

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA**



**“TORTILLAS ELABORADAS CON MEZCLA EXTRUIDA DE
MAÍZ AZUL Y PSEUDOCEREALES Y SU EFECTO EN EL
CONTROL DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LA
OBESIDAD”**

Tesis

Como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

Q.F.B. Guadalupe Montserrat Pérez Guerrero

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

Santiago de Querétaro, Qro., de 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



TORTILLAS ELABORADAS CON MEZCLA EXTRUIDA DE
MAÍZ AZUL Y PSEUDOCEREALES Y SU EFECTO EN EL
CONTROL DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LA
OBESIDAD

por

Guadalupe Montserrat Pérez Guerrero

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-309128



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Tortillas elaboradas con mezcla extruida de maíz azul y pseudocereales y su efecto en el control de la microbiota asociada a la obesidad”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestría en
Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

Q.F.B. Guadalupe Montserrat Pérez Guerrero

Dirigido por:

Dra. Rosalía Reynoso Camacho

SINODALES

Dra. Rosalía Reynoso Camacho
Presidente

Dr. Cuauhtémoc Reyes Moreno
Secretario

Dra. Marcela Gaytán Martínez
Vocal

Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Suplente

Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez
Suplente

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a vertical line, positioned centrally on the page.

Q.F.B. Guadalupe Montserrat Pérez Guerrero

DEDICATORIA

A mis sobrinos, que haciendo lo que les apasione encuentren paz y felicidad durante todo el camino por el que Dios los guíe. El estudio nos hace quiénes somos, no nos hace ricos, nos hace sabios.

AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo económico para mi manutención durante el desarrollo de esta maestría.

A la Universidad Autónoma de Querétaro por abrirme sus puertas para seguir con mi preparación académica en una institución tan prestigiada.

A Dios por guiar mi camino, por darme y quitarme lo necesario para llegar a donde estoy.

A todo el equipo administrativo de la UAQ especialmente a Carmelita que siempre está pendiente de nosotros los estudiantes, por su apoyo, paciencia y por siempre recibirnos con una sonrisa.

A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por su extraordinaria dirección en este proyecto, por buscar siempre mi crecimiento profesional y personal, por todas sus enseñanzas.

A los miembros de mi comité por guiar mi investigación, por compartir sus conocimientos, por su paciencia, sus buenos consejos y palabras de aliento.

A mis padres, Ángela Guerrero y José Luis Pérez, este espacio es demasiado pequeño para todo lo que yo tendría que agradecerles, simplemente gracias por absolutamente todo lo que han hecho por mí, por criarme y dejarme crecer a mi manera.

A mis tres personas favoritas, mi hermana Celia y mis sobrinos Dibanhi y...; por ser mi motivación, mi alegría, mis ganas, mi fuerza, mi valor, mi todo, mi mundo vale oro porque ustedes lo habitan.

A mis compañeros de laboratorio, Alex, Bere, Raúl, Ricardo, Paloma, Hugo, Rogelio y Anita por la convivencia tan plena, por estar dispuestos a ayudar siempre, por compartir su conocimiento conmigo.

A Berenice Valdez, Alexandro Escobar y Alejandro Ríos porque me hicieron creer en la amistad otra vez, porque Dios sabe exactamente lo que pone en tu camino, los momentos más bonitos de mi maestría, fueron con ustedes.

A la Dra. Mariela Menchaca que llegó para dejar huella, me enseñó muchas cosas en tan solo unos meses, sobre todo a ser mejor persona y estudiante, por convertirse en mi mentora y mi amiga tan querida.

A Nayeli, que siempre está, me escucha y me anima, por reír y llorar conmigo durante éste y todos mis procesos.

A mis roomies, Alex, Haiku, Cristi y Coco, vivir con ustedes ha sido pleno en todos los sentidos, por su apoyo y su paciencia, por aceptarme en su casa y ser tan amables siempre.

RESUMEN

Tortillas elaboradas con mezclas de maíz, leguminosas y pseudocereales presentan una fuente de compuestos bioactivos y fibra, los cuales favorecen el crecimiento de bacterias benéficas de la microbiota intestinal. Por otro lado, la extrusión es una alternativa para la preparación de tortillas, mejora el contenido de los compuestos nutricionales y fitoquímicos. Por lo tanto, el objetivo del proyecto es determinar el efecto del consumo de tortillas en el control del peso corporal y su asociación con la microbiota de ratas alimentadas con dieta hipercalórica. Se determinó en las tortillas un análisis proximal y perfil fitoquímico usando UPLC-PDA-ESI-QqQ MS/MS. Posteriormente, se realizó un estudio de prevención de la ganancia de peso corporal en ratas alimentadas con dieta hipercalórica (DAGF) y suplementada con tortillas al 13% (maíz blanco nixtamalizado (MBN), maíz azul extrudido (MAE), MAE-frijol (70:30), MAE-amaranto (70:30) y MAE-chía (75:25). Después, se realizaron estudios metagenómicos para identificar poblaciones bacterianas en heces. Las tortilla MAE-chía presentó un 46 % más de proteína, 22 % de fibra total y 68 % de compuestos fenólicos extraíbles comparado con MAE. El consumo de tortilla MAE- frijol mostró una menor ganancia de peso (6 %) y una disminución de triglicéridos séricos (9 %) en comparación con la DAGF. Por otro lado, el consumo de tortillas MAE-chía y MAE-amaranto presentaron mayores niveles de resistencia a insulina comparado con DAGF en un 52 % y 60 %, respectivamente. Los animales alimentados con tortillas de MAE y sus mezclas mostraron una mejor composición de los filos *Firmicutes/Bacteroidetes*. Sin embargo, la alfa y beta diversidad no mostraron cambios comparados con el grupo alimentado con DAGF. Las tortillas de MAE-frijol o pseudocereales, a pesar de su mayor contenido de compuestos fenólicos y fibra, no presentan mejores beneficios a la salud relacionados con obesidad, comparado con las tortillas de MAE.

Palabras clave: Obesidad, microbiota intestinal, tortillas, maíz, frijol, chíá, amaranto.

ABSTRACT

Tortillas made with mixtures of corn, legumes and pseudocereals are a source of bioactive compounds and fiber, which could favor the growth of beneficial bacteria of the intestinal microbiota. On the other hand, extrusion is an alternative for the preparation of tortillas that enhances the content of nutritional and phytochemical compounds. Therefore, the purpose was to determine the effect of the tortilla consumption in body weight control and its association with the microbiota of rats fed with hypercaloric diet. The tortillas were characterized, including a proximal analysis and phytochemical profile using UPLC-PDA-ESI-QqQ MS/MS. Subsequently, a study of prevention of body weight was carried out in Wistar rats fed with diet high in fat and fructose (HFFD) and supplemented with tortillas at 13 % (white nixtamalized corn (WNC), extruded blue corn (EBC), EBC-extruded bean (70:30), extruded MAE-amaranth (70:30) and extruded MAE-chia (75:25). After, metagenomic studies were performed to identify bacterial populations in fecal samples. The tortilla ECB-chia presented 46 % more protein, 22 % total fiber and 68 % of extractable phenolic compounds compared to ECB. The consumption of tortilla ECB-beans showed a lower weight gain (6%) and decrease in serum triglycerides (9%), compared to the HFFD. While the groups fed with ECB-chia and ECB-amaranth presented higher levels of resistance to insulin compared to DAGF by 52 % and 60 %, respectively. Animals fed with ECB and their mixtures showed a better composition of the *Firmicutes/Bacteroidetes* phyla. However, the alpha and beta diversity did not show changes compared to the DAGF-fed group. Tortillas MAE-beans or pseudocereals extruded, despite their higher content of phenolic compounds and fiber, do not present better health benefits related to obesity, compared to blue corn tortillas.

Keywords: Obesity, intestinal microbiota, tortillas, corn, beans, chia, amaranth.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | v |
| ABSTRACT | vi |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. ANTECEDENTES..... | 3 |
| 2.1. Obesidad..... | 3 |
| 2.2. Microbiota intestinal | 3 |
| 2.2.1. Microbiota intestinal y su asociación con componentes dietarios saludables | 5 |
| 2.3. Dieta en México..... | 6 |
| 2.3.1. Maíz (<i>Zea mays</i> L.) | 6 |
| 2.3.2. Amaranto (<i>Amaranthus</i> sp.) | 8 |
| 2.3.3 Chía (<i>Salvia hispánica</i>) | 9 |
| 2.3.4. Frijol tepari (<i>Phaseolus acutifolius</i>)..... | 10 |
| 2.3.5. Tortilla y su asociación con el control de la obesidad | 13 |
| 2.3.6. Tortillas adicionadas con granos o semillas y elaboradas por el proceso de extrusión | 14 |
| 3. JUSTIFICACIÓN..... | 16 |
| 4. OBJETIVOS..... | 17 |
| 4.1. Objetivo general | 17 |
| 4.2. Objetivos específicos..... | 17 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 17 |
| 5.1 Elaboración de las tortillas y proceso de extrusión | 17 |
| 5.2. Cuantificación de fibra dietaria total, soluble e insoluble | 19 |
| 5.3. Determinación de compuestos fenólicos totales | 19 |
| 5.3.1 Extracción de compuestos fenólicos extraíbles | 19 |
| 5.3.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales | 20 |
| 5.3.3 Cuantificación de flavonoides totales | 20 |
| 5.3.4 Cuantificación de antocianinas..... | 21 |
| 5.3.5 Extracción y cuantificación de proantocianidinas no extraíbles (NEPA) | 21 |
| 5.3.6 Identificación de compuestos polifenoles extraíbles de las tortillas por medio de UPLC-PDA-ESI-QqQ MS-MS. | 22 |
| 5.4. Evaluación <i>in vivo</i> del efecto de la tortilla sobre el control de la obesidad | 22 |
| 5.5 Determinaciones en suero de ratas experimentales | 25 |
| 5.6. Determinación de microbiota intestinal | 25 |
| 5.6.1. Extracción de ADN y secuenciación..... | 25 |

| | |
|--|----|
| 5.6.2. Análisis metagenómico | 26 |
| 5.7. Análisis estadístico | 27 |
| 6. RESULTADOS Y DISCUSIONES | 27 |
| 6.1. Contenido proximal y fitoquímico de las tortillas en estudio | 27 |
| 6.2. Caracterización de ácidos fenólicos y flavonoides extraíbles en las diferentes tortillas en estudio | 30 |
| 6.3. Evaluación <i>in vivo</i> de las diferentes tortillas en estudio | 33 |
| 6.4. Determinación de lípidos en suero y resistencia a insulina de los animales alimentados con las diferentes tortillas en estudio..... | 35 |
| 6.5. Consumo de fibra y compuestos fenólicos de los animales alimentados con las diferentes tortillas en estudio | 38 |
| 6.6 Determinación de la microbiota intestinal en los animales alimentados con las tortillas en estudio | 40 |
| 7.0 CONCLUSIONES | 43 |
| 8.0 Bibliografía..... | 45 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Contenido proximal de tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol | 28 |
| Cuadro 2. Contenido de fibra total, soluble e insoluble en tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol | 29 |
| Cuadro 3. Cuantificación de compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles en tortillas de harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol | 31 |
| Cuadro 4. Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en tortillas de harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol..... | 32 |
| Cuadro 5. Determinación de lípidos en suero de ratas alimentadas con una dieta suplementada con las diferentes tortillas | 36 |
| Cuadro 6. Determinación de resistencia a insulina de ratas alimentadas con una dieta suplementada con las diferentes tortillas..... | 37 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Dietas altas en grasas y carbohidratos y su relación con la microbiota intestinal. | 4 |
| Figura 2. Ganancia del peso corporal de animales alimentados con una dieta suplementada con tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz y adicionadas con pseudocereales y frijol extruidos. | 34 |
| Figura 3. Consumo semanal de kilocalorías de los animales alimentados con una dieta suplementada con las diferentes tortillas. | 34 |
| Figura 4. Porcentaje de almidón disponible presente en las diferentes tortillas en estudio. | 38 |
| Figura 5. Consumo semanal de compuestos fenólicos (a) y fibra dietaria (b) de los animales alimentados con una dieta suplementada con las diferentes tortillas. | 39 |
| Figura 6. Abundancia relativa de la composición de la microbiota intestinal de ratas alimentadas con las diferentes tortillas. | 41 |
| Figura 7. Alfa diversidad medida con el método Chao1 referente a la riqueza bacteriana de cada grupo alimentado con las diferentes tortillas. | 42 |
| Figura 8. Determinación de la beta diversidad medida el método Chao1 referente a la riqueza bacteriana de cada grupo alimentado con las diferentes tortillas. | 43 |

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa y ésta tiene una etiología compleja donde participan varios factores, siendo uno de ellos, la microbiota intestinal (Cuevas-Sierra et al., 2019). La microbiota de una persona obesa presenta menor cantidad del filo *Bacteroidetes* y más del filo *Firmicutes* que las personas con normopeso, y esto se relaciona con la ingesta elevada de grasas y carbohidratos (Amabebe et al., 2020). Por otra parte, se ha demostrado que el consumo de alimentos ricos en fibra y en otros compuestos fitoquímicos mejoran el perfil bacteriano; por lo tanto, los hábitos dietéticos pueden restablecer la microbiota intestinal (Cuevas-Sierra et al., 2019; Kasprzak-Drozd et al., 2021).

La tortilla elaborada con maíz blanco nixtamalizado se considera uno de los principales alimentos de la dieta del mexicano y ésta es una fuente importante de energía para la población. Contiene compuestos con beneficios a la salud como los carotenoides y compuestos fenólicos (García-Chávez et al., 2020). Mientras que las tortillas de maíz azul se caracterizan por su contenido de antocianinas las cuales ayudan a reducir el contenido de grasa visceral (Lee et al., 2017). Además, la tortilla contiene fibra y se ha reportado que la fibra proveniente del maíz se metaboliza por la microbiota intestinal y genera sustratos asociados a la salud del hospedero, y en particular, a la prevención de obesidad (Whisner et al., 2016).

Por otro lado, para mejorar las propiedades de las tortillas se han utilizado otras tecnologías de elaboración como lo es la extrusión. Este proceso mejora la digestibilidad de proteínas y almidones, también conserva los bioactivos como los compuestos fenólicos y aumenta la inhibición de enzimas gastrointestinales como amilasa y glucosidasa (León-Murillo et al., 2020). Adicionalmente, este proceso utilizado para la elaboración de tortillas no genera aguas residuales (nejayote), por lo que es considerado un proceso más ecológico (Reyes-Moreno et al., 2021).

Otra alternativa que se ha propuesto para mejorar los beneficios de las tortillas de maíz es la adición de granos y semillas con alto contenido de nutrimentos y compuestos bioactivos, siendo los alimentos más estudiados; el frijol, la chía y el amaranto. Estos son granos y semillas con alto contenido de fibra, proteínas y

lípidos; mejoran la digestión y se asocian con la disminución de peso corporal (Martínez-Villaluenga et al., 2020). Las semillas de chía son una fuente de compuestos fenólicos, omega-3 y omega-6 que presentan actividad antioxidante, hipoglucemiante, antiinflamatoria y antihipertensiva (Orana-Tamayo et al., 2016). Respecto a las semillas de amaranto, estas tienen un alto contenido de proteína, ácidos grasos insaturados y compuestos bioactivos como los fenólicos, tocoferoles, entre otros. El amaranto presenta actividad antioxidante, hipocolesterolémica, antihipertensiva y antitrombótica (Delgado et al., 2016; Sabbione et al., 2016; Quiroga et al., 2017).

León-López y colaboradores (2019) mejoraron el valor nutricional al aumentar el contenido proteico en un 38 % y el contenido de fibra de tortillas de maíz blanco nixtamalizado mediante la adición de harina de chía desgrasada extrudida. Las tortillas también presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y antihipertensiva que las tortillas elaboradas únicamente con harina de maíz nixtamalizado. Similares resultados fueron obtenidos con harinas extrudidas de maíz azul y chía desgrasada, así como maíz azul y amaranto comparadas con tortillas elaboradas con maíz azul extruido y con harina comercial de maíz (MASECA) (León-Murillo et al., 2020; Gámez-Valdez et al., 2020). Las tortillas elaboradas a base de harinas extrudidas de maíz azul con pseudocereales y frijol presentan mejor digestibilidad y un mayor contenido de compuestos bioactivos que las tortillas de maíz blanco preparadas con el proceso tradicional. Estas tortillas tienen un mayor potencial para prevenir la ganancia de peso corporal y esto podría estar asociado a la microbiota, ya que, la mayoría de los compuestos fenólicos de estas tortillas no se absorben y en conjunto con la fibra, podrían ser sustratos e inductores de bacterias benéficas a la salud, efecto previamente reportado para maíz.

En la presente investigación se estudiaron los cambios en la microbiota de un modelo con obesidad asociados al consumo de tortillas elaboradas con harinas de maíz azul extruido adicionadas con harinas de frijol, chía y amaranto extrudidos.

2. ANTECEDENTES

2.1. Obesidad

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que presenta un riesgo para la salud. Está asociada directamente con enfermedades como la diabetes, la hipertensión y otros padecimientos cardiovasculares, que representan algunas de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo (Rivera-Dommarco et al., 2018). El control y manejo de la obesidad es un reto debido a su etiología, la cual tiene varios factores involucrados en su desarrollo como estilo de vida sedentario, causas genéticas, factores sociales y ambientales, así como dietas energéticamente desequilibradas entre las calorías consumidas y las gastadas (Cuevas-Sierra et al., 2019; Gadde et al., 2018).

Respecto a la dieta, en México ha aumentado el consumo de alimentos con alta densidad energética ricos en azúcar y grasa; y pobres en fibra, minerales y vitaminas. A su vez, ha disminuido la actividad física de las personas, fomentando el sedentarismo y dando origen a índices de masa corporal elevados (Batis et al., 2018). En los últimos años se ha propuesto que otro factor importante causante de la obesidad es la microbiota intestinal (Weihrauch-Blüher y Wiegand, 2018; Geng et al., 2022; Cheng et al., 2022; Sarmiento-Andrade et al., 2022; Cho, 2023; Fan et al., 2023;).

2.2. Microbiota intestinal

La microbiota es una comunidad compleja de alrededor de 100 billones de bacterias en el cuerpo de un adulto, el 80 % de las cuales se encuentran en el intestino (Wang y Wang, 2016). La microbiota intestinal sana tiene funciones en el metabolismo de nutrientes del huésped, de xenobióticos y de fármacos; y en el mantenimiento de la integridad estructural de la barrera intestinal. Además, presenta una resistencia a la colonización y sobrecrecimiento de especies patógenas, proporcionando estabilidad y condiciones de simbiosis a la población microbiana del intestino. Las bacterias benéficas compiten por los sitios de adhesión en los bordes de las células epiteliales de la mucosa intestinal para

prevenir la adhesión y difusión de microorganismos patógenos al interior de las células intestinales (Jandhyala et al., 2015; Kasprzak-Drozd et al., 2021; Ağagündüz et al., 2023; Perler et al., 2023).

Las bacterias anaerobias son quienes dominan este entorno pero también se encuentran virus, hongos, protozoos y arqueas. En el microbioma se encuentran seis filotipos: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinomyces*, *Fusobacterium* y *Verrucomicrobia*. Sin embargo, los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* son quienes destacan en la composición de la microbiota intestinal (Wang y Wang, 2016).

La microbiota intestinal de una persona obesa posee una relación *Firmicutes-Bacteroidetes* diferente en comparación con la microbiota intestinal sana donde predomina *Bacteroidetes* (hasta un 50 % o más). Las personas obesas han mostrado hasta un 90 % menos de *Bacteroidetes* y más de *Firmicutes* que las personas con normopeso, esto se atribuye a la ingesta elevada de grasas y carbohidratos (Figura 1) (Amabebe et al., 2020).

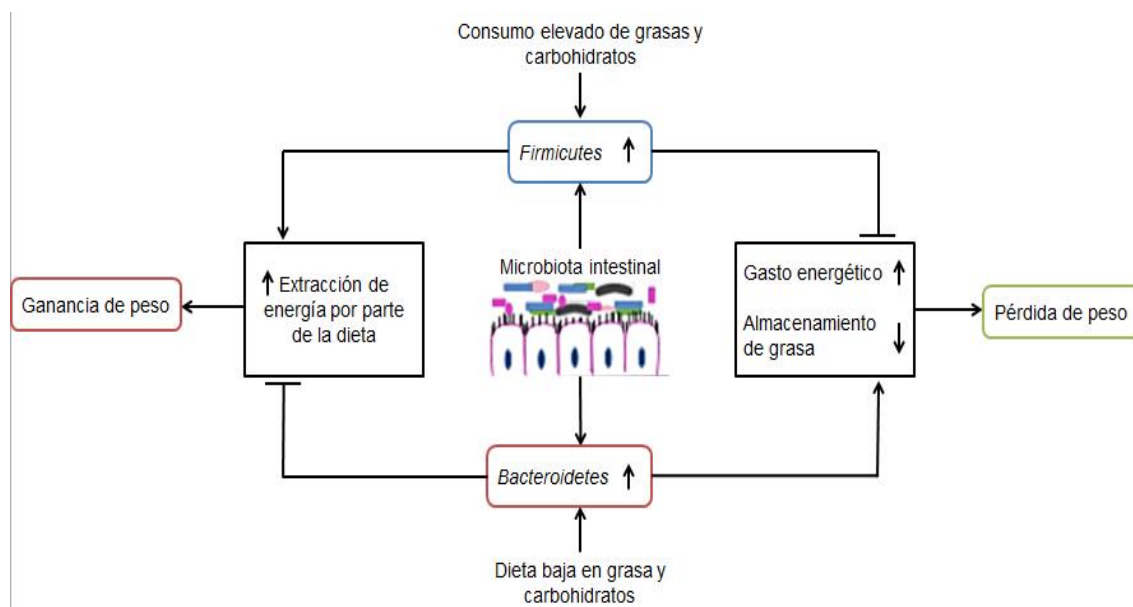


Figura 1. Dietas altas en grasas y carbohidratos y su relación con la microbiota intestinal (adaptado de Amabebe et al., 2020).

Por lo tanto, el consumo de determinados alimentos provoca cambios importantes en la microbiota intestinal que contribuyen al desarrollo mismo de la obesidad y la resistencia a la insulina (Pérez-Herrera y Cruz-López, 2018). Por el contrario, el consumo de fibra y compuestos bioactivos mejoran el perfil bacteriano, lo que indica que los hábitos dietéticos pueden determinar y restaurar la microbiota intestinal (Cuevas-Sierra et al., 2019).

2.2.1. Microbiota intestinal y su asociación con componentes dietarios saludables

El consumo de fibra de los cereales produce un aumento de las especies *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* de la microbiota intestinal que promueven la protección de la barrera intestinal (So et al., 2018). Las bacterias de la microbiota intestinal tienen la capacidad de unirse a los polisacáridos provenientes de la fibra para degradarlos usando enzimas digestivas y generando monosacáridos, estos a su vez producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como acetato, propionato y butirato (Jandhyala et al., 2015).

Los AGCC desencadenan efectos sobre incretinas y otras hormonas intestinales como el polipéptido insulino-trópico dependiente de glucosa; péptido YY (PYY) y el péptido similar a glucágon-1 y -2. Estos están involucrados en regular la motilidad intestinal, saciedad y metabolismo de glucosa. Sin embargo, en años recientes, la función de los AGCC ha sido controversial, ya que altas concentraciones de estos ácidos están asociados con la permeabilidad intestinal y obesidad, ya que produce un exceso de energía (Vialva y Moreno, 2019; Tokarek et al., 2021; Cheng et al., 2022).

Por otro lado, la microbiota intestinal metaboliza las antocianinas como la cianidina-3-glucósido y la peonidina-3-glucósido en ácido vainílico y p-cumárico, de la misma forma la microbiota metaboliza a los ácidos fenólicos y flavonoides a ácido clorogénico, a la catequina y quercetina en ácidos-4-hidroxifenilpropiónicos; y también metaboliza al ácido elágico en urolitinas. Los metabolitos sintetizados por estos polifenoles tienen actividad biológica que ejerce efectos benéficos a la salud humana a través de la modulación de la composición bacteriana,

particularmente incrementan las bacterias gram positivas como la *Faecalibacterium prausnitzii*, que se caracteriza por un efecto antiinflamatorio; y *Roseburia sp.*, que produce butirato. El metabolismo de los polifenoles mencionados presentan un efecto positivo en la prevención de la obesidad (Kasprzak-Drozd et al., 2021).

2.3. Dieta en México

La dieta de la población mexicana se caracteriza por el consumo elevado de alimentos con alta densidad energética, procesados o ultraprocesados, con excesivas cantidades de azúcares, grasas y harinas refinadas, bajo contenido de fibra, así como un elevado consumo de bebidas azucaradas (Rivera-Dommarco et al., 2018).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares (ENIGH), las familias mexicanas destinaron alrededor del 35 % del gasto diario en alimentos y bebidas, principalmente carnes, bebidas azucaradas, cereales, aceites, grasas y alimentos procesados (INEGI, 2019).

El consumo de bebidas azucaradas (refrescos, jugos, lácteos, cafés, tés, aguas frescas) es alto, y comienza desde edades tempranas, tanto los residentes de las zonas rurales como los de zonas urbanas sobrepasan los niveles recomendados de consumo por parte de la guía de alimentación para la población mexicana. Esto mismo sucede con los alimentos de alta densidad energética, por otro lado, la población no abastece el porcentaje recomendado de ingesta para frutas y verduras (Batis et al., 2018). Alimentos básicos que han proporcionado nutrientes y contenido energético a la alimentación tradicional mexicana desde los orígenes prehispánicos son los granos y semillas, particularmente el maíz, frijol, amaranto y chíá (Moreno-Altamirano et al., 2014).

2.3.1. Maíz (*Zea mays* L.)

México es el centro de origen, domesticación y diversificación del maíz (*Zea mays* L.) (Fernández-Suarez et al., 2013). Este es una fuente importante de energía debido a su contenido de almidón. El maíz también contiene otros macronutrientes

y compuestos bioactivos como los polifenoles y terpenoides siendo los más importantes las antocianinas y los carotenos (Lao y Giutsi 2016). Un fitoquímico abundante en este cereal es el ácido ferúlico que se encuentra en diferentes proporciones dependiendo del tipo de maíz. Este también contiene flavonoides como la quercetina y antocionaninas como la cianidina-3-glucósido, pelargonidina-3-glucósido y peonidina-3-glucósido; y respecto a los carotenoides se encuentran el beta-caroteno, la luteína y la zeaxantina (De la Parra et al., 2007; Lao y Giutsi 2016).

El color del maíz se debe principalmente a la presencia de estos metabolitos secundarios, la diferente expresión de estos pigmentos imparte a los tejidos del maíz diferentes colores, desde amarillo anaranjado hasta azul púrpura oscuro, así como colores marfil y crema (Colombo et al., 2021). Además, estos compuestos fenólicos presentan efectos antiobesogénicos, regulando la modulación de disbiosis, disminución de la lipogénesis y de la hipertrofia (Rodríguez-Pérez et al., 2019).

Debido a su cantidad de fibra (3.8 g/100 g), el maíz aporta efectos benéficos a la flora intestinal, mejorando la digestibilidad y el peso corporal, ya que el consumo de 14 g de fibra por día se asoció con una disminución del 10 % en la ingesta de energía y una pérdida de peso de 2 kg durante un período de aproximadamente 4 meses (Almeida-Alvarado et al., 2014).

2.3.1.1 Maíz y microbiota

El contenido de fibra dietética influye en la microbiota intestinal, y no todas las especies bacterianas tienen la misma capacidad para producir las enzimas necesarias para su degradación, así el consumo de ciertas fibras genera mayor abundancia del filo *Bacteroidetes* (Abreu et al., 2021).

El consumo de maíz aumenta la producción del filo *Bacteroidetes* modulando la microbiota intestinal debido a la cantidad de fibra presente, a su vez, incrementa la cantidad de ácidos grasos de cadena corta que tienen funciones locales y sistémicas que favorecen la salud del huésped (Abreu et al., 2021).

Se ha demostrado que la fibra soluble del maíz produce efectos benéficos sobre la modulación de bacterias de la microbiota intestinal, particularmente los géneros *Bacteroides* y *Parabacteroides* del filo *Bacteroidetes* aumentando su concentración, y los géneros *Dorea* y *Ruminococcus* del filo *Firmicutes* disminuyeron cuando se consumió fibra de maíz; esto permite mantener un perfil más sano de la microbiota intestinal (Whisner et al., 2016).

Hasta el momento no existen estudios que demuestren los beneficios de la tortilla y su relación con la microbiota. Sin embargo, este alimento es un material con alto contenido de fibra dietaria y compuestos fenólicos, los cuales podrían modificar los perfiles bacterianos.

2.3.2. Amaranto (*Amaranthus sp.*)

El amaranto es un pseudocereal de alto consumo en México, es utilizado comúnmente como harina para la elaboración de panificación y cereales libres de gluten (Martínez-Villaluenga et al., 2020). En su composición nutrimental se ha descrito que el amaranto aporta proteína, fibra cruda, vitaminas y minerales (Baraniak y Kania-Dobrowolska, 2022).

La alta calidad proteica del amaranto indica que puede usarse solo o como fortificante de alimentos. La fibra (67.7 g/kg) del grano de amaranto consiste en lignina, celulosa y hemicelulosa, estas producen un efecto benéfico sobre el sistema digestivo. Entre los ácidos grasos insaturados en la semilla, los más abundantes son el linoleico, el oleico y el linolénico. En la fracción lipídica del amaranto, los tocoferoles, tocotrienoles y esteroides tienen un papel biológico importante (Baraniak y Kania-Dobrowolska, 2022).

Las propiedades del amaranto combinan las características de un alimento nutricional y una materia prima con potencial terapéutica. Se ha demostrado, en estudios *in vitro* e *in vivo*, que los compuestos bioactivos de las semillas de amaranto, incluidos los compuestos fenólicos, las betaninas y los carotenoides, presenta efectos antioxidantes, antiinflamatorios y otras actividades que promueven la salud (Tsao y Tang, 2017). Algunos de los compuestos bioactivos del amaranto son los flavonoles como la quercetina y el kaempferol; y los

flavonoides como la naringina y amarantina; además de los ácidos cinámicos y benzoicos, como el ácido p-cúmarico.

La glucosidasa y la lipasa pancreática son enzimas importantes para la digestión de carbohidratos complejos y de triglicéridos, respectivamente. Se ha reportado que compuestos bioactivos del amaranto inhiben a estas enzimas, sugiriendo beneficios potenciales en el control de la obesidad y la diabetes tipo 2 (Tsao y Tang, 2017).

Tao y colaboradores (2016) reportaron efectos antiobesogénicos del amaranto en ratones, este tratamiento reguló la microbiota, específicamente aumentaron los niveles del género *Prevotella*, lo que sugiere que el amaranto puede proteger contra la obesidad a partir de la modulación de la microbiota intestinal.

2.3.3 Chía (*Salvia hispánica*)

La chía es una planta herbácea anual que desde hace varios años se ha utilizado con fines medicinales, sus semillas se consumen como ingrediente o complemento de algunos alimentos preparados como batidos, bebidas, horneados o ensaladas. La chía forma frutos redondos que contienen muchas semillas ovaladas y diminutas de 2 mm de largo y 1 mm de ancho. La superficie de la semilla es lisa, brillante, con colores que van desde el blanco hasta el gris y el marrón, con manchas negras dispuestas irregularmente (Kulczynski et al., 2019).

En los últimos años, las semillas de chía se han convertido en un alimento reconocido en el mundo debido a sus propiedades nutricionales y valores medicinales (Orona-Tamayo et al., 2016; Hernández-Pérez et al., 2020; Rabail et al., 2021; Masood, 2022; Agarwal et al., 2023; Khursheed et al., 2023)

Coorey y colaboradores (2012) reportaron que la chía contiene un alto porcentaje de ácidos grasos y una cantidad considerable de ácido α -linolénico. Su contenido de fibra oscila en 33 g/100 g lo cual aporta efectos benéficos al sistema digestivo. Respecto a sus compuestos bioactivos, la chía contiene altos niveles de ácido cafeico, ácido clorogénico, quercetina, ácido rosmarínico, gálico, cinámico,

miricetina y kaemferol (Orona-Tamayo et al., 2016; Knez et al., 2020; Biswas et al., 2023).

Pandurangan y colaboradores (2020) reportaron que el consumo de chíá disminuye la hipertrofia de los adipocitos y a su vez, mejoró el perfil lipídico. Además, la chíá incrementó la expresión de proteínas como la carnitina palmitoil transferasa 1 (CTP-1) y el coactivador 1-alfa (PGC-1 α); y la expresión de proteínas de choque térmico (HSP). Esto indica una regulación de actividades mitocondriales, de oxidación de ácidos grasos y control de la adipogénesis (Enes et al., 2020).

2.3.4. Frijol tepari (*Phaseolus acutifolius*)

El frijol (*Phaseolus sp.*) forma parte de la dieta de un gran número de personas ya que tiene un aporte nutrimental importante en proteína, carbohidratos, lípidos, hierro y calcio. El cultivo de frijol se ha extendido prácticamente a todos los lugares susceptibles de permitir su desarrollo y Mesoamérica cuenta con la mayor variabilidad genética del género. En la región occidente de México se desarrolló la domesticación del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Actualmente, se reportan 70 especies de las 150 existentes a nivel mundial; cinco, han sido domesticadas y es posible encontrarlas en su forma silvestre y cultivada: (1) Frijol común (*P. vulgaris* L.), (2) Frijol ayocote (*P. coccineus* A. Gray), (3) Frijol lima (*P. lunatus* L.), (4) Frijol acalete (*P. dumosus* Mc Fady) y (5) Frijol tépari (*P. acutifolius* A. Gray) (Lépiz, 2007).

El frijol tépari (*Phaseolus acutifolius*) es una leguminosa con un ciclo de vida corto y resistente a la sequía, originaria de ambientes desérticos y semiáridos del noroeste de México y el suroeste de Estados Unidos. Se le reconoce por su bajo requerimiento de humedad, su tolerancia al calor y su resistencia a muchas enfermedades. La principal ventaja nutricional del frijol tépari está en las semillas maduras que contienen 21.0 - 31.9 % de proteína, 0.9 - 1.17 % de lípidos y 65.3 - 69.1 % de carbohidratos; además contiene minerales esenciales como sodio, potasio y magnesio. Actualmente, el consumo de las semillas de frijol tépari es

muy bajo, y este presenta un alto contenido de proteína y carbohidratos los cuales no son aprovechados (Mora-Uzeta et al., 2019; Mwale et al., 2020).

El consumo de frijol tépari podría tener un efecto benéfico sobre la salud debido a su contenido alto de polifenoles que les confiere un efecto antioxidante significativo (Salas-López et al., 2018; Mora-Uzeta et al., 2019). Algunos investigadores han realizado estudios cuyos resultados sugieren que las lectinas presentes en frijol, como el frijol tépari, podrían ser utilizadas para el desarrollo de fármacos antitumorales (Moreno-Celis et al., 2020; Konozy y Osman, 2022; Dena-Beltrán et al., 2023).

2.4. Tortilla

La tortilla de maíz es el alimento principal de los mexicanos, este producto provee macronutrientes como proteína, almidón y fibra dietética, así como micronutrientes como vitaminas y minerales (León-Murillo *et al.*, 2021).

En México, el consumo *per cápita* de tortilla en la zona urbana es de 155.4 g/día y en la zona rural es de 217.9 g/día (Tapia-García y Morales-Ramírez, 2020). La tortilla tradicionalmente se elabora a partir de la cocción alcalina (nixtamalización) de los granos de maíz, este proceso provoca cambios físicos y bioquímicos, produce mayor bioaccesibilidad de calcio y mejora el contenido de almidón resistente. Sin embargo, este proceso también provoca cambios desfavorables como la disminución de los compuestos fenólicos, vitaminas y la actividad antioxidante del maíz (Fauhl-Hassek y Schaarschmidt, 2019; Kamau et al., 2020).

Respecto a su contenido nutricional, una tortilla que pesa entre 25 – 30 g aporta aproximadamente 64 calorías, 1.4 g de proteína, 0.5 g de grasa y 0.6 g de fibra. Existen diferentes variedades de tortillas en función del maíz que se utilice para elaborarlas. En el país se producen tortillas blancas, amarillas, azules, rosas, rojas y verdes, y estas contienen diferentes compuestos fenólicos como las antocianinas y los carotenoides (Gutiérrez et al., 2014).

Las tortillas son un alimento que aportan altas concentraciones de calcio, y sus beneficios se demostraron en ratas alimentadas con dietas suplementadas con

tortillas, los animales presentaron huesos más gruesos, largos y con mayor contenido de calcio, así como menor fragilidad (Martínez-Flores et al., 2009). Además, las tortillas contienen almidón resistente, un compuesto importante para la prevención de enfermedades. Este se incrementa durante su almacenamiento en refrigeración, y dicho proceso se atribuye al fenómeno de retrogradación (Rojas-Molina et al., 2020).

Grajales-García y colaboradores (2012) elaboraron tortillas con una mezcla de maíz de calidad proteínica (MCP) y frijol común. Estos autores evaluaron su composición química, la digestibilidad del almidón y la capacidad antioxidante. La tortilla MCP-frijol tuvo mayor contenido de proteínas, cenizas, fibra dietética y contenido de almidón resistente y menor cantidad de almidón digerible que la tortilla de control. La tasa de hidrólisis (60 a 50 %) y el índice glucémico (88 a 80) de la tortilla disminuyó con la adición de frijol en la mezcla. Los polifenoles extraíbles y las proantocianidinas fueron más altos en la tortilla MCP-frijol que en la tortilla control. Este patrón produjo una mayor cantidad de antioxidantes en tortilla MCP – frijol que en tortilla control (17.6 vs 7.8 μmol equivalentes de Trolox/g). La adición de frijol a la tortilla modificó la digestibilidad del almidón y características antioxidantes, obteniendo un producto con características nutraceuticas. Por otro lado, Martínez-Vázquez y colaboradores (2017) elaboraron una tortilla a base de maíz, amaranto y soya, incrementando la cantidad y calidad proteica. Por lo tanto, presentaron mejores características nutrimentales, generando una alternativa de bajo costo para el consumidor.

Del Pozo-Insfran y colaboradores (2006) reportaron que la tortilla de maíz azul contiene mayor cantidad de polifenoles totales, antocianinas y carotenoides en comparación con tortillas elaboradas con maíz blanco o amarillo, por lo que podría tener un mayor efecto benéfico para la salud del consumidor. De igual manera, estudios elaborados por Salinas-Moreno y colaboradores (2017) concluyen que la actividad antioxidante de la tortilla de maíz de grano blanco usada como referencia, fue menor que la de las tortillas de grano azul. De acuerdo a esto, las tortillas de grano azul son una mejor fuente de antioxidantes que la tortilla blanca.

2.3.5. Tortilla y su asociación con el control de la obesidad

La tortilla es un alimento cuyos beneficios asociados a la obesidad han sido contradictorios. Esta es considerada como uno de los alimentos mexicanos con mayor contribución a la ingesta de energía desde un 10 % a un 48 % en niños de edad escolar, y con un rango de sobrepeso y obesidad de 19.8 - 30.8 % con una relación directa del consumo de tortilla y peso corporal (Rodríguez-Ramírez et al., 2011).

Adicionalmente, un bajo riesgo de obesidad en niños está asociado con un incremento en el consumo de la fibra dietaria; la tortilla es una fuente importante de fibra. Este efecto se atribuye a un incremento de la saciedad, disminución de la difusión de glucosa para su absorción y disminución a la accesibilidad de la enzima alfa amilasa a su sustrato (Brauchla et al., 2012). Sin embargo, estos efectos no fueron demostrados para la tortilla, solamente fueron sugeridos. Por otro lado, un estudio realizado con mujeres mexicanas de zona rural se encontró una asociación directa entre obesidad y el consumo de más de seis tortillas (Muñoz-Ibarra y Carranza-Madrigal, 2010).

Los beneficios de la tortilla podrían estar relacionados directamente con su composición fitoquímica, que a su vez depende de la variedad de maíz con que se elaboran (De Jesus-Mex y Garma-Quen 2017). Por ejemplo, se ha reportado que la tortilla de maíz azul tiene inhibe a la lipasa pancreática (LP), efecto asociado a los compuestos fenólicos y a los carotenoides. La LP es una enzima que cataliza la hidrólisis de los enlaces de ésteres de los triglicéridos. La inhibición de la LP es una de las estrategias más usadas para el control de la obesidad, ya que al ser inhibida, los triglicéridos no se absorben y por lo tanto, se disminuye su posterior almacenamiento en el organismo (Wang y Eckel, 2009).

No existen estudios que demuestren directamente los beneficios del control de la obesidad asociado al consumo de tortilla. Lo reportado hasta el momento son estudios en población en los cuales solamente se han realizado asociaciones.

2.3.6. Tortillas adicionadas con granos o semillas y elaboradas por el proceso de extrusión

Las tortillas que se consumen comúnmente en México son de maíz blanco nixtamalizado, y estas son ricas en carbohidratos y calcio. Sin embargo, presentan baja cantidad de vitaminas, lípidos y compuestos fitoquímicos (antocianinas, carotenoides, etc.). Por ello, se ha propuesto elaborar tortillas adicionadas con otras harinas de granos o semillas para potenciar o mejorar su valor nutricional (Vázquez-Rodríguez et al., 2013; Argüello-García et al., 2017; León-López et al., 2019; Gámez-Valdez et al., 2021).

Sánchez-Marroquín y Maya (1985) prepararon tortillas a partir de harinas de maíz industrializada (MINSA) y amaranto crudo con el fin de enriquecer este producto. La formulación mostró un perfil de aminoácidos más completo en comparación con las tortillas hechas solamente con MINSA. También mejoró el contenido de ácidos grasos, sin perder las propiedades organolépticas de una tortilla convencional. En otro estudio se reportó que tortillas de maíz adicionadas con harina de amaranto presentaron mayor cantidad de fibra, lípidos y digestibilidad proteica en comparación con una tortilla de maíz nixtamalizado (Gámez-Valdez et al., 2021).

La extrusión representa una alternativa tecnológica para la elaboración de harinas para tortillas con las ventajas de ahorro energético y generación de efluentes nulos. Se trata de un proceso versátil a altas temperaturas en corto tiempo, facilita la combinación de varias acciones como el transporte, la compresión, la separación y cocción (Reyes-Moreno et al., 2019).

La extrusión de tortillas se ha utilizado para obtener un producto de mayor calidad y a su vez, para tener un proceso alternativo a la nixtamalización que presenta algunas desventajas. Al aplicar la extrusión los nutrientes y compuestos bioactivos asociados con las capas más externas del maíz se conservan y los alimentos en desarrollo son similares a los de granos integrales. El maíz nativo mexicano pigmentado y sus productos han generado interés por su fuente de diversos fitoquímicos como compuestos fenólicos, carotenoides, y fitoesteroles, así como, fibra dietética. El proceso de extrusión puede retener 80 % de los compuestos

fenólicos presentes en el grano de maíz (Corrales-Bañuelos et al., 2016; Gaxiola-Cuevas et al., 2017; Mora-Rochín et al., 2021).

Sánchez (2018) realizó estudios con una tortilla de maíz adicionada con harina de chía, y encontró mayor contenido de cenizas, proteína cruda, extracto etéreo y carbohidratos en comparación con tortillas tradicionales. La tortilla con chía presentó mejores contenidos de omega-3 y omega-6, incrementando su valor nutricional comparado con la tortilla elaborada únicamente con masa de maíz blanco nixtamalizado.

Respecto al proceso de extrusión, León-López y colaboradores (2019) mejoraron del valor nutricional y nutracéutico de tortillas de maíz nixtamalizado mediante la adición de harina de chía extrudida. Esta presentó mayor cantidad y calidad nutricional de la proteína y de la fibra dietética. También presentaron mayor contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante y antihipertensiva que las tortillas elaboradas únicamente con harinas de maíz nixtamalizado.

Se han elaborado tortillas con harinas extruidas de maíz azul y chía desgrasada. Estas presentaron valores más altos de proteína y su digestibilidad, así como de fibra dietética. También mostraron mejores propiedades antioxidantes, antihipertensivas e hipoglucemiantes *in vitro* que las tortillas elaboradas con 100 % de harina de maíz azul extruido y tortillas de harina comercial de maíz cocido con cal (MASECA) (León-Murillo et al., 2020).

Por otra lado, Gámez-Valdez y colaboradores (2020) determinaron el efecto de la adición de harinas extruidas de amaranto en maíz azul criollo extruido, este estudio demostró que las tortillas adicionadas con amaranto extruido tienen más proteínas, fibra dietética, mejoró *in vitro* el potencial antihipertensivo, hipoglucemiante y estas fueron sensorialmente aceptables. Se ha sugerido que estas tortillas son una opción para reducir la desnutrición y las enfermedades crónicas degenerativas. Sin embargo, los estudios realizados hasta el momento solamente se han llevado a cabo *in vitro* y algunos otros reportes son asociaciones realizadas en población.

3. JUSTIFICACIÓN

Las dietas hipercalóricas producen obesidad y también generan alteraciones en la microbiota intestinal, ocasionando un aumento en el filo *Firmicutes* y una disminución en el filo *Bacteroidetes* lo que produce una mayor extracción de energía de la dieta ocasionando la ganancia de peso y desarrollando la obesidad. La modulación de las cepas bacterianas en el tracto digestivo está asociada al consumo de alimentos ricos en compuestos bioactivos y fibra, lo que puede ayudar a remodelar el perfil metabólico en el huésped obeso y mejorar su estado de salud.

La tortilla de maíz es uno de los principales alimentos en México, este producto aporta macronutrientes como proteína, almidón y fibra dietética. Las tortillas de mayor consumo en nuestro país se elaboran a partir de maíz blanco nixtamalizado. Sin embargo, este proceso tiene la desventaja de generar efluentes y hay una pérdida de pericarpio y otros componentes durante el lavado del grano. La extrusión es un proceso alternativo a la nixtamalización para producir las harinas para elaborar tortillas, es versátil, no genera efluentes, se utiliza el grano de maíz completo y hay transformaciones de macrocomponentes que mejora la digestibilidad, conserva los compuestos bioactivos y genera mayor ahorro energético.

Se ha demostrado que el maíz azul presenta mayor concentración de compuestos bioactivos como las antocianinas, además aporta una mayor cantidad de fibra. Una alternativa para mejorar las propiedades nutricionales y nutracéuticas de las tortillas de maíz nixtamalizado es la adición de harinas integrales de pseudocereales (amaranto, chíá) y leguminosas (frijol, garbanzo, lenteja). Estos granos (pseudocereales y leguminosas) presentan un contenido alto de fibra, proteínas y lípidos; mejoran la digestión y las actividades biológicas relacionadas con la disminución de peso corporal.

El alto contenido de compuestos bioactivos y fibra en la tortilla podría modificar y beneficiar la microbiota intestinal, esto se sustenta en estudios realizados con harinas de maíz donde se encontraron cambios benéficos en la microbiota. Por lo

tanto, tortillas de maíz nixtamalizado por el proceso de extrusión, adicionadas con harinas de amaranto, chíá y/o frijol extrudidos, podrían aportar mayor contenido de fibra y fitoquímicos lo cual podría aportar beneficios a la salud relacionados con el control de la obesidad.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Determinar el efecto de la adición de harinas de pseudocereales y frijol extrudidos a la tortilla de maíz azul extrudido sobre el control de peso corporal y su asociación con la microbiota intestinal en ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.

4.2. Objetivos específicos

- Cuantificar y caracterizar los compuestos fenólicos presentes en tortillas elaboradas a base de maíz azul extrudido adicionadas con harinas de pseudocereales (amaranto, chia) y frijol extrudidos.
- Determinar el efecto del consumo de tortillas elaboradas con mezclas de granos (maíz azul – amaranto, maíz azul – chia, maíz azul – tépari) extrudidos sobre el control de la obesidad en ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.
- Evaluar modificaciones de la microbiota intestinal de los animales alimentados con la dieta suplementada con tortillas elaboradas con mezclas de granos (maíz azul – amaranto, maíz azul – chíá, maíz azul – tépari) extrudidos

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Elaboración de las tortillas y proceso de extrusión

Las tortillas se elaboraron en “Laboratorio de Bioprocesos y Alimentos Funcionales”, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, con la supervisión del Dr. Roberto Gutiérrez Dorado.

Las semillas de chía se desgrasaron con una máquina de prensado de aceite (modelo DL-ZYJ05). Lotes de 500 g de semillas de maíz azul, de chía, amaranto y frijol se colocaron en una licuadora doméstica para obtener sémola, la cual se pasó por una malla de cribado US40 (0.425 mm) y se retuvo sobre una malla de cribado US200 (0.074 mm). La sémola se mezcló con cal (0.21 g por 100 g de sémola) y agua cbp. Todos los lotes de sémola se envasaron y almacenaron a 4 °C durante 12 h y antes de la extrusión, la sémola se atemperó a 25 °C.

La extrusión de los lotes se llevó a cabo en un extrusor de tornillo simple Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc, NJ, USA). Las condiciones de operación del extrusor para el maíz azul nativo fueron las siguientes: Temperatura de extrusión, TE=85 °C y velocidad del tornillo, VT=240 rpm (Milán-Carrillo et al., 2006), para el amaranto TE = 130 °C y VT = 124 rpm (Gámez-Valdez et al., 2021), para la chía desgrasada, TE=147 °C y VT =237 rpm (León-Murillo et al., 2020) y para el frijol tépari, TE= 152 °C y VT = 240 rpm (Aréchiga-Chávez, 2020). El material extruido se atemperó en condiciones ambientales; se molió para pasar por una malla de cribado US80 y se envasó en bolsas de polietileno a 4 °C hasta su utilización. Las harinas de maíz azul, amaranto, chía y frijol tépari extrudidos se almacenaron a 4 °C.

Para la elaboración de las tortillas se utilizó la metodología descrita por Milán Carrillo y colaboradores (2006). Primero se elaboraron tortillas de maíz azul extruido al 100%. Posteriormente se elaboraron tortillas con de las siguientes mezclas: harina de maíz azul extruido/chía (75 %:25 %), respectivamente; harina de maíz azul/amaranto (70 %: 30 %) y harina de maíz azul/frijol tépari (70 %:30 %), estas proporciones fueron seleccionadas con base en lo reportado por León-López y colaboradores (2019). Además, se utilizaron como control tortillas de maíz blanco nixtamalizado al 100 % adquiridas en un comercio de tortillas en Santiago de Querétaro, Qro.

El inflado de las tortillas se evaluó durante la cocción con una escala de 1 a 3; 1=sin inflado, 2=inflado intermedio y 3=inflado completo. La característica de enrollado (“rolabilidad”) de la tortilla se realizó 30 min después de su elaboración. Las tortillas se enrollaron en una varilla de cristal de 2.54 cm de diámetro, y el grado de ruptura de la superficie de la tortilla (0-100 %) indica la rolabilidad (1-5) con base en la escala 0 %=1, 25 %=2, 50 %=3, 75 %=4 y 100 %=5 (Milán-Carrillo et al., 2006).

5.2. Cuantificación de fibra dietaria total, soluble e insoluble

El contenido de fibra dietaria total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI), se determinó por el método enzimático-gravimétrico (AOAC 985.29, 2002) utilizando un kit enzimático (Sigma, SLBZ6509). A un gramo de muestra seca y desengrasada se le adicionó la enzima α -amilasa (100 mL) en 50 mL de buffer de fosfato (pH 6), durante 15 min en incubación a 95 °C en baño María y agitación constante. Posteriormente se realizó la digestión de las proteínas con 0.1 mL de proteasa (50 mg/mL), previamente se ajustó el pH de la solución a 7.5 ± 0.2 con NaOH, 0.275 N e incubado a 60 °C durante 30 min en baño María con agitación continua. Posteriormente se ajustó la solución a un pH entre 4-4.6 con la adición de HCl 0.325 N, se adiciono 0.1 mL de amilogucosidasa incubada a 60 °C por 30 min en baño María.

Posteriormente se realizó la precipitación de la fibra dietaria soluble con 4 volúmenes de etanol a 95 % durante toda la noche a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo se realizó una filtración, se lavó el residuo con tres porciones de 20 mL de etanol al 78 %, 2 porciones de etanol al 95 % y dos porciones de 10 mL de acetona. Se secó el residuo a 105 °C durante toda la noche. Posteriormente se pesará el residuo y se realizará en este la determinación de cenizas (AOAC 942.05) y proteínas (AOAC 920.39). Los resultados fueron expresados en base seca.

5.3. Determinación de compuestos fenólicos totales

5.3.1 Extracción de compuestos fenólicos extraíbles

Para la obtención del extracto se empleó la metodología descrita por Hassan y colaboradores (2011). Se pesaron 2 g de muestra y se agregaron 20 mL de solución metanol/agua (50:50) acidificada con HCl para obtener un pH final de 2. Se agitaron a temperatura ambiente durante 1 h, se centrifugaron por 10 min a 1500 *g* y se recuperó el sobrenadante para realizar la determinación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y antocianinas.

5.3.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Los polifenoles totales se determinaron a partir del método de Folin y Ciocalteu. Se tomó una alícuota (10 μ L) del extracto de cada una de las tortillas obtenido en el punto 5.3.1, el cual se colocó en microplaca y se completó el volumen a 25 μ L con agua destilada. Se adicionaron 12.5 μ L del reactivo de Folin Ciocalteu 1 N, se agitó durante 5 min, y luego se agregaron 62.5 μ L de Na₂CO₃ al 20 %. Se dejó reposar durante 30 min en la oscuridad y finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm (Singleton *et al.*, 1998).

La cuantificación se realizó por interpolación de los resultados en una curva estándar de ácido gálico, y se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (AG) por gramo de muestra (mg EAG/g de muestra).

5.3.3 Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se cuantificó usando el método colorimétrico descrito por Heimler y colaboradores (2006). Se mezclaron 40 μ L del extracto obtenido en la sección 5.3.1 con 7.5 μ L de solución de nitrito de sodio al 5 %, 15 μ L de solución recién preparada de cloruro de aluminio al 10 % y 50 μ L de solución de hidróxido de sodio 1 M. El volumen final de la mezcla se ajustó a 250 μ L con agua desionizada. La mezcla se leyó a una absorbancia de 510 nm.

La cuantificación se realizó utilizando una curva estándar de catequinas, y se expresaron como mg equivalentes de catequina/g de muestra.

5.3.4 Cuantificación de antocianinas

Las antocianinas se cuantificaron a partir del método diferencial de pH descrito por Giusty & Wrolstad (2001). Se mezclaron 50 μL del extracto obtenido en la sección 5.3.1 con 175 μL de cada una de las soluciones amortiguadoras (KCl, 0.025 N a pH 1.0 y $\text{CH}_3\text{COONa}_3\text{H}_2\text{O}$, 0.4 M a pH= 4.5). Posteriormente se midieron absorbancias a 510 nm y 700 nm en un espectrofotómetro para microplaca (Thermo Scientific) considerando ambos pH de las soluciones amortiguadoras. La cuantificación de las antocianinas se expresó en mg equivalentes de cianidina-3-*o*-glucósido/mL y se emplearán las siguientes ecuaciones:

$$\text{Abs}_{\text{total}} = [(\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (\text{Abs}_{510 \text{ nm}} - \text{Abs}_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}] \quad (\text{Ec. 1})$$

$$\text{Antocianinas monoméricas} = \frac{\text{Abs} \cdot \text{PM} \cdot 1000 \cdot \text{factor de dilución}}{\epsilon \cdot \text{distancia}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Dónde:

Abs= Absorbancia total

PM= Peso molecular: cianidina 3 glucósido 448.8 g/mol, malvidina-3-glucósido: 493.4 g/mol

ϵ = Coeficiente de extinción molar; cianidina 3 glucósido: 26900 $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$; malvidina-3-glucósido: 28000 $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Distancia= 1 cm.

La cuantificación de las antocianinas totales se expresó como mg eq. cianidina 3 glucósido/g de muestra.

5.3.5 Extracción y cuantificación de proantocianidinas no extraíbles (NEPA)

La cuantificación de proantocianidinas no extraíbles se realizó mediante la hidrólisis ácida con *n*-butanol del residuo de la extracción de la sección 5.3.1 siguiendo el método establecido por Zurita y colaboradores (2012). Los residuos se secaron y se mezclaron con 10 mL de HCl/butanol (5:95, v/v) que contiene 0.7 g de FeCl_3/L y se incubaron a 100 °C por 1 h. Los tubos se centrifugaron a 3500 g

por 10 min, recuperando los sobrenadantes. Se realizaron dos lavados del precipitado con 5 mL de HCl/butanol/FeCl₃ y el volumen final se aforó a 25 mL. Las absorbancias fueron leídas a una longitud de onda de 450 y 555 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de proantocianidinas por g de muestra seca.

5.3.6 Identificación de compuestos polifenoles extraíbles de las tortillas por medio de UPLC-PDA-ESI-QqQ MS-MS.

Los extractos fenólicos se realizaron como se describió en el apartado 5.3.1. Dichos extractos se concentraron y se resuspendieron en metanol grado masas, las muestras se filtraron (0.45 µm), se colocaron en viales y fueron analizadas en un cromatógrafo líquido de ultra resolución (UPLC) Acquity clase I acoplado a un arreglo PDA-ESI-QqQ MS/MS (Xevo TQS, Waters Corp., Wexford) UPLC-PDA-ESI-QqQ. Las muestras se inyectaron en una columna BEH Acquity C18 (2.1 x 100 mm, 1.7 µm) a 35 °C. La fase móvil consistió en agua con 0.1 % de ácido fórmico (A), y acetonitrilo (B) a un flujo de 0.5 mL/min. El gradiente de concentración fue el siguiente: 3 % B a los 0 min, 9 % B a los 1.8 min, 16 % B a los 5.6 min, 50 % B a los 12 min.

Las condiciones del espectrómetro de masas fueron las siguientes: voltaje de capilar 2.5 kV, temperatura de desolvatación a 450 °C y de fuente a 150 °C. La adquisición de datos se llevó a cabo mediante ionización en modo negativo (ESI-).

La identificación se llevó a cabo mediante una mezcla de estándares (20 ng/mL) a los que se les determinó el tiempo de retención, los valores masa/carga (m/z) y patrones de fragmentación (MS/MS). Los resultados fueron analizados utilizando el software MassLinx v.4.1 (Waters corp.) (Díaz-Rivas et al., 2018).

5.4. Evaluación *in vivo* del efecto de la tortilla sobre el control de la obesidad

Para realizar la evaluación del efecto antiobesogénico de las tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y pseudocereales se utilizaron ratas Wistar macho de seis semanas de edad (48 animales, n=8), con peso de 160-180 g y estas se obtuvieron del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional

Autónoma de México (UNAM). Las ratas se alojaron dentro del bioterio de la Facultad de Química en jaulas individuales de 4.52 cm² de acero inoxidable, las cuales permiten la entrada de aire y luz, además de contar con un clip a prueba de escape. De igual manera, se mantuvieron bajo condiciones ambientales estándar (ciclo de luz/oscuridad de 12 h, condiciones de humedad del 55 ± 15 % y temperatura 25 ± 2 °C). Los animales se sometieron a una semana de adaptación donde fueron alimentadas con una dieta estándar comercial (Rodent Lab Chow 5001) y agua *ad libitum* de acuerdo con lo señalado en la NOM-062-ZOO-1999. Las operaciones de limpieza se llevaron a cabo diariamente y se incluyeron los bebederos, comederos, pisos y charolas de recolección, además de la limpieza de jaulas y paredes cada tercer día.

La manipulación de animales durante el trabajo experimental se realizó siguiendo las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999 en el apartado 10.4, en donde se indica el uso de guantes, cubrebocas y bata mientras se tiene el contacto con los animales. Las ratas fueron identificadas por medio de una marca con colorante en la cola, la cual no ha sido reportado que cause toxicidad. El grado de molestia causado en los animales será de categoría C. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con las Regulaciones Federales para la Experimentación y Cuidado de Animales (SAGARPA, NOM-062-ZOO-1999 México) y al Comité de Bioética de la Facultad de Química (UAQ) (CBQ22/060).

Después de una semana de adaptación, las ratas se agruparon de manera aleatoria en 7 grupos de 8 animales cada uno; grupo control sano alimentado con una dieta estándar (Grupo 1), grupo control obeso alimentados con una dieta alta en grasa saturada y fructosa (DAGF) (Grupo 2) la cual está constituida por dieta estándar (60 %), manteca de cerdo (20 %), fructosa (20 %) y DAGF con los diferentes tipos de tortillas. Para los tratamientos, a la DAGF se le añadió 13 % de tortilla, la cantidad de tortilla en el tratamiento se determinó de acuerdo al cálculo reportado por Reagan y Shaw (2008) para extrapolar dosis de humano a rata. El 13 % de tortilla en la dieta de los animales es equivalente al consumo de tortillas *per cápita* para la zona urbana y rural en México. Los tratamientos constaron de DAGF suplementada con tortilla de maíz convencional nixtamalizado (Grupo 3),

DAGF suplementada con tortillas de maíz azul extruido (Grupo 4), DAGF más tortillas de maíz azul extruido con chía desgrasada extruida (Grupo 5), DAGF más tortillas de maíz azul extruido con amaranto extruido (Grupo 6) y DAFG más tortillas de maíz azul extruido con frijol tépari (Grupo 7). La preparación de las dietas se realizó bajo los lineamientos que marcan las buenas prácticas de manufactura establecidas en la NOM-251-SSA1-2009. Se utilizaron guantes de nitrilo estériles, cofia y cubrebocas para evitar la contaminación de las muestras.

La administración de las dietas y los tratamientos se realizaron *ad libitum* durante 18 semanas, y se registró el peso de los animales semanalmente y el consumo de alimento por semana para evaluar si el consumo de fibra dietaria total, compuestos fenólicos extraíbles y contenido energético no influyeron sobre la disminución de peso corporal y los parámetros bioquímicos medidos.

Al finalizar el experimento, los animales se dejaron en ayuno de 8 h, el sacrificio se llevó a cabo mediante lo indicado por la NOM-062-ZOO-1999, se realizó eutanasia a través de decapitación con guillotina, se tomaron muestras de sangre y estas se centrifugaron durante 10 min a 2500 g para obtener suero, posteriormente se realizó una incisión con bisturí abarcando desde el tórax hasta el ano, para tener acceso a vísceras abdominales.

Se informa que como parte de la línea de investigación de laboratorio se recolectó el contenido colónico, tejido adiposo blanco y marrón, hígado, riñón, aorta y músculo, los cuales se almacenarán a -70 °C para posteriores estudios.

Las jeringas utilizadas se colocaron en un bote rojo de polipropileno especial para objetos punzocortantes con una leyenda que indique “residuos punzocortantes biológico-infecciosos” por un periodo máximo de 15 días hasta su recolección por la empresa Servicios Especializados en Residuos S.A. de C.V., la cual garantiza el tratamiento de los residuos según lo estipulado en la norma NOM-087-ECIL-SSA1-2002. El material quirúrgico utilizado se remojó en cloro por 12 h, se lavó y se esterilizó para su posterior almacenamiento.

Los restos de las ratas no requeridos para el estudio se almacenaron a -20 °C en una bolsa grande color amarillo, sin rebasar el 80 % de su capacidad, dicha bolsa

se rotuló con la leyenda “desechos patológicos” y se almacenaron por un periodo de 15 días hasta su debido transporte e incineración, de acuerdo con el procedimiento establecido en la NOM-087-SSA1-2002.

5.5 Determinaciones en suero de ratas experimentales

Se llevó a cabo la determinación de glucosa sérica, así como el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol y HDL-colesterol) en suero de los animales experimentales, utilizando kits enzimáticos (Spinreact). Adicionalmente, se cuantificaron los niveles de insulina sérica de los animales empleando un kit de Elisa (Millipore). Finalmente se realizaron los cálculos correspondientes para determinar HOMA-IR.

5.6. Determinación de microbiota intestinal

Una semana antes de terminar el experimento se recolectaron las heces de los animales alimentadas con las dietas experimentales. Esto se realizó, mediante movimientos circulares en el abdomen del animal para estimular la excreción de las heces, las cuales se colectaron en tubos falcón estériles, las muestras se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

5.6.1. Extracción de ADN y secuenciación

El ADN de los microorganismos presentes en las heces se extrajo usando un kit ZymoBIOMIC DNA, siguiendo las instrucciones del fabricante, el ADN se almacenó a -20 °C hasta su análisis. Las bibliotecas de secuenciación se construyeron mediante amplificación por PCR de la región V4 del gen de ARNr 16s usando los cebadores 515F y 806R siguiendo el protocolo (<http://www.earthmicrobiome.org/protocols-and-standards/16s/>). Los amplicones se purificaron usando perlas de limpieza de PCR AxyPrep Mag, cuantificadas con Quanti-iT PicoGreen, kit de ensayo de ADNds (Invitrogen; Eugene, OR) y se agruparon en proporciones equimolares antes de la secuenciación, ésta se realizó con la tecnología Illumina MiSeq con un kit de reactivos v3 (600 ciclos). La secuenciación se realizó con 10% de PhiX spike-in

5.6.2. Análisis metagenómico

Las lecturas de secuencia de extremo emparejado se agruparon y todas las secuencias combinadas de 16s se filtraron, recortaron y procesaron con la implementación DADA2 (paquete de bioconductor R) 48 incluida en la herramienta de bioinformática de código abierto myPhyloDB versión 1.2.1 (www.myphylobd.org/). Todos los cebadores se eliminaron de cada secuencia utilizando el programa Python de código abierto Cutadapt. Cada variante de secuencia identificada en DADA2 se clasificó a la secuencia de referencia más cercana contenida en la base de datos de referencia Green genes, utilizando la opción usearch global (identidad mínima del 97 %) contenida en el programa de código abierto VSEARCH. Los análisis ANCoVA y DiffAbund se realizaron en myPhyloDB y MicrobiomeAnalyst, y esto se usó para calcular las puntuaciones de diversidad alfa y beta.

Las lecturas de secuencias individuales fueron filtradas por el software PGM para eliminar secuencias policlonales y de baja calidad y posteriormente fueron analizadas usando QIIME. El umbral de similitud de secuencia tanto para la selección de OTU como para la asignación de taxonomía fue del 97 % y la base.

La diversidad fue evaluada entre diferentes tratamientos se calculó la alfa diversidad mediante el método de Chao utilizando la siguiente formula:

$$\text{Chao 1} = S + \frac{a^2}{2b}$$

Dónde:

S: número de especies en una muestra

a: número de especies que están representadas por un único individuo

b: número de especies representadas por dos individuos en la muestra

Los análisis estadísticos para la determinación de la microbiota intestinal se realizaron mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

5.7. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del contenido proximal y compuestos fenólicos se expresaron como la media \pm la desviación estándar. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95 %. La comparación de todos los tratamientos se realizó con un análisis de comparación de medias aplicando la prueba de Tukey y al compararse con un control se utilizó la prueba de Dunnett.

Para determinar si los datos del modelo animal deben analizarse con herramientas paramétricas o no paramétricas, la distribución de los datos se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homocedasticidad con la prueba de Levene. Los datos paramétricos se realizaron con la prueba de Tukey, mientras que los no paramétricos se analizaron con la prueba de U de Mann-Whitney. Finalmente, los datos fueron analizados con el paquete JMP 11 (SAS Institute, Cary, NC, EE. UU).

6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1. Contenido proximal y fitoquímico de las tortillas en estudio

Los beneficios a la salud de las tortillas elaboradas a partir de mezclas de harinas extruidas se han atribuido al contenido de compuestos nutricionales y fitoquímicos de sus materias primas.

En el Cuadro 1 se muestra el contenido proximal de las diferentes tortillas, las tortillas adicionadas con chía y amaranto presentaron mayores cantidades de grasa en comparación con el resto de las tortillas, hasta en un 53 %. Esto se debe a que la semilla de chía y amaranto presentan un contenido de lípidos del 33 % y 11 %, respectivamente (León-López et al., 2019; Joshi et al., 2018). Mientras que el frijol contiene 1.5 % de grasa (Salas-López et al., 2018). Otro resultado importante son los porcentajes de proteína encontrados en las tortillas adicionadas con chía y frijol, estos granos presentan 21 % y 25 % de proteína en su

composición nutricional (Melo et al., 2019; Salas-López et al., 2018) y el amaranto tiene aproximadamente 15 % (Gámez-Valdez et al., 2021). Por lo tanto, estas fueron las tortillas con mayores cantidades de proteína hasta en un 46 % en comparación con la tortilla MAE. El contenido de proteína en la tortilla de maíz con frijol coincide con lo reportado por Arechiga-Chávez y colaboradores (2020), quienes determinaron 11.8 % de proteína en una tortilla elaborada con maíz azul y frijol tépari. Por otra parte, León-López y colaboradores (2019) reportaron 14.0 % del contenido proteico de una tortilla elaborada con maíz azul nixtamalizado con chía, lo cual coincide con los resultados determinados en este proyecto. Sin embargo, comparado con nuestro estudio, otros autores han reportado un contenido lipídico mayor hasta en un 60 % para la tortilla de maíz azul con amaranto. Esto puede deberse a factores como el tipo de cultivo y cosecha que se realizó a los diferentes granos y semillas (Gámez-Valdez et al., 2021; Reyes-Moreno et al., 2012).

Cuadro 1. Contenido proximal de tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol

| (%) | Maíz blanco nixtamalizado (MBN) | Maíz azul extruido (MAE) | MAE con chía | MAE con amaranto | MAE con frijol tépari |
|----------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------|--------------------------|-----------------------------|
| Humedad | 5.15 ± 0.2c | 8.09 ± 0.2b | 9.45 ± 0.3a | 7.83 ± 0.2b | 7.82 ± 0.2b |
| Cenizas | 0.26 ± 0.04a | 0.16 ± 0.04a | 0.29 ± 0.05a | 0.25 ± 0.06 ^a | 0.27 ± 0.05a |
| Grasa | 1.54±0.01bc | 1.70 ± 0.1abc | 2.63 ± 0.2a | 2.39 ± 0.5ab | 1.21 ± 0.04c |
| Proteína | 7.37 ± 0.1d | 7.62 ± 0.1d | 14.01 ± 0.4a | 9.28 ± 0.1c | 11.71 ± 0.2b |
| Carbohidratos | 85.68 ± 0.04a | 82.44 ± 0.05b | 73.63 ± 0.91d | 80.25 ± 0.06c | 79.00 ± 0.07c |

Datos expresados como media ± desviación estándar. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

En el Cuadro 2 se muestran los contenidos de fibra soluble, insoluble y total de las diferentes tortillas. La tortilla con chía presentó las mayores cantidades, tanto de fibra insoluble como de fibra soluble, en un 7 % y 51 % comparado con la tortilla de MAE y 22 % y 41 % respecto a la tortilla de MBN. Estos resultados se pueden atribuir al elevado contenido de fibra total que presenta la semilla de chía hasta en un 30 % (Knez et al., 2019). Mientras que los otros granos y semillas

presentan 7 % como el caso de frijol tépari y 6 % para el amaranto (Arechiga-Chávez, 2020; Baraniak y Kania-Dobrowolska, 2022).

En el Cuadro 3 se muestran los resultados del contenido polifenoles de las diferentes tortillas. Se puede observar que la tortilla adicionada con harina de chía presentó una mayor concentración de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales, hasta en un 24 % y 68 % comparado con la tortilla MAE, respectivamente. Por lo tanto, presentan un mayor contenido de compuestos fenólicos extraíbles. Se ha reportado que la semilla de chía es un pseudocereal con altas concentraciones de compuestos fenólicos totales y flavonoides siendo muy abundante en daidzeina y quercetina (Knez et al., 2019).

Cuadro 2. Contenido de fibra total, soluble e insoluble en tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol

| Tratamiento | Fibra insoluble (%) | Fibra soluble (%) | Fibra total (%) |
|--|---------------------|-------------------|-----------------|
| Maíz blanco nixtamalizado (MBN) | 10.74 ± 2.34b | 3.00 ± 0.75b | 13.74 ± 1.58d |
| Maíz azul extruido (MAE) | 16.71 ± 0.03ab | 3.98 ± 0.94ab | 20.69 ± 0.91b |
| MAE con chía | 18.27 ± 2.06a | 8.10 ± 1.79a | 26.37 ± 0.27a |
| MAE con amaranto | 14.90 ± 0.59ab | 1.62 ± 0.88b | 16.53 ± 0.29cd |
| MAE con frijol | 15.16 ± 2.11ab | 2.71 ± 0.86b | 17.87 ± 1.27bc |

Datos expresados como media ± desviación estándar. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

Por otro lado, respecto al contenido de antocianinas estos compuestos fueron mayoritarios en las tortilla elaboradas solamente con maíz azul extruido, dichas antocianinas disminuyeron al agregar amaranto y chía debido a que estos pseudocereales carecen de antocianinas, mientras que, las tortillas adicionadas con frijol tépari mostraron un aumento en comparación con las tortillas adicionadas con pseudocereales, debido a que el frijol tépari presenta aproximadamente 1.7 % de antocianinas en su composición fitoquímica (Gastélum-Ávila, 2018).

Respecto a los compuestos fenólicos no extraíbles, las tortillas elaboradas con maíz azul y frijol presentaron la mayor concentración de estos compuestos, conferido por las proantocianidinas no extraíbles y polifenoles hidrolizables, los cuales fueron 18 % y 49 % más alto que las tortillas de maíz blanco nixtamalizado, respectivamente. Los polifenoles hidrolizables fueron determinados mediante dos hidrólisis: ácida y básica. La hidrólisis ácida determina los polifenoles ligados a la pared celular mediante enlaces glucosídicos, mientras que la hidrólisis básica determina los polifenoles ligados por los enlaces éter y éster (Quatrin et al., 2019). Acorde a esta información, los resultados mostrados en el Cuadro 3 sugieren que las tortillas tienen una mayor cantidad de polifenoles hidrolizables unidos por enlaces éter y éster comparados con los ligados mediante enlaces glucosídicos.

6.2. Caracterización de ácidos fenólicos y flavonoides extraíbles en las diferentes tortillas en estudio

La caracterización de los compuestos fenólicos extraíbles en las tortillas elaboradas a partir de mezclas mostraron una composición diferente a las tortillas utilizadas como controles en este experimento. En el caso de los ácidos fenólicos, la adición de chíá enriqueció a las tortillas comparado con la tortilla de maíz azul (MAE). Los ácidos que presentaron mayor concentración fueron el vanílico, cafeico, quínico (precursor de ácidos fenólicos), y de manera importante los ácidos caftárico y rosmarínico, desde un 36 % a un 95 %. Para la tortilla de maíz azul con amaranto, los principales ácidos identificados fueron ácido benzoico y vanílico en un 70 % y 22 %, respectivamente. Finalmente, para la mezcla de maíz azul con frijol, de los ácidos identificados el ácido shikimico y el ácido quínico (precursores de los ácidos fenólicos) mostraron un mayor contenido comparado con tortillas MAE, en un 41 % y 62 %, respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 3. Cuantificación de compuestos fenólicos extraíbles y no extraíbles en tortillas de harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol

| COMPUESTOS FENÓLICOS EXTRAÍBLES | | | | | |
|---|--|---|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| | Maíz blanco nixtamalizado (MBN) | Maíz azul extruido (MAE) | MAE con chía | MAE con amaranto | MAE con frijol |
| Compuestos fenólicos totales (mg EAG/g) | 0.90 ± 0.06b | 0.99 ± 0.08b | 1.30 ± 0.07a | 0.71 ± 0.06c | 0.99 ± 0.01b |
| Flavonoides totales (mg ECAT/g) | 0.21 ± 0.01cd | 0.29 ± 0.02bc | 0.90 ± 0.06a | 0.20 ± 0.01d | 0.34 ± 0.02b |
| Antocianinas monoméricas (mg EC3G/100 g) | 0.01 ± 0.01d | 77.24 ± 0.06a | 42.68 ± 0.03c | 40.12 ± 0.02c | 54.30 ± 0.05b |
| Proantocianidinas extraíbles (mg EPA/g) | 0.19 ± 0.01c | 0.21 ± 0.02b | 0.19 ± 0.01c | 0.21 ± 0.01b | 0.24 ± 0.01a |
| COMPUESTOS FENÓLICOS NO EXTRAÍBLES | | | | | |
| Proantocianidinas no extraíbles (mg EPA/g) | 1.24 ± 0.05c | 1.44 ± 0.04b | 1.48 ± 0.05ab | 1.44 ± 0.04b | 1.52 ± 0.04a |
| Polifenoles hidrolizables (hidrólisis básica) (mg EAG/g) | 0.84 ± 0.04c | 1.32 ± 0.08b | 1.53 ± 0.07ab | 1.31 ± 0.09b | 1.66 ± 0.02a |
| Polifenoles hidrolizables (hidrólisis ácida) (mg EAG/g) | 0.53 ± 0.02d | 0.95 ± 0.09ab | 1.09 ± 0.09a | 0.73 ± 0.07c | 0.82 ± 0.02bc |

Datos expresados como media ± desviación estándar. Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

Adicionalmente, la mayoría de los ácidos determinados estuvieron en mayor concentración en la tortilla de MAE comparado con la de MBN a excepción del ácido ferúlico, el cual fue mayor en un 85 % en MBN.

Para el caso de flavonoides, la catequina fue detectada solamente en la tortilla de MAE con frijol, mientras que la rutina disminuyó en todas las mezclas de tortillas comparada con la tortilla de MAE (63 %). Además, este flavonoide se detectó en mayor concentración en MAE (hasta 13 veces) comparado con MBN (Cuadro 4).

La semilla de chía contiene concentraciones de ácido vanílico de 0.01 mg/g y una mayor cantidad de ácido caftarico de 0.07 mg/g (Abdel-Aty et al., 2021; Rodríguez-Lara 2021). Esto es acorde a lo encontrado en la tortilla de maíz azul chía, en la cual se presentó una mayor cantidad de ácido caftárico comparado con ácido vanílico. Para el caso del ácido benzoico, la mayor concentración detectada en la tortilla de maíz mezclada con amaranto se debe a las altas concentraciones reportadas para este pseudocereal, hasta de 0.10 mg/g (Pasko et al., 2008; Oyekemi, 2022). Finalmente, para el frijol común se han reportado cantidades de hasta 0.0005 mg/g de ácido shikímico (Nicolás-García et al., 2021). Sin embargo, para el frijol tépari se desconocen las cantidades presentes de ácidos fenólicos.

Cuadro 4. Contenido de ácidos fenólicos y flavonoides en tortillas de harinas extruidas de maíz azul y adicionadas con chía, amaranto y frijol

| Compuesto | MBN (ng/g) | MAE (ng/g) | MAE con chía (ng/g) | MAE con amaranto (ng/g) | MAE con frijol (ng/g) |
|-------------------------|-----------------|-----------------|---------------------|-------------------------|-----------------------|
| Ácidos fenólicos | | | | | |
| Ácido benzoico | 0.029 ± 0.001b | ND | 0.049 ± 0.012b | 0.164 ± 0.001a | ND |
| Ácido 4-hidroxibenzoico | ND | ND | ND | ND | 0.071 ± 0.001 |
| Ácido protocatecuico | ND | 0.265 ± 0.001a | 0.253 ± 0.001a | 0.020 ± 0.001c | 0.119 ± 0.002b |
| Ácido coumárico | 1.807 ± 0.629a | 1.882 ± 0.035a | 0.582 ± 0.242b | 0.867 ± 0.021b | 0.646 ± 0.222b |
| Ácido vanílico | 0.177 ± 0.021cd | 0.249 ± 0.027bc | 0.392 ± 0.044a | 0.321 ± 0.029ab | 0.111 ± 0.024d |
| Ácido shikímico | ND | 0.586 ± 0.072b | ND | 0.463 ± 0.061b | 1.003 ± 0.076a |
| Ácido cafeico | ND | 0.116 ± 0.004b | 0.273 ± 0.001a | ND | ND |
| Ácido quínico | 0.026 ± 0.003d | 0.373 ± 0.007b | 0.955 ± 0.022a | 0.272 ± 0.001c | 0.986 ± 0.016a |
| Ácido ferúlico | 10.133 ± 0.081a | 1.549 ± 0.058b | 1.022 ± 0.060c | 0.694 ± 0.018d | 0.719 ± 0.068d |
| Ácido sinápico | ND | 0.099 ± 0.002 | ND | ND | ND |
| Ácido caftárico | 0.084 ± 0.001c | 0.129 ± 0.019b | 2.495 ± 0.218a | 0.099 ± 0.001c | ND |
| Ácido rosmarínico | ND | ND | 8.020 ± 1.056 | ND | ND |
| Flavonoides | | | | | |
| Catequina | ND | ND | ND | ND | 0.074 ± 0.002 |
| Rutina | 0.041 ± 0.002e | 0.549 ± 0.007a | 0.299 ± 0.011c | 0.436 ± 0.007b | 0.199 ± 0.015d |

Datos expresados como media ± desviación estándar. Valores con diferente letra en la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

6.3. Evaluación *in vivo* de las diferentes tortillas en estudio

Para demostrar el efecto benéfico de las tortillas elaboradas con MAE y adicionadas con chíá, amaranto y frijol, se llevó a cabo un estudio preventivo con ratas alimentados con una dieta hipercalórica y adicionada con dichas tortillas.

En la Figura 2 se muestra la ganancia de peso corporal de los animales alimentados con los diferentes tratamientos, hubo un aumento del 12 % en el grupo alimentado con DAGF en comparación con el grupo de la dieta estándar. No se muestra una diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos. Sin embargo, es importante mencionar que el tratamiento con menor ganancia de peso corporal fue el que consumió tortilla de MAE con frijol ya que ganó menor peso en un 6 % en comparación con el grupo de la dieta estándar.

Esta disminución del peso corporal puede ser parcialmente atribuido al menor consumo de kilocalorías (15 %) presentado por los animales alimentados con DAGF + MAE con frijol en comparación con el grupo alimentado con DAGF (Figura 3).

Estos resultados coinciden con lo reportado con otros autores como Orozco y colaboradores (2017), quienes trabajaron con tortillas de maíz adicionada con inulina y no encontraron diferencia en el peso de corporal de personas sanas al consumir 5 tortillas diarias. Mientras que, otros autores encontraron un aumento de peso corporal del 13 % en ratas alimentadas con tortilla adicionada con harina de nopal y aguacate, este aumento de peso podría estar asociado con el contenido lipídico de las tortillas, el cual fue 9.8 %, 7 veces más que el contenido lipídico presente en las tortillas de nuestro experimento (Rodiles-López et al., 2019). Es importante resaltar que en nuestro estudio no se observa un aumento de peso corporal al consumir 7 tortillas diarias incorporadas en una dieta hipercalórica.

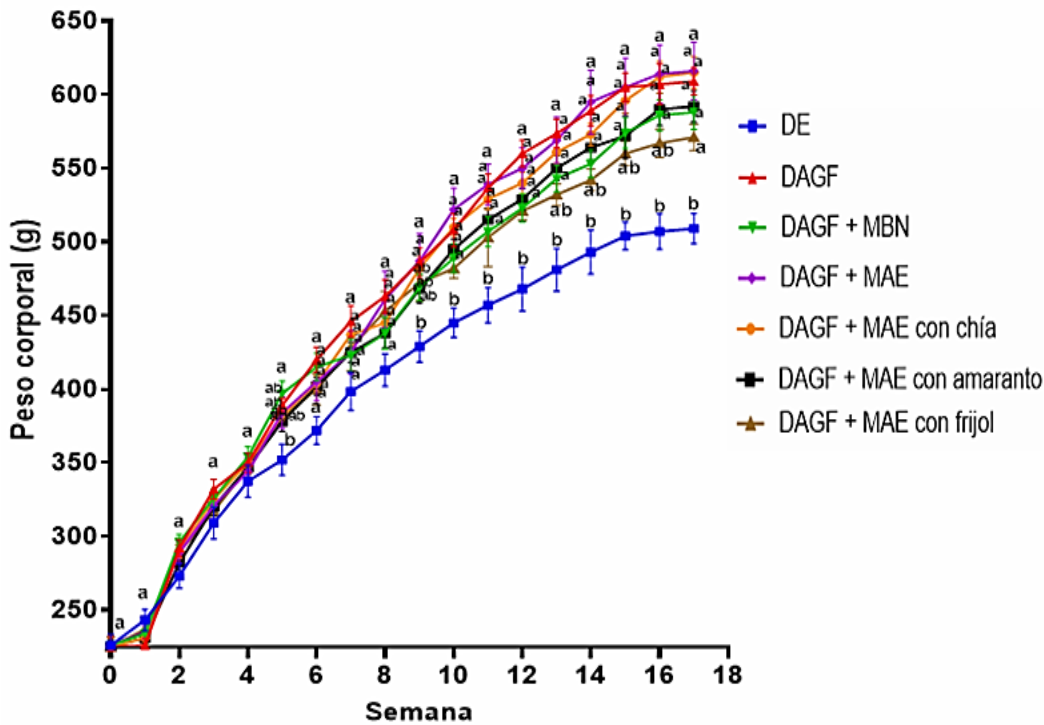


Figura 2. Ganancia del peso corporal de animales alimentados con una dieta suplementada con tortillas elaboradas con harinas extruidas de maíz y adicionadas con pseudocereales y frijol extruidos.

DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: Maíz blanco nixtamalizado. MAE: Maíz azul extruido. Diferente letra en la misma semana para cada tratamiento indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

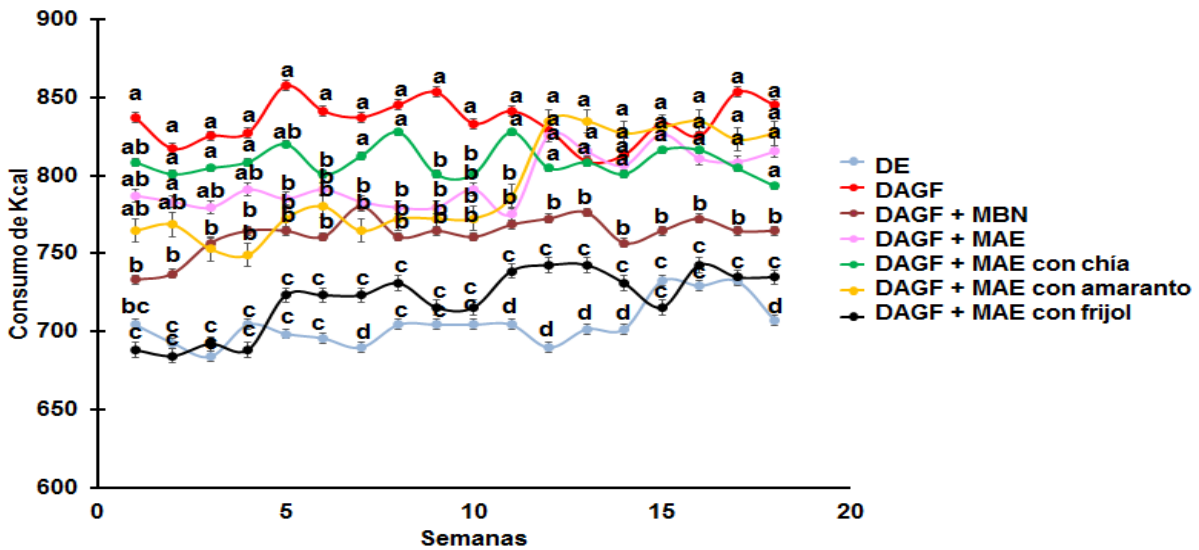


Figura 3. Consumo semanal de kilocalorías de los animales alimentados con una dieta suplementada con las diferentes tortillas.

DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido. Diferente letra en la misma semana para cada tratamiento indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

6.4. Determinación de lípidos en suero y resistencia a insulina de los animales alimentados con las diferentes tortillas en estudio

Se determinaron también los lípidos séricos de los animales experimentales (Cuadro 4). Para el caso de triglicéridos hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo de la dieta estándar y la dieta hipercalórica quien presentó una concentración más alta (47 %). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre ninguno de los tratamientos alimentados con DAGF. Sin embargo, es importante mencionar que hubo una disminución del 9 % en el grupo que consumió tortilla de MAE con frijol en comparación con el grupo alimentado con DAGF. Estudios previos con ratas genéticamente obesas y alimentadas con frijol tépari durante 13 semanas se reportó una disminución de los triglicéridos en suero hasta en un 50 % (Rodgers et al., 2007). Sin embargo, en dicho estudio se evaluó una dieta adicionada con 56.4 % de frijol tépari, mientras que en nuestro estudio el contenido de frijol en la tortilla y adicionado a la DAGF correspondía a un 3.9 % de esta leguminosa. Por lo tanto, una mayor concentración de frijol tépari en la tortilla podría tener un mayor efecto hipotrigliceridémico.

La determinación de colesterol sérico y HDL-colesterol no presentó diferencia significativa entre ninguno de los grupos del estudio, esto coincide con lo reportado por Orozco y colaboradores (2017). Estos autores evaluaron los efectos del consumo de 5 tortillas diarias adicionadas con inulina y no encontraron una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de colesterol y HDL-colesterol sérico después de la intervención con tortillas.

Cuadro 5. Determinación de lípidos en suero de ratas alimentadas con una dieta suplementada con las diferentes tortillas

| Tratamiento | Triglicéridos mg/DI | Colesterol mg/dL | HDL mg/dL |
|--------------------------------|---------------------------|------------------|---------------|
| DE | 47.25 ± 3.07b | 57.00 ± 2.26a | 24.21 ± 1.41a |
| DAGF | 87.38 ± 2.03 ^a | 62.16 ± 0.99a | 19.93 ± 0.59a |
| DAGF + MBN | 83.50 ± 4.90 ^a | 52.30 ± 0.75a | 18.24 ± 1.47a |
| DAGF + MAE | 81.83 ± 3.70 ^a | 57.43 ± 1.14a | 19.56 ± 1.27a |
| DAGF + MAE con chía | 91.63 ± 4.90 ^a | 59.81 ± 1.18a | 20.33 ± 1.24a |
| DAGF + MAE con amaranto | 83.28 ± 3.64 ^a | 58.56 ± 1.25a | 23.62 ± 1.73a |
| DAGF + MAE con frijol | 79.8 ± 1.25 ^a | 51.66 ± 1.01a | 21.19 ± 1.74a |

Los valores son expresados como la media ± el error estándar. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey). DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido.

Se determinó la resistencia a insulina de los diferentes grupos experimentales, la glucosa sérica no presentó diferencias significativas entre ninguno de los grupos de estudio. Rodiles-López y colaboradores (2019), realizaron un estudio con ratas Wistar alimentadas durante 21 días con una dieta hipercolesterolémica e hipertrigliceridémica adicionada con 71 % de tortilla, las cuales fueron elaboradas con harina de nopal (2.5 %) y aguacate (2.5 %). Estos autores reportaron una disminución de glucosa sérica del 24 % y dicho efecto fue atribuido principalmente al contenido de nopal y no asociaron el efecto a la tortilla. Sin embargo, en este experimento se utilizó una proporción 5 veces mayor de tortilla en la dieta, en comparación de nuestro estudio, lo cual podría explicar los beneficios observados.

Para el caso de insulina, hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo DE quien presentó una menor concentración (49 %) en comparación con el grupo DAGF. Un resultado no esperado fue el aumento de insulina sérica en el grupo alimentado con tortilla de MAE con amaranto quien presentó las mayores concentraciones de esta hormona (70 %) en comparación con el grupo sano o DE. El mismo comportamiento se presentó para la resistencia a insulina (HOMA-

IR), en donde el grupo obeso (DAGF) mostró un mayor índice del 32 % comparado con el DE, y los animales alimentados con tortillas adicionadas con chía y amaranto, presentaron valores mayores de HOMA en un 31 % y 42 % respectivamente, respecto al grupo DAGF (Cuadro 6).

Cuadro 6. Determinación de resistencia a insulina de ratas alimentadas con una dieta suplementada con las diferentes tortillas

| Tratamiento | Glucosa (mg/dL) | Insulina (ng/mL) | HOMA-IR |
|---|-----------------|--------------------------|---------------------------|
| Dieta estándar | 138.63 ± 3.65a | 2.98 ± 0.24d | 5.14 ± 0.63c |
| DAGF | 144.32 ± 1.62a | 5.77 ± 0.19c | 7.39 ± 0.29bc |
| DAGF + maíz blanco nixtamalizado | 137.09 ± 2.71a | 7.64 ± 0.44b | 9.05 ± 0.61abc |
| DAGF + maíz azul extruido (MAE) | 140.64 ± 3.01a | 6.08 ± 0.13c | 7.36 ± 0.35bc |
| DAGF + MAE con chía | 150.62 ± 2.23a | 7.63 ± 0.27b | 10.80 ± 0.38ab |
| DAGF + MAE con amaranto | 143.73 ± 3.09a | 10.3 ± 0.34 ^a | 12.73 ± 1.71 ^a |
| DAGF + MAE con frijol | 145.67 ± 2.22a | 6.53 ± 0.09bc | 8.81 ± 1.94bc |

Los valores son expresados como la media ± el error estándar. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey). DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido.

Uno de los principales componentes de las tortillas es el almidón y su hidrólisis durante la digestión podría incrementar el contenido de glucosa sanguínea y la resistencia a la insulina. Para determinar la relación del contenido de almidón en las tortillas y dicha resistencia, se llevó a cabo la cuantificación de este. Las tortillas de MAE con chía presentaron el menor contenido de este carbohidrato (49 %), mientras que la concentración de MAE con amaranto y de MAE fueron del 62 % (Figura 4). La resistencia a la insulina (HOMA-IR) de este grupos fueron del 7.36 % y 12.73 %, respectivamente y MAE con chía que presentó el menor contenido de almidón y alta resistencia a insulina (HOMA-IR, 10.80). Por lo tanto, no existe relación entre el porcentaje de almidón disponible y la resistencia a esta hormona.

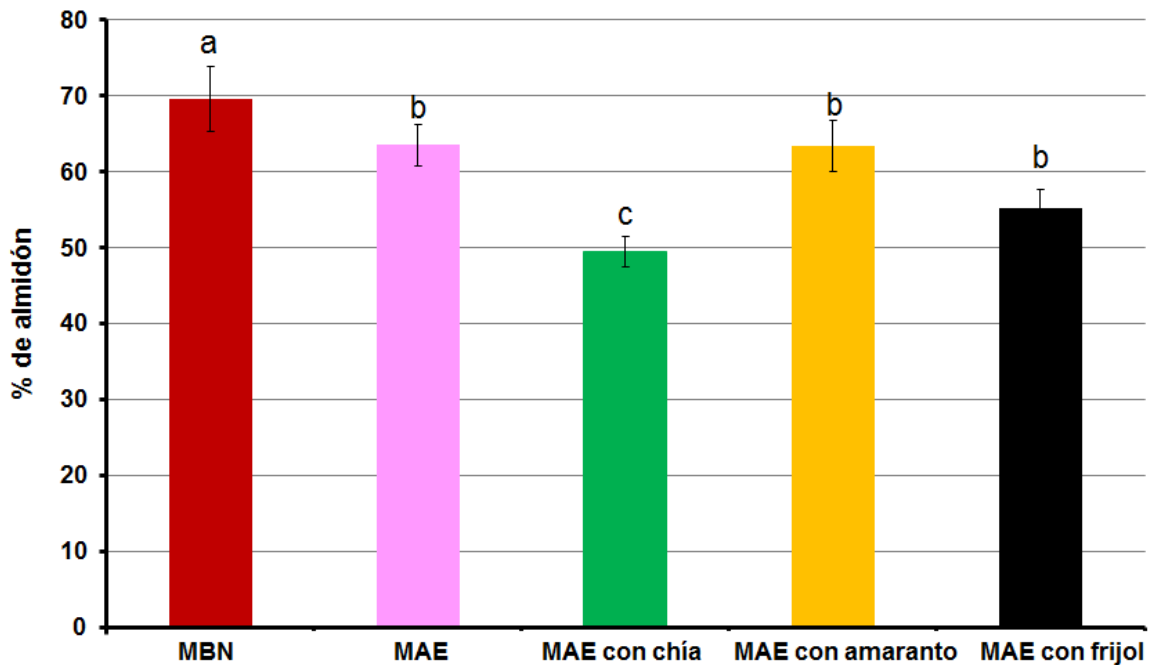


Figura 4. Porcentaje de almidón disponible presente en las diferentes tortillas en estudio.

DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido. Valores con diferente letra en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

6.5. Consumo de fibra y compuestos fenólicos extraíbles de los animales alimentados con las diferentes tortillas en estudio

Para determinar la asociación de los compuestos fenólicos extraíbles y fibra dietaria sobre los efectos fisiológicos, se determinó el consumo de estos en los diferentes tratamientos. Para el caso de compuestos fenólicos extraíbles los grupos de MAE y MAE con chía consumieron una mayor cantidad de estos (6 %) en comparación con el grupo alimentado con la DAGF. Por otro lado, el consumo de fibra fue mayor en los grupos de MAE con chía y MAE con frijol, éstos consumieron 38 % más en comparación con el grupo alimentado con la DAGF (Figura 5). A pesar de que el grupo de MAE con chía presentó el mayor consumo de polifenoles y fibra dietaria, el tratamiento con esta tortilla no presentó beneficios a la salud e incrementó la resistencia a insulina (Figura 5).

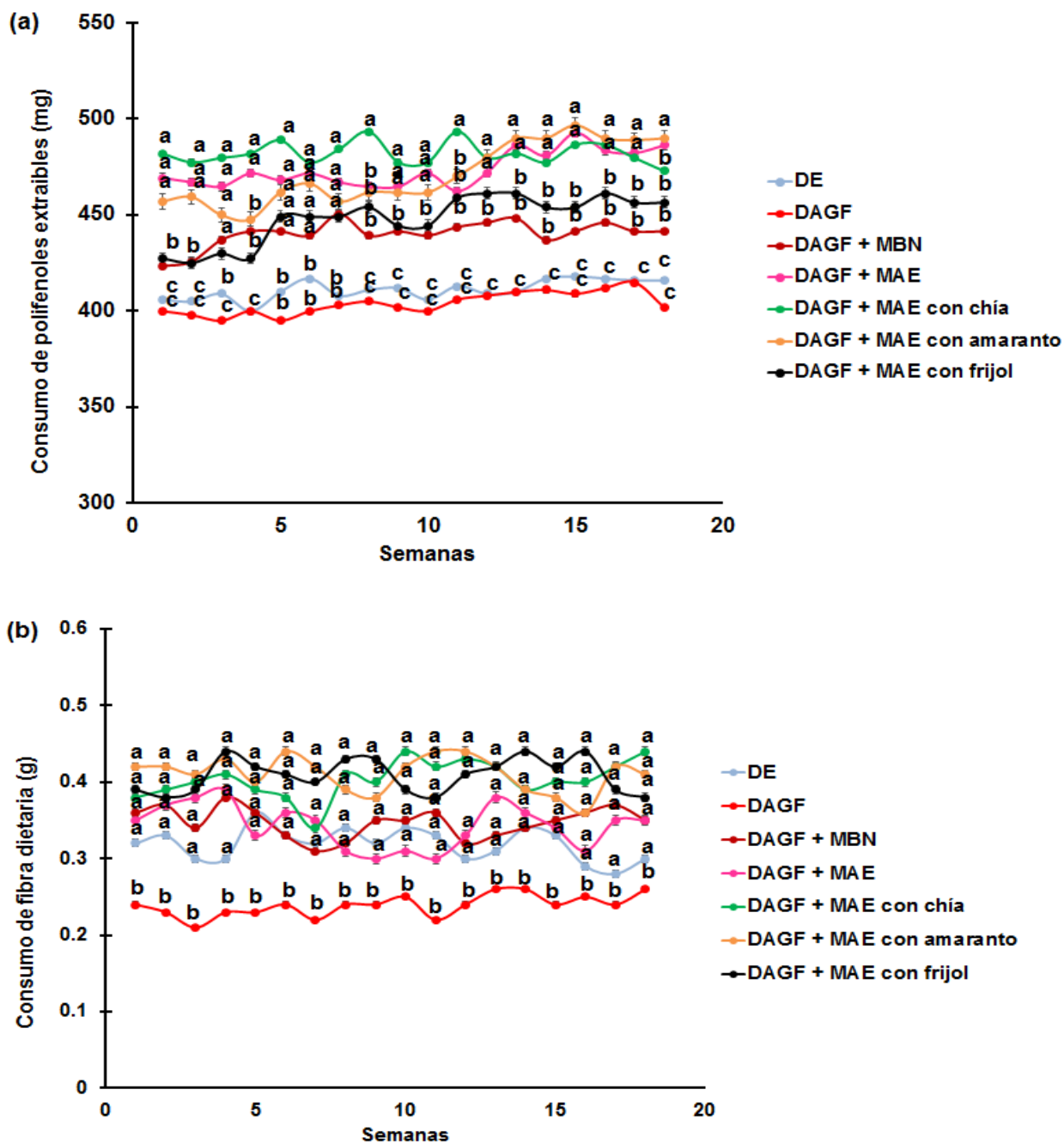


Figura 5. Consumo semanal de compuestos fenólicos (a) y fibra dietaria (b) de los animales alimentados con una dieta suplementada con las diferentes tortillas. DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido. Diferente letra en la misma semana para cada tratamiento indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) (Prueba de Tukey).

6.6 Determinación de la microbiota intestinal en los animales alimentados con las tortillas en estudio

Respecto a la composición de la microbiota intestinal esta se determinó para evaluar la asociación de esta con los efectos observados *in vivo*, tales como un incremento de la resistencia a insulina. En la abundancia relativa a nivel filo se puede observar que los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes* son los de mayor abundancia, integrando hasta un 90 % el contenido de la microbiota intestinal, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (Amabebe et al., 2020; Carbone et al., 2021; Houghton et al., 2023). El filo *Firmicutes* es el que se asocia a un fenotipo de obesidad, lo cual coincide en nuestro estudio ya que el grupo alimentado con DAGF fue quien presentó mayor abundancia relativa respecto a este filo. Por otro lado, el filo *Bacteroidetes* se encuentra asociado a un fenotipo saludable. De igual manera, en nuestro estudio el grupo alimentado con una DE (sano) mostró el mayor porcentaje de abundancia relativa respecto al filo *Bacteroidetes*. En general, los tratamientos adicionados con tortilla a base de mezclas con harinas extruidas mostraron un contenido similar del filo *Bacteroidetes* con respecto al grupo de la dieta estándar. Por lo tanto, el consumo de tortillas modificó la composición de la microbiota intestinal. Además de estos dos filos, también se presentó de manera importante los filos *Euryarchaeota*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria* (Figura 6). Esto coincide con lo reportado por Chiou y colaboradores (2022) quienes demuestran una mejora en la composición bacteriana a nivel filo de la microbiota intestinal al consumir maíz con alto contenido de amilosa

La alfa diversidad es una medida que estima la riqueza y uniformidad de la composición de la microbiota intestinal de cada individuo. En la Figura 7 se muestra el resultado de la alfa diversidad medido a través del método Chao1 que hace referencia a la riqueza de cada grupo alimentado con los diferentes tratamientos. No se muestra una diferencia entre los tratamientos respecto al grupo alimentado con la DAGF, el grupo alimentado con la dieta estándar mostró una menor riqueza en comparación de los demás grupos, esto sugiere que éste

grupo presenta una menor disbiosis intestinal debido a la disminución de la riqueza bacteriana, es decir, podría presentar una mayor uniformidad entre las bacterias presentes en cada individuo de este grupo.

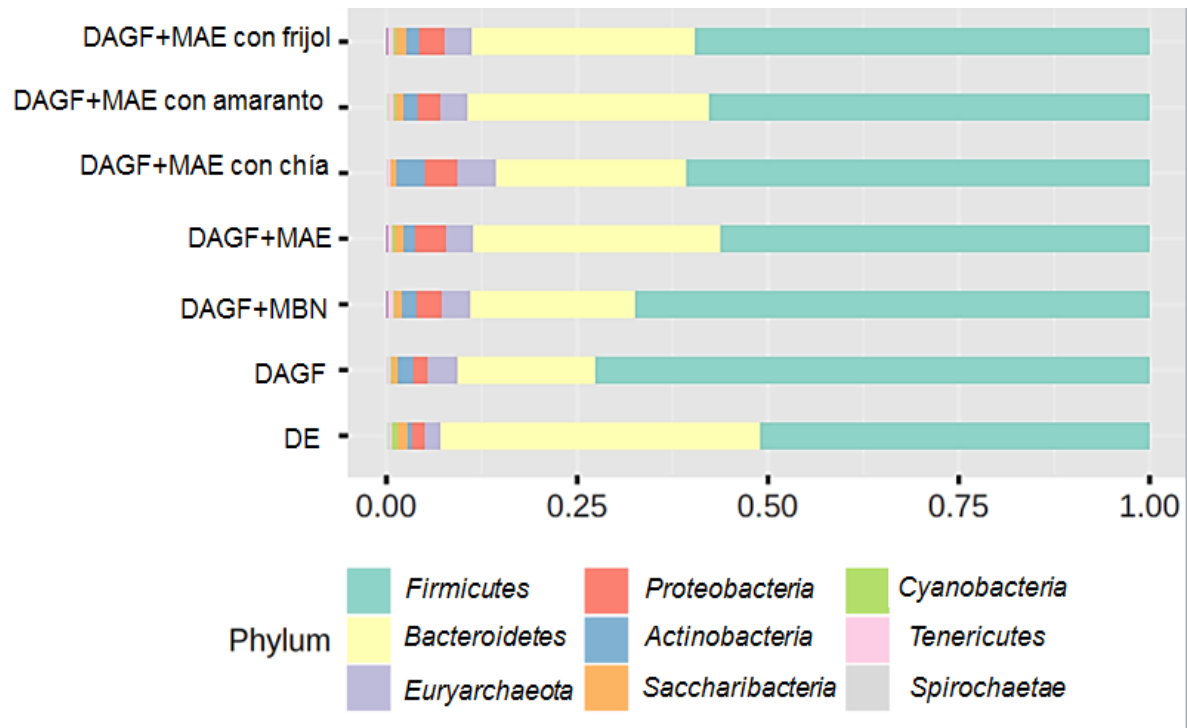


Figura 6. Abundancia relativa de la composición de la microbiota intestinal de ratas alimentadas con las diferentes tortillas.

DE: Dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido

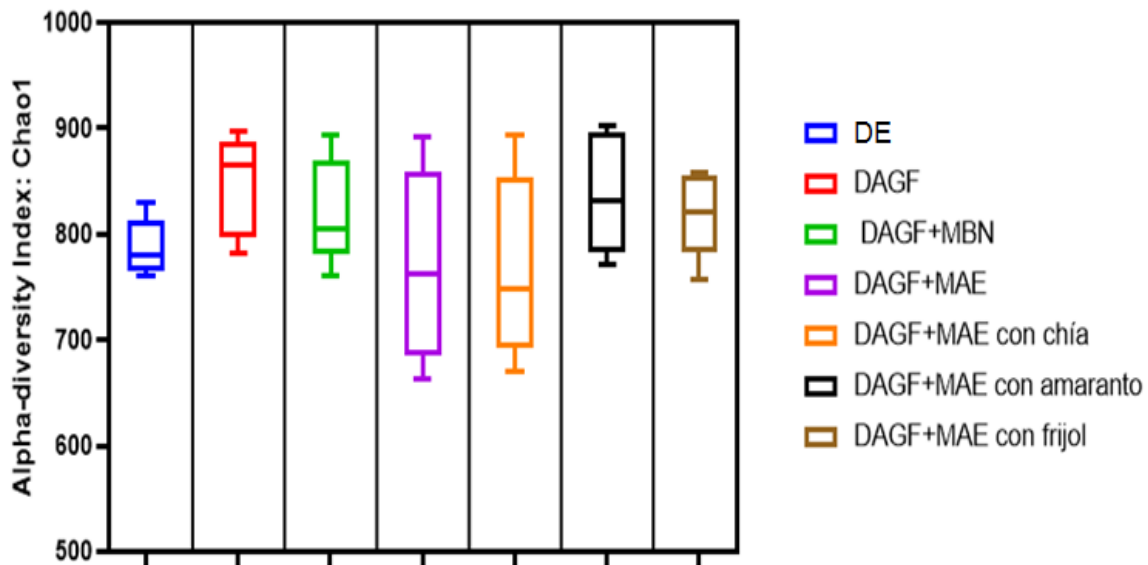


Figura 7. Alfa diversidad medida con el método Chao1 referente a la riqueza bacteriana de cada grupo alimentado con las diferentes tortillas.

DE: Dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido

La beta diversidad representa la comparación de comunidades microbianas en función de su composición. Proporciona una medida de distancia o diferencia entre cada muestra. En la Figura 8 se muestran los resultados de la beta diversidad medida con el método de Bray-Curtis y graficado mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA), este método representa un gráfico de dos o tres dimensiones. Los ejes proyectados muestran una variación de 35 % de los datos, además se muestra una tendencia de separación en la distribución de los animales experimentales alimentados con dieta estándar respecto a los alimentados con DAGF con o sin tratamiento, esto podría reflejar que el factor de cambio de la beta diversidad de la microbiota intestinal de los animales fue la inclusión de grasa y fructosa a la dieta. Por otro lado, los tratamientos a base de tortilla muestran una tendencia similar de variabilidad y distribución al grupo DAGF.

Con base en lo anterior se observa que la alfa y beta diversidad de los tratamientos adicionados con las diferentes tortillas muestran una riqueza bacteriana, y una variabilidad y distribución similar a la DAGF. Por lo tanto, el consumo de las diferentes tortillas no alteró la riqueza bacteriana y el aumento de la resistencia a insulina no está asociado a modificaciones de la microbiota. Estos

resultados concuerdan con algunos otros reportados en los que se trabaja *in vivo* con diferentes tipos de maíz como el blanco, amarillo y naranja, Chang y colaboradores (2022) reportan una mejora en la composición de la microbiota intestinal a nivel filo, sin embargo en su alfa y beta diversidad no hay diferencia estadística significativa al consumir 56 % de maíz en la dieta de pollos de engorda.

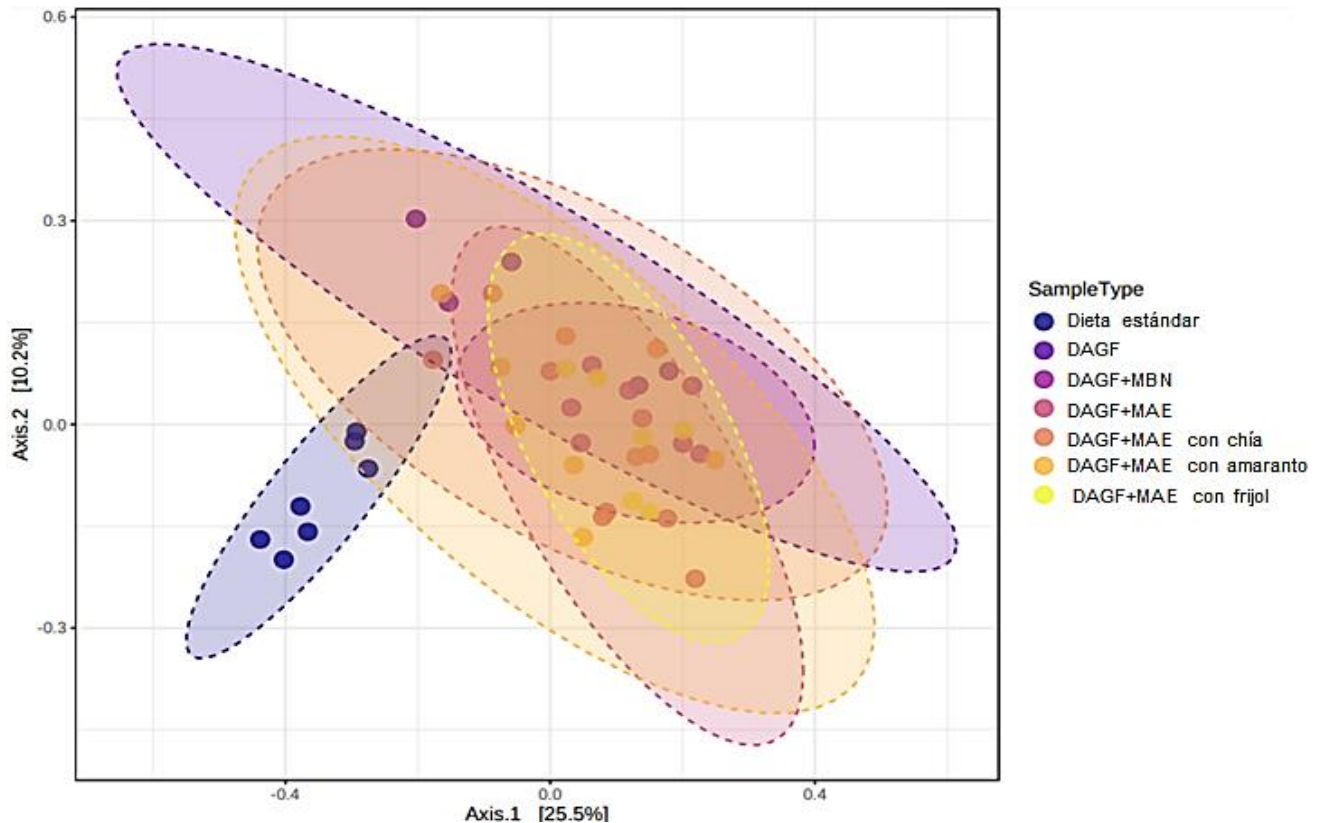


Figura 8. Determinación de la beta diversidad medida el método Bray-Curtis referente a la riqueza bacteriana de cada grupo alimentado con las diferentes tortillas.

DE: dieta estándar. DAGF: dieta alta en grasa y fructosa. MBN: maíz blanco nixtamalizado. MAE: maíz azul extruido

7.0 CONCLUSIONES

La tortilla elaborada con mezclas extruidas de maíz azul con chía presentaron la mayor concentración de proteínas, fibra total y contenido de compuestos fenólicos extraíbles. Mientras que la mezcla de maíz azul con frijol presenta una mayor concentración de compuestos polifenólicos no extraíbles.

El consumo de tortilla no disminuyó la ganancia de peso corporal con ninguno de los tratamientos, presentándose solamente una disminución del 6 % en el grupo alimentado con tortilla de MAE con frijol. Dicho efecto podría estar asociado a la menor ingesta del contenido calórico.

El consumo de tortillas no disminuyó los lípidos sanguíneos y las tortillas de MAE con chía y amaranto incrementaron la resistencia a insulina.

El mayor consumo de fibra y compuestos fenólicos provenientes de las tortillas experimentales, no mejoraron los beneficios a la salud asociados a la obesidad.

El consumo de tortilla modificó la microbiota intestinal a nivel filo. Sin embargo, la alfa y beta diversidad no presentaron cambios significativos de éstas. Por lo tanto, el incremento de la resistencia a insulina no está asociado a modificaciones bacterianas.

8.0 Bibliografía

- Abdel-Aty, A. M., Elsayed, A. M., Salah, H. A., Bassuiny, R. I., & Mohamed, S. A. (2021). Egyptian chia seeds (*Salvia hispanica* L.) during germination: Upgrading of phenolic profile, antioxidant, antibacterial properties and relevant enzymes activities. *Food science and biotechnology*, 30(5), 723–734.
- Abreu Y Abreu, A.T., Milke-García, M.P., Argüello-Arévalo, G.A., Calderón-de la Barca, A.M., Carmona-Sánchez, R.I., Consuelo-Sánchez, A., Coss-Adame, E., García-Cedillo, M.F., Hernández-Rosiles, V., Icaza-Chávez, M.E., Martínez-Medina, J.N., Morán-Ramos, S., Ochoa-Ortiz, E., Reyes-Apodaca, M., Rivera-Flores, R.L., Zamarripa-Dorsey, F., Zárate-Mondragón, F., & Vázquez-Frias, R. (2021). Dietary fiber and the microbiota: A narrative review by a group of experts from the Asociación Mexicana de Gastroenterología. *Revista de Gastroenterología de Mexico*, 86(3), 287–304
<https://doi.org/10.1016/j.rgmxen.2021.02.002>
- Ağagündüz, D., Coccozza, E., Cemali, Ö., Bayazit, A.D., Nani, M.F., Cerqua, I., Morgillo, F., Saygili, S.K., Berni Canani, R., Amero, P., & Capasso, R. (2023). Understanding the role of the gut microbiome in gastrointestinal cancer: A review. *Frontiers in Pharmacology* 14:1130562
<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1130562>
- Almeida-Alvarado, S. L., Aguilar-López, T., y Hervert-Hernández, D. (2014). La fibra y sus beneficios a la salud. *Anales Venezolanos de Nutrición* 27(1), 73-76, ISSN 0798-0752
- Amabebe, E., Robert, F. O., Agbalalah, T., & Orubu, E. S. F. (2020). Microbial dysbiosis-induced obesity: role of gut microbiota in homoeostasis of energy metabolism. *British Journal of Nutrition*, 123(10), 1127–1137
doi:10.1017/S0007114520000380
- Anayansi, E. A., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P. I., Barrón-Hoyos, J. M., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., & López-Cervantes, J. (2013). La nixtamalización y su efecto en el contenido de antocianinas de maíces pigmentados, una revisión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(4), 429-437.
- Aréchiga-Chávez, K. E. (2020). Desarrollo de Tortillas Saludables a base de Maíz Azul (*Zea mays* L.) y Frijol Tépari (*Phaseolus acutifolius*) mediante la

Tecnología de Extrusión Alcalina. Tesis de Maestría. Repositorio Universidad Autónoma de Sinaloa

Agarwal, A.; Rizwana; Tripathi, A.D.; Kumar, T.; Sharma, K.P.; Patel, S.K.S. (2023). Nutritional and Functional New Perspectives and Potential Health Benefits of Quinoa and Chia Seeds. *Antioxidants*, 12, 1413, <https://doi.org/10.3390/antiox12071413>

AOAC Oficial Method 985.29 (2002). Determination of total dietary fiber by enzymatic-gravimetric method. Fecha de consulta: 01/03/2022. Disponible en: OMA (aoac.org)

Baraniak, J., & Kania-Dobrowolska, M. (2022). The dual nature of amaranth-Functional food and potential medicine. *Foods* 11(4), 618 <https://doi.org/10.3390/foods11040618>

Batis C., Sánchez T., García C. G., Rodríguez S. y Ramírez I. (2018). Dieta en México y Efectos en Salud. En: "La Obesidad en México: Estado de la Política Pública y Recomendaciones para su Prevención y Control". Rivera-Dommarco J. A., Colchero M. A., Fuentes M. L., González T., Aguilar Salinas C. A., Hernández Licona G. y Barquera S. (eds.). Capítulo 2. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública

Biswas, S., Islam, F., Imran, A., Zahoor, T., Noreen, R., Fatima, M., Zahra, S.M., & Shah, M.A. (2023) Phytochemical profile, nutritional composition, and therapeutic potentials of chia seeds: A concise review- *Cogent Food and Agriculture*, 9:1, 2220516, <https://doi.org/10.1080/23311932.2023.2220516>

Brauchla, M., Juan, W., Story, J., & Kranz, S. (2012). Sources of dietary fiber and the association of fiber Intake with childhood obesity risk (in 2-18 year olds) and diabetes risk of adolescents 12-18 year olds: NHANES 2003-2006. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 736258 <https://doi.org/10.1155/2012/736258>

Chang, T., Ngo, J., Vargas, J. I., Rocheford, E., Rocheford, T., Ortiz, D., Karcher, D. M., & Johnson, T. A. (2022). Research Note: Orange corn altered the cecal microbiome in laying hens. *Poultry science*, 101(3), 101685. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101685>

- Cheng, Z., Zhang, Z., Yang, L., & Chu, H. 2022. The critical role of gut microbiota in obesity. *Frontiers in Endocrinology* <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1025706>
- Chiou, W. C., Lai, W. H., Cai, Y. L., Du, M. L., Lai, H. M., Chen, J. C., Huang, H. C., Liu, H. K., & Huang, C. (2022). Gut microbiota-directed intervention with high-amylose maize ameliorates metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *Food & function*, 13(18), 9481–9495. <https://doi.org/10.1039/d2fo01211a>
- Cho KY. Association of gut microbiota with obesity in children and adolescents. 2023. *Clinic and Experimental Pediatrics* 66(4):148-154 <https://doi.org/10.3345%2Fcep.2021.01837>
- Coorey, R., Grant, A., & Jayasena, V. (2012). Effect of chia flour incorporation on the nutritive quality and consumer acceptance of chips. *Journal of Food Research*, 1, 85-95 <http://dx.doi.org/10.5539/jfr.v1n4p85>
- Corrales-Bañuelos, A.B., Cuevas-Rodríguez, E.O., Gutierrez-Urbe, J.A., Milan-Noris, E.M., Reyes-Moreno, C., Milan-Carrillo, J., Mora-Rochín, S. (2016). Carotenoid composition and antioxidant activity of tortillas elaborated from pigmented maize landrace by traditional nixtamalization or lime cooking extrusion process. *Journal of Cereal Science* 69, 64-70 <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.009>
- Cuevas-Sierra, A., Ramos-Lopez, O. Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., & Martinez, J. A. (2019). Diet, gut microbiota, and obesity: Links with host genetics and epigenetics and potential applications. *Advances in Nutrition*, 10(suppl_1), S17-S30 doi: <https://doi.org/10.1093/advances/nmy078>.
- De Jesús Mex, R. M., & Garma-Quen, P. M. (2017). Influencia de las variedades de maíz (*Zea mays* L.) de Campeche (México) sobre la ganancia de peso en ratones/Influence of the maize varieties *Zea mays* L. of Campeche on the weight gain in mice. *CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 6(11), 57-72.
- De Mejia, E. G., Valadez-Vega, M. D. C., Reynoso-Camacho, R., & Loarca-Pina, G. (2005). Tannins, trypsin inhibitors and lectin cytotoxicity in tepary (*Phaseolus acutifolius*) and common (*Phaseolus vulgaris*) beans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60, 137-145.

- 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 <http://dx.doi.org/10.1021/jf063487p>
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C.H., Saldivar, S.O.S., & Talcott, S.T. (2006). Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39(6), 696-703 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2006.01.014>
- Dena-Beltrán, J.L.; Nava-Domínguez, P.; Palmerín-Carreño, D.; Martínez-Alarcón, D.; Moreno-Celis, U.; Valle-Pacheco, M.; Castro-Guillén, J.L.; Blanco-Labra, A.; García-Gasca, T. (2023). EGFR and p38^{MAPK} contribute to the apoptotic effect of the recombinant lectin from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) in colon cancer cells. *Pharmaceuticals* 16, 290 <https://doi.org/10.3390/ph16020290>
- Enes, B.N., Moreira, L.P.D., Silva, B.P., Grancieri, M., Lúcio, H.G., Venâncio, V. P., Mertens-Talcott, S.U., Rosa, C.O.B., & Martino, H.S.D. (2020). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) effects and their molecular mechanisms on unbalanced diet experimental studies: A systematic review. *Journal of Food Science*, 85(2), 226–239 <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15003>
- Fan, S., Chen, S., & Lin, L. (2023) Research progress of gut microbiota and obesity caused by high-fat diet. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 13:1139800 <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1139800>
- Fernández-Suárez, R., Morales-Chávez, L. A., & Gálvez-Mariscal, A. (2013). Importancia de los maíces nativos de México en la dieta nacional: Una revisión indispensable. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36, 275-283 <http://dx.doi.org/10.35196/rfm.2013.3-S3-A.275>
- Gadde, K. M., Martin, C. K., Berthoud, H. R., & Heymsfield, S. B. (2018). Obesity: pathophysiology and management. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(1), 69-84 <https://doi.org/10.1016%2Fj.jacc.2017.11.011>
- Gámez-Valdez, L. C., Gutiérrez-Dorado, R., Gómez-Aldapa, C. A., Perales-Sánchez, J. X. K., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Mora-Rochín, S., & Reyes-Moreno, C. (2021). Effect of the extruded amaranth flour addition on the nutritional, nutraceutical and sensory quality of tortillas produced from

- extruded creole blue maize flour. *Biocencia*, 23(2), 103-112
DOI:[10.18633/biocencia.v23i2.1392](https://doi.org/10.18633/biocencia.v23i2.1392)
- García-Chávez, C. G., Monterrubio-Flores, E., Ramírez-Silva, I., Aburto, T. C., Pedraza, L. S., & Rivera-Dommarco, J. (2020). Food contribution to total daily energy intake in the Mexican population older than five years. *Salud Pública de México*, 62(2), 166-180 <https://doi.org/10.21149/10636>
- Gaxiola-Cuevas N, Mora-Rochín S, Cuevas-Rodríguez EO, León-López L, Reyes-Moreno C, Montoya-Rodríguez A, Milán-Carrillo J. 2017. Phenolic acids profiles and cellular antioxidant activity in tortillas produced from pigmented maize processed by nixtamalization or lime extrusion. *Plant Foods for Human Nutrition* 72:314-320 <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0624-3>
- Geng, J., Ni, Q., Sun, W., Li, L., & Feng, X. (2022). The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 147, 112678 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112678>
- Cheng, Z., Zhang, L., Yang, L., & Chu, H. (2022). The critical role of gut microbiota in obesity. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)* 20;13:1025706 <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1025706>
- Grajales-García, E.M., Osorio-Díaz, P., Goñi, I., Hervert-Hernández, D., Guzmán-Maldonado, S.H., Bello-Pérez, L.A. 2012. 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, 286-301. <https://doi.org/10.3390/ijms13010286>
- Gutiérrez, A.G.Q., Rosendo, G.G., Navarro, A.S., Navarrete, G.E.R., Sánchez, J.V., & Rivera, G.B. (2014). Caracterización de una tortilla tostada elaborada con maíz (*Zea mays*) y alga (*Ulva clathrata*) como prospecto de alimento funcional. *Revista Española de Nutrición Comunitaria* 20(1), 22-28 <http://dx.doi.org/10.7400/RENC.2014.01.1.5005>
- Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217-225. [http://dx.doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00221-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00221-8)
- Hassan, F.A., Ismail, A., Abdulhamid, A., & Azlan, A. (2011). Identification and quantification of phenolic compounds in bambangan (*Mangifera pajang* Kort.)

- peels and their free radical scavenging activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9102-9111 <http://dx.doi.org/10.1021/jf201270n>
- Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., Vincieri, F. F., & Romani, A. (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food chemistry*, 99(3), 464-469.
- Houghton, D., Shannon, O. M., Chater, P. I., Wilcox, M. D., Pearson, J. P., Stanforth, K., ... & Malcomson, F. C. (2023). White kidney bean extract as a nutraceutical: Effects on gut microbiota, alpha-amylase inhibition, and user experiences. *Gut Microbiome*, 1-21.
- Hernández-Uribe, J. P., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Tovar, J., & Bello-Pérez, L. A. (2007). Chemical composition and in vitro starch digestibility of pigmented corn tortilla. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(13), 2482-2487.
- INEGI. 2019.
- Joshi, D. C., Sood, S., Hosahatti, R., Kant, L., Pattanayak, A., Kumar, A., ... & Stetter, M. G. (2018). From zero to hero: the past, present and future of grain amaranth breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 1807-1823.
- Jandhyala, S.M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Reddy, D.N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology* 21(29), 8787 <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>
- Kamau, E.H., Nkhata, S.G., & Ayua, E.O. (2020). Extrusion and nixtamalization conditions influence the magnitude of change in the nutrients and bioactive components of cereals and legumes. *Food Science and Nutrition*, 8(4), 1753-1765 <http://dx.doi.org/10.1002/fsn3.1473>
- Kasprzak-Drozd, K., Oniszczuk, T., Stasiak, M., & Oniszczuk, A. (2021). Beneficial effects of phenolic compounds on gut microbiota and metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3715. <https://doi.org/10.3390/ijms22073715>
- Khursheed, T., Fatima, T., Qadri, T., Rafiq, A., Malik, A., Naseer, B., & Hussain, S.Z. (2023) Biochemical, nutraceutical and phytochemical characterization of chia and basil seeds: A comparative study. *International*

- Journal of Food Properties* 26:1, 1-13,
<https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2151617>
- Knez Hrnčič, M., Ivanovski, M., Cör, D., & Knez, Ž. (2019). Chia seeds (*Salvia hispanica* L.): An overview - phytochemical profile, isolation methods, and application. *Molecules*, 25(1), 11 <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25010011>
- Konozy, E.H.E., & Osman, M.E.M. (2022). Plant lectin: A promising future anti-tumor drug. *Biochimie*, 202, 136–145
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2022.08.002>
- Kulczyński, B., Kobus-Cisowska, J., Taczanowski, M., Kmiecik, D., & Gramza-Michałowska, A. (2019). The chemical composition and nutritional value of chia seeds - Current state of knowledge. *Nutrients*, 11(6), 1242,
<https://doi.org/10.3390/nu11061242>
- 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
<https://link.springer.com/article/10.1007/s12161-015-0318-0>
- Lee, Y. M., Yoon, Y., Yoon, H., Park, H. M., Song, S., & Yeum, K. J. (2017). Dietary anthocyanins against obesity and inflammation. *Nutrients*, 9(10), 1089
<https://doi.org/10.3390/nu9101089>
- Lépiz I.R. (ed). 2007. *Avances de Investigación 2003-2006. Red Frijol*. Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). Las Agujas, Municipio de Zapopan, Jalisco, México.97 pp.
- 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), 56-66
<https://doi.org/10.18633/biotechnia.v21i3.1012>
- León-Murillo J. R., Gutiérrez-Dorado R., Reynoso-Camacho R., Milán-Carrillo J., Perales-Sánchez JXK, Cuevas-Rodríguez EO, Reyes-Moreno C. 2021. Tortillas made with extruded flours of blue maize and chia seeds as an nutritious and

- nutraceutical food option. *Agrociencia* 55: 487-506.
<https://doi.org/10.47163/agrociencia.v55i5.2555>
- Magaña-Cerino, J.M., Peniche-Pavía, H.A., Tiessen, A., & Gurrola-Díaz, C.M. 2020. Pigmented maize (*Zea mays* L.) contains anthocyanins with potential therapeutic action against oxidative stress. A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 70(2), 00|00 <http://dx.doi.org/10.31883/pjfns/113272>
- Martínez-Flores, H.E., Figueroa, J.D.C., Martínez-Bustos, F., González-Hernández, J., García, M.R., López, A.B., & Garnica-Romo, M.G. (2002). Physical properties and composition of femurs of rat fed with diets based on corn tortillas made from different processes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 53(2), 155-162
<http://dx.doi.org/10.1080/09637480220132166>
- Martínez-Villaluenga, C., Peñas, E., & Hernández-Ledesma, B. (2020). Pseudocereal grains: Nutritional value, health benefits and current applications for the development of gluten-free foods. *Food and Chemical Toxicology*, 137, 111178 <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111178>
- Masood, M.A.B. 2022. Chia seeds as potential nutritional and functional ingredients: A review of their applications for various food industries. *Journal of Nutrition and Food Science Technology* 4(1),1-14
<http://www.unisciencepub.com/>
- Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Perales-Sánchez, J.X.K., Cuevas-Rodríguez, E.O., Ramírez-Wong, B., & Reyes-Moreno, C. (2006). The optimization of the extrusion process when using maize flour with a modified amino acid profile for making tortillas. *International Journal of Food Science & Technology*, 41(7), 727-736 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00997.x>
- Mora-Rochin S, Menchaca-Armenta M, Milan-Noris AK, Gutierrez-Uribe JA, Cuevas-Rodríguez EO, Reyes-Moreno C, Milan-Carrillo J. 2021. Optimization of lipophilic compounds in tortillas from native pigmented maize obtained from flours by the lime cooking extrusion process. *Biotechnia* XXIII(2):65-72
<http://dx.doi.org/10.18633/biotechnia.v23i2.1392>
- 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. *Agrociencia* 53, 987-1003
- Moreno-Altamirano, L., García-García, J. J., Soto-Estrada, G., Capraro, S., & Limón-Cruz, D. (2014). Epidemiología y determinantes sociales asociados a la obesidad y la diabetes tipo 2 en México. *Revista Médica del Hospital General de México*, 77(3), 114-123 <http://dx.doi.org/10.1016/j.hgmx.2014.07.002>
- Moreno-Celis, U., López-Martínez, F.J., Cervantes-Jiménez, R., Ferriz-Martínez, R.A., Blanco-Labra, A., García-Gasca, T. (2020). Tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) lectins induce apoptosis and cell arrest in G0/G1 by P53(Ser46) phosphorylation in colon cancer cells. *Molecules* 25, 1021, <https://doi.org/10.3390/molecules25051021>
- Muñoz-Ibarra, A.I., & Carranza-Madrugal, J. (2010). Perfil alimentario de una población rural de Michoacán y su asociación con obesidad, diabetes e hipertensión. *Medicina Interna de México*, 26(1), 24-30.
- Mwale, S.E., Shimelis, H., Mafongoya, P., & Mashilo, J. (2020). Breeding tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) for drought adaptation: A review. *Plant Breeding*, 139(5), 821-833. <http://dx.doi.org/10.1111/pbr.12806>
- Nicolás-García, M., Perucini-Avendaño, M., Jiménez-Martínez, C., Perea-Flores, M. D. J., Gómez-Patiño, M. B., Arrieta-Báez, D., & Dávila-Ortiz, G. (2021). Bean phenolic compound changes during processing: Chemical interactions and identification. *Journal of Food Science*, 86(3), 643-655.
- Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y su uso de animales de laboratorio. Fecha de consulta: 12/03/2022. Disponible DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-087- ECOL-SSA1-2002, protección ambiental, salud ambiental, residuos peligrosos biológico – infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo. México, 1 de diciembre de 2001. Disponible en: Disponible DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009: Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Fecha de consulta: 12/03/2022. Disponible en: DOF - Diario Oficial de la Federación.
- Orona-Tamayo, D., Valverde, M. E., Nieto-Rendón, B., & Paredes-López, O.

- (2015). Inhibitory activity of chia (*Salvia hispanica* L.) protein fractions against angiotensin I-converting enzyme and antioxidant capacity. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 236-242 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.033>
- Orozco, R., Kerim, A., Lozano, C., Enrique, L., González, Á., Elisa, A., ... & David, E. (2017). Effect of consumption of tortilla with inulin on metabolic profile in patients with dyslipidemia and BMI > 25. *Clinical Nutrition and Hospital Dietetics*, 37(3), 138-144.
- Orona-Tamayo, I.D., Valverde, M.E., & Paredes-López, O. 2016. Chia - The New Golden Seed for the 21st Century: Nutraceutical Properties and Technological Uses. In: "Sustainable Protein Sources", Chapter 17, pp 265-281 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00017-2>
- Orsini-Delgado, M. C., Nardo, A., Pavlovic, M., Rogniaux, H., Añón, M. C., & Tironi, V. A. (2016). Identification and characterization of antioxidant peptides obtained by gastrointestinal digestion of amaranth proteins. *Food Chemistry*, 197 Pt B, 1160–1167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.092>
- Oyekemi Olabisi Popoola, Phenolic compounds composition and in vitro antioxidant activity of Nigerian *Amaranthus viridis* seed as affected by autoclaving and germination, *Measurement: Food*, Volume 6, 2022, 100028, ISSN 2772-2759.
- Pandurangan, S.B., Al-Maiman, S.A., Al-Harbi, L.N., & Alshatwi, A.A. (2020). Beneficial fatty acid ratio of *Salvia hispanica* L. (Chia seed) potentially inhibits adipocyte hypertrophy, and decreases adipokines expression and inflammation in macrophage. *Foods*, 9(3), 368 <http://dx.doi.org/10.3390/foods9030368>
- Paško, P., Sajewicz, M., Gorinstein, S., & Zachwieja, Z. (2008). Analysis of selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC. *Acta chromatographica*, 20(4), 661-672.
- Pérez-Herrera, A., & Cruz-López, M. (2019). Situación actual de la obesidad infantil en México [Childhood obesity: Current situation in Mexico]. *Nutricion Hospitalaria*, 36(2), 463–469 <https://doi.org/10.20960/nh.2116>

- Perler, B.K., Friedman, E.S., & Wu, G.D. 2023. The role of the gut microbiota in the relationship between diet and human health. *Annual Review of Physiology* 85:449–68 <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-031522-092054>
- Quatrin, A., Pauletto, R., Maurer, L. H., Minuzzi, N., Nichelle, S. M., Carvalho, J. F. C., ... & Emanuelli, T. (2019). Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyanins and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: A comparison between *Myrciaria trunciflora* and *M. jaboticaba*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 78, 59-74.
- Quiroga, A. V., Barrio, D. A., & Añón, M. C. (2015). Amaranth lectin presents potential antitumor properties. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 478-485 <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.035>
- Rabanal-Atalaya, M., & Medina-Hoyos, A. (2022). Cultivares de maíz morado de alto rendimiento y contenido de antocianinas en la región Cajamarca, Perú. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(3), 381-392.
- Reyes-Moreno, C., Reyes-Fernández, P.C., Cuevas-Rodríguez, E.O., Milán-Carrillo, J., Mora-Rochín, S. 2019. Changes in Nutritional Properties and Bioactive Compounds in Cereals During Extrusion Cooking. In: “Extrusion of Metals, Polymers, and Food Products”, Sayyad Zahid Qama (ed), INTECH, <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68753>
- Reynoso-Camacho R., Sotelo-González A. M., Patiño-Ortiz P., Rocha-Guzmán N. E. y Pérez-Ramírez I. F. (2021). Berry by-products obtained from a decoction process are a rich source of low-and high-molecular weight extractable and non-extractable polyphenols. *Food and Bioproducts Processing*. 127: 371-387 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2021.03.014>
- Rivera-Dommarco J. A., Colchero M. A., Fuentes M. L., González T., Aguilar Salinas C. A., Hernández Licona G. y Barquera S. (eds.). La obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública, 2018.
- Rodas Pazmiño K.A., Betty Gómez J.P., González Quinde G.S. (2022) Lectinas de frijol (*Tépari phaseolus acutifolius*) presentan actividad antagónica frente a células cancerígenas. *Revista Venezolana de Investigación Estudiantil*

Redieluz, Sembrando la Investigación Volumen 12::97–105.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.6817239>

- Rodgers, C. D., Burch, P. E., VanHeest, J. L., Suzuki, K., Bussiere, C. T., & Schemmel, R. A. (2007). A tepary bean diet and exercise delays indices of type 2 diabetes in female fa/fa rats. *Dubai Diabetes and Endocrinology Journal*, 15(2), 38-45.
- Rodiles-López, J. O., Arriaga-Martínez, L. P., Martínez-Flores, H. E., Zamora-Vega, R., & García-Martínez, R. M. (2019). Desarrollo de una tortilla adicionada con harinas de aguacate y nopal y su efecto en la reducción de colesterol, triglicéridos y glucosa en ratas. *Biotechnia*, 21(2), 71-77.
- Rodríguez Lara, A., Mesa-García, M. D., Medina, K. A. D., Quirantes Piné, R., Casuso, R. A., Segura Carretero, A., & Huertas, J. R. (2021). Assessment of the phytochemical and nutrimental composition of dark chia seed (*Salvia hispánica* L.). *Foods*, 10(12), 3001.
- Rodríguez-Pérez, C., Segura-Carretero, A., & del Mar Contreras, M. (2019). Phenolic compounds as natural and multifunctional anti-obesity agents: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1212-1229
<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1399859>
- Rodríguez-Ramírez, S., Mundo-Rosas, V., García-Guerra, A., & Shamah-Levy, T. (2011). Dietary patterns are associated with overweight and obesity in Mexican school-age children. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(3), 270-278.
- Rojas-Molina, I., Mendoza-Avila, M., Cornejo-Villegas, M. D. L. Á., Real-López, A. D., Rivera-Muñoz, E., Rodríguez-García, M., & Gutiérrez-Cortez, E. (2020). Physicochemical properties and resistant starch content of corn tortilla flours refrigerated at different storage times. *Foods*, 9(4), 469
<http://dx.doi.org/10.3390/foods9040469>
- Sabbione, A. C., Scilingo, A., & Añón, M. C. (2015). Potential antithrombotic activity detected in amaranth proteins and its hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 171-177 <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.015>
- Salas-Lopez, F., Gutierrez-Dorado, R., Milan-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E.O., Canizalez-Roman, V.A., León-Sicairos, C.D.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 (Campinas)*, 38, 254-262
<http://dx.doi.org/10.1590/fst.25316>
- Salinas-Moreno, Y., Hernández-Martínez, V., Trejo-Tellez, L.I., Ramírez-Díaz, J.L., & Iñiguez-Gómez, O. (2017). Nutritional composition and bioactive compounds in tortillas of native populations of corn with blue/purple grain. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8(7), 1483-1496 ISSN:2007-0934 cienciasagricolas@inifap.gob.mx
- Sanchez-Marroquin, A., & Maya, S. (1985). Industrial corn flour enrichment with whole amaranth flour and milling fractions in corn-based products. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 35(3), 518-535.
- Sánchez-Recillas, E., Campos-Vega, R., Pérez-Ramírez, I.F., Luzardo-Ocampo, I., Cuéllar-Núñez, M.L., & Vergara-Castañeda, H.A. (2022). Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*): effect of *in vitro* gastrointestinal digestion on the bioaccessibility and antioxidant capacity of phytochemicals. *Food and Function*, 13(8), 4699-4713 <https://doi.org/10.1039/D1FO04392G>
- Sarmiento-Andrade, Y., Suárez, R., Quintero, B., Garrochamba, K., & Chapela, S.P. (2022) Gut microbiota and obesity: New insights. *Frontiers in Nutrition* 9, 1018212 <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1018212>
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R.M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-178. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- So, D., Whelan, K., Rossi, M., Morrison, M., Holtmann, G., Kelly, J. T., ... & Campbell, K. L. (2018). Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *The American journal of clinical nutrition*, 107(6), 965-983.
- Tao, J.H., Duan, J.A., Jiang, S., Qian, Y.Y., & Qian, D.W. (2016). Biotransformation and metabolic profile of buddleoside with human intestinal microflora by ultrahigh-performance liquid chromatography coupled to hybrid linear ion trap/orbitrap mass spectrometer. *Journal of Chromatography B*, 1025, 7-15, <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.055>

- Tapia-García, D. y Morales-Ramírez, S. (2020). Tortillas: a beneficial source of calcium for cardiovascular diseases in México. *Revista Digital – Universidad Autónoma de Puebla (RD-ICUAP)* 6(19), 47-63 <https://orcid.org/0000-0002-3534-7851>
- Tokarek, J., Gadzinowska, J., Młynarska, E., Franczyk, B., & Rysz, J. (2021). What is the role of gut microbiota in obesity prevalence? A few words about gut microbiota and its association with obesity and related diseases. *Microorganisms*, 10(1) 52. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10010052>
- Tsao, R., & Tang, Y. (2017). Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: A review. *Molecular Nutrition Food Research* 61:7, <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201600767>
- Vázquez-Rodríguez, J.A., Amaya-Guerra, C.A., Báez-González, J.G., Núñez-González, M.A., & Figueroa-Cárdenas, J.D. (2013). Study of the fortification with bean and amaranth flours in nixtamalized maize tortilla. *CyTA - Journal of Food* 11(sup1), 62-66 <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.75364>
- Vialva A. y Moreno X. (2019) Overview of intestinal microbiote. *Bioanalyst*. 22: 27-34.
- Wang, H., & Eckel, R.H. (2009). Lipoprotein lipase: from gene to obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(2), E271-E288 <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90920.2008>
- Wang, H.X., & Wang, Y.P. (2016). Gut microbiota-brain axis. *Chinese Medical Journal*, 129(19), 2373-2380 <http://dx.doi.org/10.4103/0366-6999.190667>
- Weihrauch-Blüher, S., & Wiegand, S. (2018). Risk factors and implications of childhood obesity. *Current Obesity Reports*, 7, 254-259 <https://link.springer.com/article/10.1007/s13679-018-0320-0>
- Whisner, C.M., Martin, B.R., Nakatsu, C.H., Story, J.A., MacDonald-Clarke, C.J., McCabe, L.D., & Weaver, C.M. (2016). Soluble corn fiber increases calcium absorption associated with shifts in the gut microbiome: A randomized dose-response trial in free-living pubertal females. *The Journal of Nutrition*, 146(7), 1298-1306 <https://doi.org/10.3945/jn.115.227256>

Zurita, J., Díaz-Rubio, M.E., & Saura-Calixto, F. (2012). Improved procedure to determine non-extractable polymeric proanthocyanidins in plant foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(8), 936-939
<http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2012.681634>