secundarios. Algunos de ellos tienen efectos leves y pueden provocar molestias gastrointestinales como efecto secundario (Sánchez-Magaña y col., 2014; Oyedemi y col., 2017; León-Murillo y col., 2021).

Diversos estudios han demostrado que los fenoles vegetales tienen la capacidad de inhibir parcialmente el mecanismo de las enzimas α -amilasa, mostrando así beneficios terapéuticos como

efectos hipoglucemiantes. Por tanto, son útiles en la prevención de la diabetes tipo II (Kazeem y col., 2013; Oyedemi y col., 2017; Gámez-Valdez y col., 2021)

En este estudio fue observado que tortillas de maíz azul nixtamalizado con la adición de HFFE, mostraron una mayor ($p \leq 0.05$) inhibición de las enzimas α -amilasa (32 vs 10 %), con respecto a la tortilla control. Sin embargo, para la α -glucosidasa no fue observado el mismo efecto (30 vs 28 %) (**Cuadro 22**).

León-Murillo y col. (2021) reportaron la mayor capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa en tortillas de maíz azul suplementadas con harina de chíá extruida en comparación con las tortillas estándar o control. Estos autores afirmaron que el posible efecto hipoglucemiante de la harina extruida puede deberse a la liberación de los compuestos fenólicos y la aparición de productos mediante la reacción de Maillard que son producidos durante este proceso. Se ha reportado que es posible que los compuestos fenólicos se unan al sitio activo de la enzima α -amilasa y alteren sus efectos catalíticos (Kazeem y col., 2013; Oyedemi y col., 2017). Por otro lado, Bhatia (2019) informó que la inhibición de la α -glucosidasa ocurre mediante inhibición competitiva por unión al sitio activo. Además, su efecto hipoglucemiante puede estar relacionado con interacciones no covalentes entre polifenoles y enzima. Es probable que esta interacción ocurra debido a los grupos hidroxilo y galoilo presentes en la estructura molecular de los polifenoles.

G Estudios *in vivo*:

1 Ingesta de alimento y ganancia de masa corporal en ratones

Cuadro 22. Efecto antihiper glucemiante de tortillas

% de Inhibición	Muestras	
	TC	TaHFFE
α-amilasa	10 \pm 0.001 ^b	32 \pm 0.001 ^a
α-glucosidasa	28 \pm 0.01 ^a	30 \pm 0.008 ^a

a-b Números con diferentes superíndices en el mismo renglón indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$); TC: tortilla control sin enriquecer; TaHFFE: tortilla adicionada con frijol fermentado extrudido.

El presente estudio evaluó el consumo de la tortilla adicionada con frijol fermentado/extrudido (85:15, TaHFFE) utilizando ratones tipo C57BL/6N, con el objetivo de identificar si existía alguna diferencia en la ingesta de los grupos con el alimento estándar (SD).

y la TaHFFE, y a partir de eso, determinar si existe una correlación con la ganancia de masa muscular.

Después de 4 semanas de alimentación, fue registrado la ingesta de las dos dietas utilizadas en este proyecto de investigación, el peso corporal y la cantidad en gramos de cada alimento proporcionada a los animales. Los ratones alimentados con dieta SD mostraron el mayor ($p \leq 0.05$) consumo del alimento, en comparación con la TaHFFE (**Figura 11**).

Por otro lado, la ganancia en peso de los ratones relacionada con el tipo de alimento consumido, fue observado que el grupo de ratones alimentado con la dieta SD demostró un mayor consumo en gramos de este alimento (**Figura 11**), sin embargo, la ganancia en peso en los ratones alimentados con los diferentes tipos de alimento no mostró diferencia significativa, como se puede observar en la **Figura 12**.

El menor consumo que mostraron (**Figura 11**) los ratones alimentados con TaHFFE pudiera ser debido a su formulación con maíz azul y frijol tépari fermentado/extrudido, estos ingredientes durante la digestión en el colón, producen ácidos grasos de cadena corta, producto por la fermentación de la fibra de frijol y el almidón resistente del maíz, y junto con la fitohemaglutinina poseen la capacidad de regular el apetito y saciedad, activando receptores de hormonas intestinales, y modulando neuropéptidos orexigénicos como la grelina y neuropéptidos anorexígenos como el péptido similar al glucagón, péptido-1, péptido tirosina-tirosina y colecistoquinina. Asimismo, se ha reportado que los fitoesteroles y saponinas, reducen la absorción de lípidos a nivel intestinal mediante la unión de ácidos biliares, genera la alteración de las micelas de colesterol y la regulación

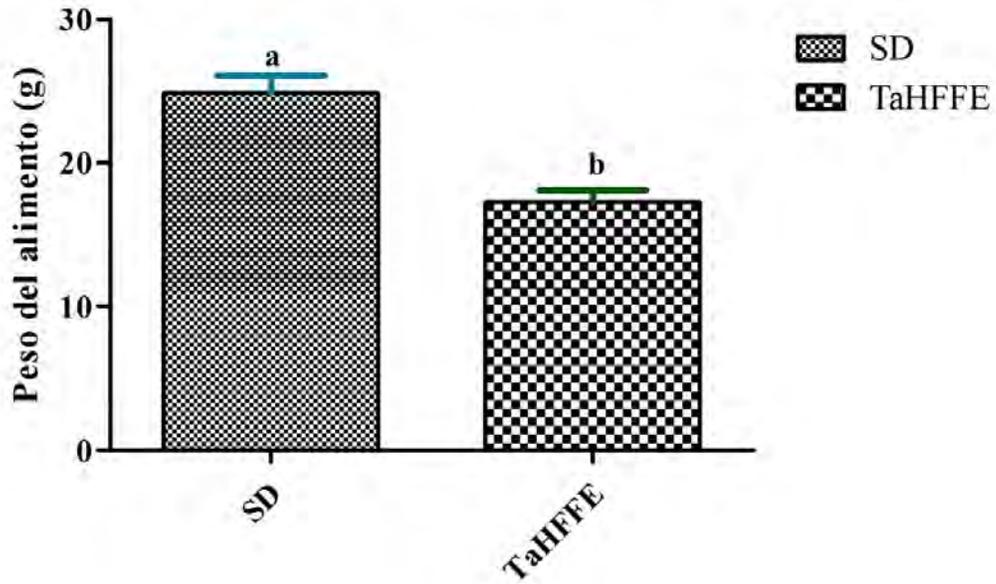


Figura 11. Consumo de alimento semanal en ratones C57BL/6N con dieta estándar (SD) y dieta experimental (TaHFFE).

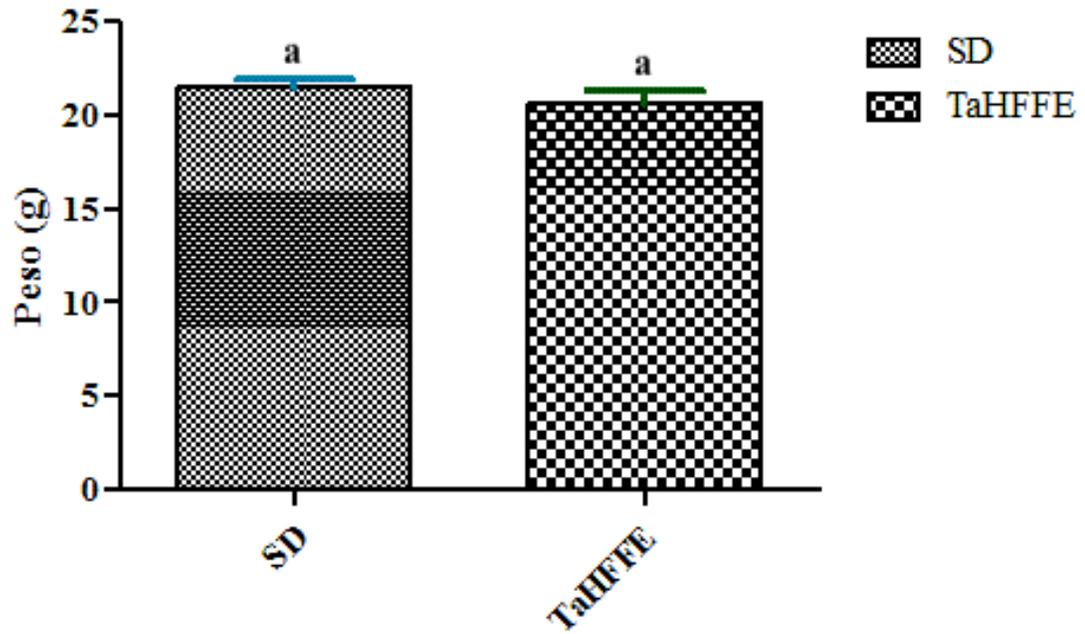


Figura 12. Ganancia de peso semanal en ratones C57BL/6N con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE).

negativa de las proteínas lipogénicas a través de la vía del receptor X del hígado (Ramírez-Jiménez y col., 2015).

Ramírez-Jiménez y col. (2015) realizaron un estudio sobre la función que tienen los compuestos bioactivos de *Phaseolus vulgaris* L., sobre los mecanismos hipolipemiantes, estos autores sugieren que la regulación de las señales de apetito y saciedad mediante el metabolismo intestinal local abre un nuevo campo de posibilidades para la reducción de la ingesta dietética de lípidos.

Los presentes hallazgos en esta investigación han demostrado el potencial prometedor del consumo de frijol para suprimir o reducir la ingesta de alimentos y el deseo de comer, incluso cuando los animales tienen acceso a alimentos muy atractivos. En este sentido, se necesita investigación clínica para complementar y validar esos efectos. A pesar que los ratones que consumieron más de la dieta SD vs la TaHFFE, fue observado la ganancia en peso corporal de los ratones al final del experimento no mostró diferencias significativas.

En una investigación realizada por Bertuccioli y col. (2021), se reportó que diversos nutraceuticos de origen vegetal pueden modular la absorción de nutrientes relacionando su efecto como un factor contribuyente a las variaciones de peso en los animales de experimentación que puede llevar a un aumento o disminución del mismo. Los nutraceuticos pueden intervenir en el anabolismo de nutrientes al interactuar con el sistema digestivo y el tracto gastrointestinal, algunos estudios han documentado que células especializadas del intestino, como las enteroendocrinas, expresan receptores de nutrientes que secretan hormonas peptídicas en respuesta a los alimentos regulando la digestión, el apetito y la saciedad (Posovszky y Wabitsch, 2015). Por otra parte, se ha encontrado que los nutraceuticos ricos en fibras solubles pueden intervenir en la ganancia de peso, puesto que al entrar en contacto con las secreciones intestinales forman una consistencia viscosa

que realentizan la digestión y la asimilación de grasas y azúcares causando mayor saciedad (Gill y col., 2021).

3 Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral (CTGO)

En las **Figura 13** se observa el aumento de glucosa en sangre de los ratones estudio. Para esta prueba fue administrada glucosa vía oral después de un ayuno de 24 horas. El grupo con dieta estándar (SD) alcanzó niveles de glucosa de 409 mg/dL a los 30 min, mientras que el grupo experimental alimentado con la TaHFFE alcanzó niveles de 379 mg/dL, en el mismo tiempo. En el grupo estándar se obtuvo un tipo de curva monofásico, en la que fue observado el aumento en la concentración de glucosa a los 30 minutos después de la ingesta de una carga oral de 0.035 g / kg peso corporal de este glúsido (en relación a lo que en un humano sería 1.75g/glucosa por kg de peso corporal), y los niveles disminuyen a partir los 60 min. Existen diferencias significativas entre los valores medidos a los 30 y 60 minutos en comparación con resto del tiempo. A partir del minuto 90 los niveles de glucosa se estabilizaron sin encontrar diferencia significativa con el resto del tiempo de la experimentación (180 min).

El grupo que consumió alimento experimental (TaHFFE) obtuvo el valor máximo en la concentración de glucosa a los 30 minutos (**Figura 14**) de la experimentación después de la ingesta del disacárido, sin embargo, se observó que los valores determinados como mg/dL comenzaron a disminuir y estabilizarse a partir de los 60 min, 30 minutos antes que el grupo estandar, lo que podría interpretarse como un efecto antihiperglucemiante. Cruz-Bravo y col. (2023) demostraron que la adición de frijol extrudido a pastas, las cuales fueron evaluadas en animales experimentales, ejercen un efecto positivo en la glucemia postprandial (posterior a la ingesta de alimentos) debido a su bajo índice glucémico. Estos beneficios observados se relacionan con diversos estudios, donde

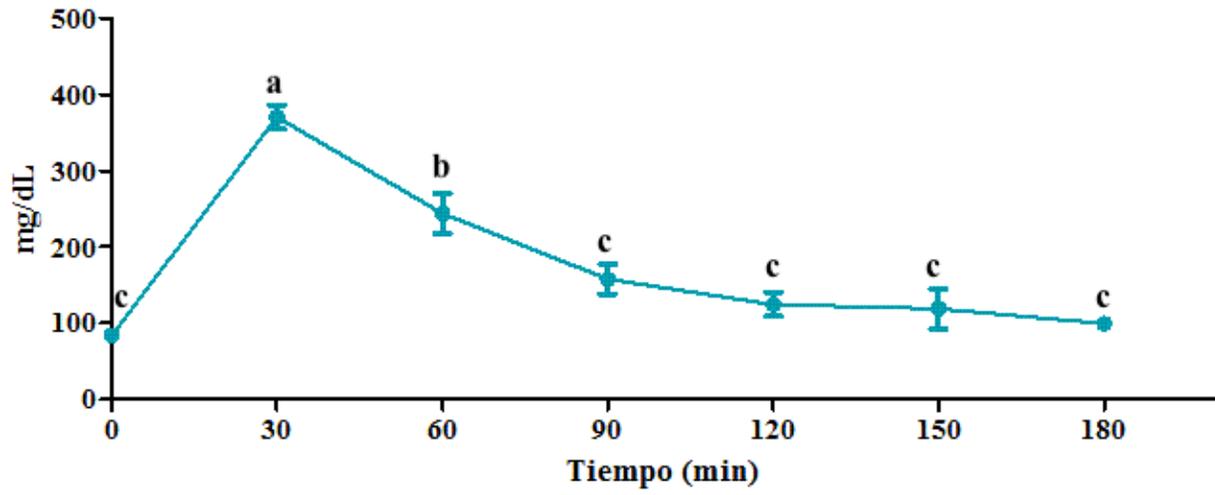


Figura 13. Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral. Dieta estándar (SD)

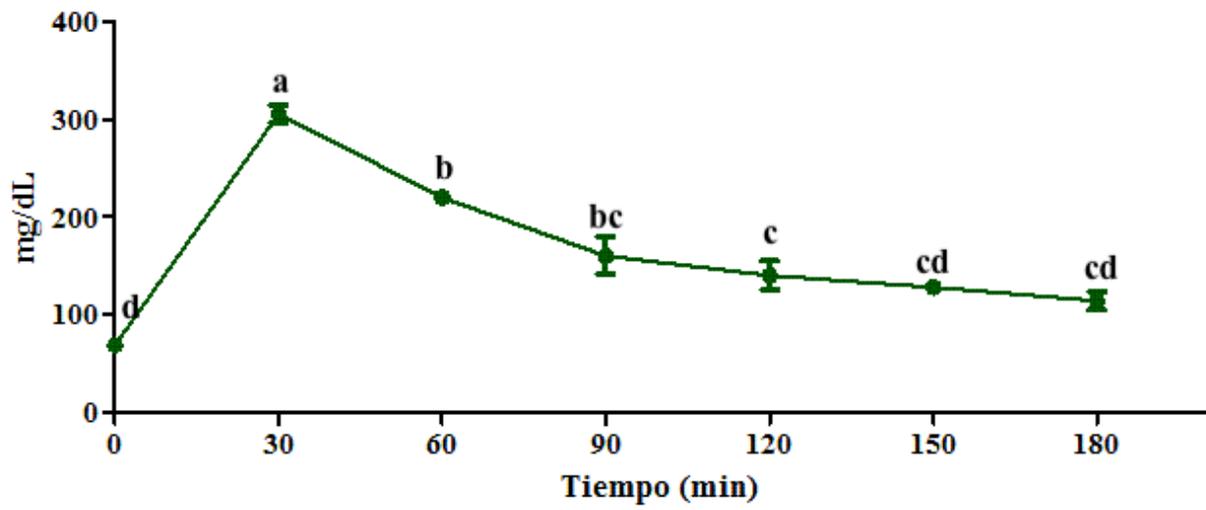


Figura 14. Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral. Dieta experimental (TaHFFE).

han reportado que la ingesta regular de frijol ejerce efectos funcionales debido a su contenido de compuestos nutraceuticos, tales como la fibra dietética, inhibidores de α -amilasa, compuestos antioxidantes, entre otros (Suárez-Martínez y col., 2016; Nchanji y Ageyo, 2021).

La hiperglucemia posprandial se puede disminuir regulando la absorción de glucosa en el cuerpo para reducir la hidrólisis de carbohidratos. La α -amilasa pancreática es la enzima involucrada en los pasos iniciales de la hidrólisis del almidón, seguida de la α -glucosidasa que hidroliza los disacáridos y oligosacáridos a glucosa en el intestino. Algunos ingredientes bioactivos cuentan con la capacidad de inhibir el mecanismo de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, reduciendo así la tasa de absorción de glucosa y la hiperglucemia posprandial. Los inhibidores de las enzimas digestivas generalmente se encuentran en alimentos funcionales ricos en ingredientes bioactivos como los polifenoles. Las condiciones hiperglucémicas también incitan la producción de radicales libres que causan condiciones de estrés oxidativo en el cuerpo. El estrés oxidativo reduce la secreción de insulina, lo que altera la absorción de glucosa en los músculos y las células grasas. Por ello, el organismo requiere alimentos ricos en antioxidantes para prevenir el estrés oxidativo. La prueba de la actividad de los antioxidantes y los inhibidores de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa se puede utilizar como método para evaluar el potencial antidiabético de un alimento funcional (Pérez-Cruz y col., 2020 ; Quintero-Fernández y col., 2022).

Ya se ha informado anteriormente que la fibra, las saponinas y algunos compuestos fenólicos extraídos de *P. vulgaris* y *Zea mays* redujeron los lípidos séricos y redujeron la resistencia a la insulina y esteatosis hepática y excreción estimulada de colesterol modificando la expresión de genes lipogénicos (Chávez-Santoscoy y col., 2013; Ramírez-Jiménez y col., 2015; Song y col., 2016).

Huang y col. (2018) a través de un estudio en ratas, elaboraron tempe a partir de la incubación de *L. plantarum* con *R. oligosporus*. Los resultados de estos autores demuestran que el tempe mejora los niveles de hiperglucemia, la hiperlipidemia y la hiperinsulinemia al alterar la distribución bacteriana intestinal gracias a los microorganismos involucrados, además que tiene efectos terapéuticos y es un potencial complemento dietético para prevenir la progresión de la diabetes mellitus II.

4 Cambios en peso de hígado, riñón y tejido adiposo abdominal

Para determinar si el consumo de la tortilla adicionada con frijol tépari fermentado/extrudido generó variación en el peso de tejidos como hígado, riñón y tejido adiposo, se cuantificó este parámetro al final del estudio.

El análisis del hígado (0.824 vs 0.899 g) y riñón (0.278 vs 0.329 g) no fueron observadas diferencias significativas cuando los grupos de ratones fueron alimentados con TaHFFE y dieta SD, respectivamente (**Figura 15 a y b**). Por su parte, el análisis del tejido adiposo abdominal reveló que los grupos experimentales (TaHFFE = 0.043 g \pm 0.07g, SD = 0.014 g \pm 0.03 g) no presentan diferencia significativa (**Figura 15 c**).

La cuantificación de los órganos sugiere que la incorporación de la HFFE a la tortilla de maíz azul nixtamalizado, no generó cambios en los tejidos en estudio (hígado, riñón y tejido adiposo).

Aunado a las observaciones en el parénquima hepático, donde no existen anomalías en ninguno de los grupos experimentales sugiere que la tortilla nutracéutica propuesta en esta investigación no causó daño o un efecto negativo en la acumulación de grasa en el hígado.

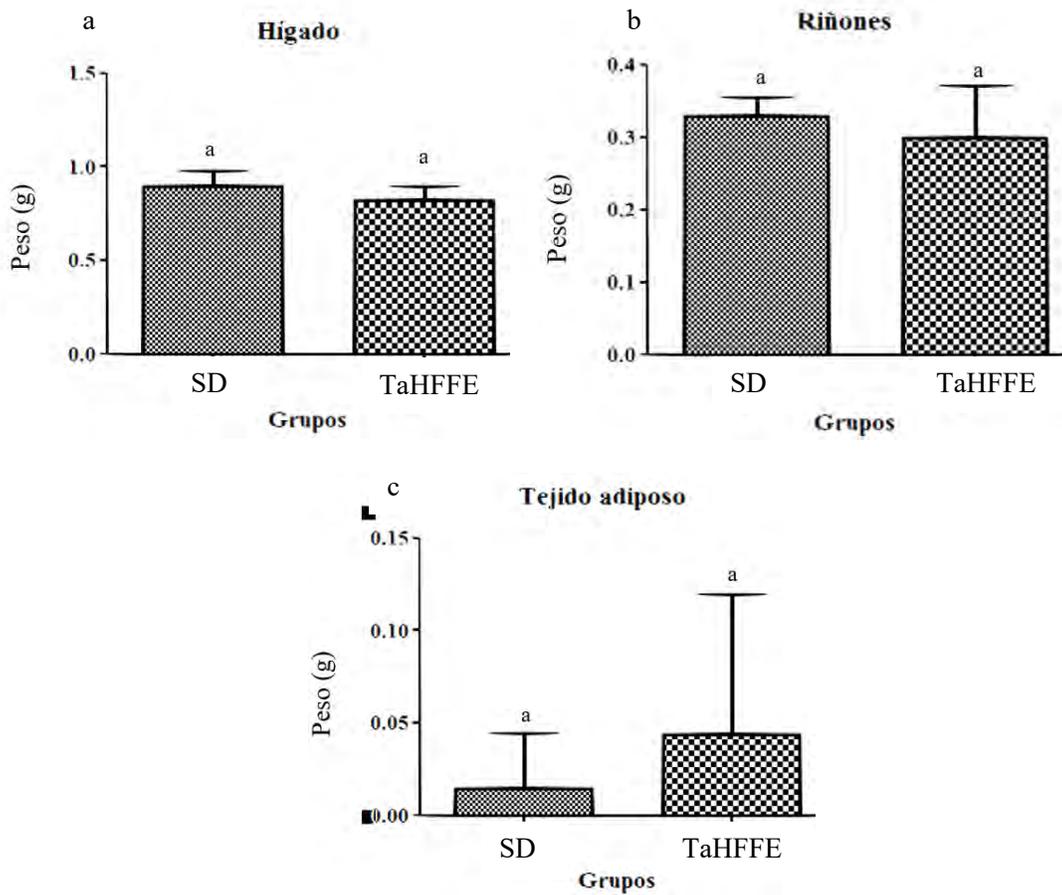


Figura 15. Pesos de hígado, riñón y tejido adiposo de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y con dieta experimental (TaHFFE).

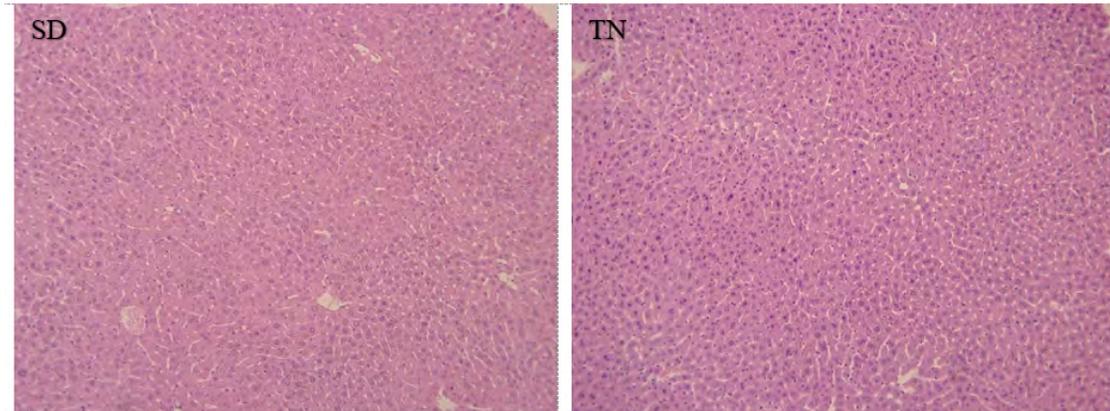
5 Análisis histológico de hígado

a Parénquima hepático

El análisis del parénquima hepático de ratones alimentados con dieta (**SD**) y con tortilla adicionada (**TaHFFE**) reveló una distribución de hepatocitos uniforme y definida donde se aprecia el núcleo y citoplasma sin alteraciones. No se observó muerte celular por necrosis o apoptosis, ni alteraciones metabólicas o estructurales asociadas a inflamación o fibrosis, demostrando que no existieron anomalías dentro del grupo alimentado con la dieta **SD** (**Figura 16 A-B**). Se observa que ambos grupos conservan una arquitectura similar; por otro lado, fueron revelados breves indicios de vasodilatación (flechas) por parte de ambos grupos y microvacuolas de grasa (recuadro con línea discontinua) (**Figura 16 B**).

Las leguminosas presentan un elevado contenido de carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y fibras (Summo y col., 2019) que reducen el riesgo de incidencia de enfermedades crónicas (Mirmiran y col., 2018). En la actualidad no existe un estudio donde se demuestre la efectividad de un alimento nutraceutico a base de maíz nixtamalizado y frijol fermentado/extrudido, sin embargo, existen numerosos estudios que han demostrado que las leguminosas y el extracto etanólico de estos granos pueden alterar el metabolismo de los lípidos reduciendo la formación de gotitas de lípidos durante la diferenciación de adipocitos en células 3T3-L1 (células adiposas de embrión) (Shinohara y col., 2016). Además, el consumo de leguminosas disminuye la respuesta glucémica (Goñi y Valentín-Gamazo, 2003; Centrone y col., 2020) y debilita la resistencia a la insulina, la diabetes tipo II y la dislipidemia asociado con una dieta alta en grasas (Yang y col., 2007; Centrone y col., 2020;).

A)



B)

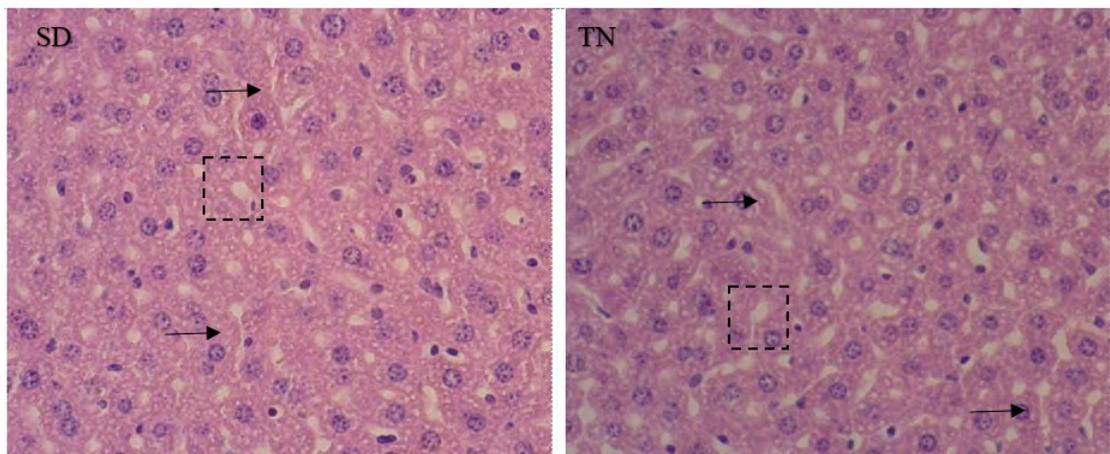


Figura 16. Parénquima hepático de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) dieta experimental (TaHFFE). Tinción con hematoxilina y eosina con aumentos de 10X (A) y 40X (B).

El sobrepeso y la obesidad están relacionados con enfermedades cardiovasculares (cardiopatías y accidentes cerebrovasculares), diabetes, enfermedades musculoesqueléticas como la osteoartritis y algunos tipos de cánceres (endometrio, ovario, próstata, hígado, mama, vesícula biliar), etc. (ENSANUT, 2016; OMS, 2016). Las enfermedades cardiovasculares se asocian comúnmente con la desnutrición causada por la ingesta de grasas de origen animal, incluidos los ácidos grasos saturados y colesterol, y un estilo de vida sedentario. La diabetes, por otro lado, se caracteriza por los elevados niveles de azúcar en sangre tanto en adultos como en adolescentes y niños (Sánchez y col., 2015).

En este contexto, la población mundial debe prestar más atención al hecho de que una dieta saludable es una parte esencial del tratamiento y prevención de enfermedades crónico-degenerativas como son las enfermedades cardiovasculares y la diabetes tipo II. Se pueden obtener ciertas propiedades funcionales para la salud a partir de alimentos vegetales que contienen compuestos bioactivos. Las formulaciones de alimentos funcionales brindan la oportunidad de consumir más fitoquímicos que ayudan a prevenir enfermedades crónico-degenerativas. Un ejemplo de esto es la producción de tortillas nutraceuticas. Rodiles-López y col. (2018), desarrollaron tortillas de maíz nixtamalizadas enriquecidas con aguacate y nopal. Esto es parte de la dieta experimental que induce hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia en estas ratas, lo que resulta en la disminución de glucosa en sangre y reducción de lípidos en el grupo que fue alimentado con tortillas experimentales en comparación con la dieta estándar. Los resultados concluyeron que estas tortillas concentradas fueron efectivas para reducir los niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en sangre de ratas.

El estudio realizado en el presente proyecto tuvo una duración de 4 semanas y no se indujo algún tipo de patología a los animales de experimentación, de manera que la dieta inducida funcionara para evaluar que no causara algún daño o anomalía. Los resultados obtenidos

demuestran que una dieta estándar + TaHFFE no causan efectos durante el tiempo de la experimentación.

b Vena central

En ambos grupos de ratones en estudio se demostró que los hepatocitos que rodeaban a la vena central, presentaron las mismas anomalías observadas en el parénquima; vasodilatación y microvacuolas de grasa en el citoplasma.

Las venas centrales conservan una estructura bien definida rodeada por su placa limitante. (**Figura 17 A-B**). Las venas centrales de ambos grupos se encontraron que los hepatocitos circundantes presentaron microvacuolas de grasa (recuadro con línea discontinua).

c Estructuras portales

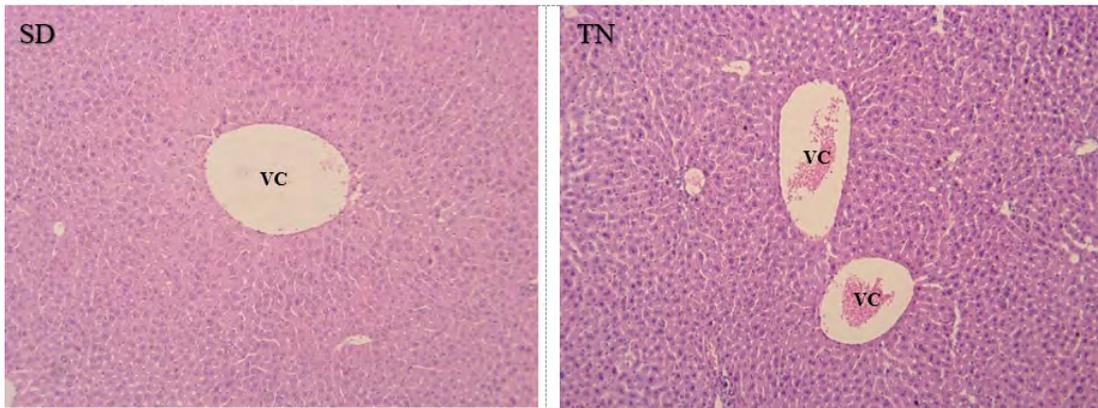
Las histologías revelaron la presencia de vasodilatación y acumulación de microvacuolas de grasa dentro de los hepatocitos circundantes del 64 % en los ratones en estudio (**Figura 18 A-B**). Las estructuras portales se conservan íntegras y sin alteraciones en los distintos grupos experimentales.

Se observa que ambos grupos, conservan una arquitectura similar, asimismo, ambos grupos presentaron vasodilatación (flechas) y microvacuolas de grasa (recuadro con línea discontinua).

3 Análisis histológico de riñón

Los riñones participan activamente en la eliminación de desechos y mantienen el equilibrio entre agua, sales y minerales en la sangre, además secretan hormonas las cuales intervienen en el control de la presión arterial; uno de los parámetros que pueden encontrarse alterados en individuos con síndrome metabólico. Es por lo anterior que se realizó el análisis histológico del riñón, con el

(A)



(B)

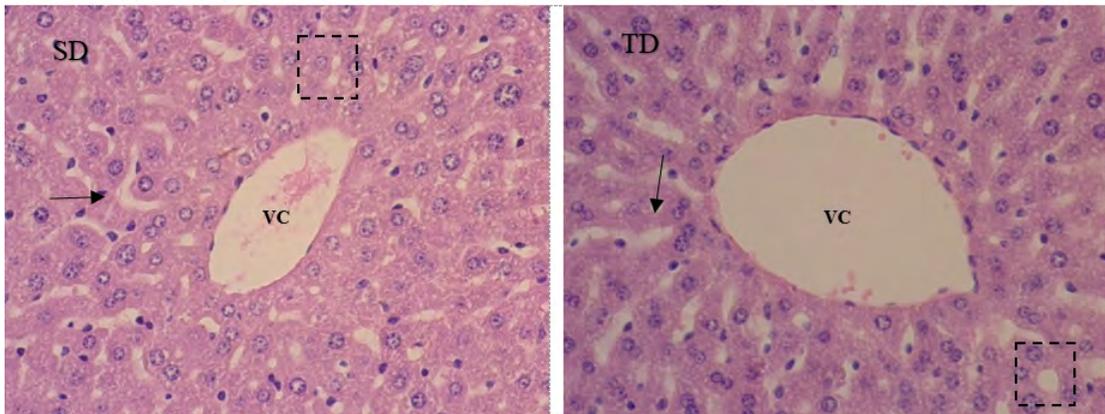
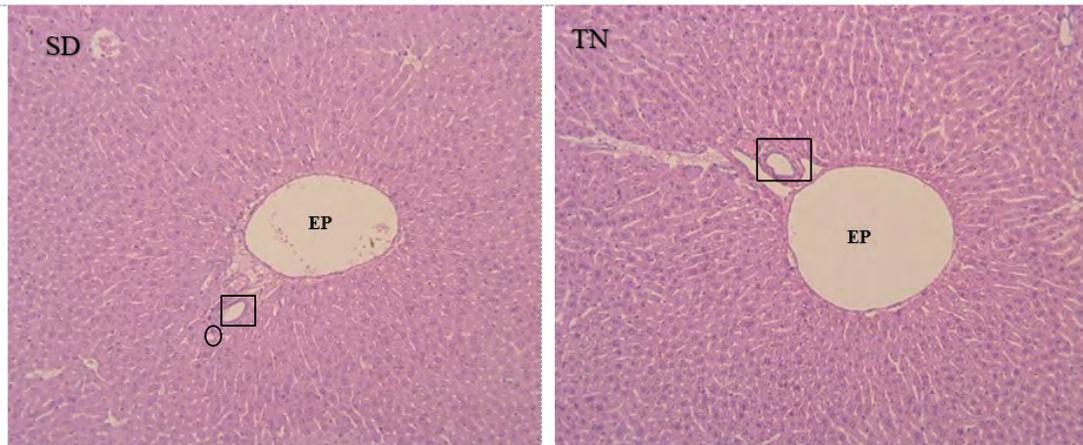


Figura 17. Venas centrales hepáticas de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y tratamiento experimental (TaHFFE). Tinción H&E, aumento a 10X (A) y 40X (B). VC, vena central

(A)



(B)

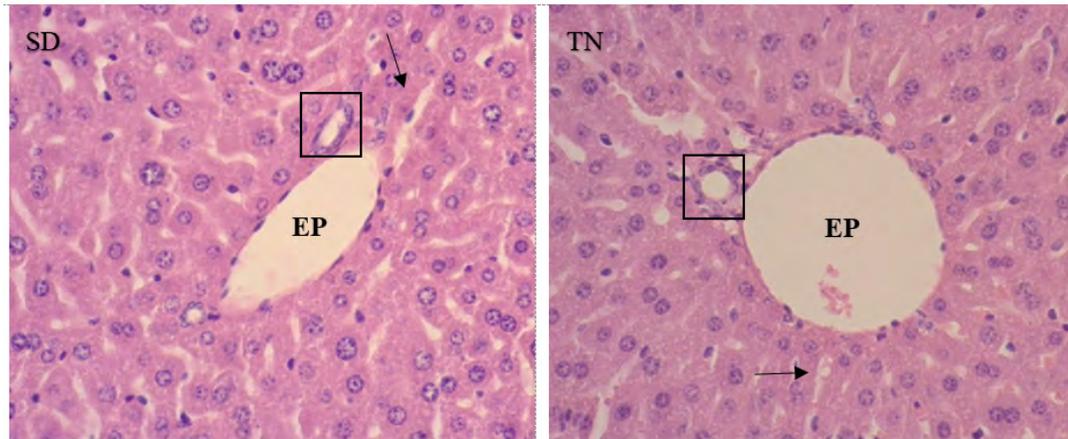


Figura 18. Estructuras portales de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar y tratamiento experimental (TaHFFE). Tinción H&E con aumentos de 10X (A) y 40X (B). EP, estructura porta. Se observa la EP de los distintos grupos experimentales con sus componentes; conducto biliar (círculo) y arteriola hepática (cuadro).

objetivo de identificar si las distintas dietas generaban daño renal (Silbernagl y Despopoulos, 2007;Li y col., 2020)

a Corteza renal

El análisis de la corteza renal en ambos grupos de ratones, demostraron que no existieron alteraciones que comprometieran al tejido renal, ya que no fueron observados indicios de glomerulopatía o reducción de la cápsula de Bowman. Se observó una distribución uniforme de los corpúsculos renales y se identificó la presencia de arterias y venas arqueadas (**Figuras 19**).

Así mismo, se lograron apreciar los corpúsculos renales perfectamente conservados compuestos por el glomérulo, el espacio capsular o urinario y la capa parietal de la cápsula de Bowman; rodeados por túbulo contorneados proximales y distales bien definidos. Dentro de los glomérulos se observaron células mesangiales y los polos vascular y urinario.

b Médula

Similar a lo observado en la corteza renal, el análisis de la médula de ambos grupos demostró que no existieron alteraciones histológicas relacionadas con indicios de patología renal. Sin embargo, fueron observados túbulo contorneados proximales y distales, túbulo colectores y vasos sanguíneos; todos bien definidos y distribuidos uniformemente (**Figura 20**).

Nuestro estudio reveló que no se presentó daño renal consecuente al consumo de las distintas dietas en los grupos experimentales, revelando que durante un periodo experimental de 4 semanas el consumo de una dieta experimental (TaHFFE) resultó inocua, ya que no generó anomalías en los riñones.

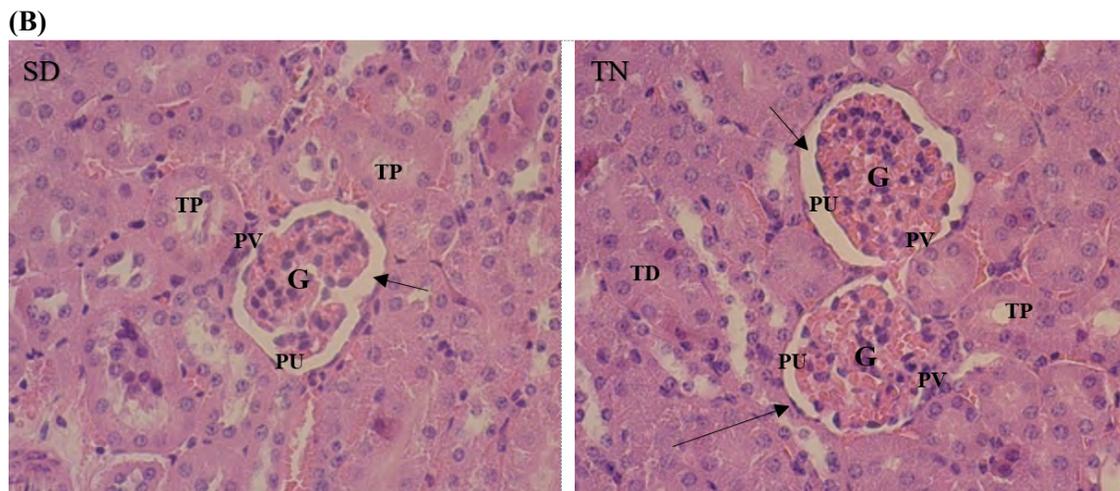
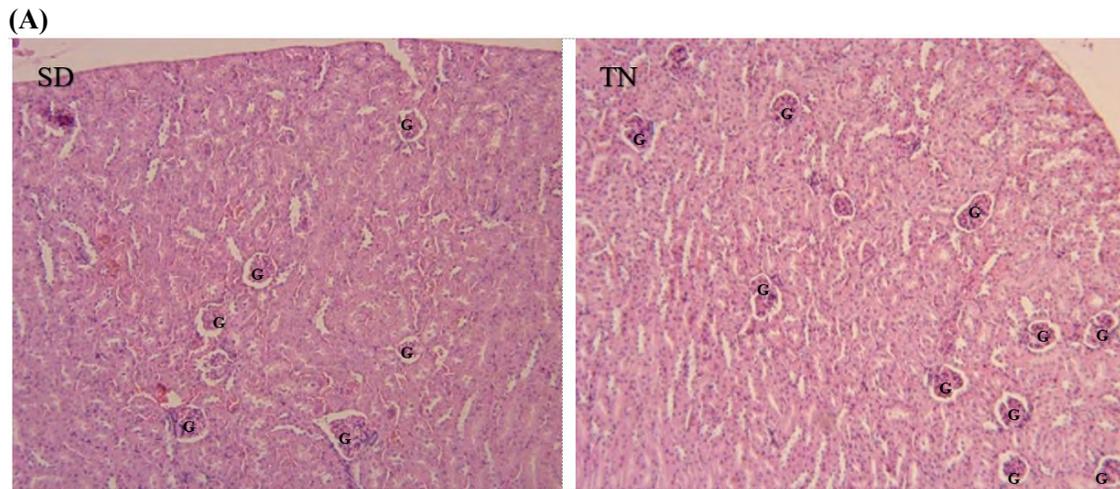
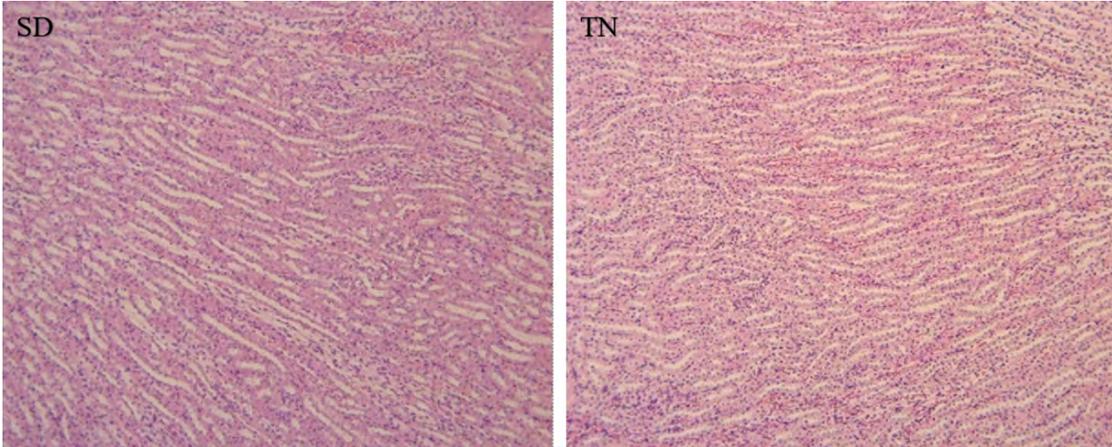


Figura 19. Corteza renal de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE). Tinción H&E con aumentos 10X(A) y 40X (B). Flecha, cápsula de Bowman; G, glomérulo; PU, polo urinario; PV, polo vascular; TP, túbulo proximal; TD, túbulo distal.

(A)



(B)

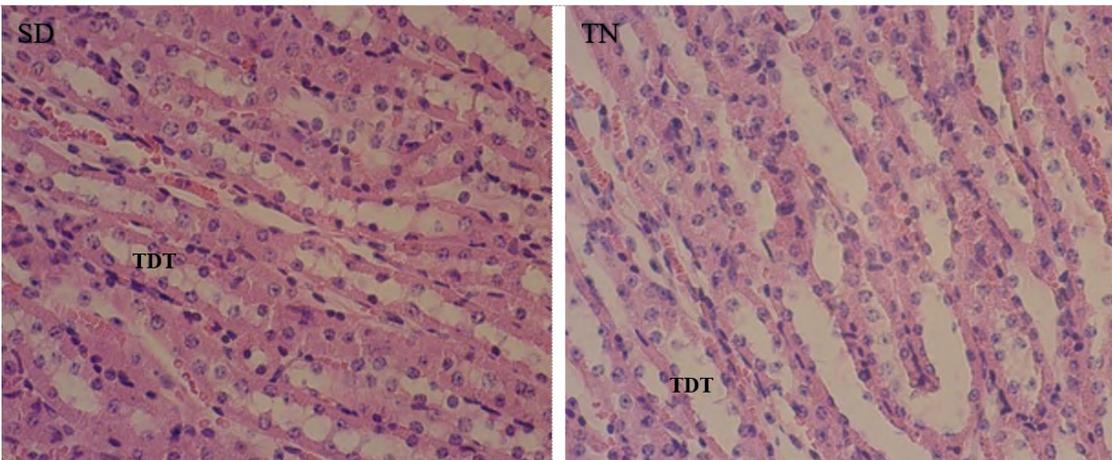


Figura 20. Médula renal de ratones C57BL/6N alimentados con dieta estándar (SD) y experimental (TaHFFE). Tinción H&E con aumento 10X (A) y 40X (B). TDT, túbulo distal transversal.

IX. CONCLUSIONES

1 El proceso secuencial del frijol tépari aumentó el contenido de proteína en un 45 % con respecto al grano sin procesar, mientras que el contenido de lípidos y cenizas disminuyó en un 78 % y 40 % respectivamente. Estos resultados fueron favorables en su incorporación a la tortilla de maíz azul nixtamalizado, dado que incrementó el 35 % el contenido de proteína y disminuyó 18 % en lípidos. El proceso secuencial también favoreció al incremento de aminoácidos esenciales, Met y Cys 39.4 % y Phe y Tyr 21 % en frijol, y Thr 7.49 %, Phe + Tyr 23.52 % y Lys 9.24 % para tortilla. Mientras que fue observada una disminución en ácido fítico (17 %), saponinas (68.4 %), inhibidores de tripsina (94 %) y taninos condensados (85 %) en frijol FES/EXT.

2 El contenido de polifenoles totales aumentó de manera significativa (46 %) en frijol bajo el proceso secuencial en comparación con el grano sin procesar, y 14.7 % en tortilla adicionada con HFFE.

3 La actividad antioxidante por los métodos ABTS y ORAC mostraron un incremento significativo por efecto del proceso secuencial en frijol del 47 y 94 % respectivamente, mientras que la adición de HFFE a la tortilla incrementó 7 y 20 % con respecto a la tortilla control. El efecto de la actividad antioxidante en eritrocitos demostró un efecto retardante en la presencia de radicales libres a las concentraciones de 0.1 y 1 mg/mL.

4 La actividad antidiabética aumentó 70 y 59 % después del proceso de FES/EXT de frijol tépari en la inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa respectivamente. Mientras que la incorporación de HFFE a la tortilla de maíz azul nixtamalizada aumentó la actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa (32 vs 10%).

5 En ratones macho C57BL/6N, la tortilla adicionada con HFFE mostró un efecto saciante al no necesitar altas dosis de consumo durante la dieta. La curva de tolerancia a la glucosa

oral mostró un efecto antihiper glucemiante y la ingesta del producto nutracéutico a base de maíz azul y frijol tépari FES/EXT no generó daño histológico en hígado o riñon.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, Y., & Ahmad, A. (2018). Impact of Processing on Nutritional and Antinutritional Factors of Legumes: A Review. *Annals: Food Science and Technology*, *19*, 199–212.
- Abdel-Aal, E. S. M., & Hucl, P. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. *Cereal Chemistry*, *76*(3), 350–354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Abu-Salem, F. M., Mohamed, R. K., Gibriel, A. Y., & Rasmy, N. M. (2014). Levels of some antinutritional factors in tempeh produced from some legumes and jojobas seeds. *International Journal of Biological, Agricultural, Biosystems, Life Science and Engineering*, *8*, 296–301.
- Acero-Godinez, MVZ. M. G. (2000). *Uso del cerdo como modelo biológico para evaluar la calidad de la tortilla por dos procesos de nixtamalización y la fortificación con vitaminas y pasta de soya*. Universidad de Colima.
- Adeleye, O. O., Awodiran, S. T., Ajayi, A. O., & Ogunmoyela, T. F. (2020). Effect of high-temperature, short-time cooking conditions on in vitro protein digestibility, enzyme inhibitor activity and amino acid profile of selected legume grains. *Heliyon*, *6*(11). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05419>
- Adom, K. K. , S. M. E. , y L. R. H. (2006). Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. . . *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(6), 2297–2306.
- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant Activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(21), 6182–6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>

- Aguayo-Rojas, J., Mora-Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., Serna-Saldivar, S. O., Gutierrez-Uribe, J. A., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2012). Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Tortillas Obtained after Lime-Cooking Extrusion Process of Whole Pigmented Mexican Maize. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(2), 178–185. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0288-y>
- Ahnan-Winarno, A. D., Cordeiro, L., Winarno, F. G., Gibbons, J., & Xiao, H. (2021a). Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1717–1767. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12710>
- Ahnan-Winarno, A. D., Cordeiro, L., Winarno, F. G., Gibbons, J., & Xiao, H. (2021b). Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1717–1767. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12710>
- Ahnan-Winarno, A. D., Cordeiro, L., Winarno, F. G., Gibbons, J., & Xiao, H. (2021). Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1717–1767. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12710>
- Akalu, G., Taffesse, S., Gunaratna, N. S., & De Groote, H. (2010). The Effectiveness of Quality Protein Maize in Improving the Nutritional Status of Young Children in the Ethiopian Highlands. *Food and Nutrition Bulletin*, 31(3), 418–430. <https://doi.org/10.1177/156482651003100304>
- Alam, M. S., Kaur, J., Khaira, H., & Gupta, K. (2016). Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(3), 445–473. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.779568>

- Alejandro-Espinosa, M., Jaramillo-Fierro, X., Ojeda-Riascos, S., Malagón-Aviles, O., & Ramírez-Robles, J. (2013). Actividad antioxidante y antihiperglucemiante de la especie medicinal *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br., al sur del Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, *12*(1), 59–68.
- AlKhaldi, K., Daghestani, M., & Al-Haddad, T. (2020). In vitro anti-diabetic activity of *Tribulus terrestris* L. fruits extracts. *Nutrition and Food Science*, *50*(4), 631–640. <https://doi.org/10.1108/NFS-06-2019-0180>
- Álvarez-Gasca, M. A., Hernández-Pozo, M. del R., Jimenez-Martínez, M., & Duran-Díaz, Á. (2014). Estilo de vida y presencia de síndrome metabólico en estudiantes universitarios: diferencias por sexo. *Revista de Psicología*, *32*(1), 121–138.
- Anaya-López, J. L., Ibarra-Pérez, F. J., Rodríguez-Cota, F. G., Ortega-Murrieta, P. F., Acosta-Gallegos, J. A., & Chiquito-Almanza, E. (2021). Leguminosas de grano en México: variedades mejoradas de frijol y garbanzo desarrolladas por el INIFAP. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *25*, 63–75. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i25.2827>
- Anigboro, A. A., Aganbi, E., & Tonukari, N. J. (2020). Solid State Fermentation of Maize (*Zea mays* L) Offal by *Rhizopus oligosporus*; under Acidic and Basic Conditions. *Journal of Scientific Research*, *12*(4), 751–756. <https://doi.org/10.3329/jsr.v12i4.46993>
- AOAC. (1999). *Official Methods of Analysis*.
- Aparicio-Fernández, X., García-Gasca, T., Yousef, G. G., Lila, M. A. , González de Mejía, E., & Loarca-Pina, G. (2006). Chemopreventive activity of polyphenolics from black Jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on HeLa and HaCaT cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(6), 2116–2122.

- Argüello-García, E., Martínez-Herrera, J., Córdova-Téllez, L., Sánchez-Sánchez, O., & Corona-Torres, T. (2017). Propiedades de textura, química y sensorial de tortillas de maíz fortificadas con harina de *Jatropha curcas* L. no tóxica. *CYTA - Journal of Food*, *15*(2), 301–306. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1255915>
- Arnal, M., Gallego, M., Talens, P., & Mora, L. (2023). Impact of thermal treatments and simulated gastrointestinal digestion on the α -amylase inhibitory activity of different legumes. *Food Chemistry*, *418*, 135884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135884>
- Arribas, C., Cabellos, B., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2019). Extrusion effect on proximate composition, starch and dietary fibre of ready-to-eat products based on rice fortified with carob fruit and bean. *LWT*, *111*, 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.064>
- Astorga-Gaxiola, A. H. (2023). *Impacto de la Microbiota Colónica en la Capacidad Antioxidante de Compuestos Fenólicos de Tortillas de Maíz Azul, y Actividad Antihipertensiva de Hidrolizados de Tortilla Extrudida de Maíz Azul Adicionada con Frijol Tépari*. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- Astorga-Gaxiola, A. H., Reyes-Moreno, C., Sandoval-Sicairos, E. S. (2023). Tortillas, En: *Cereal-Based Food Product* (Ahmad Shad, M., Valiyapeediyekkal Sunooj, K., & Ahmad Mir, S. Ed), 127-146, cap. 6, Springer
- Astorga-Gaxiola, A. H., Reyes-Moreno, C., Cuevas-Rodríguez, E. O., y Mora-Rochín, S. (2024). *Microbiota intestinal: aliados en la salud* (J. Milán-Carrillo, N. García-Magallanes, & Argüelles-López, O. D Eds.; 1a ed., Vol. 1, pp. 21–30).
- Asturias, M. A. (2004). *Maíz, de alimento sagrado a negocio del hambre*.
- Avellaneda, I. (2013). *Evaluación de la actividad inhibitoria de la α -glucosidasa (α -GLC) in vitro por extractos vegetales*. Universidad Tecnológica de Pereira.

- Avilés-Gaxiola, S., Chuck-Hernández, C., & Serna Saldívar, S. O. (2018). Inactivation Methods of Trypsin Inhibitor in Legumes: A Review. *Journal of Food Science*, 83(1), 17–29. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13985>
- Barquera, S., Véjar-Rentería, L. S., Aguilar-Salinas, C., Garibay-Nieto, N., García-García, E., Bovecchio, A., Perichart, O., Torres-Tamayo, M., Esquivias-Zavala, H., Villalpando-Carrión, S., García-Méndez, R. C., Apolinar-Jiménez, E., Kaufer-Horwitz, M., Martínez-Montañez, O. G., Fajardo Niquete, I., Aguirre Crespo, A., Gómez-Álvarez, E., Hernández-Jiménez, S. C., Denova-Gutiérrez, E., ... Rivera-Dommarco, J. (2022). Volviéndonos mejores: necesidad de acción inmediata ante el reto de la obesidad. Una postura de profesionales de la salud. *Salud Pública de México*, 225–229. <https://doi.org/10.21149/13679>
- Barrett, M. L., & Udani, J. K. (2011). A proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris*): A review of clinical studies on weight loss and glycemic control. *Nutrition Journal*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-10-24>
- Barrios-Gómez, E. J., López-Castañeda, C., Kohashi-Shibata, J., Acosta-Gallegos, J. A., Miranda-Colín, S., Mayek-Pérez, N., & Canul-Ku, J. (2014). Morfología del embrión en frijol y su comparación entre razas Durango y Jalisco. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(6), 956–978.
- Basto-Abreu, A., López-Olmedo, N., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Moreno-Banda, G. L., Carnalla, M., Rivera, J. A., Romero-Martínez, M., Barquera, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2023). Prevalence of prediabetes and diabetes in Mexico: Ensanut 2022. *Salud Pública de México*, 65. <https://doi.org/10.21149/14832>
- Bertuccioli, A., Cardinali, M., Biagi, M., Moricoli, S., Morganti, I., Zonzini, G. B., & Rigillo, G. (2021). Nutraceuticals and Herbal Food Supplements for Weight Loss: Is There a Prebiotic

- Role in the Mechanism of Action? *Microorganisms*, 9(12), 2427.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9122427>
- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019a). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>
- Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019b). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>
- Bhandari, M. R., Jong-Anurakkun, N., Hong, G., & Kawabata, J. (2008). α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). *Food Chemistry*, 106(1), 247–252.
- Bhanja Dey, T., Chakraborty, S., Jain, K. K., Sharma, A., & Kuhad, R. C. (2016). Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: A review. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 53, pp. 60–74). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.04.007>
- Bhatia, A. , S. B. , A. R. , y A. S. (2019). In vitro evaluation of the α -glucosidase inhibitory potential of methanolic extracts of traditionally used antidiabetic plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 1–9.
- Bhuyan, D. J. & B. A. (2017). *Phenolic compounds potential health benefits and toxicity. Utilisation of bioactive compounds from agricultural and food production waste* Bhuyan, D. J., y Basu, A.
- Bon-Padilla, B. K., Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Reynoso-Camacho, R., Gómez-Aldapa, C. A., Gómez-Favela, M. A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2022). Tortillas made from nixtamalized maize and extruded chickpea flours: A product with improved in vitro nutritional

- and antihypertensive properties. *Cereal Chemistry*, 99(5), 1154–1165.
<https://doi.org/10.1002/cche.10577>
- Bornowski, N., Hart, J. P., Palacios, A. V., Ogg, B., Brick, M. A., Hamilton, J. P., Beaver, J. S., Buell, C. R., & Porch, T. (2023). Genetic variation in a tepary bean (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) diversity panel reveals loci associated with biotic stress resistance. *Plant Genome*, 16(3). <https://doi.org/10.1002/tpg2.20363>
- Brea-Maure, O., Borrás-Sandoval, L. M., & Rache-Cardenal, L. Y. (2022). Fermentación en estado sólido como método para reducir factores antinutricionales en la harina de frutos de *Artocarpus altilis*. *Ciencia en desarrollo*, 13(2), 201–210.
- Cai, Y.-Z., Mei Sun, Jie Xing, Luo, Q., & Corke, H. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78(25), 2872–2888. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.11.004>
- Calderón de la Barca, A. M., Ochoa, J. L., & Valencia, M. E. (1985). Effect of the extraction of a hemagglutinin on the nutritive value of *Amaranthus leucocarpus* seeds. *Journal of Food Science*, 50, 1700–1702.
- Calvillo, A., & Székely, A. (2018). La trama oculta de la epidemia: obesidad, industria alimentaria y conflicto de interes. *El Poder del Consumidor*.
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43(2), 461–482.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.004>
- Capuani, A., Behr, J., & Vogel, R. F. (2013). Influence of lactic acid bacteria on redox status and on proteolytic activity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) sourdoughs.

International Journal of Food Microbiology, 165(2), 148–155.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.020>

Castañeda-Ovando, A., Galán-Vidal, C. A., Pacheco, L., Rodríguez, J. A., & Paez-Hernández, E. (2008). Characterization of Main Anthocyanins Extracted from Pericarp Blue Corn by MALDI-ToF MS. *Food Analytical Methods*, 3, 12–16.

Centrone, M., Gena, P., Ranieri, M., Di Mise, A., D'agostino, M., Mastrodonato, M., Venneri, M., De Angelis, D., Pavan, S., Pasqualone, A., Summo, C., Fanelli, V., Valenti, G., Calamita, G., & Tamma, G. (2020). In vitro and in vivo nutraceutical characterization of two chickpea accessions: Differential effects on hepatic lipid over-accumulation. *Antioxidants*, 9(3).
<https://doi.org/10.3390/antiox9030268>

Chaffey, N. (2014). Raven biology of plants, 8th edn. *Annals of Botany*, 113(7), vii–vii.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcu090>

Chávez-Santoscoy, R. A., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2013). Effect of Flavonoids and Saponins Extracted from Black Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seed Coats as Cholesterol Micelle Disruptors. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(4), 416–423.
<https://doi.org/10.1007/s11130-013-0384-7>

Chu, J., Zhao, H., Lu, Z., Lu, F., Bie, X., & Zhang, C. (2019). Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*. *Food Chemistry*, 294, 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.035>

Chuck Hernández, C. E., & Serna-Saldívar, S. O. (2019). Soybean-fortified nixtamalized corn tortillas and related products. En *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 319–332). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00025-3>

Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Cuadrado, C., Arribas, C., Pedrosa, M. M., De J. Berrios, J., Pan, J., & Morales, P. (2020). Novel gluten-free formulations from lentil flours and

- nutritional yeast: Evaluation of extrusion effect on phytochemicals and non-nutritional factors. *Food Chemistry*, 315, 126175. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126175>
- Cruz-Bravo, R. K., Guevara-Gonzalez, R., Ramos-Gomez, M., Garcia-Gasca, T., Campos-Vega, R., Oomah, B. D., & Loarca-Piña, G. (2011). Fermented Nondigestible Fraction from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivar Negro 8025 Modulates HT-29 Cell Behavior. *Journal of Food Science*, 76(2). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02025.x>
- Cruz-Bravo, R. K., Herrera, D. M., Reyes-Estrada, C. A., & García-Robles, M. J. (2023). *Efecto antidiabético de tallarines con harina extrudida de cotiledones de frijol en un modelo in vivo*.
- Cruz-Silva, M., Madeira, V. M., Almeida, L. M., & Custódio, J. B. (2000). Hemolysis of human erythrocytes induced by tamoxifen is related to disruption of membrane structure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1464(1), 49–61.
- Cuevas-Montilla, E., Hillebrand, S., Antezana, A., & Winterhalter, P. (2011). Soluble and bound phenolic compounds in different Bolivian purple corn (*Zea mays* L.) cultivars. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(13), 7069–7074.
- Da Silva Pinto, M., Kwon, Y. I., Apostolidis, E., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., & Shetty, K. (2008). Functionality of bioactive compounds in Brazilian strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars: evaluation of hyperglycemia and hypertension potential using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4386–4392.
- Dallagnol, A. M., Pescuma, M., De Valdez, G. F., & Rollán, G. (2013). Fermentation of quinoa and wheat slurries by *Lactobacillus plantarum* CRL 778: proteolytic activity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(7), 3129–3140. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4520-3>

- de la Parra, C., Serna Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4177–4183.
- de los Santos-Ramos, M., Rosales, T. R., & Soto, E. E. B. (2017). Dinámica de la producción de maíz y frijol en México de 1980 a 2014. *Agronomía Mesoamericana*, 439–453.
- del Pozo-Insfran, D., Serna Saldivar, S. O., Brenes, C. H., & Talcott, S. T. (2007). Polyphenolics and Antioxidant Capacity of White and Blue Corns Processed into Tortillas and Chips. *Cereal Chemistry*, 84(2), 162–168. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-2-0162>
- Deshpande, S. S., & Cheryan, M. (1985). Evaluation of vanillin assay for tannin of dry beans. *Journal of Food Science*, 50, 905–910.
- Dueñas-Rivadeneira, A. A., Alcívar-Cadeño, U. E., Olazábal-Manso, C. E., & Cortés-Rodríguez, R. (2014). *Efecto antioxidante de la Chuquiraga jussieui J. F. Gmel en el ensayo de hemólisis*.
- Elizalde, A. D., Pismag-Portilla, Y., & Chaparro, D. C. (2009). Antinutritional factors in eatable seeds. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 45–54.
- ENSANUT. (2016). *ENSANUT*. http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf.
- Escalante-Aburto, A., Mariscal-Moreno, R. M., Santiago- Ramos, D., & Ponce-García, N. (2019). An Update of Different Nixtamalization Technologies, and Its Effects on Chemical Composition and Nutritional Value of Corn Tortillas. *Food Reviews International*, 1–43.
- Escalante-Aburto, A., Ponce-García, N., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., & Gutiérrez-Dorado, R. (2016). Specific Anthocyanin Contents of Whole Blue Maize Second-Generation Snacks: An Evaluation Using Response Surface Methodology and Lime Cooking Extrusion. *Journal of Chemistry*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5491693>

- Espinoza Moreno, R. J., Perales Sánchez, J. X. K., Reyes Moreno, C., Gutiérrez Dorado, R., Milán Carrillo, J., Cuevas Rodríguez, E. O., Mora Rochín, S., & Gómez Favela, M. A. (2021). Alimento funcional para adultos mayores producido por extrusión a partir de granos integrales de maíz/frijol común. *Acta Universitaria*, *31*, 1–18. <https://doi.org/10.15174/au.2021.3217>
- FAO (United Nations Food and Agriculture Organization). (2013). *Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition: Report of an FAO Expert Consultation*. FAO Food and Nutrition Paper 92.
- FAOSTAT. (2020). *Comercio. Cultivos y productos de ganadería*. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP>.
- Faraj, A., Vasanthan, T., & Hoover, R. (2004). The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International*, *37*(5), 517–525.
- Fareed-Nagy, M. M. S. (2013). *Statistical methods for improving quality in thermoforming processes*. Universidad Menoufiya, Egipto.
- FDA. (2020). *Contenido de nutrientes en tortilla de maíz*.
- 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*, *142*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111053>
- Félix-Medina, J. V., Montes-Ávila, J., Reyes-Moreno, C., Perales-Sánchez, J. X. K., Gómez-Favela, M. A., Aguilar-Palazuelos, E., & Gutiérrez-Dorado, R. (2020). Second-generation snacks with high nutritional and antioxidant value produced by an optimized extrusion process

- from corn/common bean flours mixtures. *LWT*, 124.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109172>
- Fellows, P. (2000). *Food processing technology: principles and practice* (2nd ed.). CRC Press.
- Feng, X. (2006). *Microbial dynamics during barley tempeh fermentation*. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.
- Fernández-Valenciano, A. F., & Sánchez Chávez, E. (2017). Study of physicochemical properties and nutritional quality in different varieties of beans consumed in Mexico. *Revista electrónica nova ciencia*, 9(18), 133–148.
- Francis, F. J., & Markakis, P. C. (1989). Food colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(4), 273–314. <https://doi.org/10.1080/10408398909527503>
- Freytag, G. F., & Debouck, D. G. (2002). Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. . *BRIT*.
- Gámez-Valdez, L. S., Reyes Moreno, C., Gutiérrez-Dorado, R., Gómez-Aldapa, C. A., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Mora-Rochín, S. (2021). Effect of the extruded amaranth flour addition on the nutritional, nutraceutical and sensory quality of tortillas produced from extruded creole blue maize flour. *Biotechnia*, 23(2), 103–112. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i2.1385>
- Gayral, M., Gaillard, C., Bakan, B., Dalgalarrodo, M., Elmorjani, K., Delluc, C., & Marion, D. (2016). Transition from vitreous to floury endosperm in maize (*Zea mays* L.) kernels is related to protein and starch gradients. *Journal of Cereal Science*, 68, 148–154.
- Gill, S. K., Rossi, M., Bajka, B., & Whelan, K. (2021). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(2), 101–116. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00375-4>

- González-Baltazar, R., León-Cortés, S., Aldrete-Rodríguez, G., Contreras-Estrada, M., Hidalgo-Santacruz, G., & Hidalgo-González, L. (2014). Enfermedades crónico-degenerativas en profesionales de salud en Guadalajara (México). *Salud Uninorte*, *30*(3), 302–310.
- Goñi, I., & Valentín-Gamazo, C. (2003). Chickpea flour ingredient slows glyceemic response to pasta in healthy volunteers. *Food Chemistry*, *81*(4), 511–515. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00480-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00480-6)
- Grajales-García, E. M., Osorio-Díaz, P., Goñi, I., Hervert-Hernández, D., Guzmán-Maldonado, S. H., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Chemical Composition, Starch Digestibility and Antioxidant Capacity of Tortilla Made with a Blend of Quality Protein Maize and Black Bean. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*(1), 286–301. <https://doi.org/10.3390/ijms13010286>
- Guajardo-Flores, D., Serna-Saldívar, S. O., y Gutiérrez-Urbe, J. A. (2013). Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, *141*(2), 1497–1503. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.010>
- Guamán Tacuri, A. B., & López Pérez, G. P. (2023). Preventable hospitalization in chronic degenerative diseases: arterial hypertension and diabetes. *Salud, Ciencia y Tecnología*, *3*. <https://doi.org/10.56294/saludcyt2023487>
- Gutiérrez-Dorado, R., Ayala-Rodríguez, A. E., Milán-Carrillo, J., López-Cervantes, J., Garzón-Tiznado, J. A., López-Valenzuela, J. A., Paredes-López, O., & Reyes-Moreno, C. (2008). Technological and Nutritional Properties of Flours and Tortillas from Nixtamalized and Extruded Quality Protein Maize (*Zea mays* L.). *Cereal Chemistry*, *85*(6), 808–816. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-6-0808>

- Hasim, A. D., Andrianto D, Ai, I., & Dn, F. (2017). Antioxidant and α -Glucosidase inhibitory activity of formulated ethanol extract of red yeast rice and rice bran. ~ 1891 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5), 1891–1893.
- Hayat, I., Ahmad, A., Masud, T., Ahmed, A., & Bashir, S. (2014). Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(5), 580–592. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.596639>
- Hajdysz, M., Kaczmarek, S. A., & Bedford, M. R. (2022). The effect of different temperatures applied during extrusion on the nutritional value of faba bean and degradation of phytic P isomers. *Animal Feed Science and Technology*, 285. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115221>
- Hernández-Hernández, N., Báez-González, J. G., García-Alanís K G, Bautista-Villarreal, M., & Durán-Lugo, R. *. (2023). *Efecto de hidrocoloides en textura de masa de maíz-quínoa como propuesta para mejoramiento de calidad proteica* (Vol. 8).
- Hiai, S., Oura, H., & Nakajima, T. (1976). COLOR REACTION OF SOME SAPOGENINS AND SAPONINS WITH VANILLIN AND SULFURIC ACID. *Planta Medica*, 29(02), 116–122. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1097639>
- Hole, A. S., Kjos, N. P., Grimmer, S., Kohler, A., Lea, P., & Rasmussen, B. (2013). Extrusion of Barley and Oat Improves the Bioaccessibility of Dietary Phenolic Acids in Growing Pigs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61(11), 2739–2747.
- Hoseney, R., & Faubion JM. (1992). *Storage of cereal grains and their products. Physical properties of cereal grains* (In: Sauer DB editor).
- Hou, Y., & Wu, G. (2018). Nutritionally Essential Amino Acids. *Advances in Nutrition*, 9(6), 849–851. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy054>

- Hou, Y., Yin, Y., & Wu, G. (2015). Dietary essentiality of “nutritionally non-essential amino acids” for animals and humans. *Experimental Biology and Medicine*, 240(8), 997–1007. <https://doi.org/10.1177/1535370215587913>
- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L., & Miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of food science*, 42(5), 1269–1273.
- Hu, Y., Piao, C., Chen, Y., Zhou, Y., Wang, D., Yu, H., & Xu, B. (2019). Soybean residue (okara) fermentation with the yeast *Kluyveromyces marxianus*. *Food Bioscience*, 31, 100439. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100439>
- Huang, Y. C., Wu, B. H., Chu, Y. L., Chang, W. C., & Wu, M. C. (2018). Effects of tempeh fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oligosporus* on streptozotocin-induced type II diabetes mellitus in rats. *Nutrients*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/nu10091143>
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I., & Kim, G.-B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
- Inocente-Camones, M. A., Jurado-Teixeira, B., Ramos-Llica, E., Alvarado-Chávez, B., Fuertes-Ruiz, C., Cárdenas-Montoya, L., & Rivera-Castillo, B. (2019). Actividad hipoglucemiante in vitro de los polisacáridos digeridos de *Nostoc sphaericum* Vaucher ex Bornet & Flahault (cushuro). *Horizonte Médico (Lima)*, 19(1), 26–31. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n1.05>
- Jeyakumar, E., & Lawrence, R. (2022). Microbial fermentation for reduction of antinutritional factors. En *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 239–260). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823506-5.00012-6>

- Jiang, F., Du, C., Jiang, W., Wang, L., & Du, S. (2020). The preparation, formation, fermentability, and applications of resistant starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, *150*, 1155–1161. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.124>
- Jiménez-Galindo, J. C., & Acosta-Gallegos, J. A. (2012). Caracterización de genotipos criollos de frijol Tepari (*Phaseolus acutifolius* A. Gray) y común (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo temporal. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *3*(8), 1565–1577.
- Kähkönen, M. P., & Heinonen, M. (2003). Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(3), 628–633. <https://doi.org/10.1021/jf025551i>
- Kakade, M. L., Rackis, J. J., McGhee, J. E., & Puski, G. (1974). Determination of Trypsin Inhibitor Activity of Soy Products: A Collaborative Analysis of an Improved Procedure'. *Cereal Chem*, *51*, 376–382.
- Kazeem, M. I., Adamson, J. O., & Ogunwande, I. A. (2013). Modes of Inhibition of α -Amylase and α -Glucosidase by Aqueous Extract of *Morinda lucida* Benth Leaf. *BioMed Research International*, *2013*, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/527570>
- Kiers, J. L., Van laeken, A. E. A., Rombouts, F. M., & Nout, M. J. R. (2000). In vitro digestibility of Bacillus fermented soya bean. *International Journal of Food Microbiology*, *60*(2–3), 163–169. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00308-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00308-1)
- Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, *64*(5), 923–933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2)
- Kumar, Y., Basu, S., Goswami, D., Devi, M., Shivhare, U. S., & Vishwakarma, R. K. (2022). Anti-nutritional compounds in pulses: Implications and alleviation methods. *Legume Science*, *4*(2). <https://doi.org/10.1002/leg3.111>

- LaFountain, A. M., & Yuan, Y. W. (2021). Repressors of anthocyanin biosynthesis. En *New Phytologist* (Vol. 231, Número 3, pp. 933–949). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nph.17397>
- Lao, F., & Giusti, M. M. (2016). Quantification of Purple Corn (*Zea mays* L.) Anthocyanins Using Spectrophotometric and HPLC Approaches: Method Comparison and Correlation. *Food Analytical Methods*, 9, 1367–1380.
- Le, Anh. V, Parks, Sophie. E., Nguyen, M. H., & Roach, Paul. D. (2018). Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. *Technologies*, 6(3), 84. <https://doi.org/10.3390/technologies6030084>
- León-López, L., Reyes-Moreno, C., Ley-Osuna, A. H., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Gutiérrez-Dorado, R. (2019). Improvement of nutritional and nutraceutical value of nixtamalized maize tortillas by addition of extruded chia flour. *Biotechnia*, XXI(3), 1–12.
- León-López, L., Sánchez-Magaña, L. M., Mora-Rochín, S., & Cuevas-Rodríguez, E. (2018). *Potencial nutraceutico e industrial de taninos presentes en cascarillas de granos comestibles*. (G. A. González-Aguilar, A. Hernández-Mendoza, J. Milán-Carrillo, B. Vallejo-Córdova, & A. F. González-Córdova, Eds.; Vol. 20). Aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria para la obtención de compuestos bioactivos .
- León-Murillo, J. R., Gutiérrez-Dorado, R., Reynoso-Camacho, R., Milán-Carrillo, J., Perales-Sánchez, J. X. K., Cuevas-Rodríguez, E. O., & Reyes-Moreno, C. (2021). TORTILLAS MADE WITH EXTRUDED FLOURS OF BLUE MAIZE AND CHÍA SEEDS AS AN NUTRITIOUS AND NUTRACEUTICAL FOOD OPTION. *Agrociencia*, 55(6), 487–506. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v55i5.2555>

- Li, J., Lim, S. S., Lee, J.-Y., Kim, J.-K., Kang, S.-W., Kim, J.-L., & Kang, Y.-H. (2012). Purple corn anthocyanins dampened high-glucose-induced mesangial fibrosis and inflammation: possible renoprotective role in diabetic nephropathy. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(4), 320–331. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.008>
- Li, J., Wu, H., Liu, Y., & Yang, L. (2020). High fat diet induced obesity model using four strains of mice: kunming, c57bl/6, balb/c and icr. *Experimental Animals*, 69(3), 326–335. <https://doi.org/10.1538/expanim.19-0148>
- Li-Shu, Wang., & Stoner, G. D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer Letters*, 269(2), 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.05.020>
- Liu, K. (2019). Soybean Trypsin Inhibitor Assay: Further Improvement of the Standard Method Approved and Reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(6), 635–645. <https://doi.org/10.1002/aocs.12205>
- Liu, R. H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207–219. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.010>
- Lopez, M. J., & Mohiuddin, S. S. (2024). *Biochemistry, Essential Amino Acids*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/?report=classic>.
- López-Angulo, G., Montes-Avila, J., Díaz-Camacho, S. P., Vega-Aviña, R., Ahumada-Santos, Y. P., & Delgado-Vargas, F. (2019). Chemical composition and antioxidant, α -glucosidase inhibitory and antibacterial activities of three Echeveria DC. species from Mexico. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1964–1973. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.050>
- López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., & Rosas-Rodríguez, J. A. (2006). Analysis of free amino acids in fermented shrimp waste by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1105(1–2), 106–110. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.08.040>

- Ma, Z., Hu, X., & Boye, J. I. (2020). Research advances on the formation mechanism of resistant starch type III: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(2), 276–297. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1523785>
- Madeira-Junior, J. V., Camilo-Barroso, T., & Alves-Macedo, G. (2015). Biotransformation and bioconversion of phenolic compounds obtainment: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1), 75–81. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.803020>
- Malovany, D., Pacyniak, B., Hanacek, A., & Clark, M. O. (2004). Tortillas: A new American staple. *Cereal Food World*, 49, 186–187.
- Mao, M., Wang, P., Shi, K., Lu, Z., Bie, X., Zhao, H., Zhang, C., & Lv, F. (2020a). Effect of solid state fermentation by *Enterococcus faecalis* M2 on antioxidant and nutritional properties of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 94, 102997. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102997>
- Mao, M., Wang, P., Shi, K., Lu, Z., Bie, X., Zhao, H., Zhang, C., & Lv, F. (2020b). Effect of solid state fermentation by *Enterococcus faecalis* M2 on antioxidant and nutritional properties of wheat bran. *Journal of Cereal Science*, 94, 102997. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102997>
- Martín-Cabrejas, M. A. (2019). *CHAPTER 1. Legumes: An Overview* (pp. 1–18). <https://doi.org/10.1039/9781788015721-00001>
- Martínez Martí, J., & Larrea Santos, V. (2023). *Factores antinutricionales en legumbres*.
- Menchaca-Armenta, M. (2020). *Optimización del proceso de nixtamalización por extrusión para la obtención de tortillas de maíz azul (Zea mays L) de calidad con alto contenido de antocianinas bioaccesibles*. Universidad de Sonora.
- Messina, V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100, 437S-442S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.071472>

- Miguel, M. G. (2011). Anthocyanins: Antioxidant and/or anti-inflammatory activities. *Journal of applied pharmaceutical science*, 01(06), 07–15.
- Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Curvas-Rodriguez, E. O., Sánchez-Magaña, L. M., Rochín-Medina, J. J., & Reyes-Moreno, C. (2017). *Bebida funcional con potencial antidiabético y antihipertensivo elaborada con maíz azul y frijol negro bioprocesados*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61054247009>
- Milán-Carrillo, J., Montoya-Rodríguez, A., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, X., & Reyes-Moreno, C. (2012). Optimization of Extrusion Process for Producing High Antioxidant Instant Amaranth (<i>Amaranthus hypochondriacus</i> L.) Flour Using Response Surface Methodology. *Applied Mathematics*, 03(10), 1516–1525. <https://doi.org/10.4236/am.2012.330211>
- Mirmiran, P., Yuzbashian, E., Asghari, G., Sarverzadeh, S., & Azizi, F. (2018). Dietary fibre intake in relation to the risk of incident chronic kidney disease. *British Journal of Nutrition*, 119(5), 479–485. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003671>
- Mojica, L., & de Mejía, E. G. (2015). Characterization and Comparison of Protein and Peptide Profiles and their Biological Activities of Improved Common Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mexico and Brazil. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(2), 105–112. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0477-6>
- Morales, P., Berrios, J. D. J., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Muzquiz, M., & Pedrosa, M. M. (2015). Novel fiber-rich lentil flours as snack-type functional foods: an extrusion cooking effect on bioactive compounds. *Food & Function*, 6(9), 3135–3143. <https://doi.org/10.1039/C5FO00729A>
- Morales-Ramírez S, & Tapia-García, D. (2021). Tortillas: Una fuente benéfica de calcio para enfermedades cardiovasculares en México. *RD-ICUAP*, 19, 47–63.

- Mora-Rochín, S., Gaxiola-Cuevas, N., Gutiérrez-Uribe, J. A., Milán-Carrillo, J., Milán-Noris, E. M., Reyes-Moreno, C., Serna-Saldivar, S. O., & Cuevas-Rodríguez, E. O. (2016). Effect of traditional nixtamalization on anthocyanin content and profile in Mexican blue maize (*Zea mays* L.) landraces. *LWT - Food Science and Technology*, *68*, 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.009>
- Mora-Rochín, S., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, *52*(3), 502–508. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.010>
- Mora-Rochín, S., Leyva-García, N. J., León-López, L., & Sánchez-Magaña, L. M. (2024). *Tempe y sus beneficios en la salud* (1a ed., Vol. 1, pp. 155–167).
- Mora-Uzeta, C., Cuevas-Rodríguez, E. O., López-Cervantes, J., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., & Reyes-Moreno, C. (2019). *Improvement nutritional/Antioxidant properties of underutilized legume tepary bean (Phaseolus acutifolius) by solid state fermentation*.
- Mukhopadhyay, N., & Bandyopadhyay, S. (2003). Extrusion cooking technology employed to reduce the anti-nutritional factor tannin in sesame (*Sesamum indicum*) meal. *Journal of Food Engineering*, *56*(2–3), 201–202. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00250-9](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00250-9)
- Mutlu, C., Arslan-Tontul, S., Candal, C., Kilic, O., & Erbas, M. (2018). Physicochemical, Thermal, and Sensory Properties of Blue Corn (*Zea Mays* L.). *Journal of Food Science*, *83*(1), 53–59. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14014>
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., & Pedrosa, M. M. (2012). Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for

- nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*, 11(2–3), 227–244.
<https://doi.org/10.1007/s11101-012-9233-9>
- Nankar, A. N., Dungan, B., Paz, N., Sudasinghe, N., Schaub, T., Holguin, F. O., & Pratt, R. C. (2016). Quantitative and qualitative evaluation of kernel anthocyanins from southwestern United States blue corn. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4542–4552.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7671>
- Nankar, A. N., Scott, M. P., & Pratt, R. C. (2020). Compositional Analyses Reveal Relationships among Components of Blue Maize Grains. *Plants*, 9(12), 1775.
<https://doi.org/10.3390/plants9121775>
- Nath, H., Samtiya, M., & Dhewa, T. (2022). Beneficial attributes and adverse effects of major plant-based foods anti-nutrients on health: A review. En *Human Nutrition and Metabolism* (Vol. 28). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.hnm.2022.200147>
- Nawaz, M., Taha, M., Qureshi, F., Ullah, N., Selvaraj, M., Shahzad, S., Chigurupati, S., Abubshait, S. A., Ahmad, T., Chinnam, S., & Hisaindee, S. (2022). Synthesis, α -amylase and α -glucosidase inhibition and molecular docking studies of indazole derivatives. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(21), 10730–10740.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1947892>
- Nchanji, E. B., & Ageyo, O. C. (2021). Do Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Promote Good Health in Humans? A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical and Randomized Controlled Trials. *Nutrients*, 13(11), 3701. <https://doi.org/10.3390/nu13113701>
- Nguyen-Thai, N., Van-Camp, J., Smagghe, G., & Raes, K. (2014). Improved Release and Metabolism of Flavonoids by Steered Fermentation Processes: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 19369–19388.
<https://doi.org/10.3390/ijms151119369>

- Nickavar, B., Alinaghi, A., & Kamalinejad, M. (2008). *Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species*. www.SID.ir
- NOM-015-SSA2-. (1994). *Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-1994, "Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria"*. <http://www.issste-cmn20n.gob.mx/Datos/Normas/NOM-015-SSA2-1994.pdf>.
- NOM-062-ZOO-. (1999). *NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio*.
- Nosworthy, M., Medina, G., Franczyk, A., Neufeld, J., Appah, P., Utioh, A., Frohlich, P., & House, J. (2018). Effect of Processing on the In Vitro and In Vivo Protein Quality of Beans (*Phaseolus vulgaris* and *Vicia Faba*). *Nutrients*, 10(6), 671. <https://doi.org/10.3390/nu10060671>
- Nout, M. J. R., & Kiers, J. L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), 789–805. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x>
- 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. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1480007>
- Omosebi, M. O., Osundahunsi, O. F., & Fagbemi, T. N. (2018). Effect of extrusion on protein quality, antinutritional factors, and digestibility of complementary diet from quality protein maize and soybean protein concentrate. *Journal of Food Biochemistry*, 42(4), e12508. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12508>
- OMS. (2016). *Organización Mundial de la Salud*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.

- Oyedemi, S. O., Oyedemi, B. O., Ijeh, I. I., Ohanyerem, P. E., Coopoosamy, R. M., & Aiyegoro, O. A. (2017). Alpha-Amylase Inhibition and Antioxidative Capacity of Some Antidiabetic Plants Used by the Traditional Healers in Southeastern Nigeria. *The Scientific World Journal*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/3592491>
- Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Delikanli, B. (2014). Phenolics in Human Health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5), 393–396. <https://doi.org/10.7763/ijcea.2014.v5.416>
- Paesani, C., Bravo-Núñez, Á., & Gómez, M. (2020). Effect of extrusion of whole-grain maize flour on the characteristics of gluten-free cookies. *LWT*, 132, 109931. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109931>
- Pasqualone, A., Costantini, M., Coldea, T. E., & Summo, C. (2020). Use of Legumes in Extrusion Cooking: A Review. En *Foods* (Vol. 9, Número 7). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods9070958>
- Pathaw, N., Devi, K. S., Sapam, R., Sanasam, J., Monteshori, S., Phurailatpam, S., Devi, H. C., Chanu, W. T., Wangkhem, B., & Mangang, N. L. (2022). A comparative review on the anti-nutritional factors of herbal tea concoctions and their reduction strategies. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.988964>
- Pedreschi, R., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry*, 100(3), 956–963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.004>
- Peng, Q., Khan, N. A., Wang, Z., & Yu, P. (2014). Moist and dry heating-induced changes in protein molecular structure, protein subfractions, and nutrient profiles in camelina seeds. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 446–457. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7298>
- Pérez-Cruz, E., Calderón-Du Pont, E. D., Cardoso-Martínez, C., Dina-Arredondo, V. I., Gutiérrez-Déciga, M., Mendoza-Fuentes, C. E., Obregón-Ríos, D. M., Sofía Ramírez-Sandoval, A., Rojas-Pavón, B., Rosas-Hernández, L. R., & Volantín-Juárez, F. E. (2020). Artículos de

- revisión Nutritional strategies in the management of patients with diabetes mellitus. En *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* (Vol. 58, Número 1).
- Plazas Guerrero, C. G., Acosta Cota, S. D. J., Castro Sánchez, F. H., Vergara Jiménez, M. D. J., Ríos Burgueño, E. R., Sarmiento Sánchez, J. I., Picos Corrales, L. A., & Osuna Martínez, U. (2021). Evaluation of sucrose-enriched diet consumption in the development of risk factors associated to type 2 diabetes, atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease in a murine model. *International Journal of Environmental Health Research*, 31(6), 651–669. <https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1680817>
- Porch, T., Beaver, J., Debouck, D., Jackson, S., Kelly, J., & Dempewolf, H. (2013). Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to Climate Change. *Agronomy*, 3(2), 433–461. <https://doi.org/10.3390/agronomy3020433>
- Posovszky, C., & Wabitsch, M. (2015). Regulation of Appetite, Satiation, and Body Weight by Enteroendocrine Cells. Part 1: Characteristics of Enteroendocrine Cells and Their Capability of Weight Regulation. *Hormone Research in Paediatrics*, 83(1), 1–10. <https://doi.org/10.1159/000368898>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Prophet, E., Mills, B., Arrington, J., & Sobin, L. H. (1995). Manual de Métodos Histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. *Métodos histotecnológicos. Registro de Patología*.
- Quintero-Fernández, M. G., Alanís-García, E., Ortega-Ariza, J. A., & Ramírez-Moreno, E. (2022). El consumo de las leguminosas y su efecto sobre la prevalencia del síndrome metabólico.

Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 11(21), 139–149. <https://doi.org/10.29057/icsa.v11i21.9664>

Quiñonez-Bastidas, G. N., Osuna-Martínez, U., Reda-Licea, A. L., López-Ortíz, M., Regla, I., & Navarrete, A. (2022). Synergistic action between a synthetic cannabinoid compound and tramadol in neuropathic pain rats. *Acta Pharmaceutica*, 72(4), 509–527. <https://doi.org/10.2478/acph-2022-0037>

Ramírez-Jiménez, A. K., Reynoso-Camacho, R., Tejero, M. E., León-Galván, F., & Loarca-Piña, G. (2015). Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipid-lowering mechanisms. *Food Research International*, 76, 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.01.002>

Rani, P., Kumar, A., Purohit, S. R., & Rao, P. S. (2018). Impact of fermentation and extrusion processing on physicochemical, sensory and bioactive properties of rice-black gram mixed flour. *LWT*, 89, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.050>

Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits. En *Food Research International* (Vol. 136). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109298>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Recek, N., Holc, M., Vesel, A., Zaplotnik, R., Gselman, P., Mozetič, M., & Primc, G. (2021). Germination of *Phaseolus vulgaris* L. Seeds after a Short Treatment with a Powerful RF Plasma. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6672. <https://doi.org/10.3390/ijms22136672>

- Reyes-Bastidas, M., Reyes-Fernández, E. Z., López-Cervantes, J., Milán-Carrillo, J., Loarca-Piña, G. F., & Reyes-Moreno, C. (2010). Physicochemical, Nutritional and Antioxidant Properties of Tempeh Flour from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science and Technology International*, *16*(5), 427–434. <https://doi.org/10.1177/1082013210367559>
- Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Valdez-Ortiz, Á., Delgado-Vargas, F., Sánchez-Magaña, L. M., Rochín-Medina, J. J., & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Bebida con potencial nutracéutico elaborada con maíz QPM extrudido y frijol fermentado. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, *1*(3), 62–77.
- Reyes-Moreno, C., Reyes-Fernández, P. C., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., & Mora-Rochín, S. (2018). Changes in Nutritional Properties and Bioactive Compounds in Cereals During Extrusion Cooking. En *Extrusion of Metals, Polymers and Food Products*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.68753>
- Reynoso-Camacho, R., Ríos-Ugalde, M. del C., Torres Pacheco, I., & Acosta-Gallegos, J. A. (2007). El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Agricultura técnica México*, *33*, 43–52.
- Riaz, M. N. (2000). *Extruders in Food Applications* (M. N. Riaz, Ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781482278859>
- Rochín-Medina, J. J., Gutiérrez-Dorado, R., Sánchez-Magaña, L. M., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Mora-Rochín, S., Valdez-Ortiz, A., & Reyes-Moreno, C. (2015). Enhancement of nutritional properties, and antioxidant and antihypertensive potential of black common bean seeds by optimizing the solid state bioconversion process. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *66*(5), 498–504. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1052377>

- Rochín-Medina, J. J., Mora-Rochín, S., Aguayo Rojas, J., Navarro-Cortez, R. O., Tovar-Jimenez, X., Quiñones-Reyes, G., & Ayala-Luján, J. L. (2021). Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de variedades de frijol sembradas en el estado de Zacatecas. *Acta Universitaria*, *31*, 1–13. <https://doi.org/10.15174/au.2021.3059>
- Rodiles-López, J. O., Martínez-Flores, H. E., Zamora-Vega, R., Arriaga-Martínez, L. P., & García-Martínez, R. M. (2018). *Desarrollo de una tortilla adicionada con harinas de aguacate y nopal y su efecto en la reducción de colesterol, triglicéridos y glucosa en ratas*. <http://biotecnia.unison.mx>
- Ros Berruero, G., & Periago Castón, M. J. (2017). Calidad y composición nutritiva de hortalizas, verduras y legumbres. *Ed. Médica Panamericana*, *3*, 251–263.
- Rossetto, M., Vanzani, P., Lunelli, M., Scarpa, M., Mattivi, F., & Rigo, A. (2007). Peroxyl radical trapping activity of anthocyanins and generation of free radical intermediates. *Free Radical Research*, *41*(7), 854–859. <https://doi.org/10.1080/10715760701261533>
- Sabiu, S., O'Neill, F. H., & Ashafa, A. O. T. (2016). Kinetics of α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential of *Zea mays* Linnaeus (Poaceae), *Stigma maydis* aqueous extract: An in vitro assessment. *Journal of Ethnopharmacology*, *183*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.024>
- Sachdeva, V., Roy, A., & Bharadvaja, N. (2020). Current Prospects of Nutraceuticals: A Review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, *21*(10), 884–896. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200130113441>
- Salas-López, F., Gutiérrez-Dorado, R., Milan-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Canizales-Román, V. A., León-Sicairos, C. del R., & Reyes-Moreno, C. (2018). Nutritional and antioxidant potential of a desert underutilized legume – tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). Optimization of germination bioprocess. *Food Science and Technology*, *38*(suppl 1), 254–262. <https://doi.org/10.1590/fst.25316>

- Salinas-Moreno, Y., Martínez-Bustos, F., Soto-hernandez, M., Ortega-Paczka, R., & Arellano-Vázquez, J. L. (2003). Effect of alkaline cooking process on anthocyanins in pigmented maize grain. *Agrociencia*, *37*, 617–628.
- Salmenkallio-Marttila, M., Liisa Heiniö, R.-L., Myllymäki, O., & Lille, M. (2008). Relating microstructure, sensory and instrumental texture of processed oat. *Agricultural and Food Science*, *13*(1–2), 124. <https://doi.org/10.2137/1239099041838102>
- Sammán, N., Gimenez, A., Segundo, C., & Lobo, M. (2022). *Biodiversity of Andean Maize (Zea mays)*. *Nutritional, Functional, and Technological Properties* (1a ed.).
- Sánchez, I., Reynoso-Camacho, R., & Salgado, L. M. (2015). The diet-induced metabolic syndrome is accompanied by whole-genome epigenetic changes. *Genes & Nutrition*, *10*(4), 21. <https://doi.org/10.1007/s12263-015-0471-5>
- Sánchez-Madrigal, M. Á., Quintero-Ramos, A., Martínez-Bustos, F., Meléndez-Pizarro, C. O., Ruiz-Gutiérrez, M. G., Camacho-Dávila, A., Torres-Chávez, P. I., & Ramírez-Wong, B. (2015). Effect of different calcium sources on the bioactive compounds stability of extruded and nixtamalized blue maize flours. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(5), 2701–2710. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1307-9>
- Sánchez-Magaña, L. M., Cuevas-Rodríguez, E. O., Gutiérrez-Dorado, R., Ayala-Rodríguez, A. E., Valdez-Ortiz, A., Milán-Carrillo, J., & Reyes-Moreno, C. (2014). Influence of solid-state bioconversion by *Rhizopus oligosporus* on antioxidant activity and phenolic compounds of maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *65*(5), 558–564. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.893284>
- Sanchez-Magaña, L. M., Reyes-Moreno, C., Milan-Carrillo, J., Mpra-Rochín, S., León-López, L., Gutiérrez-Dorado, R., & Cuevas-Ridriguez, E. O. (2019). Influence of solid-state

- bioconversion by “*Rhizopus oligosporus*” on antioxidant activity and phenolic compounds of maize (“*Zea mays*” L.). *Agrociencia*, 53(1), 45–57.
- Sangacha-Arias, R. S., Salazar-Zari, V. S., Calle-Tito, E. P., & Vicuña-Caguana, P. M. (2023). *REVISTA JUVENTUD Y CIENCIA SOLIDARIA: En el camino de la investigación Alimentos nutracéuticos, la nueva forma de vida*.
- Selle, P. H., Ravindran, V., Caldwell, A., & Bryden, W. L. (2000). Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutrition Research Reviews*, 13(2), 255–278. <https://doi.org/10.1079/095442200108729098>
- Sharma, B. B., Rai, K., Blunt, H., Zhao, W., Tosteson, T. D., & Brooks, G. A. (2021). Pathogenic DPYD Variants and Treatment-Related Mortality in Patients Receiving Fluoropyrimidine Chemotherapy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Oncologist*, 26(12), 1008–1016. <https://doi.org/10.1002/onco.13967>
- Sharma, P., Gujral, H. S., & Singh, B. (2012). Antioxidant activity of barley as affected by extrusion cooking. *Food Chemistry*, 131(4), 1406–1413. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.009>
- Sheerens, J. C. ;, Tinsley, A. M. ;, Abbas, I. R. ;, Weber, C. W. ;, & Berry, J. W. (1983). *The Nutritional Significance of Tepary Bean Consumption Item Type Article*. <http://hdl.handle.net/10150/552174>
- Shinohara, S., Gu, Y., Yang, Y., Furuta, Y., Tanaka, M., Yue, X., Wang, W., Kitano, M., & Kimura, H. (2016). Ethanol extracts of chickpeas alter the total lipid content and expression levels of genes related to fatty acid metabolism in mouse 3T3-L1 adipocytes. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(2), 574–584. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2016.2654>
- Silbernagl, S., & Despopoulos, A. (2007). *Fisiología: texto y atlas* (7a ed.). Editorial médica panamericana.

- Sindhu, S. C., & Khetarpaul, N. (2001). Probiotic Fermentation of Indigenous Food Mixture: Effect on Antinutrients and Digestibility of Starch and Protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14(6), 601–609. <https://doi.org/10.1006/jfca.2001.1022>
- Singh, B., Singh, J. P., Singh, N., & Kaur, A. (2017). Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. *Food Chemistry*, 233, 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.161>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent* (pp. 152–178). [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Smorowska, A. J., Żołnierczyk, A. K., Nawirska-Olszańska, A., Sowiński, J., & Szumny, A. (2021). Nutritional Properties and In Vitro Antidiabetic Activities of Blue and Yellow Corn Extracts: A Comparative Study. *Journal of Food Quality*, 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/8813613>
- Somavat, P., Kumar, D., & Singh, V. (2018). Techno-economic feasibility analysis of blue and purple corn processing for anthocyanin extraction and ethanol production using modified dry grind process. *Industrial Crops and Products*, 115, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.015>
- Song, H., Han, W., Yan, F., Xu, D., Chu, Q., & Zheng, X. (2016). Dietary *Phaseolus vulgaris* extract alleviated diet-induced obesity, insulin resistance and hepatic steatosis and alters gut microbiota composition in mice. *Journal of Functional Foods*, 20, 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.022>
- Steel, C. J., Gabriela, M., Leoro, V., Schmiele, M., Ferreira, R. E., & Chang, Y. K. (2012). *Thermoplastic Extrusion in Food Processing*. www.intechopen.com

- Stodolak, B., & Starzyńska-Janiszewska, A. (2008). The influence of tempeh fermentation and conventional cooking on anti-nutrient level and protein bioavailability (*in vitro* test) of grass-pea seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2265–2270. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3341>
- Suárez-Martínez, S. E., Ferriz-Martínez, R. A., Campos-Vega, R., Elton-Puente, J. E., de la Torre Carbot, K., & García-Gasca, T. (2016). Bean seeds: leading nutraceutical source for human health. *CyTA - Journal of Food*, 14(1), 131–137. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1063548>
- Sugiharto, S. (2019a). A review of filamentous fungi in broiler production. *Annals of Agricultural Sciences*, 64(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2019.05.005>
- Sugiharto, S. (2019b). A review on fungal fermented cassava pulp as a cheap alternative feedstuff in poultry ration. *Journal of World's Poultry Research*, 9(1), 1–6. <https://doi.org/10.36380/jwpr.2019.0>
- Summo, C., De Angelis, D., Ricciardi, L., Caponio, F., Lotti, C., Pavan, S., & Pasqualone, A. (2019). Data on the chemical composition, bioactive compounds, fatty acid composition, physico-chemical and functional properties of a global chickpea collection. *Data in Brief*, 27, 104612. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104612>
- Szaniawska, M., Taraba, A., & Szymczyk, K. (2015). Budowa, właściwości i zastosowanie antocyjanów. *Nauki inżynierskie i Technologie*, 9(1), 1–6.
- Tanaka, Y., Konno, N., Suzuki, T., & Habu, N. (2020). Starch-degrading enzymes from the brown-rot fungus *Fomitopsis palustris*. *Protein Expression and Purification*, 170, 105609. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2020.105609>
- Tas, A. A., & Shah, A. U. (2021). The replacement of cereals by legumes in extruded snack foods: Science, technology and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 701–711. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.016>

- Terefe, Z. K., Omwamba, M. N., & Nduko, J. M. (2021). Effect of solid state fermentation on proximate composition, antinutritional factors and in vitro protein digestibility of maize flour. *Food Science & Nutrition*, 9(11), 6343–6352. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2599>
- Thompson, M. D., Mensack, M. M., Jiang, W., Zhu, Z., Lewis, M. R., McGinley, J. N., Brick, M. A., & Thompson, H. J. (2012). Cell signaling pathways associated with a reduction in mammary cancer burden by dietary common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Carcinogenesis*, 33(1), 226–232. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr247>
- Tinus, T., Damour, M., van Riel, V., & Sopade, P. A. (2012). Particle size-starch–protein digestibility relationships in cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of Food Engineering*, 113(2), 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.05.041>
- Treviño-Mejía, D., Luna-Vital, D. A., Gaytán-Martínez, M., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2016). Fortification of Commercial Nixtamalized Maize (*Zea mays* L.) with Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Increased the Nutritional and Nutraceutical Content of Tortillas without Modifying Sensory Properties. *Journal of Food Quality*, 39(6), 569–579. <https://doi.org/10.1111/jfq.12251>
- Troesch, B., Jing, H., Laillou, A., & Fowler, A. (2013). Absorption Studies Show that Phytase from *Aspergillus niger* Significantly Increases Iron and Zinc Bioavailability from Phytate-Rich Foods. *Food and Nutrition Bulletin*, 34(2_suppl1), S90–S101. <https://doi.org/10.1177/15648265130342S111>
- Tsuda, T. (2012). Dietary anthocyanin-rich plants: Biochemical basis and recent progress in health benefits studies. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(1), 159–170. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100526>

- Uebersax, M. A., & Occeña, L. G. (2003). LEGUMES | Legumes in the Diet. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (pp. 3520–3528). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00693-3>
- Urbano, G., López-Jurado, M., Frejnagel, S. ławomir, Gómez-Villalva, E., Porres, J. M., Frías, J., Vidal-Valverde, C., & Aranda, P. (2005). Nutritional assessment of raw and germinated pea (*Pisum sativum* L.) protein and carbohydrate by in vitro and in vivo techniques. *Nutrition*, *21*(2), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.04.025>
- Urias-Lugo, D. A., Heredia, J. B., Muy-Rangel, M. D., Valdez-Torres, J. B., Serna-Saldívar, S. O., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2015). Anthocyanins and Phenolic Acids of Hybrid and Native Blue Maize (*Zea mays* L.) Extracts and Their Antiproliferative Activity in Mammary (MCF7), Liver (HepG2), Colon (Caco2 and HT29) and Prostate (PC3) Cancer Cells. *Plant Foods for Human Nutrition*, *70*(2), 193–199. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0479-4>
- Urry, L. A. ., (2017). *Campbell biology: Vol. Eleventh edition*. (11a ed.). New York, NY : Pearson Education, Inc., [2017].
- Uuh Narvaez, J. J., Us Medina, U., Muñoz Rodríguez, D., & Segura Campos, M. R. (2023). Nutritional and functional properties of corn tortillas added with cabbage as an option for diabetes management. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *32*. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100706>
- Vaintraub, I. A., & Lapteva, N. A. (1988). Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry*, *175*(1), 227–230. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(88\)90382-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(88)90382-X)
- Velázquez-Monroy, O., Rosas-Peralta, M., Lara-Esqueda, A., Pastelín-Hernández, G., Sánchez-Castillo, C., Attie, F., & Tapia-Conyer, R. (2003). Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México: Resultados finales

- de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. *Archivos de cardiología de México*, 73(1), 62–77.
- Vergara-Castañeda, H. A., Guevara-González, R. G., Ramos-Gómez, M., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Maldonado, H., Feregrino-Pérez, A. A., Oomah, B. D., & Loarca-Piña, G. (2010). Non-digestible fraction of cooked bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar Bayo Madero suppresses colonic aberrant crypt foci in azoxymethane-induced rats. *Food & Function*, 1(3), 294. <https://doi.org/10.1039/c0fo00130a>
- Visioli, F. (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*, 47(3), 419–425. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00053-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00053-5)
- Wang, Y., Sun, H., Han, B., Li, H. Y., & Liu, X. L. (2022). Improvement of nutritional value, molecular weight patterns (soluble peptides), free amino acid patterns, total phenolics and antioxidant activity of fermented extrusion pretreatment rapeseed meal with *Bacillus subtilis* YY-1 and *Saccharomyces cerevisiae* YY-2. *LWT*, 160, 113280. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113280>
- Watson, S. A. (1987). *Structure and composition*.
- Wolf, M. J., Buzan, C. L., MacMasters, M. M., & Rist, C. E. (1990). *Structure of the Mature Corn Kernel I. Gross anatomy and Structural Relationships II. Microscopic structure of Pericarp, Seed Coat, and Hilar Layer of Dent corn. III. Microscopic structure of the Endosperm of Dent corn* (Vol. 29). Cereal Chemistry.
- Xiao, Z., Fang, L., Niu, Y., & Yu, H. (2015). Effect of cultivar and variety on phenolic compounds and antioxidant activity of cherry wine. *Food Chemistry*, 186, 69–73. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.050>

- Yadav, N., Kaur, D., Malaviya, R., Saini, P., & Anjum, S. (2019). Enhancement in mineral bioavailability of extruded pulses with reduced antinutrients. *British Food Journal*, *121*(11), 2967–2978. <https://doi.org/10.1108/BFJ-04-2019-0236>
- Yang, Y., Zhou, L., Gu, Y., Zhang, Y., Tang, J., Li, F., Shang, W., Jiang, B., Yue, X., & Chen, M. (2007). Dietary chickpeas reverse visceral adiposity, dyslipidaemia and insulin resistance in rats induced by a chronic high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, *98*(04). <https://doi.org/10.1017/S0007114507750870>
- Yang, Z., & Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *11*(1), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.012>
- Yi, C., Qiang, N., Zhu, H., Xiao, Q., & Li, Z. (2022). Extrusion processing: A strategy for improving the functional components, physicochemical properties, and health benefits of whole grains. *Food Research International*, *160*, 111681. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111681>
- Zhang, M., Bai, X., & Zhang, Z. (2011). Extrusion process improves the functionality of soluble dietary fiber in oat bran. *Journal of Cereal Science*, *54*(1), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2011.04.001>
- Zhao, X., Zhang, C., Ma, Y., Corrales, M., Tauscher, B., & Hu, X. (2008). Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *European Food Research and Technology*, *228*, 759–765.
- Zhu, Y., Ling, W., Guo, H., Song, F., Ye, Q., Zou, T., Li, D., Zhang, Y., Li, G., Xiao, Y., Liu, F., Li, Z., Shi, Z., & Yang, Y. (2013). Anti-inflammatory effect of purified dietary anthocyanin in adults with hypercholesterolemia: A randomized controlled trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *23*(9), 843–849. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.06.005>

Žilić, S., Serpen, A., Akilloğlu, G., Gökmen, V., & Vančetović, J. (2012). Phenolic Compounds, Carotenoids, Anthocyanins, and Antioxidant Capacity of Colored Maize (*Zea mays* L.) Kernels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(5), 1224–1231. <https://doi.org/10.1021/jf204367z>

XI. ANEXOS

A Congreso internacional

II Congreso Internacional en Ciencias Alimentarias y Biotecnología (CICAB II). Trabajo titulado "Proceso secuencial por FES / extrusión en frijol sobre propiedades antioxidantes y antidiabéticas" llevado a cabo en la ciudad de Hermosillo, Sonora del 15 al 17 de noviembre del 2023.

B Estancia de investigación

Estancia Académica en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos, adscrito al Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias del Instituto Tecnológico de Sonora, campus Obregón centro, bajo la responsabilidad del Dr. Jaime López Cervantes, durante el periodo: 30 de enero al 3 de febrero del 2023.

A



Universidad de Sonora
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

otorga la presente

CONSTANCIA

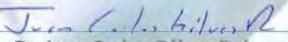
a:

Samantha Ochoa Sandoval

Por su valiosa participación como ponente en el **II Congreso Internacional en Ciencias Alimentarias y Biotecnología**, llevado a cabo en la Universidad de Sonora del 15 al 17 de noviembre de 2023, con el trabajo titulado: "Proceso secuencial por FES / extrusión en frijol sobre propiedades antioxidantes y antidiabéticas" por Ochoa-Sandoval S, Sánchez-Magaña LM, Osuna-Martínez LU, López-Cervantes J, Reyes-Moreno C, León-López L, Cuevas-Rodríguez EO, Gutiérrez-Dorado E, Mora-Rochín S.

Atentamente
"El saber de mis hijos hará mi grandeza"
Hermosillo, Sonora, noviembre de 2023.


Dr. José Luis Cárdenas López
Presidente del Comité Organizador


Dr. Juan Carlos Gálvez Ruiz
Coordinador General
Facultad Interdisciplinaria de Ciencias Biológicas y de Salud


Dra. Carmen María López Saiz
Jefa de Departamento
Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos

CICAB II
CONGRESO INTERNACIONAL EN
CIENCIAS ALIMENTARIAS Y BIOTECNOLOGÍA

B

Instituto Tecnológico de Sonora
5 de Febrero No. 818 sur
Teléfono (644) 410-09-01, Apdo. 335
C.P. 85000 Ciudad Obregón, Sonora,
México www.itson.mx



A QUIÉN CORRESPONDA:

Por medio de la presente, se informa que **C. Samantha Ochoa Sandoval** estudiante del Programa de Posgrado Integral en Biotecnología de la Universidad Autónoma de Sinaloa, realizó una estancia Académica en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos, adscrito al Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias del Instituto Tecnológico de Sonora, campus Obregón centro, bajo la responsabilidad del **Dr. Jaime López Cervantes**, durante el periodo: 30 de enero al 3 de febrero del 2023.

Así también, se informa que Ochoa Sandoval realizó una serie de análisis cromatográficos en muestras (Extractos de frijol tépari y maíz azul), que ella trajo como parte de su proyecto de tesis que está realizando en la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la asesoría de la **Dra. Saraid Mora Rochín**.

Y para que así conste, se firma esta carta de terminación de estancia, en Cd. Obregón Sonora, a los 09 días del mes de mayo del 2024,



Dr. Jaime López Cervantes
Profesor - Investigador
Depto. de Biotecnología y Ciencias Alimentarias

