



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

---

CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

DESARROLLO DE GALLETAS CON BAJO  
CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS DIGERIBLES  
A PARTIR DE CEREALES INTEGRALES Y  
PLÁTANO EN ESTADO INMADURO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN  
CIENCIAS

EN

PRESENTA:

RUBÍ GUADALUPE UTRILLA COELLO

DIRECTOR: DR. LUIS ARTURO BELLO PÉREZ



YAUTEPEC, MORELOS, ENERO DE 2012



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Yautepec, Morelos siendo las 14:30 horas del día 22 del mes de Noviembre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del CeProBi para examinar la tesis de titulada:

"Desarrollo de galletas con bajo contenido de carbohidratos digeribles a partir de cereales integrales y plátano en estado inmaduro"

Presentada por el alumno:

<u>Utrilla</u> Apellido paterno	<u>Coello</u> Apellido materno	<u>Rubí Guadalupe</u> Nombre(s)							
Con registro: <table border="1"><tr><td>A</td><td>0</td><td>8</td><td>0</td><td>2</td><td>6</td><td>3</td></tr></table>			A	0	8	0	2	6	3
A	0	8	0	2	6	3			

aspirante de:

Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis

\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Arturo Bello Pérez

\_\_\_\_\_  
Dra. Edith Agama Acevedo

\_\_\_\_\_  
Dra. Perla Osorio Díaz

\_\_\_\_\_  
Dra. Rosalía A. González Soto

\_\_\_\_\_  
Dra. Rosalva Mora Escobedo

\_\_\_\_\_  
Dra. Gabriela Trejo Tapia

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

\_\_\_\_\_  
Dr. Antonio Ruperto Jiménez Aparicio

SEP IPN  
CENTRO DE DESARROLLO  
DE PRODUCTOS BIOTICOS  
YAUTEPEC, MOR.

1000



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Yauatepec, Mor. siendo el día 22 del mes de Noviembre del 2011, el que suscribe Rubí Guadalupe Utrilla Coello, alumno(a) del Programa de Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos, con número de registro A080263, adscrito al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Luis Arturo Bello Pérez y cede los derechos del trabajo intitulado Desarrollo de galletas con bajo contenido de carbohidratos digeribles a partir de cereales integrales y plátano en estado inmaduro, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deberán reproducir el contenido textual, gráficas, o datos del trabajo, sin el permiso expreso del autor y/o director (es) del trabajo. Este puede obtenerse escribiendo a la siguiente dirección: Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Carretera Yauatepec-Jojutla, Km 6.0, Calle CEPROBI No. 8. Col. San Isidro, C.P. 62731 Yauatepec, Morelos, México, Fax: (52) (01) (55) 57296000 ext. 82512 ó 01-7353941896, e-mail: [ceprobi@ipn.mx](mailto:ceprobi@ipn.mx) (<http://www.ceprobi.ipn.mx>). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Rubí Guadalupe Utrilla Coello

Nombre y firma

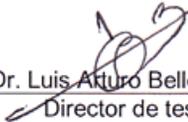
## DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Con base en el artículo 57 fracción I del Reglamento de Estudios de Posgrado vigente y en la Sección IV del Código de Ética del IPN, hacemos constar que el trabajo de tesis "Desarrollo de galletas con bajo contenido de carbohidratos digeribles a partir de cereales integrales y plátano en estado inmaduro" es responsabilidad de M. C. Rubí Guadalupe Utrilla Coello y del Dr. Luis Arturo Bello Pérez y que ni los datos experimentales ni el texto han sido usados para obtener otro grado académico en el país o en el extranjero. Cualquier colaboración o cita textual fue declarada y reconocida en el documento.

Yautepec, Mor, a 22 de Noviembre del 2011

ATENTAMENTE

  
\_\_\_\_\_  
M. C. Rubí Guadalupe Utrilla Coello  
Alumna

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Arturo Bello Pérez  
Director de tesis

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Control de Calidad de Calidad del Departamento de Desarrollo Tecnológico del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección del Dr. Luis Arturo Bello Pérez. y en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro perteneciente al Posgrado de Alimentos del Centro de la República bajo la supervisión de la Dra. Rosalía Reynoso Camacho. Para la realización de los estudios se contó con el apoyo económico de CONACyT (No. becario, 173633) y del Programa Institucional de Formación de Investigadores de la Secretaría de investigación y Posgrado (SIP) del IPN.

## *Agradecimientos*

*A Dios por permitirme cumplir otra meta más, porque en esta travesía tuve la oportunidad de aprender y por poner en mi camino a cada una de las personas que ayudaron a que esto fuera posible.*

*Al Dr. Luis Arturo Bello Pérez, por su paciencia y dedicación, gracias por enseñarme disciplina y compartir sus conocimientos, por contagiarme la pasión y el amor por la investigación, pero sobre todo por la confianza y la amistad que me ha brindado y que considero un regalo invaluable.*

*A la Dra. Edith Agama Acevedo, por todo el apoyo brindado, por su amistad y confianza para su alumna latosa. Gracias por enseñarme con el ejemplo a esforzarme día a día por ser mejor.*

*A la Dra. Perla Osorio Díaz, paciencia y dedicación y porque además de compartir sus conocimientos siempre estuvo dispuesta a escucharme y apoyarme en los momentos más difíciles, gracias por su amistad.*

*A la Dra. Rosalía A. González Soto, Dra. Rosalva Mora Escobedo, Dra. Gabriela Trejo Tapía, por el apoyo brindado en la realización de este trabajo*

*A la Dra. Ofelia Angulo, Dr. René Arzuffi Barrera, Dra. Norma R. Robledo Quintos, por permitirme realizar parte del trabajo experimental de este trabajo en su laboratorio.*

*A la Dra. Rosalía Reynoso Camacho por permitirme realizar en su laboratorio parte experimental de la tesis, pero sobre todo gracias por todos los consejos y conocimientos compartidos.*

*A los profesores del CeProBi que han estado involucrados en mi desarrollo durante la estancia en el centro (Dra. Martha L. Arenas*

*Ocampo, Maestro Roberto Briones Martínez y Maestra Isabel Cortes), muy en especial al Dr. Antonio R. Jiménez Aparicio, por brindarme siempre su apoyo, pero sobre todo por darme ese empujoncito adecuado para poder iniciar esta etapa; a la Dra. Kalina Bermúdez Torres por todo su apoyo y por siempre creer en mí.*

*A mis amigos de toda la vida, Isis y Omar<sup>†</sup> por todo su cariño y porque han sido parte de mi fortaleza. Gracias por siempre estar ahí a pesar del tiempo y la distancia.*

*A Keidí, gracias por estar conmigo en las buenas y no tan buenas, gracias por creer en mí aun cuando yo deje de hacerlo, gracias por la paciencia y todo tu cariño, gracias por ser cómplice en cada locura realizada, tu amistad ha sido uno de los mejores regalos que Dios me dio en mi estancia en el CeProBi.*

*A Peke, Pam, María y Nad por la amistad compartida y el apoyo brindado, gracias por estar ahí y por siempre tenerme paciencia.*

*Pablito, Polo y Alex, gracias por su amistad y apoyo*

*A Jesus García Navarrete por su apoyo y enseñanza, por motivarme a seguir creciendo pero sobre todo por estar siempre y brindarme su amistad.*

*Elvia Sosa, Chío Calderón, Srita. Slím-Bustamante y Ale Vergara por toda la ayuda en trámites, atención y facilidades otorgadas durante mi estancia en el ceprobi, pero sobretodo por brindarme su amistad y cariño.*

*A todos los amigos y compañeros que estuvieron conmigo durante esta etapa. A todos los profesores del Departamento de Desarrollo tecnológico por todo su apoyo, en especial para el Inge Francisco.*

*A todos los chicos de la UNIDA y de la UAQ por hacerme sentir como en casa durante mi estancia en su laboratorio, en especial a Marcelo, Bety, Iraís, Consuelo, July, Erika, Sarita, Claudia, Ivan y Diego.*

*Al CONACyT y al Programa Institucional de Formación de Investigadores de la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) del IPN por el apoyo económico otorgado.*

## *Dedicatorias*

*Este trabajo esta dedicado a todas aquellas personas que han creído en mí, me han brindado su cariño y han participado en mi formación:*

*Mi familia, mi padre y a mi hermana, por su amor incondicional, y porque son la energía que me impulsa a seguir adelante.*

*A mis tíos por su amor apoyo y amor incondicional.*

*A mis ángeles<sup>†</sup> que están siempre conmigo.*

*Este trabajo esta especialmente dedicado a una de las personas más importantes de mi vida:*

*Mami<sup>†</sup>, aquí esta el trabajo terminado, mi esfuerzo es dedicado para tí, en tu memoria. Te amo.*

## ÍNDICE

	Página
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>I. Introducción</b> .....	5
<b>II. Antecedentes</b> .....	8
2.1 Alimentación y salud .....	8
2.2 Enfermedades crónicas no transmisibles .....	11
2.2.1 Diabetes .....	14
2.3 Carbohidratos.....	21
2.3.1 Carbohidratos digeribles y no digeribles.....	22
2.3.2. Índice glucémico.....	25
2.3.3 Importancia del almidón de digestión lenta .....	26
2.3.4 Efecto de la fermentación de carbohidratos indigeribles en la salud.....	27
2.4 Compuestos antioxidantes .....	35
2.5 Carbohidratos y compuestos antioxidantes como ingredientes funcionales ...	39
2.6 Fuentes carbohidratos de digestión lenta e indigeribles y de compuestos antioxidantes .....	47
2.6.1 Cereales integrales .....	48

2.6.2. Plátano en estado inmaduro.....	51
<b>III. Justificación .....</b>	<b>53</b>
<b>IV. Objetivos.....</b>	<b>54</b>
4.1 Objetivo General .....	54
4.2 Objetivos específicos .....	54
<b>V. Materiales y Métodos.....</b>	<b>55</b>
<b>5.1 Materiales.....</b>	<b>55</b>
5.1.1 Materia prima .....	55
5.1.2 Obtención de las harinas.....	55
<b>5.2 Métodos.....</b>	<b>56</b>
5.2.1 Elaboración de las galletas.....	56
5.2.2 Análisis químico proximal .....	59
5.2.2.1 Humedad.....	59
5.2.2.2 Cenizas .....	60
5.2.2.3 Lípidos.....	60
5.2.2.4 Proteínas.....	61
5.2.2.5 Fibra dietética.....	62
5.2.2.6 Fracción indigerible .....	63
5.2.3 Fermentación in vitro de la fracción indigestible.....	66

5.2.3.1 Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta .....	67
5.2.4 Estudios de actividad antioxidante .....	67
5.2.4.1 Determinación de compuestos fenólicos totales .....	68
5.2.4.2 Determinación de flavonoides .....	68
5.2.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante .....	69
5.2.5 Análisis sensorial.....	70
5.2.6 Digestibilidad de carbohidratos <i>in vitro</i> .....	70
5.2.6.1. Determinación de glucosa libre y almidón total .....	72
5.2.6.2 Determinación de las fracciones de almidón de digestión rápida, lenta y almidón resistente.....	73
5.2.6.3 Determinación de almidón resistente .....	74
5.2.6.4 Tasa de digestión del almidón <i>in vitro</i> . Determinación del índice de hidrólisis y predicción del índice glucémico.....	76
5.2.7 Evaluación del efecto antihiper glucémico y hipoglucemiante de las galletas en ratas.....	77
5.2.7.1 Material biológico .....	77
5.2.7.2 Dieta estándar .....	78
5.2.7.3 Efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas en ayuno .....	78
5.2.7.4 Efecto antihiper glucémico de galletas evaluadas en ratas sanas después de la ingestión de alimento estándar.....	80

5.2.7.5 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas .....	80
5.2.7.6. Efecto de los carbohidratos disponibles de las galletas en la respuesta glucémica de ratas sanas .....	81
5.2.7.7 Evaluación del efecto hipoglucemico de las galletas en ratas diabéticas..	81
5.2.8 Análisis estadístico .....	83
<b>VI. Resultados y discusión .....</b>	<b>84</b>
6.1 Composición química proximal de las harinas y galletas .....	84
6.2 Fermentación <i>in vitro</i> de la fracción indigerible de las galletas.....	95
6.3 Estudios de capacidad antioxidante .....	101
6.4 Análisis sensorial.....	103
6.5 Digestibilidad de carbohidratos <i>in vitro</i> .....	105
6.6 Tasa de digestión del almidón <i>in vitro</i> . Determinación del índice de hidrólisis y predicción del índice glucémico .....	110
6.7 Efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas en ayuno .....	114
6.8 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas .....	120
6.9 Efecto de los carbohidratos disponibles de las galletas en la respuesta glucémica de ratas sanas. ....	123
6.10 Efecto de la dosis de galletas en la respuesta glucémica en ratas diabéticas. .....	129

6.11 Evaluación del efecto antihiper glucémico de las galletas en ratas diabéticas	
.....	131
<b>VII. Conclusiones</b> .....	139
<b>VIII. Bibliografía</b> .....	140
<b>IX. Anexos</b> .....	169

## INDICE DE CUADROS

I

### Página

<b>Cuadro 1.</b> Formulación de la galleta.....	57
<b>Cuadro 2.</b> Escala hedónica de nueve puntos .....	71
<b>Cuadro 3.</b> Composición química de harinas de cereales integrales y plátano en estado inmaduro .....	85
<b>Cuadro 4.</b> Composición química de galletas elaboradas con harinas integrales..	89
<b>Cuadro 5.</b> Evolución del pH durante el proceso de fermentación <i>in vitro</i> . .....	96
<b>Cuadro 6.</b> Producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) a las 6, 12 y 24 h de fermentación <i>in vitro</i> .....	97
<b>Cuadro 7.</b> Contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de galletas elaboradas con harinas integrales .....	102
<b>Cuadro 8.</b> Aceptabilidad de galletas elaboradas con harinas integrales .....	104
<b>Cuadro 9.</b> Contenido de almidón total, almidón de digestión rápida, digestión lenta y almidón resistente de galletas elaboradas con harinas integrales .....	106
<b>Cuadro 10.</b> Índice de hidrólisis (IH) y predicción del índice glucémico (pIG) de galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y plátano en estado inmaduro .....	113
<b>Cuadro 11.</b> Concentración de colesterol, triglicéridos, HDL e insulina en ratas diabéticas alimentadas con galletas elaboradas con harinas integrales y plátano en estado inmaduro durante tres semanas .....	135
<b>Cuadro 12.</b> Peso de ratas diabéticas alimentadas con galletas elaboradas con harinas integrales y plátano en estado inmaduro durante tres semanas. ....	138

## INDICE DE FIGURAS

	I
	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> El plato del bien comer .....	10
<b>Figura 2.</b> Vías moleculares de señalización de la insulina. ....	18
<b>Figura 3.</b> Ruta metabólica de la fermentación de fibra dietética.....	29
<b>Figura 4.</b> Estructura de flavonoides .....	37
<b>Figura 4.</b> Estructura de los cereales integrales .....	50
<b>Figura 5.</b> Estrategia experimental.....	58
<b>Figura 6.</b> Curvas de hidrólisis <i>in vitro</i> de galletas elaboradas con harinas integrales. ....	111
<b>Figura 7.</b> Respuesta glucémica del consumo de diferentes dosis de una galleta adicionada con harina de plátano en estado inmaduro en ratas sanas.....	115
<b>Figura 8.</b> Respuesta glucémica postprandial de tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano inmaduro en ratas sanas.....	117
<b>Figura 9.</b> Respuesta glucémica postprandial de tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano inmaduro consumidas por ratas previamente alimentadas con alimento estándar. ....	119
<b>Figura 10.</b> Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas que consumieron galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y harina de plátano en estado inmaduro.....	121
<b>Figura 11.</b> Respuesta de glucosa postprandial de ratas sanas alimentadas con galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y harina de plátano en estado inmaduro.....	124

<b>Figura 12.</b> Área bajo la curva de la respuesta glucémica de 3g/kg de carbohidratos disponibles de galletas elaboradas con cereales integrales y plátano en estado inmaduro. ....	127
<b>Figura 13.</b> Respuesta glucémica postprandial de tres galleta elaboradas con harina de cereales integrales y plátano en estado inmaduro en ratas diabéticas .....	130
<b>Figura 14.</b> Concentración de glucosa de ratas diabéticas alimentadas con tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano en estado inmaduro en ratas diabéticas. ....	132

## Resumen

El desarrollo de alimentos con bajo contenido de carbohidratos digeribles se ha incrementado, debido a que ayudan en la prevención y/o control de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes. La incorporación de cereales integrales y diversos frutos, como el plátano en estado inmaduro, en la formulación de alimentos, es cada vez más frecuente porque son una fuente importante de carbohidratos no digeribles y compuestos bioactivos. El objetivo del trabajo fue elaborar una galleta a partir de una mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro, estimar su composición química proximal, la digestibilidad de carbohidratos *in vitro*, así como determinar si dicha combinación puede tener efecto antihiper glucémico e hipoglucemiante en ratas sanas y diabéticas, respectivamente. Para la elaboración de las tres galletas, se realizó una mezcla de cereales integrales (trigo, cebada y avena), la cual, permaneció constante en todas las muestras, a la galleta 1 (G-1) se le adicionó de maíz blanco, a la 2 (G-2), maíz azul y la tres (G-3) plátano en estado inmaduro. La G-2 presentó un contenido de proteínas (11.1 g/100g) y lípidos (21.4g/100g) mayor en comparación a G-1 (9.29g/100g, 17.0 g/100g, respectivamente) y G-3 (7.3 g/100g, 15.7 g/100G). La G-1 tuvo el contenido más alto de fibra dietética (11.64 g/100g)), seguida por G-2(10.1 g/100g), mientras que la G-3 presentó el valor menor (6.9 g/100g). Este mismo comportamiento se observó en la fracción indigerible (FI) total (G-1, 40.1 g/100g; G-2, 38.1 g/100g; G-3, 36.9 g/100g). La G-2 y G-3 no presentaron diferencias en la FI soluble ( $\approx 17$  g/100g), el valor para G-1 fue menor (14.6 g/100g). La FI insoluble fue mayor en G-1 (25.4 g/100g) en comparación de G-2 (20.9 g/100g) y G-3 (19.7 g/100g). En la fermentación *in vitro* de la FI de las galletas no se observó un cambio de pH ( $\approx$  pH 6) durante las 24 h. La FI de la G-1 y G-3 presentaron el valor más alto de ácido acético (79.9 mmol/L y 74.86 mmol/L, respectivamente) a las 24 h. La FI de la G-3 produjo en total más ácido propiónico (17.9 mmol/L), en comparación a G-1 (7.5 mmol/L) y G-2 (5.5 mmol/L). Este mismo comportamiento se obtuvo en la producción total de ácido butírico (G-1, 26.4 mmol/L; G-2 16.5 mmol/L; G-3, 31.0 mmol/L). El contenido de compuestos fenólicos fue mayor para G-2 (92.2 mg/EAG/100g), mientras que para G-1 y G-3 no se presentaron diferencias significativas ( $\approx 80$  mgEAG/100g). La G-2 tuvo mas flavonoides (34.5 mgEC/100g) en comparación a G-2 (13.5 mgEC/100g) y G-3 (4.56 mgEC/100g). La capacidad antioxidante de las muestras fue diferente, siendo mayor para G-2 (21.7  $\mu$ molET/100g). La G-3 presentó la mejor aceptación entre los consumidores en la prueba hedónica (calificación 6, me gusta poco). La glucosa libre no fue diferente entre las muestras ( $\approx 4$  g/100g). El contenido de almidón total fue similar para G-1 y G-2 ( $\approx 57$  g/100g), y para G-3 fue más alto (60.2 g/100g). No se presentaron diferencias significativas en el contenido de almidón de digestión rápida entre G-1 y G-2 ( $\approx 45$  g/100g), en G-3 se encontró esta fracción fue mayor (51.9 g/100g). La G-2 presentó más almidón de digestión lenta (10.7 g/100g), seguida de G-1 (7.0 g/100g), y G-3 (4.1 g/100g). En almidón

resistente fue similar para G-1 y G-2( $\approx 1$  g/100g), mientras que para G-3 fue de 6.3 g/100g. Las tres dosis de galleta (G-3) (0.42, 0.85 y 1.28 g/kg) administradas en ratas sanas no presentaron un pico hiperglucémico. La ingesta de las tres galletas en ratas sanas a una dosis de 0.85 g/kg (cada una) no produjeron un incremento significativo en la concentración de glucosa durante los 180 minutos de evaluación. La G-2 y G-3 tuvieron un efecto antihiperglucémico en la prueba de tolerancia a la glucosa, siendo más evidente en G-3. Los carbohidratos disponibles (3g/kg) de las tres muestras produjeron un respuesta de glucosa baja, en todas las muestras, el pico máximo de glucosa fue menor (G-1, 141 mg/dL; G-2, 133 mg/dL; G-3, 135.2 mg/dL) en comparación al de glucosa (161.6 mg/dL). El IG de las muestras fue 116, 97 y 90 para G-1, G-2 y G-3, respectivamente. En ratas diabéticas la G-2 tuvo un efecto hipoglucémico durante las tres semanas de evaluación. El grupo de ratas alimentadas con la G-2 incrementaron el peso promedio de 294.0 a 366.9 g, mientras que los otros grupos (G-1 y G-3) perdieron peso (45.9 y 37.7, respectivamente). El nivel de colesterol y HDL entre los grupos no presentó diferencias significativas ( $\approx 40$  mg/dL). El grupo de ratas alimentadas con G-2 (123.4 mg/dL) presentó el valor menor de triglicéridos en comparación a G-1 (177.35 mg/dL) y G-3(383.4 mg/dL. Los valores de insulina fueron bajos en todos los grupos (0.014 y 0.41 ng/mL) en comparación al grupo de ratas sanas (4.0 nm/dL).

## Abstract

The development of low-digestible carbohydrates foods has increased because they help in the prevention and / or control of chronic non-transmissible diseases like diabetes. The addition of whole grains and fruits, such as unripe plantain, in food formulations has become more common because they are an important source of non-digestible carbohydrates and bioactive compounds. The objective of this work was to develop cookies with a whole-grains and unripe plantain blend, and determines its chemical composition, *in vitro* digestibility, and to evaluate the anti-hyperglycemic and hypoglycemic effect in healthy and diabetic rats, respectively. Three cookies were made with a whole grains blend (wheat, barley and oats) which remained constant; in the first formulation (G-1) white corn was added, blue corn in the second (G-2), and unripe plantain in the third (G-3). The G-2 showed a higher protein (11.1 g/100g) and lipid (21.4g/100g) contents than the G-1 (9.29g/100g, 17.0 g/100g, respectively) and G-3 (7.3 g / 100g, 15.7 g/100g). The G-1 had the highest dietary fiber content (11.64 g/100g), followed by G-2 (10.1 g/100g), while the G-3 showed the lowest value (6.9 g/100g). Similar pattern was observed in the total indigestible fraction (IF) (G-1, 40.1 g/100g, G-2, 38.1 g/100g, G-3, 36.9 g/100g). The G-2 and G-3 did not differ in soluble FI ( $\approx 17$  g/100 g), the value for G-1 was the lowest (14.6 g/100g). The insoluble FI content was higher in G-1 (25.4 g/100g) than in G-2 (20.9 g/100g) and G-3 (19.7 g/100g). Fermentation *in vitro* of IF from the cookies did not show pH change ( $pH \approx 6$ ) during the test. The fermentation of IF from the G-1 and G-3 showed the highest acetic acid value (79.9 mmol / L and 74.86 mmol / L, respectively) at 24 h. The IF of the G-3 produces more propionic acid (17.9 mmol / L) compared to G-1 (7.5 mmol / L) and G-2 (5.5 mmol / L). Similar pattern was obtained in the butyric acid production (G-1, 26.4 mmol / L, G-2 5.16 mmol / L, G-3, 31.0 mmol / L). The phenolic compounds content was higher for G-2 (92.2 mg/EAG/100g); there were no significant differences between G-1 and G-3 ( $\approx 80$  mgEAG/100g). The G-2 had higher flavonoids content (34.5 mgEC/100g) than G-1 (13.5 mgEC/100g) and G-3 (4.56 mgEC/100g). The antioxidant capacity of all samples was different, G-2 had the highest value (21.7  $\mu\text{molET}/100\text{g}$ ). The G-3 showed the best consumer acceptance on the hedonic test (rating 6, like slightly). The free glucose was not different among samples ( $\approx 4$  g/100g). The total starch content was similar in G-1 and G-2 ( $\approx 57$  g/100 g); G-3 had the highest values (60.2 g/100g). There were no significant differences in rapidly digestible starch content between G-1 and G-2 ( $\approx 45$  g/100 g), in G-3 this fraction was higher (51.9 g/100g). The G-2 showed more slowly digestible starch (10.7 g/100g), followed by G-1 (7.0 g/100g) and G-3 (4.1 g/100g). Resistant starch content was similar in G-1 and G-2 ( $\approx 1$  g/100g), whilst for G-3 was 6.3 g/100g. The three cookies doses (G-3) (0.42, 0.85 and 1.28 g / kg) administered in healthy rats showed no hyperglycemic peak. The intake of the three cookies in healthy rats at a dose of 0.85 g/kg (each) did not produce a significantly increase in glucose concentration during the 180 minutes of the test. The G-2 and G-3 had an anti-hyperglycemic effect in the glucose tolerance test,

being more evident in G-3. The available carbohydrate (3g/kg) of the three samples produced a lower glucose response than glucose (reference food), all the samples showed a lower maximum glucose peak (G-1, 141 mg / dL; G-2, 133 mg / dL; G-3, 135.2 mg / dL) than glucose (161.6 mg / dL). The glycemic index of the samples was 116, 97 and 90 for G-1, G-2 and G-3, respectively. In diabetic rats the G-2 had a hypoglycemic effect during the three weeks of the test. The group of rats fed with G-2 increased the average weight of 294.0 to 366.9 g, whilst the other groups (G-1 and G-3) lost weight (45.9 and 37.7 g, respectively). The HDL and cholesterol level among groups showed no significant difference ( $\approx$  40 mg / dL). The rats group fed with G-2 (123.4 mg / dL) had lower triglyceride value than G-1 (177.35 mg / dL) and G-3 (383.4 mg / dL). The insulin levels were lower in all the groups (0.014 and 0.41 ng / dL) compared to the healthy rats group (4.0 nm / dL).

## **I. Introducción**

En años recientes, los cambios en el régimen alimenticio, como el consumo excesivo de productos industrializados con una alta densidad energética y la disminución de la ingesta de frutas, verduras, leguminosas, cereales integrales, los cuales son una fuente de carbohidratos no digeribles, son algunos factores que influyen en el incremento de la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles relacionadas con la alimentación tales como obesidad y diabetes (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2010).

Dentro de las recomendaciones dietéticas para la prevención y/o control de este tipo de enfermedades es por medio de la reducción de alimentos que en su composición predominen los carbohidratos simples, como glucosa, fructosa, sacarosa, entre otros (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2010). Este tipo de carbohidratos son digeridos rápidamente, lo que produce un aporte de energía, la cual si no es utilizada para la realización de alguna actividad que requiera gasto energético, esta se almacena en forma de tejido adiposo. Además, el consumo frecuente de este tipo de alimentos produce, con el tiempo, un daño en el sistema de homeostasis de glucosa, provocando la aparición de diabetes (Rolls, 1995)

Por el contrario, es reconocido que el consumo de alimentos con carbohidratos no digeribles (fibra dietética) pueden ejercer efectos benéficos sobre la salud, ya que se digieren de una manera más lenta, lo cual produce una sensación de saciedad por más tiempo, la absorción de glucosa se da de una manera lenta, ayudan en la disminución de colesterol, promueve la motilidad y aceleran el tránsito intestinal, favorece el desarrollo y mantenimiento de la flora

bacteriana (Buttriss y Stoke, 2006). Es por ello que, actualmente se promueve el consumo de alimentos con un contenido alto de carbohidratos no digeribles. El interés por el desarrollo de alimentos con estas características ha crecido en los últimos años. Los alimentos listos para consumo (“*ready to eat*”), como botanas y galletas, pueden ser un vehículo adecuado para fomentar el consumo de carbohidratos no digeribles ya que son alimentos prácticos portables y de fácil disponibilidad, características que son adecuadas para el ritmo acelerado de la vida actual.

Los cereales integrales son ingredientes ideales para ser utilizados en la formulación de alimentos con beneficios a la salud (alimentos funcionales), porque son una fuente de carbohidratos no digeribles, compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos, vitaminas y minerales, y ácidos grasos insaturados (Slavin, 2003). Dentro de los cereales más utilizados en la alimentación humana son el trigo, arroz, maíz, centeno, cebada, y avena. El interés en estos dos últimos cereales ha crecido debido a que contienen  $\beta$ -glucanos, a los cuales se les ha atribuido la capacidad de reducir la respuesta glucémica (Charalampopoulos y col., 2002; Jenkins y col., 2002;) y los niveles de colesterol en sangre (Anderson y col., 1994; Bell y col., 1999; Górecka y col., 2005). En este mismo sentido, se ha encontrado que los maíces pigmentados son una fuente importante de antocianinas (Giusti and Wrolstad 2003), las cuales, presentan actividad antioxidante (Wang y col., 1997), anti-inflamatoria (Tsuda y col., 2003), anti-carcinogénico (Hyun and Chung ,2004), así como efectos hipoglucémicos (Tsuda y col., 2003). Por lo que, una opción para el desarrollo de alimentos con

propiedades funcionales mejoradas o realizadas puede ser la combinación de cereales integrales.

Por otro lado, en años recientes se le ha prestado mucha atención al plátano en estado inmaduro, ya que es una fuente importante de almidón resistente y se ha observado que cuando se adiciona en forma de harina a diversos alimentos (pasta, galletas y pan) se obtiene una disminución en la velocidad de hidrólisis del almidón, (Juárez-García y col., 2006; Aparicio-Saguilán y col., 2007; Rendón Villalobos y col., 2008; 2009; Saifullah y col., 2009; Ovando-Martínez y col., 2009), esta característica nos indica que puede ser un ingrediente utilizado en el diseño de alimentos de respuesta glucémica baja.

El objetivo de este trabajo fue elaborar una galleta a partir de una mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro, estimar su composición química proximal, la digestibilidad de carbohidratos *in vitro*, así como determinar si dicha combinación puede tener efecto hipoglucemiante y antihiperoglucémico en ratas sanas y diabéticas, respectivamente.

## **II. Antecedentes**

### **2.1 Alimentación y salud**

La alimentación humana se define como un proceso voluntario, consciente y educable, aunque una vez ingerido el alimento, se vuelve involuntario e inconsciente. La energía que necesita una persona para vivir se obtiene principalmente de los nutrientes; los cuales proporcionan lo necesario para que los órganos trabajen y a partir de ellos se renueven de manera continua las células de los tejidos, desgastados por el tiempo y las funciones que a diario desempeñan (Martínez y Villezca, 2003).

Una alimentación variada y equilibrada asegura que se obtengan los nutrientes esenciales en las cantidades recomendadas para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento del cuerpo (Ashwell, 2002). Los requerimientos energéticos de los seres humanos varían, y dependen de factores como la estatura, su composición corporal, edad, ritmo de crecimiento, sexo, tipo de actividad física, y condiciones fisiológicas o de salud (enfermedades, embarazo, lactancia, etc.) en que se encuentre. Es reconocido que en los países con deficiencia de suministro energético en niños y adolescentes, el crecimiento es más lento de lo normal, hay pérdida de peso y, eventualmente, cesa el crecimiento y disminuyen la capacidad de la memoria e inteligencia. Por el contrario, un consumo excesivo de nutrientes puede producir ganancia de peso y obesidad con repercusiones en la salud de la población (FAO/OMS, 2003).

Por ello, es fundamental identificar estrategias para promover una alimentación saludable. Las guías alimentarias son instrumentos de gran utilidad

para brindar orientación alimentaria, las cuales, generalmente, cuentan con herramientas didácticas, para hacer más atractiva y práctica dicha orientación (Roselló-Soberón y Casanueva, 2005). Las principales recomendaciones incluidas en las guías alimentarias se refieren a mantener el peso aconsejado, moderar el consumo de grasas, aumentar el consumo de cereales, frutas y verduras, moderar el consumo de alcohol y sal, y promocionar la realización de ejercicio físico moderado. Diversos países han elaborado sus propias guías acordes con su cultura, geografía, patrones de consumo alimentario y estado de nutrición de su población (Painter y col., 2002).

En México, existe una norma oficial mexicana (NOM-043 -SSA2-2005) que tiene como propósito fundamental, establecer los criterios generales que unifiquen y den congruencia a la orientación alimentaria. Dicha orientación tiene como objetivo proporcionar la información acerca de cómo tener una alimentación correcta, con opciones prácticas, adecuadas a las necesidades y posibilidades de la población. Con la finalidad de facilitar la selección y consumo de alimentos se creó el concepto del Plato del Bien Comer, que es la representación gráfica de los tres grupos de alimentos: 1) verduras y frutas, 2) Cereales y tubérculos, y 3) leguminosas y alimentos de origen animal (Figura1). Esta recomendación gráfica surgió para integrar una dieta correcta para todos los grupos de población, asimismo promueve la variación y combinación de alimentos para asegurar el aporte de nutrimentos al organismo y evitar la aparición de enfermedades relacionadas con la dieta.

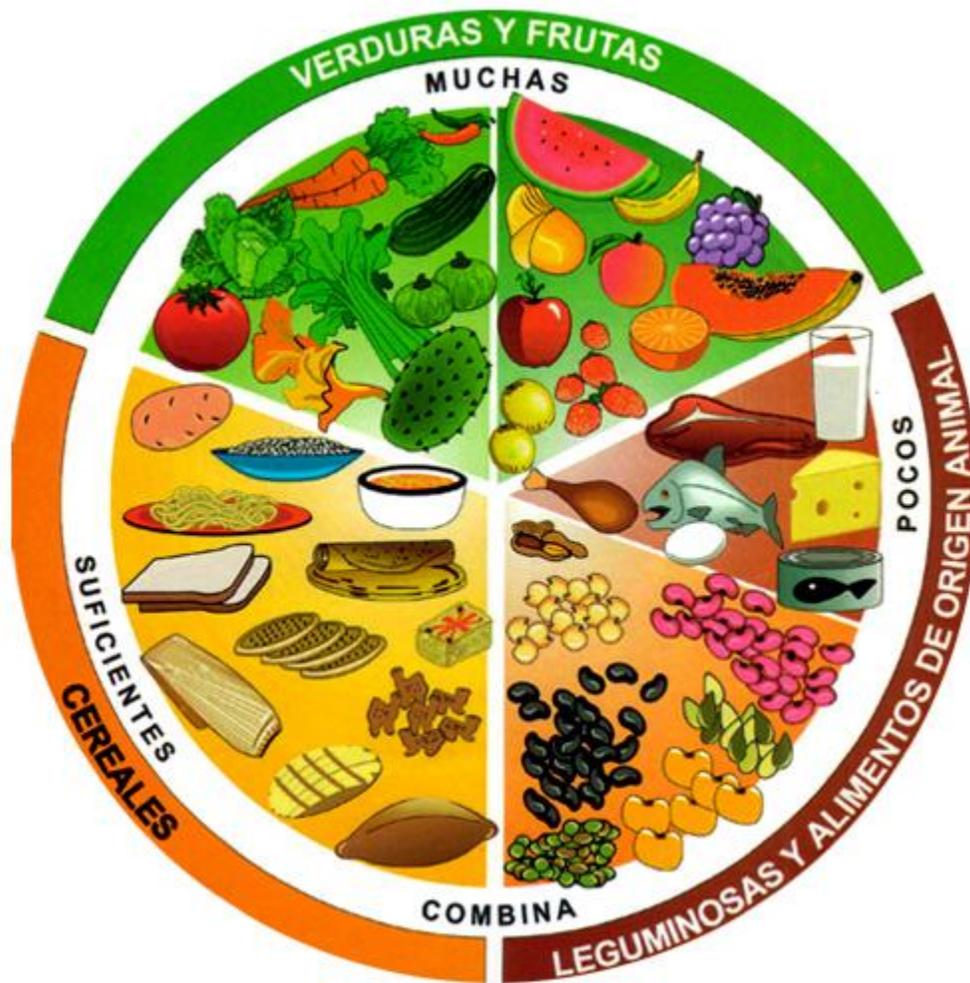


Figura 1. El plato del bien comer (NOM-043-SSA2-2005).

El incremento en la incidencia de enfermedades relacionadas con la dieta, como diabetes y obesidad, ha acentuado el interés de la población hacia ciertos alimentos, que además de nutrir, aporten beneficios a las funciones fisiológicas de organismo humano. Estas variaciones en el patrón de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en la ciencia de los alimentos y de la nutrición, la de los alimentos funcionales. “Un alimento puede considerarse funcional si, además de sus efectos nutricionales, presenta beneficios demostrados por una o más funciones del organismos humano, que mejora el estado de salud o reduce el riesgo de enfermedades” (Diplock y col., 1999). En esta definición es necesario enfatizar tres aspectos importantes: 1) el efecto funcional es diferente al nutricional; 2) debe ser demostrado satisfactoriamente; y 3) el beneficio puede consistir en mejorar una función fisiológica o en reducir el desarrollo de un proceso patológico (Plaza y col., 2008).

El interés por el desarrollo de alimentos funcionales ha aumentado de una manera considerable durante los últimos años, como una de las estrategias en la prevención y/o manejo de las enfermedades crónicas no transmisibles.

## **2.2 Enfermedades crónicas no transmisibles**

Las ECNT son aquellas patologías de larga duración con períodos de remisión y recurrencia, en donde existe ausencia de un microorganismo causal, la cual, tiene factores de riesgo múltiples con posibles consecuencias a largo plazo (minusvalías físicas y mentales). Las ECNT representan la mayor carga de salud pública, tanto en los países desarrollados y cada vez en mayor medida en los

países en desarrollo, ya sea en términos de costo directo para la sociedad y el gobierno, o en años productivos perdidos por discapacidad (FAO/OMS, 2003). Dentro de las ECNT se encuentra a la obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y enfermedades dentales.

La incidencia de las ECNT incrementa rápidamente en todo el mundo. En el 2001, representaron el 46% de las enfermedades y se espera que aumente al 57% en el 2020. Se calcula que en este mismo año, las ECNT contribuyeron con el 60% del total de muertes (56.5 millones) en el mundo (FAO/OMS, 2003).

En México hay tres tipos de enfermedades que concentran más del 33% de las muertes en mujeres y más de 26%, en hombres: la diabetes mellitus, las enfermedades isquémicas del corazón y las enfermedades cerebro-vasculares. Estas enfermedades comparten algunos factores de riesgo, como el sobrepeso y la obesidad. El tabaquismo, el colesterol elevado y la hipertensión arterial también influyen en el desarrollo de las enfermedades isquémicas del corazón y las cerebro-vasculares (Programa Nacional de Salud, 2007).

Las enfermedades del corazón constituyen la segunda causa de muerte en el país, tanto en mujeres como en hombres. Dentro de estas enfermedades destaca la cardiopatía isquémica, que es responsable de más de la mitad de las muertes en este grupo de padecimientos. La isquemia cardiaca se caracteriza por la disminución del aporte de oxígeno al corazón como consecuencia de la obstrucción y/o el estrechamiento de las arterias coronarias, que pueden llegar a producir un infarto al miocardio y la muerte de las personas afectadas. Los principales factores de riesgo relacionados con esta enfermedad son el consumo

excesivo de grasa de origen animal, el tabaquismo, la hipertensión arterial, el estrés, la diabetes, el sobrepeso y la obesidad (Programa Nacional de Salud, 2007).

La obesidad y diabetes están mostrando tendencias preocupantes, no sólo porque afectan a una gran parte de la población, sino también debido a que han comenzado a aparecer en etapas tempranas de la vida. La obesidad alcanza proporciones que la definen como pandemia, pues afecta a personas de los cinco continentes. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se encuentran con sobrepeso más de un billón de personas y 500 millones de personas con obesidad (OMS, 2011). Los países en desarrollo se ven afectados con un mayor grado de aceleración en comparación con los países desarrollados.

La población de México ocupa el segundo lugar del mundo en índices de obesidad (Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria, 2010). La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2006, realizada por el Instituto de Salud Pública (INSP), reveló que el 30% de la población padece obesidad. La prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de 5 a 11 años y en adolescentes en México ascienden a 26% (4.1 millones de escolares) y 31% (5.7 millones de adolescentes), respectivamente. Estas cifras indican que es una epidemia que afecta a todos los grupos de edad y todas las clases sociales. Las principales complicaciones del sobrepeso y obesidad son la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, y algunos tipos de cáncer (Martínez y Villezca, 2003).

La OMS calcula que el número de personas con diabetes en el mundo es de 171 millones y pronostica que aumentará a 366 millones en el año 2030 (Wild y col., 2004). La diabetes es una enfermedad de muy alta prevalencia en nuestro país y es sin duda alguna el mayor reto que enfrenta el Sistema Nacional de Salud. Actualmente, más de 5 millones de personas mayores de 20 años padecen esta enfermedad, lo que arroja una prevalencia del 8%. El porcentaje de la población que padece diabetes aumenta con la edad. Después de los 50 años de edad, la prevalencia supera el 20%. La diabetes incrementa el riesgo de morir por diversos padecimientos, como las cardiopatías, las enfermedades cerebrovasculares y la insuficiencia renal. Además, es la causa más importante de amputación de miembros inferiores de origen no traumático y la principal causa de ceguera (Programa Nacional de Salud, 2007).

La evolución natural de las ECNT puede modificarse con acciones que cambien el curso de las condiciones que determinan su incidencia a través de la alimentación; debido a que, los alimentos tienen una función bien establecida como determinantes de ECNT, por lo tanto, también lo tienen en las actividades de prevención (FAO/OMS, 2003). Esta característica brinda oportunidades para la prevención y el desarrollo de herramientas nutricionales para combatir este tipo de enfermedades.

### **2.2.1 Diabetes**

La diabetes mellitus es un grupo de trastornos metabólicos que se caracteriza principalmente por hiperglucemia como consecuencia de cambios

metabólicos en la síntesis, secreción y/o acción de la insulina. La hiperglucemia crónica se asocia a largo plazo en disfunción e insuficiencia de diferentes órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. Aunque el diagnóstico de diabetes se establece únicamente por valores de glucemia altos ( $>125$  mg/dL), existen tres criterios que se usan para dicho diagnóstico: 1) niveles elevados de glucosa en ayuno ( $>125$  mg/dL), 2) valores altos de glucosa en la prueba de tolerancia a la glucosa ( $\geq 200$  mg/dl a los 120 minutos), 3) síntomas de diabetes con hiperglucemia ( $\geq 200$  mg/dl) (American Diabetes Association, 2004).

De acuerdo a su etiología, la diabetes se clasifica en: diabetes tipo 1 (Insulinodependiente), diabetes tipo 2 (No insulinodependiente), diabetes gestacional y diabetes asociada con otros factores (enfermedades, medicamentos y/o agentes químicos). Estas dos últimas, son las que tienen menos incidencia en la población.

La diabetes tipo 1 representa del 5 al 10% de todos los casos diagnosticados, puede presentarse a cualquier edad, aunque generalmente se desarrolla a edades tempranas ( $<20$  años). La diabetes tipo 1, es una enfermedad generada por una progresiva destrucción autoinmune de las células- $\beta$  pancreáticas, lo cual produce una completa deficiencia de insulina. La insulina promueve la captación de glucosa en el músculo y tejidos periféricos, por lo que la disminución o ausencia de esta hormona produce la principal característica de la enfermedad, la hiperglucemia (Atkinson y Maclaren, 1994).

La diabetes tipo 2 se caracteriza por trastornos metabólicos, con dos características principales: resistencia a la insulina y disfunción de las células- $\beta$  pancreáticas. Ambos trastornos, genéticos o adquiridos, tienen influencia sobre la secreción y acción de la insulina (Leu y Zonszein, 2009).

La insulina regula el metabolismo de glucosa por acciones directas e indirectas. La regulación postprandial de glucosa depende de la secreción de insulina y la subsecuente supresión de gluconeogénesis y glucogenólisis hepática. La secreción de insulina se estimula tras la elevación de glucosa en sangre, como resultado de la ingesta de alimentos que contienen carbohidratos. La insulina es liberada por las células- $\beta$ , promueve la captación de glucosa en el músculo y tejidos periféricos al unirse a receptores específicos (InsR, por sus siglas en inglés Insulin receptor). Este es el inicio de la ruta de señalización que involucra una cascada compleja de proteínas cinasas, dentro de las cuales, la IRS1 y IRS2 (por sus siglas en inglés, Insulin receptor substrate) son las más importantes. La ruta de señalización de la insulina tiene como finalidad que el transportador de glucosa (GLUT-4) llegue a la membrana para permitir el paso de la glucosa al interior de la célula (Figura 2) (Ciaraldi, 2009).

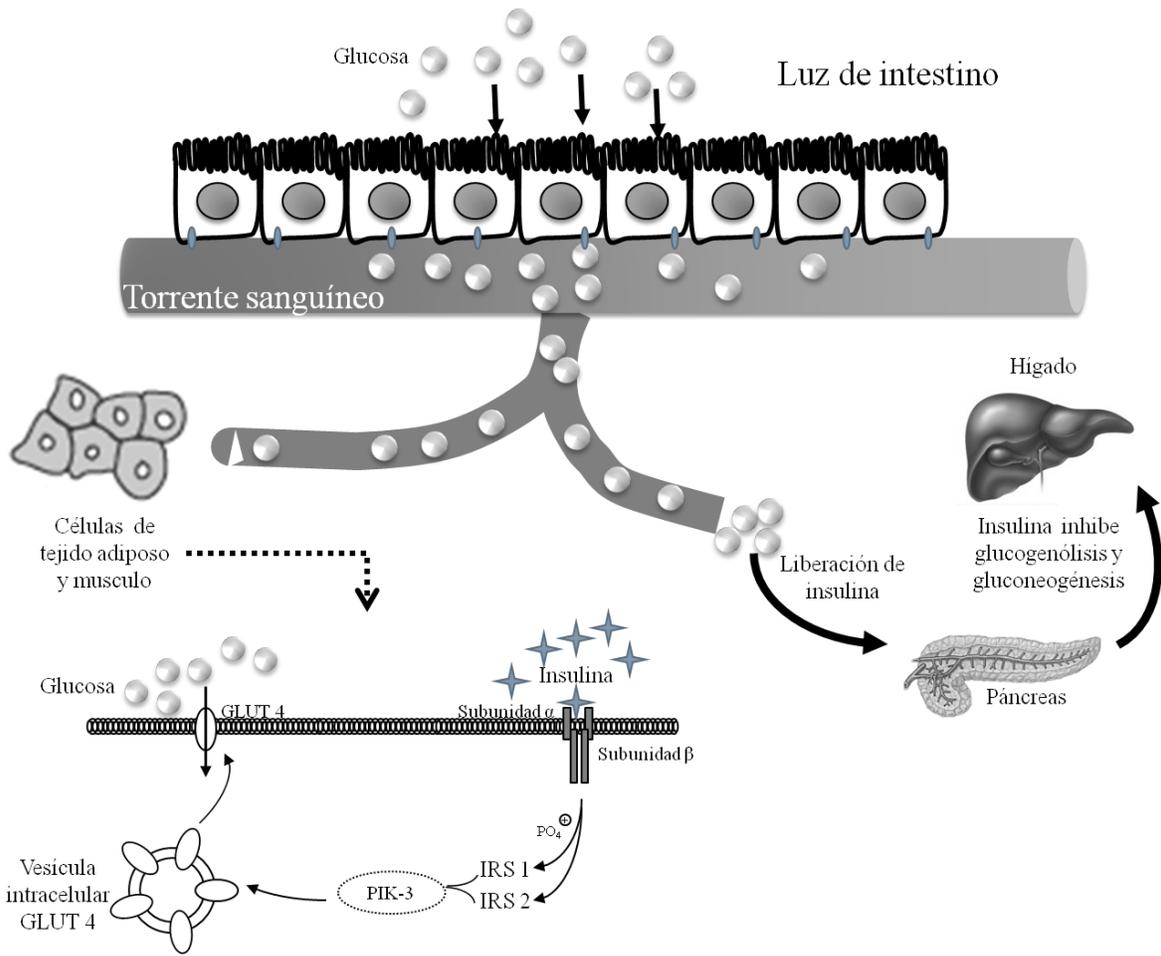
Aunque la insulina no participa en el transporte de glucosa hacia el hígado, esta hormona promueve la acumulación de glucógeno a través de la inhibición de enzimas de glucogenólisis, como la glucosa-6 fosfatasa y fosforilasa, mientras estimula la glucógeno sintasa.

Además, la insulina inhibe la liberación de ácidos grasos libres (AGL) en la circulación debido a que se suprime la actividad de la lipasa sensible a hormonas y por lo tanto, estos no se mantienen en circulación.

Los AGL son los principales responsables de la aparición de la resistencia a la insulina, aunque todavía no está muy claro en qué parte tienen un efecto dentro de la ruta de señalización de la insulina para la translocación de GLUT4. Es por ello, que la diabetes tipo 2 está relacionada estrechamente con la obesidad, ya que este padecimiento aumenta la resistencia a la insulina por medio de un incremento en el flujo de ácidos grasos de los depósitos de grasa del tejido adiposo visceral a los tejidos sensibles a la insulina (Zick, 2001).

Existen tres puntos importantes en donde puede presentarse la falla en la ruta de señalización: en el receptor de insulina, el sustrato del receptor y la enzima fosfatidil inositol 3 cinasa (PIK-3, por sus siglas en inglés) (Figura 2).

El receptor de insulina es una molécula heterotetramérica compuesta por dos subunidades  $\alpha$  (extracelulares) y dos subunidades  $\beta$  (intra-citoplasmático) unidas por puentes disulfuro. La unión de la insulina circulante se lleva a cabo en el dominio extracelular, el cual, induce un cambio conformacional en el receptor que permite la autofosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad  $\beta$  y la consecuente activación del receptor. Una vez activado el receptor, se produce un aumento de la actividad catalítica de la subunidad  $\beta$ , que a su vez fosforila diversos sustratos proteicos endógenos, incluido IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4,



**Figura 2.** Vías moleculares de señalización de la insulina (Cordario, 2005).

GAB1 (por sus siglas en ingles, growth factor receptor-bound) (Pessin y Saltiel, 2000).

Los sustratos IRS1- e IRS2 tienen una función clave en la transmisión de las señales desde el receptor hacia las proteínas de la cascada de señalización. Esta función está influenciada por el estado de fosforilación. En la diabetes tipo 2, la insulina que llega a músculo esquelético y tejido adiposo no puede estimular la fosforilación de IRS-1 e IRS-2 en los residuos de tirosina. La fosfatidilinositol-3-cinasa, es esencial para la translocación del GLUT4 y la activación de la enzima glucógeno sintasa. Esta proteína es activada por la unión de IRS-1 fosforilado en tirosina e IRS-2. Este complejo de PIK-3 –IRS1-IRS-2 no se forma en pacientes con diabetes tipo 2, ya que se ha encontrado una disminución de la actividad tirosina cinasa de los receptores en hígado, músculo y tejido adiposo. Sin embargo, se observó que esta es una disfunción adquirida porque es reversible con la pérdida de peso y un control de la glucemia en pacientes obesos con diabetes tipo 2 (Bhattacharya y col., 2007).

La evidencia clínica y epidemiológica indica que la resistencia a la insulina es uno de los primeros eventos que se dan en la diabetes tipo 2. De manera general, se ha observado que en las primeras etapas de la enfermedad, se presentan altos niveles de insulina para compensar la resistencia a la insulina, pero eventualmente, la producción de insulina no es suficiente y se desarrolla hiperglucemia. En personas con diabetes tipo 2, existe un incremento de la gluconeogénesis producida por resistencia a la insulina hepática, deficiencia de insulina relativa, incremento de niveles de glucagón, precursores gluconeogénicos

y ácidos grasos libres (AGL). La hiperglucemia postprandial en la diabetes mellitus tipo 2 es provocada por la liberación de glucosa por el hígado junto con la que se absorbe desde el intestino delgado, mientras que la hiperglucemia en ayunas se debe a la sobreproducción de glucosa en el hígado (Cordario, 2005).

La disfunción de las células- $\beta$  pancreáticas es otra característica de diabetes mellitus tipo 2. La evidencia experimental correlaciona la ingesta en exceso de carbohidratos simples o grasas con el desarrollo de la enfermedad. Este fenómeno es denominado glucotoxicidad para la glucosa o lipotoxicidad para los ácidos grasos. En primera instancia, la célula- $\beta$  tiene mecanismos de adaptación y detoxificación para esta situación desfavorable y mantener una respuesta secretora correcta. Sin embargo, cuando la situación de hiperglucemia e hiperlipidemia crónica se da sobre todo de forma conjunta, se activan programas de muerte celular que culminan en la desaparición de estas células productoras y la aparición de la diabetes.

La prevención y control de la diabetes representa un reto para los responsables de la salud pública del país, ya que al igual que otras enfermedades crónicas es el resultado de estilos de vida no saludables como los hábitos de alimentación deficientes y el sedentarismo. Éstos, sumados a la carga genética, el estrés, tabaquismo y consumo excesivo de bebidas alcohólicas constituyen los principales determinantes que inciden en el desarrollo de la enfermedad.

El control de la dieta, en especial el tipo de carbohidratos que se consume, es crucial para cualquier estrategia en el tratamiento de diabetes, todo esto con el

objetivo de normalizar glucosa en sangre, controlar los niveles de glucosa postprandial, reducir el sobrepeso y regular el metabolismo de proteínas y lípidos.

### **2.3 Carbohidratos**

Los carbohidratos son moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno. Los carbohidratos se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos.

Los monosacáridos son los carbohidratos más simples, están formados por una sola molécula y no pueden ser hidrolizados a carbohidratos más pequeños.

Un disacárido consta de dos monosacáridos unidos por un enlace O-glucosídico, el cual es formado cuando el grupo hidroxilo de un monosacárido reacciona con el carbón anomérico de otro. La configuración del carbón anomérico que interviene en el enlace puede ser  $\alpha$  o  $\beta$ . En algunos casos los dos carbonos anómicos de ambos monosacáridos pueden estar involucrados en el enlace glucosídico, por lo que se produce un disacárido no reductor como la sacarosa. Sin embargo, también existen disacáridos reductores, los cuales presentan un carbono anomérico libre en su estructura, cuya configuración puede ser  $\alpha$  o  $\beta$  (Cummins y Stephen, 2007).

Los oligosacáridos es un grupo de carbohidratos de cadena corta formados por monosacáridos. No existe un número exacto de monómeros que estén formando un oligosacárido, pero en términos generales se considera aquella molécula que contiene entre 2 y 10 monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos.

Los polisacáridos son polímeros de monosacáridos de alto peso molecular, tienen cierta similitud con los oligosacáridos, ya que también están formados por unidades de monosacáridos en arreglos lineales o ramificados, pero mucho más grandes, de 10 a 20 unidades. El número de monosacáridos que están conformando un polisacárido se le conoce como grado de polimerización (GP), y varía dependiendo del polisacárido.

Los carbohidratos constituyen la parte fundamental de la dieta humana, aportan entre el 40 y 80% del total de la energía consumida. La actividad fisiológica de los carbohidratos en el tracto gastrointestinal está determinada por sus propiedades fisicoquímicas. En el intestino, los carbohidratos pueden ser catalogados en los que son digeridos y utilizados como fuente de energía, y los que quedan como remanentes dentro del contenido intestinal, que pasan como parte de los residuos al intestino grueso, en donde son metabolizados. Es por ello que nutricionalmente, a los carbohidratos se les clasifica en digeribles y no digeribles (Cummings y Stephen, 2007).

### **2.3.1 Carbohidratos digeribles y no digeribles**

El almidón, sacarosa, lactosa, maltosa, fructosa y glucosa son los principales carbohidratos que se encuentran en la dieta humana. Estos carbohidratos digeribles son hidrolizados y absorbidos rápidamente en el intestino delgado, por lo tanto se utilizan como una fuente de energía rápida (Schneeman, 2007). Sin embargo, la velocidad de digestión de los carbohidratos, específicamente del almidón, puede variar. Englyst y col., (1992) propusieron una

clasificación del almidón en base a la velocidad de hidrólisis y absorción en el intestino delgado, la cual es: almidón de digestión rápida (ADR), almidón de digestión lenta (ADL) y almidón resistente (AR).

El ADR es aquella fracción que se digiere en los primeros 20 minutos de hidrólisis, mientras que el ADL se hidroliza y absorbe entre los 20 y 120 minutos. El AR es la cantidad de almidón que no es hidrolizado después de los 120 minutos (Englyst y col., 1992).

La fracción denominada AR pertenece al grupo de carbohidratos no digeribles, ya que se considera como el almidón y los productos de la degradación del almidón que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Asp, 1994).

Los carbohidratos no digeribles también denominados como fibra dietética incluyen a la celulosa, hemicelulosa, pectinas, gomas, oligosacaridos (inulina) y AR. Estos compuestos no son degradados sino hasta en el intestino grueso, en donde son el sustrato principal de la microflora. Las propiedades fisicoquímicas de este tipo de carbohidratos no digeribles, tienen efectos fisiológicos importantes en el tracto gastrointestinal. Entre las propiedades asociadas con los carbohidratos no digeribles, como se ha visto, se encuentran su capacidad de enlazar agua y ácidos biliares, incrementar la viscosidad y el volumen fecal (Lairon, 1997).

La definición de fibra dietética ha sido objeto de discusión y controversia, debido a que está formada por un conjunto de componentes, (almidón resistente, fructanos, pectinas, celulosa, entre otros) (Asp, 2004), por lo que, no existe una definición universal ni tampoco un método analítico que cuantifique todos sus

constituyentes. Tras la definición de Trowel (1976) se han considerado como fibra dietética a los polisacáridos vegetales y la lignina, que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas humanas. A medida que han aumentado los conocimientos sobre la fibra tanto a nivel estructural como en sus efectos fisiológicos, se han dado otras definiciones que amplían el concepto. La Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC, American Association of Cereal Chemist) define a la fibra dietética como “la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso” (AACC, 2001). Recientemente, tanto la AOAC (Association Official Analytical Chemists) y la AACC han desarrollado y adoptado una metodología para cuantificar todos los componentes de la fibra dietética incluidos en la definición del CODEX. Lo cual indica, que se llegó a un consenso para utilizar esta definición de manera universal (Mermelstein, 2011).

El CODEX define a la fibra dietética como polímeros de carbohidratos con 10 o más monómeros, los cuales no son hidrolizados por las enzimas del intestino delgado de humanos y se forma por las siguientes categorías: 1) Polímeros de carbohidratos comestibles que se encuentran en los alimentos tal y como se consumen; 2) Polímeros de carbohidratos obtenidos de materia prima alimenticia, a través de métodos físicos, químicos o enzimáticos, que presenten efectos fisiológicos benéficos a la salud; 3) polímeros de carbohidratos sintéticos que han mostrado beneficios a la salud. Los beneficios deben de ser demostrados

mediante pruebas científicas generalmente aceptadas por las autoridades competentes (Mermelstein, 2011).

Las fibra dietética se clasifica de acuerdo a sus propiedades físicas como fibra soluble (pectinas gomas, mucílagos,  $\beta$ -glucanos, entre otros) y fibra insoluble (lignina, celulosa y hemicelulosa) (Stephen y Cummings, 1980). La fibra soluble es viscosa y altamente fermentable, se asocia con el metabolismo de carbohidratos y lípidos, mientras que la insoluble es capaz de retener el agua en su matriz estructural, formando mezclas de baja viscosidad; esto produce un aumento de la masa fecal que acelera el tránsito intestinal. Además, la fibra insoluble tienen la capacidad de enlazar agentes carcinogénicos hidrofóbicos (Steinmetz y Potter, 1991; Slavin, 2001).

### **2.3.2. Índice glucémico**

El IG es definido como el incremento del área bajo la curva de la respuesta de glucosa, producida por 50 g de carbohidratos disponibles de un alimento a prueba, en comparación a un alimento de referencia (Wolever y col., 1991). De acuerdo al valor de IG, los alimentos se pueden clasificar en: IG alto ( $\geq 70$ ), IG intermedio (56-69) e IG bajo de (0-55). Esta clasificación de los alimentos indica la velocidad postprandial de la absorción y digestión de los carbohidratos. De manera general se ha aceptado que, los alimentos con IG alto producen que los niveles de glucosa en sangre se incrementen rápidamente y por lo tanto la respuesta de insulina también sea mayor. Por otro lado, los alimentos de IG bajo

provocan una respuesta de glucosa postprandial baja, es decir, se produce una pico de glucemia postprandial menos pronunciado en comparación con los de IG alto (Wolever, 1990). Este tipo de alimentos induce una respuesta de insulina postprandial baja y sostenida, la cual suprime la síntesis y liberación al torrente sanguíneo de ácidos grasos libres, mejorando la sensibilidad del receptor de insulina.

### **2.3.3 Importancia del almidón de digestión lenta**

El almidón de digestión lenta (ADL), produce un incremento lento (entre 20 y 120 minutos) y sostenido de los niveles de glucosa postprandial en sangre, comparado con el almidón de digestión rápida (ADR). El ADR, como su nombre lo indica, incrementa rápidamente los niveles de glucosa en sangre, con un subsecuente episodio de hipoglucemia (Zhang y Hamaker, 2009).

El ADL tienen un IG de bajo a medio, por lo que reduce la carga glucémica de un producto alimenticio en comparación con el ADR, el cual presenta un IG alto (Englyst y col., 2003; Ells y col., 2005). Los efectos benéficos producidos por la ingesta del ADL todavía son poco claros y aún continúan en investigación. Sin embargo, la mayor parte de los beneficios que se le atribuyen a esta fracción del almidón se deducen de los alimentos de IG bajo.

Las investigaciones que se han realizado para conocer las respuestas fisiológicas del ADL son pocas. De manera general, se ha observado que la ingesta de ADL puede disminuir la respuesta de glucosa postprandial, insulinémica y los ácidos grasos (Seal y col., 2003; Ells y col., 2005).

También se ha encontrado que el ADL estimulan la secreción de hormonas incretinas, tales como el péptido similar a glucagon 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) y el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GIP). Wachters-Hagedoorn y col. (2006) demostraron que la concentración de GLP-1 y GIP incrementó significativamente durante el periodo postprandial (180-300 min) elicitado por el ADL. Estas hormonas incretinas estimulan la biosíntesis y secreción de insulina, además estimulan la proliferación y neogénesis de las células- $\beta$  y reducen su apoptosis. La GLP-1 tiene efectos sobre la motilidad gastrointestinal, se ha observado que tanto el vaciamiento gástrico como la absorción de glucosa son lentos en presencia de GLP-1 (Nauck y col., 1997). Otro efecto benéfico que presenta la GLP-1 es en la regulación de la ingesta de alimentos. En el cerebro, están presentes receptores de GLP-1, los cuales se encuentran en el área de regulación de la ingesta de alimentos (Goke y col., 1995). La administración intracerebroventricular de una dosis baja de GLP-1 provocó una inhibición de la ingesta de alimentos, por medio del incremento de la saciedad (Tang y Christensen, 1996; Turton y col., 1996; Verdich y col., 2001).

#### **2.3.4 Efecto de la fermentación de carbohidratos indigeribles en la salud**

La fermentación es una de las propiedades importante de la fibra dietética, ya que de ella derivan diversos efectos tanto locales como sistémicos.

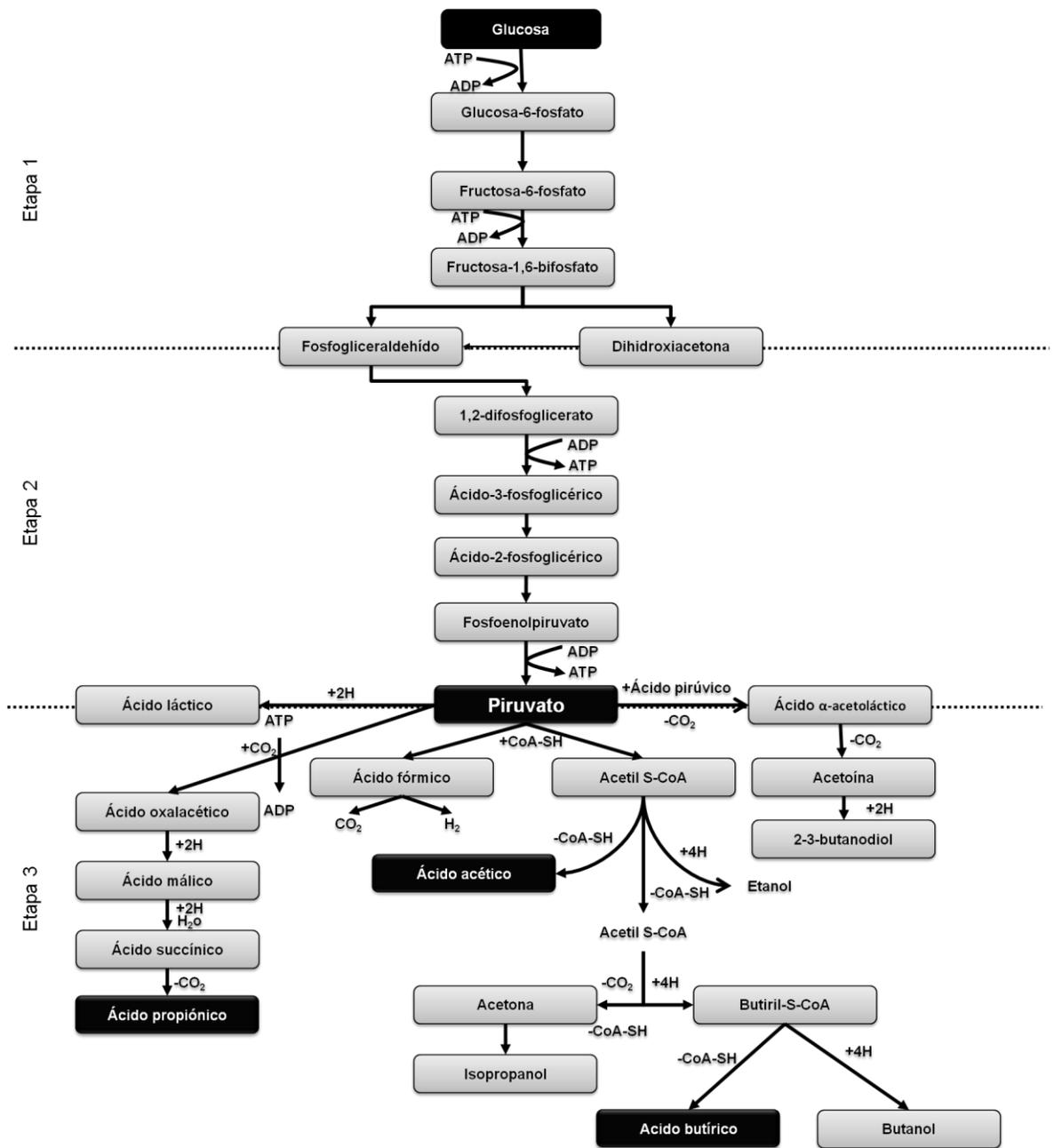
La flora intestinal coloniza el tracto del ser humano desde los primeros días de su nacimiento, como consecuencia del contacto con el ambiente. Esta flora intestinal va a ir cambiando a lo largo del tiempo por diversos factores externos como la dieta, medicación, clima, estrés etc., aunque se mantiene en relativo equilibrio en el individuo sano hasta edades avanzadas (Escudero y González, 2006).

La fibra dietética al llegar al intestino grueso es degradada o parcialmente degradada por la acción de bacterias colonicas. Esta degradación va a depender del tipo de microflora bacteriana (Heredia y col., 2002), del tiempo de tránsito en el colon, el cual va a determinar la duración del contacto entre las bacterias y los componentes de la fibra dietética (Kay, 1982; Rodríguez y col; 2006).

La degradación inicia con una hidrólisis extracelular que convierte los polisacáridos en mono y disacáridos, seguida por una glucolisis anaeróbica intracelular (fermentación) (Larrauri y col., 1996).

La fermentación es un proceso constituido por reacciones biológicas de oxidación-reducción productoras de energía, en las que los aceptores terminales de electrones son compuestos orgánicos. En las bacterias se encuentran las tres vías centrales del metabolismo intermediario de los carbohidratos: la glucolítica o de Embden Meyerhof Parnas, la de pentosa fosfato y la de Entner-Doudoroff.

La vía glucolítica que degrada la glucosa se divide en tres etapas. La primera es preparativa, con reacciones que no son de oxidación-reducción, sin liberación de energía y con formación de dos intermediarios de tres átomos de carbono cada uno (Figura 3). En la segunda etapa, si ocurren reacciones de



**Figura 3.** Ruta metabólica de la fermentación de fibra dietética (Varela y Grotiuz, 2006).

oxidación-reducción con liberación de energía, formación de ATP (Adenosin trifosfato) por fosforilación a nivel de sustrato (el ATP se genera en un paso enzimático específico), y producción de dos moléculas de piruvato. En la tercera etapa, nuevamente ocurren reacciones de oxidación-reducción y se generan los productos finales de la fermentación, que varían según la bacteria en cuestión. Solo una pequeña parte de la energía libre, que potencialmente puede derivar de la degradación de una molécula de glucosa, queda disponible por esta vía, dado que los productos finales son compuestos en los que el carbono se encuentra reducido (Varela y Grotiuz, 2006).

Por cada molécula de glucosa que entra a esta vía, se forman cuatro moléculas de ATP y como se consumen dos en la primera etapa, el balance neto es de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa fermentada. El destino final del metabolito clave, el piruvato, depende de los procesos empleados para la regeneración del dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD) a partir del dinucleótido de nicotinamida adenina reducido (NADH), y así mantener el equilibrio de oxidación reducción (Varela y Grotiuz, 2006).

Aunque la vía glucolítica es la más importante en las células eucariotas y procariotas, no es la única. La vía de las pentosas es una ruta multifuncional para la degradación de hexosas, pentosas y otros carbohidratos. Para las bacterias heterolácticas es la principal fuente productora de energía, aunque la mayoría de las bacterias usan esta vía como fuente de dinucleotido de nicotinamida adenina fosfato reducido (NADPH) y de pentosas para la síntesis de nucleótidos.

El ácido pirúvico derivado de la glucosa, es un compuesto clave en el metabolismo fermentador de los carbohidratos. En su formación, el NAD es reducido a NADH y éste debe oxidarse nuevamente a NAD para alcanzar el equilibrio final de oxidación-reducción. Las bacterias se diferencian de las células eucariotas por la forma en que eliminan el piruvato; en las bacterias la oxidación es incompleta y se acumula gran cantidad de metabolitos finales de la fermentación. Entonces, según los productos finales, se tienen diferentes tipos de fermentación: alcohólica, homoláctica, heteroláctica, del ácido propiónico, ácido mixta, del ácido acético y butírico (Jokilk, 1994).

La fermentación homoláctica, la llevan a cabo todos los miembros del género *Streptococcus*, *Pediococcus* y muchas especies de *Lactobacillus* fermentan la glucosa fundamentalmente a ácido láctico con poca acumulación de otros productos finales. En esta reacción, el piruvato se reduce a ácido láctico por acción de la enzima láctico deshidrogenasa, actuando el NADH como dador de electrones, esto ocurre en la tercera etapa de la vía glucolítica (Jokilk, 1994).

En la fermentación heteroláctica, solo la mitad de la glucosa se convierte en ácido láctico, el resto se transforma en una mezcla de dióxido de carbono, ácido fórmico, ácido acético, etc. En esta fermentación se emplea fundamentalmente la vía de las pentosas y se produce en las bacterias del género *Leuconostoc* y *Lactobacillus* (Jokilk, 1994).

La fermentación ácido mixta es característica de la mayoría de las enterobacterias (*Shigella*, *Salmonella*, *K* y *E. coli*), las cuales fermentan las

hexosas a través del piruvato a ácido láctico, ácido acético, ácido succínico y ácido fórmico.

La fermentación butírico-butanólica inicia por la conversión de los azúcares en piruvato por la vía de la fructosa difosfato. El piruvato es descarboxilado dando acetil-CoA y la transformación de esta última da diversos productos. En las primeras fases, los productos predominantes son el ácido butírico y acético pero luego, cuando disminuye el pH del medio, comienza a acumularse cetona y butanol que son neutros (Jokilk, 1994).

Algunos clostridios (*C. thermoaceticum*) fermentan la glucosa por la vía de la fructosa-difosfato. Luego generan acetato por la descarboxilación del piruvato y la conversión del CO<sub>2</sub> e hidrógeno, producidos antes, en acetato.

De manera general, se conoce que la fermentación colónica tiene como productos finales ácidos grasos de cadena corta (AGCC): acetato, propionato y butirato (German y Watkins, 2004; Larrauri y col., 1996), en una proporción molar casi constante 60:25:15, respectivamente. En menor proporción también se producen valerato, hexanoato, isobutirato e isovalerato (Garcia-Peris y col., 2001; Sastre, 2003).

Los AGCC se absorben rápidamente por las células del colon (colonocitos) en más del 90%, lo que también se acompaña de una absorción importante de sodio y agua (Musch y col., 2001). El orden de utilización de los AGCC por los colonocitos es ácido butírico > ácido acético > ácido propiónico (Roediger, 1982).

El ácido propiónico llega al hígado a través del sistema porta, en donde es metabolizado actuando como precursor en la gluconeogénesis, pero también

como inhibidor de este proceso. En el ciclo de Krebs, el propionato, entra a nivel de Succinil CoA, por lo que la inhibición de la gluconeogénesis puede estar relacionada con los metabolitos intermediarios, metilmalonil CoA y succinil CoA, los cuales son inhibidores específicos de piruvato carboxilasa. Propionato aumenta la glicólisis, probablemente por el agotamiento de citrato hepático, que es un importante inhibidor del metabolismo de la fosfofructoquinasa. Además, estudios en animales, han sugerido que el propionato inhibe la síntesis de colesterol por inhibición de la actividad de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintasa y 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa.

El ácido acético se absorbe y transporta al hígado, donde es utilizado para la síntesis de colesterol. Diversos estudios han demostrado que un incremento de acetato, ya sea administrado por medio de infusiones rectales o mediante fermentación de lactulosa, incrementa la lipogénesis hepática (Wolever y col 1989; Jenkins y col., 1991).

El ácido butírico es rápidamente utilizado por los colonocitos, metabolizándose hasta  $\text{CO}_2$ , cuerpos cetónicos y agua, siendo su principal fuente de energía, estimula la producción de moco, la absorción de iones y la formación de bicarbonato. El principal papel del ácido butírico en relación con su propiedad antitumoral radica en sus efectos sobre el crecimiento, diferenciación y apoptosis de los colonocitos. En este sentido, ejerce una serie de acciones sobre las que se fundamenta dicho efecto antineoplásico:

- 1) Detiene el crecimiento de los colonocitos neoplásicos (fase G1 del ciclo celular) en una gran variedad de líneas celulares derivadas de cáncer de colon

(Higgins y Ryan, 1991; Gamet y col., 1992; Velázquez y col., 1996; Heerdt y col., 1997).

2) Induce la expresión de marcadores de diferenciación tanto *in vitro* como *in vivo*. Así, aumenta la actividad de enzimas como la fosfatasa alcalina y la dipeptidil peptidasa IV, las cuales son marcadores de diferenciación cuya expresión disminuye con la transformación neoplásica (Young y col., 1992; Heerdt y col., 1994)

3) Además, se cree que la carcinogénesis colorectal es un proceso de múltiples etapas que resulta, en parte, de la acumulación de alteraciones en determinados genes, oncogenes y genes supresores, cuyos productos proteicos forman parte de la red de transmisión de señales que operan desde la membrana citoplasmática hasta el núcleo y que controlan la proliferación y diferenciación celular. El ácido butírico bloquea la proliferación celular neoplásica al modificar la expresión de algunos de estos genes implicados en el proceso de transmisión de señales: inhibe los protooncogenes *ras* (Czerniak y col., 1987), *src* (Foss y col., 1989) y *c-myc* (Foss y col., 1989) e induce la expresión de los protooncogenes *c-fos* y *c-jun* (Souleimani y col., 1993).

4) Induce apoptosis, en varias líneas celulares derivadas de adenomas y carcinomas de colon (Hague y col., 1993, 1997).

Por tanto, el ácido butírico podría ejercer un papel importante en los mecanismos de defensa en contra de la carcinogénesis en el intestino grueso.

## 2.4 Compuestos antioxidantes

En general, los antioxidantes, son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto-oxidación. Estos compuestos pueden ser proteínas quelantes, enzimas antioxidantes, compuestos derivados de nutrientes (ácido ascórbico, tocotrienoles, etc.) y fitoquímicos (Percival, 1998).

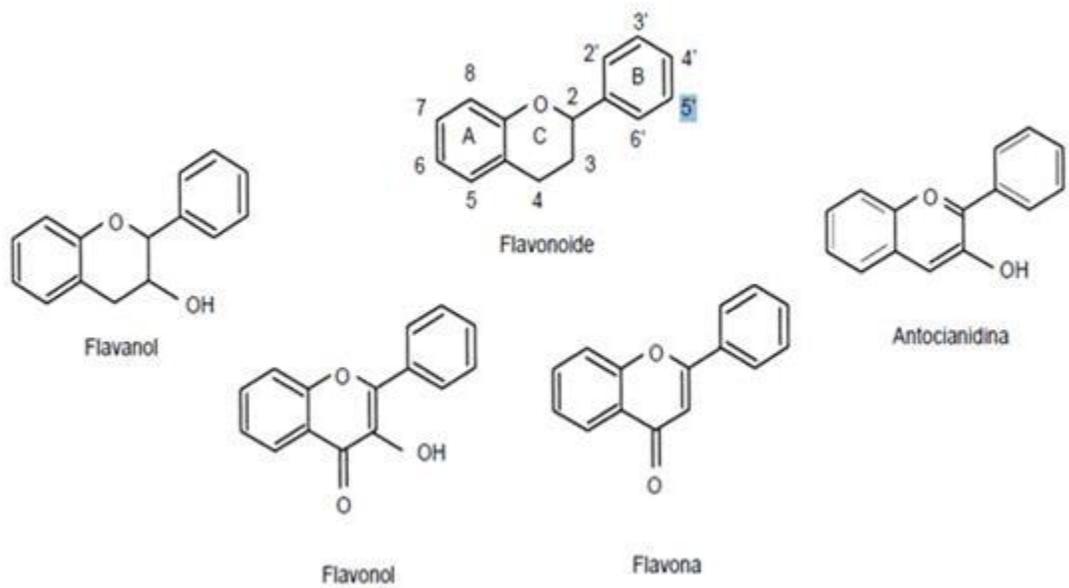
Los fitoquímicos son cada vez más conocidos por su actividad antioxidante; estos compuestos se pueden definir, en el sentido más estricto, como los productos químicos producidos por las plantas. Sin embargo, el término se utiliza generalmente para describir a los productos químicos de las plantas que pueden tener un efecto sobre la salud, pero no son nutrientes esenciales. Dentro de los fitoquímicos, los polifenoles han cobrado importancia debido a su capacidad antioxidante, la cual puede prevenir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, agregación plaquetaria y daño a las células rojas de la sangre (Cheynier, 2005). En estudios *in vitro*, estos compuestos presentan una mayor capacidad antioxidante en comparación a la vitamina C y E, por lo que podrían tener un mayor efecto protector contra enfermedades inducidas por estrés oxidativo, tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, entre otras. Además, los compuestos polifenólicos actúan como queladores de metales, antimutagénicos y anticarcinogénicos, agentes clarificantes y antimicrobianos (Proestos y col., 2005).

La actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos está determinada por su estructura molecular, específicamente, por la posición y el grado de

hidroxilación de la estructura del anillo. Esto influye en la capacidad de la deslocalización de los electrones no apareados para estabilizar el radical fenoxilo, formado tras la reacción con los radicales libres (Gordon, 1990). Por lo que, los polifenoles se clasifican en función al número de anillos de fenol que presentan y de los elementos estructurales que unen a estos anillos entre sí. Esta clasificación comprende a los estilbenos, taninos, ligninas, lignanos y flavonoides (Manach y col., 2004, 2005).

Los flavonoides son uno de los grupos de polifenoles más estudiados, están ampliamente distribuidos en frutas, verduras, semillas y flores. Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización, y tienen una capacidad importante para fijar metales como el hierro y el cobre (Alvarez y Cambeiro, 2003). Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difeini-piranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico) (Figura 4).

La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de su estructura química (Pratt y Hudson, 1990). La estructura química básica permite diferentes patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:



**Figura 4.** Estructura de flavonoides (Alvarez y Cambeiro, 2003).

1) Flavanol, como la catequina, con un grupo hidroxilo (–OH) en posición 3 del anillo C.

2) Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo.

3) Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidróxilo en posición C3.

4) Antocianidinas, que tienen unido el –OH en posición 3, pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

Tres características estructurales son importantes para su función: a) la presencia en el anillo B de la estructura catecol y el O-hidroxi que le confiere una mayor estabilidad a la forma radical, y participa en la deslocalización de los electrones; b) la presencia de un doble enlace en posición 2,3; c) la presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5 con función 4-oxo en los anillos A y C, necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Las antocianinas son un grupo de pigmentos hidrosolubles, los cuales están ampliamente distribuidos en frutas, vegetales, flores, hojas, raíces y otros órganos de almacenamiento de las plantas, como es el grano de cereales (Escribano-Bailón y col., 2004). Su fórmula básica está conformada por dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres carbonos (ion flavilo) (Gross, 1987). En su forma natural, esta estructura se encuentra esterificada a uno o varios azúcares, en cuyo caso se denominan antocianinas simples. Si además del azúcar en la molécula existe un radical acilo, entonces son antocianinas aciladas (Strack y Wray 1989).

De acuerdo con la literatura, han sido descritas 21 antocianinas, de las cuales únicamente seis son las más importantes y abundantes en frutas y vegetales, éstas son: pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina y malvidina. La función de las antocianinas en plantas es similar a las funciones de todos los flavonoides: función antioxidante, fotoprotectora, mecanismos de defensas, así como otras funciones ecológicas (Escribano-Bailón, y col., 2004). La pelargonidina y cianidina de maíz presentaron una actividad inhibitoria de la producción de aflatoxinas provocadas por patógenos (*Aspergillus flavus*) (Norton, 1999).

En las últimas décadas, se ha incrementado el interés por las antocianinas debido a que, por una parte, son pigmentos que pueden utilizarse como alternativa a los colorantes artificiales en la industria de alimentos (Escribano-Bailón y col., 2004); mientras que por otro lado, presentan propiedades antioxidantes que tienen efecto nutracéutico en la salud (Setchell y Cassidy, 1999).

## **2.5 Carbohidratos y compuestos antioxidantes como ingredientes funcionales**

Los ingredientes funcionales son un grupo heterogéneo de compuestos a los cuales se les ha atribuido beneficios para la salud, por ejemplo, los compuestos de alilo (bisulfuro, trisulfuro, tetrasulfuro de lilo y bisulfuro de alilopropilo) que se encuentran en el ajo; carotenoides y flavonoides, en las frutas y hortalizas; glucosinolatos en verduras (familia:crucíferas), péptidos, como factor de crecimiento epidérmico, péptidos opioides, y la lactoferrina en la leche; y ácidos

araquidónico y docohexaenoico que se encuentra en la leche humana y pescado (Meisel, 1997; Xu, 1998; FitzGerald y Meisel, 2000; Milner, 2000; Greeson y col., 2001; Ernst, 2002).

En décadas pasadas, se ha reconocido que los carbohidratos indigeribles (fibra dietética) tienen un efecto positivo en las funciones del cuerpo humano. Por lo que se ha propuesto que estos compuestos pueden dar protección contra diferentes enfermedades crónicas, como desordenes del tracto gastrointestinal, dentro de los que se incluye el cáncer de colon, enfermedades cardiovasculares y diabetes.

En estudios observacionales, se ha encontrado una asociación inversa entre la ingesta de alimentos a base de cereales integrales (granos enteros) o fibra dietética y la morbilidad de enfermedades cardiovasculares, como falla cardiaca (Nettleton y col., 2008), enfermedad arterial coronaria (Liu y col., 1999; Steffen y col., 2003; Jensen y col., 2004) y enfermedad isquémica (Jacobs y col 1998). Estos estudios indican que el consumo de cereales integrales puede reducir del 7 al 30% el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Jacobs y Gallaher (2004), estiman una reducción de enfermedad coronaria entre el 20 y 40 % con el consumo de cereales integrales basado en 17 estudios de cohorte. Por otro lado, en un meta-análisis de 12 estudios de cohorte prospectivos, Anderson y col. (2000) reportaron una reducción del riesgo de enfermedades coronarias del 25% en individuos que consumían granos enteros de manera regular. De acuerdo con los estudios existentes entre la relación de cereales integrales y enfermedades cardiovasculares, el Comité Asesor de Guías Alimentarias de Estados Unidos,

(DCAC, Dietary Guidelines Advisory Committee) califica la evidencia como moderada, lo cual indica que es probable que nuevos estudios tengan un impacto importante en la confianza que tenemos en los resultados estimados y que éstos puedan modificar dichos resultados.

En estudios croseccionales se ha reportado una asociación inversa entre la ingesta de cereales integrales y dislipidemias. En un meta-análisis se evaluaron diez estudios de intervención, reportaron que la incorporación de avena en la dieta de los grupos estudiados disminuyó colesterol total (0.031 a 0.10 mmol/L) y lipoproteínas de baja densidad (0.28 a 0.09 mmol/L) comparado con las dietas control (Kelly y col., 2007). En un estudio reciente, se reportó una disminución de lipoproteínas de baja densidad cuando se consumió cereal para desayuno a base de avena por 12 semanas (Maki y col., 2010). En base a estos estudios, se puede concluir que la fibra dietética soluble presente en la avena es la principal responsable de la disminución de colesterol y lipoproteínas de baja densidad, ya que se ha visto que en dietas que incluyen cereales integrales con un bajo contenido de fibra dietética soluble, no se encuentra ningún efecto en el metabolismo de lípidos (Katcher y col., 2008; Brownlee y col., 2010).

Existen algunos mecanismos propuestos por el cual la fibra dietética soluble disminuye el colesterol. La hipótesis principal es que la fibra dietética disminuye la reabsorción de ácidos biliares. Los ácidos biliares (principalmente ácido colico y cenodeoxicolico) son producidos en el hígado a partir de colesterol y son excretados en la bilis. En el duodeno la bilis se mezcla con los alimentos que llegan al intestino (quimo). Alrededor del 90% de los ácidos biliares son

reabsorbidos en el intestino y transportados de nuevo al hígado por medio de la circulación entero-hepática. Si la reabsorción de los ácidos biliares disminuye se utiliza colesterol para la síntesis de ácidos biliares, y de esta manera, los niveles de colesterol en sangre disminuyen. (Öning, 2004).

Los carbohidratos también tienen una función en los cambios de peso corporal. El efecto sobre la saciedad puede ser el principal mecanismo por el cual la fibra dietética contribuya directamente en el control de peso. El consumo de fibra dietética puede promover una mayor saciedad debido a que incrementa la masticación del alimento, la distensión gástrica, retrasa el vaciado gástrico y disminuye la velocidad de absorción y digestión de los nutrientes (Saltzman y Roberts, 1997; Howarth y col., 2001; Pereira y Ludwing, 2001). Además, el consumo de fibra dietética incrementa la secreción de hormonas intestinales como colecistoquinina, péptido parecido al glucagón (GLP-1, glucagón-like peptide 1 ), péptido YY y neurotensina, las cuales pueden actuar como factores de saciedad (Saltzman y Roberts, 1997; Howarth y col., 2001; Pereira y col., 2001).

Por otro lado, se ha observado que el tipo de carbohidratos que se consume puede tener influencia en la aparición o prevención de cáncer de colon. La Fundación Mundial de Investigación de Cáncer y el Instituto Americano de Investigación de Cáncer, han reportado un incremento en el riesgo de pólipos y cáncer de colon a través de un mayor consumo de carbohidratos simples y alimentos ricos en estos (World Cancer Research Fund, 1997). Sin embargo, a la fibra dietética se le ha relacionado con la prevención del riesgo de cáncer de colon y de seno. Diversos estudios observacionales y epidemiológicos han reportado

que la fibra dietética tiene un efecto protector contra el cáncer de colon (Trock y col., 1990; Howe y col., 1992). Se ha logrado relacionar que el consumo de 31 gramos de fibra por día puede reducir en 50% el riesgo de cáncer de colon, comparado con una dieta cuyo consumo de fibra es menor a 11 gramos por día (Howe y col., 1992). El consumo de vegetales, frutas y granos fue asociado con una disminución de riesgo de pólipos (Witte y col., 1996). Algunos estudios de intervención han sido publicados, aunque no con resultados concluyentes. Por ejemplo Alberts y col. (1990) señalaron que la fibra puede ser utilizada como agente preventivo para cáncer de colon. En este estudio, los pacientes con resección por cáncer de colon consumieron dentro de su dieta fibra de trigo (13.5 g/ día) y se encontró que se inhibió la síntesis de ADN y la proliferación de células de la mucosa rectal. En otro estudio de pacientes con resección por cáncer de colon, no se encontraron efectos significativos de la suplementación de la dieta con fibra y calcio sobre en la proliferación celular en la mucosa rectal evaluada a los tres y nueve meses (Alberts y col., 1997).

Algunos de los mecanismos por los que la fibra dietética puede ayudar en la prevención de cáncer de colon son los siguientes: 1) incrementa el volumen fecal, esto promueve los movimientos peristálticos y por lo tanto, se reduce la duración del contacto del contenido colónico con la mucosa; 2) diluye y absorbe los compuestos tóxicos presentes en el contenido fecal; 3) fermentación de la fibra dietética. La fermentación de la fibra dietética produce ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato y butirato. El acetato y el propionato son metabolizados por células epiteliales del colon o tejidos periféricos, mientras que el butirato es

utilizado como fuente de energía para las células colonicas y puede regular la proliferación celular. El butirato puede ser el agente protector más importante en la carcinogénesis colonica, ya que detiene el crecimiento de colonocitos neoplásicos. Sin embargo, tiene dos efectos contrastantes. En células normales, el butirato es utilizado como fuente de energía primaria y estimula su crecimiento e induce diferenciación y apoptosis (Hague y col., 1997).

A nivel mundial, numerosos institutos como la Asociación Británica de Diabetes, Asociación Canadiense de Diabetes, Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes y otros organismos de la India, Japón y Sudáfrica, tienen dentro de sus recomendaciones nutricionales para el manejo de la diabetes tipo 2, el incremento de la ingesta de fibra dietética. Además, muchos de estos organismos coinciden en recomendar el consumo de alimentos de bajo IG en personas con este padecimiento (Anderson y col., 2004). En general, se ha observado que la mayoría de los alimentos de IG bajo o medio son una fuente de fibra dietética, como cereales para desayuno (all-bran), cereales (avena) y leguminosas. Por lo que, una dieta con alimentos de IG bajo, se puede considerar con un contenido alto de fibra (Kendall y col., 2010). Además, se ha encontrado que una dieta con alto contenido de fibra e IG bajo puede ser más efectiva en la prevención y control de la diabetes tipo 2 (Salmeron y col., 1997a, b; Jenkins y col., 2008). En pacientes con diabetes tipo 1 y 2 se demostró que este tipo de dietas disminuyen los niveles de proteínas glucosiladas (hemoglobina glucosilada y fructosamina), glucosa en sangre en ayuno y postprandial, los cuales son

usados como marcadores en el control glucémico (Chandalia y col., 2000; Schulze y col 2004; Kendall y col., 2006; Sievenpiper y col., 2009).

En este sentido, se ha recomendado el consumo fibra dietética soluble en pacientes con diabetes tipo 2, como  $\beta$ -glucanos, psyllum y goma guar, para mejorar el metabolismo postprandial de glucosa e insulina. En diversos estudios, se ha encontrado que los  $\beta$ -glucanos, psyllum y goma guar, tienen la capacidad de reducir la respuesta de glucosa e insulina postprandial en personas sanas, así como en aquellos que padecen diabetes (Brennan y Cleary, 2005; Angiolon y Collar., 2011; Dong y col., 2011).

Como se ha visto, la fibra dietética tiene una función importante para la prevención y disminución de riesgo de ECNT. Sin embargo, en años recientes se encontró que dentro de la fibra dietética pueden estar asociados compuestos antioxidantes. Por ejemplo, en la fibra dietética de los cereales, se han encontrado asociados compuesto fenólicos (Jiménez-Escrig y col., 2001).

En años recientes, el interés en los compuestos antioxidantes se ha incrementado, debido a que su ingesta se ha asociado con la disminución de riesgo de ECNT. Los antioxidantes desempeñan un papel importante en la homeostasis y balance del estrés oxidativo, encontrándose resultados benéficos con el uso terapéutico de diversas vitaminas y oligoelementos (Herrera y col., 2009). Existen diversas evidencias epidemiológicas y estudios de intervención que correlacionan que una dieta rica en antioxidantes puede disminuir la incidencia de enfermedades coronarias, complicaciones de diabetes, desordenes

neurodegenerativas y cáncer (Chopra y col., 1996). Hertog y col (1993) reportó que una ingesta alta de quercitina ( $\geq 26$  mg/día) puede disminuir el riesgo de mortalidad por enfermedad coronaria. Este estudio se llevó a cabo analizando la morbilidad y mortalidad de 805 hombres, que tenían entre 65 y 84 años durante cinco años. En un estudio de casos-control, De Stefani y col. (1999) analizaron los datos de 541 individuos con cáncer de pulmón y 540 individuos hospitalizados los cuales se utilizaron como control, y encontraron una asociación inversa con el incremento de la ingesta de carotenoides, glutatión, flavonoides y vitamina E y la disminución del riesgo de cáncer de pulmón.

Algunos de los posibles mecanismos de los antioxidantes sobre diversas enfermedades crónicas se describen a continuación. Los antioxidantes pueden inhibir la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, y por lo tanto el desarrollo de aterosclerosis. Las LDL oxidadas son las moléculas que inician la cadena de peroxidación lipídica, esto produce, primero, inflamación endotelial, posteriormente aterosclerosis y trombosis vascular.

El tejido nervioso, incluyendo al cerebro es susceptible al daño por radicales libres debido al contenido alto de lípidos, especialmente ácidos grasos poliinsaturados. El incremento en los niveles de estrés oxidativo se ha relacionado con la aparición del Alzheimer, debido a que la peroxidación lipídica puede promover la degeneración y muerte neuronal.

Los radicales libres producen daño en el ADN, los cuales pueden ocasionar mutaciones que desencadenan la aparición del cáncer. Estas mutaciones llegan a afectar a genes oncogénicos, supresores de tumores y controladores del ciclo

celular (Hussein, 2005). Por ejemplo, se ha demostrado que los queratinocitos (células de la epidermis), que tienen mutaciones en el gen p53 producidas por rayos UV, adquieren resistencia a la apoptosis (Melnikova y Ananthaswamy, 2005).

En la diabetes, la hiperglucemia produce estrés oxidativo debido a la auto-oxidación de la glucosa y la formación de productos avanzados de la glucosilación, activación de la vía de los polioles, inactivación de las enzimas antioxidantes, del metabolismo del ascorbato y descontrol en el metabolismo del óxido nítrico y de las prostaglandinas (Taylor, 1995).

Las dietas enriquecidas con antioxidantes parecen prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso del estrés oxidativo.

## **2.6 Fuentes carbohidratos de digestión lenta e indigeribles y de compuestos antioxidantes**

Los cereales integrales (granos enteros), frutas y vegetales son las principales fuentes de fibra dietética. Además, el consumo de estos alimentos proporciona otros beneficios por la presencia de compuestos antioxidantes, ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (Jacobs y col., 1998; Liu y col., 1999; Frasier, 1999; Weisburger, 2000).

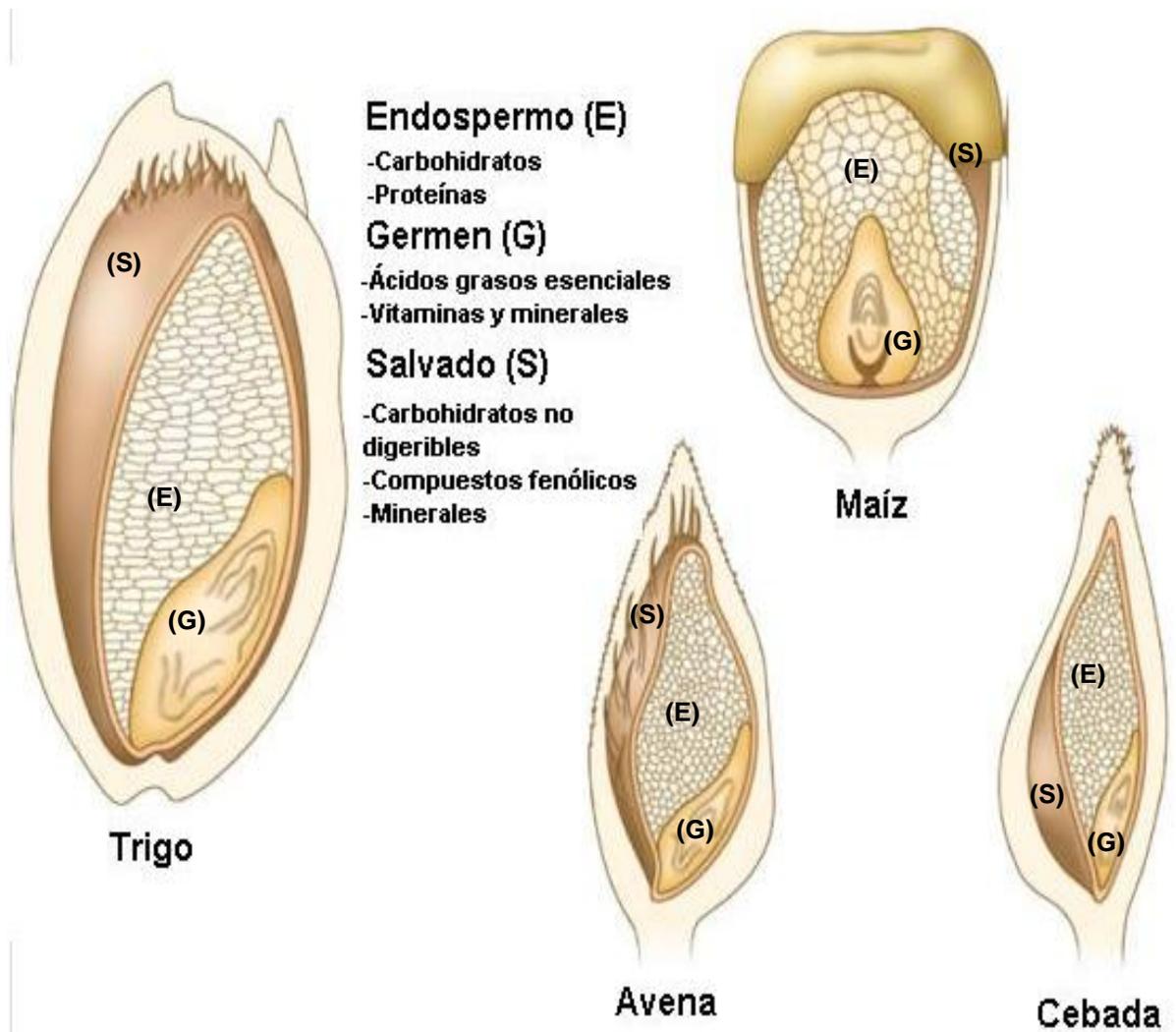
### **2.6.1 Cereales integrales**

Se denominan cereales integrales o granos enteros a aquellos cereales cuyos principales componentes anatómicos, endospermo, germen y salvado, están presentes en las mismas proporciones que existen en la grano intacto (AACC, 1999). Es decir, grano puede ser sometido a molienda, cocción, extrusión, perlado o descascarillado, siempre y cuando el producto final tenga todas sus partes en las mismas proporciones que en un grano entero. Los granos de cereales están constituidos de tres partes, 1) el salvado, el cual es la capa fibrosa que protege al grano del son, insectos y enfermedades; 2) endospermo, donde se concentra la energía que suministra al germen y la planta; y 3) el germen, que es el embrión de la planta (Figura 4).

El endospermo representa el 80% del grano entero, mientras que el porcentaje del germen y el salvado varían entre diferentes tipos de granos. En el endospermo se encuentran carbohidratos y proteínas; en el germen antioxidantes, vitamina B y E, fitoquímicos y lípidos; mientras que en el salvado se encuentra presente fibra dietética, vitaminas B, trazas de minerales y compuestos antioxidantes (Jones, 2006).

En los cereales, el contenido de fibra dietética depende de la morfología de la semilla, la cual puede encontrarse entre el 11 y 27 % del peso del grano, mientras que del salvado representa del 11.5 al 27%. La fibra dietética insoluble es la fracción predominante en el salvado de maíz y trigo; en la avena se puede encontrar hasta el 16% de fibra dietética soluble.

Por otro lado, los granos enteros son una fuente de compuestos fenólicos: ácido ferúlico, diferúlico, cafeico, cumárico, y derivados del ácido benzoico (Adom y Liu, 2002; Adom y col., 2003; Zhou y col., 2004). La cantidad de compuestos fenólicos es variable tanto en el grano entero como en el salvado, esta depende de la variedad del cereal y el procedimiento de molienda (Adom y Liu, 2005). Alrededor del 95% de los compuestos fénolicos de los granos enteros se encuentran unidos a los polisacáridos de la pared celular por enlaces covalentes, como es el caso del ácido ferúlico que se une con los arabinoxilanos (Htfield y col., 1999). El complejo fibra dietética-fenoles presente en los cereales pueden producir un efecto benéfico en el colon, a diferencia de las frutas y hortalizas, cuyos



**Figura 4.** Estructura de los cereales integrales (Harris y col., 2011).

compuestos fenólicos se encuentran principalmente libres o sus formas conjugadas son solubles, las cuales se encuentran más disponibles en el intestino delgado (Fardet y col., 2008).

Dentro del grupo de cereales integrales, el maíz presenta una mayor capacidad antioxidante comparada con el trigo, avena y arroz (Adom y Liu, 2002, 2005; Adom y col., 2003). Las variedades mexicanas de maíz azul presentan una mayor capacidad antioxidante que algunas variedades americanas, lo cual se atribuye al perfil de compuestos fenólicos (Del Pozo-Insfran y col., 2006). Por lo que, es importante el aprovechamiento de estos maíces en la elaboración de alimentos que puedan proporcionar beneficios a la salud. Algunos autores han reportado el uso de maíces pigmentados en diferentes alimentos, tales como extrudidos (Maga y Liu, 1993), totopos (Placencia-González y col., 1999) y tortillas (Hernández-Urbe y col., 2008).

### **2.6.2. Plátano en estado inmaduro**

El plátano se encuentra constituido químicamente de agua (70- 74 %), proteínas (1%), grasas (0.3-0.5 %), cenizas (1 %), carbohidratos totales (20-30%), fibra dietética (3-5 %) (Tobin y Muller, 1988; Chávez y col., 1992). En la pulpa del plátano en estado inmaduro el carbohidrato predominante es el almidón, aunque cuando éste madura es transformado en gran parte a sacarosa, glucosa y fructosa.

Existen en la actualidad nuevas estrategias para el uso del plátano, como la producción de harina de plátano. La harina de plátano en estado inmaduro

contiene alrededor del 70-80% de almidón en peso seco (Zhang y col., 2005). En años recientes se le ha prestado mucha atención al almidón de plátano inmaduro, ya que es resistente al ataque enzimático. En estudios *in vivo* se encontró que entre 75 y 84% del almidón ingerido por pacientes ileostomícos, fue resistente a la hidrólisis enzimática (Englyst y Cummings, 1986; Faisant y col., 1995a,b) y esta fracción puede ser fermentada en el colón por la microflora bacteriana (Faisant y col., 1995a). La fermentación del AR produce un mayor contenido de butirato en comparación a otros carbohidratos no digeribles (Wang y Gibson, 1993), por lo tanto puede ayudar en la prevención de cáncer de colon.

Por otro lado, se ha encontrado que existe una fracción de AR que se mantiene durante el procesamiento de diferentes alimentos adicionados con harina de plátano inmaduro, como pan (Juárez-García y col., 2006), pastas (Rendón Villalobos y col., 2008; Hernández-Nava y col., 2009; Saifullah y col., 2009; Ovando-Martínez y col., 2009) y galletas (Aparicio-Saguilán y col., 2007; Fasolin y col., 2008); además, se observó que con la adición de la harina y/o almidón de plátano la digestibilidad de los carbohidratos disminuyó. Por lo que, las características de la harina de plátano indican que puede ser considerada como un ingrediente funcional y que tiene un gran potencial para ser utilizada en la industria de alimentos.

### **III. Justificación**

En los últimos años, la incidencia de las ECNT se ha incrementado debido al cambio en el estilo de vida y por lo tanto, de hábitos alimenticios. Por lo que, la tendencia actual es consumir alimentos capaces de reducir enfermedades, como los alimentos funcionales, debido a que por medio de la dieta se modulan varias funciones en el cuerpo humano y tiene un papel determinante para la prevención de enfermedades. El desarrollo de los alimentos funcionales evoluciona constantemente, y se han identificado ingredientes con benéficos para la salud, tales como antioxidantes y carbohidratos no digeribles. La velocidad de la digestión y absorción de los carbohidratos pueden ser determinantes para el control metabólico de algunas enfermedades crónicas. Por esta razón, se ha incrementado el interés por la utilización de los carbohidratos no digeribles o de lenta digestión en la población.

Los cereales integrales y los frutos, como el plátano en estado inmaduro, pueden ser utilizados como ingredientes funcionales dado que contienen carbohidratos no digeribles y compuestos antioxidantes, cuya funcionalidad ha sido comprobada de manera individual. Actualmente, existe un creciente interés por evaluar los efectos benéficos de alimentos adicionados con estos ingredientes, como pastas, panes y galletas. Las galletas pueden ser un vehículo adecuado para ser utilizado como alimento funcional, debido al estilo de vida actual, ya que estos productos son prácticos, portátiles, de fácil disponibilidad y de vida de anaquel larga.

## **IV. Objetivos**

### **4.1 Objetivo General**

Desarrollar galletas con bajo contenido de carbohidratos digeribles a partir de cereales integrales y plátano en estado inmaduro.

### **4.2 Objetivos específicos**

- ✓ Determinar la composición química proximal de las galletas elaboradas con una mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro.
- ✓ Determinar el perfil de ácidos grasos de cadena corta producidos mediante la fermentación de la fracción indigerible de las galletas.
- ✓ Evaluar el efecto de la mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro sobre la capacidad antioxidante de las galletas.
- ✓ Conocer la aceptabilidad de las galletas por medio de una prueba de evaluación sensorial.
- ✓ Evaluar el efecto de la mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro de las galletas en la digestibilidad *in vitro* de los carbohidratos.
- ✓ Evaluar el efecto hipoglucemiante y antihiper glucémico en ratas de las galletas elaboradas con una mezcla de cereales integrales y plátano en estado inmaduro.

## **V. Materiales y Métodos**

### **5.1 Materiales**

#### **5.1.1 Materia prima**

Se utilizaron cereales integrales, (avena, cebada, maíz, trigo) y plátano en estado inmaduro. Las hojuelas de avena (Granvita ®, Grupo Industrial Vida, Zapopan, Jalisco, México), los granos de cebada (EW® Ernesto Weinstein, México D. F., México) y harina de trigo (Tres Estrellas ®, Toluca, Estado de México, México) se adquirieron en un centro comercial. Se utilizaron dos variedades de maíz, una variedad pigmentada (azul, variedad cónico chalqueño) y maíz blanco, donados por el INIFAP Texcoco. El plátano en estado inmaduro se obtuvo en el mercado local de Cuautla, Morelos.

#### **5.1.2 Obtención de las harinas**

Las hojuelas de avena, los granos de cebada y maíz, se molieron (Cyclotec 1092 Sample Mill, Foss Tecator, Höganäs, Sweden) y para homogeneizar el tamaño de partícula, se pasaron por una malla No. 40 (425 µm). La harina que no pasó por la malla se volvió a moler hasta obtener el tamaño deseado. La harina integral de trigo a utilizar fue una marca comercial, como se ha mencionado.

Para la obtención de la harina de plátano se siguió el siguiente procedimiento: los plátanos se pelaron y cortaron en rodajas de 1 cm. Inmediatamente, las rodajas se colocaron en una solución de ácido cítrico (3 g/L), posteriormente se secaron a  $50\pm 1$  °C durante 24 h. Finalmente, se molieron (Cyclotec 1092 Sample Mill, Foss Tecator, Höganäs, Sweden) y tamizaron en

malla No. 40. Las harinas de cereales y la de plátano, se almacenaron herméticamente a 25 °C en un recipiente de plástico.

## **5.2 Métodos**

En la Figura 5 se presenta la estrategia experimental utilizada en este trabajo.

### **5.2.1 Elaboración de las galletas**

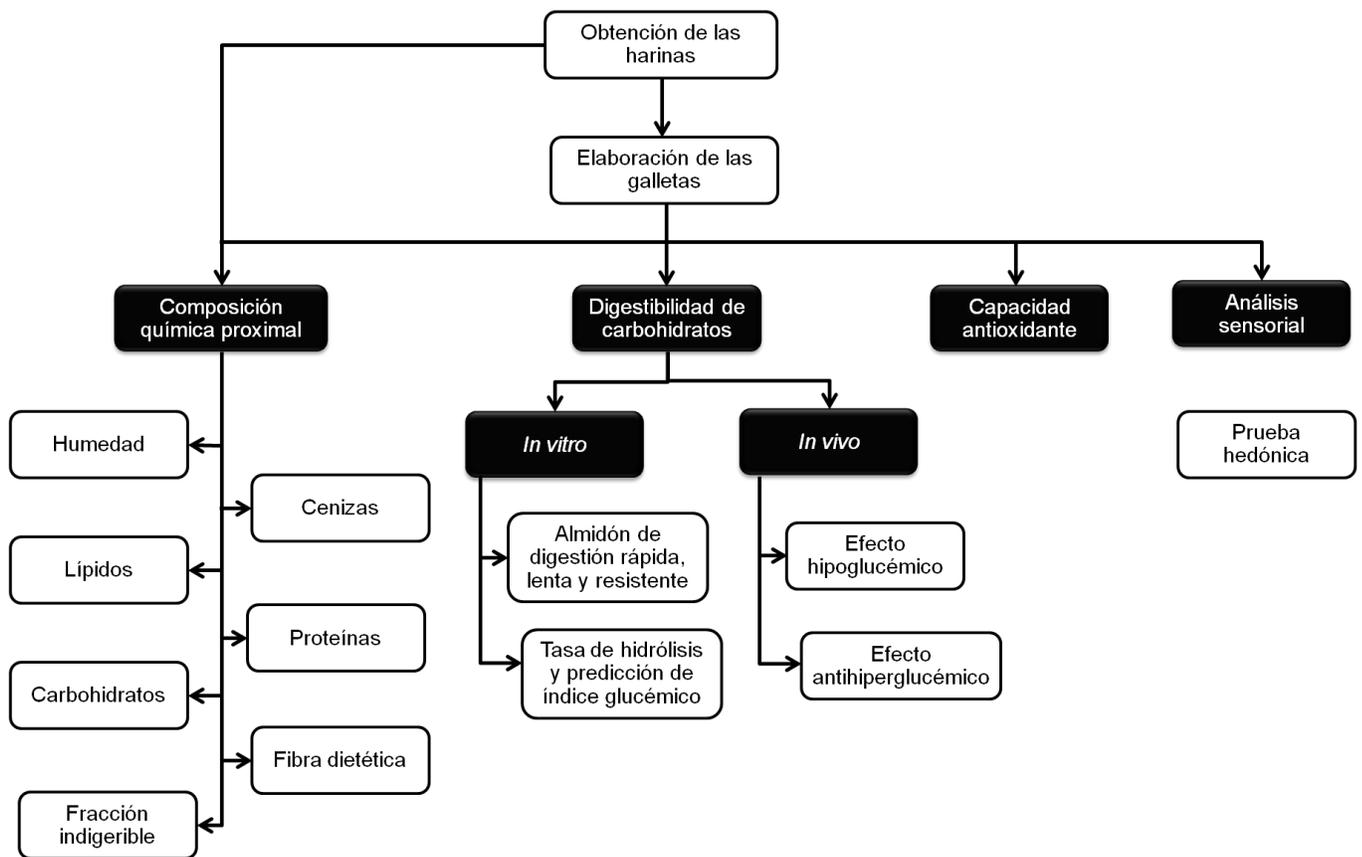
Se realizó una galleta a partir de una mezcla de las harinas de cereales integrales y de plátano en estado inmaduro a las mismas proporciones. Se realizaron tres formulaciones, las cuales se pueden observar en el cuadro 1.

La mantequilla se batió hasta que presentó una consistencia cremosa, se adicionaron los ingredientes en polvo (las harinas y el polvo para hornear) y se mezclaron. Posteriormente, se agregó el huevo, la leche y la vainilla, se continuó batiendo hasta que se formó una pasta homogénea. La pasta se extendió con un rodillo hasta alcanzar 0.5 cm de grosor. Las galletas se cortaron con un molde rectangular (4x7 cm) y se colocaron en un molde de aluminio. Las galletas se sometieron a cocción en un horno (horno de convección marca Hotpoint, modelo 6B4411LO. Leisser S. A. de C. V., San Luis Potosí, México), a una temperatura aproximada de 180 °C durante 25 minutos. Transcurrido este tiempo, las barras se sacaron del horno, se dejaron enfriar durante 30 minutos. Para las evaluaciones, las galletas se molieron hasta que se pasaron en su totalidad por una malla No. 40

**Cuadro 1.** Formulación de la galleta

Ingrediente	Formulación		
	G-1	G-2	G-3
Avena* (100 g)	x	x	x
Cebada* (100 g)	x	x	x
Trigo* (100 g)	x	x	x
Maíz blanco* (100 g)	x	-	-
Maíz azul* (100 g)	-	x	-
Plátano en estado inmaduro* (100 g)	-	-	x
Mantequilla (100 g)	x	x	x
Polvo para hornear (9g)	x	x	x
Jarabe fructosado (50mL)	x	x	x
Leche (100 mL)	x	x	x
Vainilla (5 mL)	x	x	x

\* Se adicionaron en forma de harina con tamaño de partícula < 425 µm



**Figura 5.** Estrategia experimental

(425  $\mu\text{m}$ ) y se almacenaron a 25°C en un recipiente de plástico con tapa hermética.

### **5.2.2 Análisis químico proximal**

La composición química nos proporciona información detallada de la concentración de los nutrientes presentes en el alimento. Para conocer la composición química de las galletas se determinó el contenido de humedad, lípidos, proteínas y cenizas de acuerdo con los métodos oficiales de la AACC (2000), así como fibra dietética total (985.29 AOAC) y fracción indigerible total, soluble e insoluble (Saura-Calixto y col., 2000). A las harinas utilizadas únicamente se les determinó el contenido de humedad, cenizas, lípidos y proteínas.

#### **5.2.2.1 Humedad**

La determinación de humedad se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para la determinación de humedad, se utilizaron 2 g de muestra, se colocaron en charolas de aluminio y se dejaron en una estufa convencional (Scorpion Scientific, E.U.A.) a una temperatura de  $130 \pm 1^\circ\text{C}$  por 1 h. Por diferencia de pesos se calculó el porcentaje de humedad por medio de la siguiente ecuación (método 44-16, AACC, 2000).

$$\%Humedad = \frac{\text{Peso muestra (g)} - (\text{Peso final (g)} - \text{Peso charola (g)})}{\text{Peso muestra (g)}} \times 100$$

### 5.2.2.2 Cenizas

Este método se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando mediante calcinación, quedando únicamente la materia inorgánica de la muestra. Se determinó el contenido de cenizas utilizando el método 08-01 de la AACC (2000), el cual consistió en pesar 1 g de muestra en un crisol (puesto a peso constante), posteriormente se carbonizó la muestra sobre la flama de un mechero y se introdujo en la mufla (Thermolyne, E.U.A.) a  $550\pm 1$  °C por 5 horas. Cuando las cenizas estuvieron blancas, se enfriaron en un desecador. Finalmente se pesaron y se calculó el porcentaje de cenizas como:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso del residuo (g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

### 5.2.2.3 Lípidos

El método consiste en una extracción semicontinua de lípidos con un disolvente orgánico, el cual se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente éste es sifoneado al matraz o vaso de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de lípidos se cuantifica por diferencia de peso. Para llevar a cabo esta determinación, se pesaron 3 g de muestra seca en cartucho de celulosa. Se colocaron en el aparato de extracción Soxhlet, se adicionaron 100 mL de éter de petróleo a los vasos del equipo y posteriormente se realizó la extracción por 4 horas. Finalmente, los vasos se secaron en la estufa a  $60\pm 1$  °C por 1 hora y se

pesaron (método 30-25, AACC, 2000). Para determinar el porcentaje de lípidos se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{\text{Peso final del vaso (g)} - \text{Peso inicial del vaso (g)}}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times 100$$

#### **5.2.2.4 Proteínas**

La determinación de proteínas se realizó mediante el método 46-13 de la AACC (2000). Este método se basa en la digestión de las proteínas por acción del ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. Durante la digestión se convierte el nitrógeno orgánico total en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se destila posteriormente. El destilado se recoge en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con ácido clorhídrico (HCl) estandarizado para determinar el contenido de la muestra. Para realizar esta determinación, se pesó 1 g de muestra y se pasó a un tubo Kjendahl, al cual se le agregó 1 g de sulfato de cobre, 10 g de sulfato de potasio anhidro y 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Éste se colocó en el digestor y se calentó gradualmente a 400 °C, hasta que el contenido del tubo presentó un color verde claro. El tubo se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se le adicionaron 50 mL hidróxido de sodio al 40%. Por otro lado, en un matraz Erlenmeyer se añadieron 50 mL de ácido bórico al 4% y 10 gotas de indicador Wesslow. Se realizó la destilación hasta obtener un volumen de 100 mL de la muestra en el matraz preparado anteriormente. La muestra obtenida se tituló con ácido clorhídrico 0.1 N. Se calculó el porcentaje de proteína con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\text{mL gastados del titulador} \times N \times 14}{\text{Peso de la muestra en base seca (g)}} \times F \times 100$$

Donde:

N: Normalidad del ácido de valoración

F: Factor de conversión a proteína, 5.85 para cereales.

14= Peso atómico del nitrógeno

#### **5.2.2.5 Fibra dietética**

El contenido de fibra dietética (FD) en las muestras se determinó de acuerdo al método 985.29 de la AOAC. Este método se fundamenta en aislar la fracción de interés mediante la digestión enzimática con  $\alpha$ -amilasa, amiloglucosidasa y proteasa para hidrolizar el almidón y proteínas. El contenido total de la fibra se determina agregando etanol al 95% a la solución para precipitar la fracción soluble. La solución entonces se filtra, se recupera, se seca y el residuo obtenido se reporta como fibra. Para esto, se pesó  $1 \text{ g} \pm 0.2$  de muestra seca y desgrasada. La muestra se colocó en un vaso de precipitado, se agregaron 50 mL de regulador de fosfatos (pH 6.0) y 0.1 mL de  $\alpha$ -amilasa termoestable, se incubaron durante 15 minutos a  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  con agitación a intervalos de 5 min. Se dejó que las muestras se enfriaran a temperatura ambiente y se ajustó el pH de la solución a  $7.5 \pm 0.2$  adicionando 10 mL de NaOH (0.275 N). Se adicionó 0.1 mL de una solución de proteasa (50mg/mL regulador de fosfatos) y se incubó durante 30

minutos a 60 °C con agitación constante. Las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 4.5 ±0.2 adicionando 10 mL de HCl (0.325 M). Se agregó 0.1 mL de amiloglucosidasa y se incubó por 30 min a 60 °C con agitación constante. Después de la hidrólisis, se adicionaron 4 volúmenes de etanol al 95% para precipitar la fibra dietética soluble, y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante una noche. La solución se pasó por un filtro (40-60 µm) que contenía 0.5 g de celite. El celite, previamente, se distribuyó de manera uniforme dentro del filtro usando etanol al 78% y haciendo succión con una bomba de vacío. La muestra se lavó con 60 mL de etanol al 78%, 40 mL de etanol al 95% y 40 mL de acetona. A los residuos se secaron, y pesaron para posteriormente determinarles el contenido de proteínas y cenizas por los métodos previamente descritos. Para calcular el contenido de fibra dietética se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra dietética} = \frac{\text{Residuo} - \text{Proteína} - \text{Cenizas}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

$$\text{Residuo} = \text{Peso inicial de la muestra} - \text{Peso final de la muestra}$$

#### **5.2.2.6 Fracción indigerible**

Este método, para determinar la fracción indigerible (FI) en alimentos (Saura-Calixto y col., 2000), surgió como una alternativa para el análisis de fibra dietética (FD), debido a que la determinación de esta última subestima algunos

componentes que resisten a la digestión. A diferencia de la FD, la FI se determina emulando las condiciones fisiológicas del organismo humano, la muestra se utiliza como se consume y se consideran todos los componentes indigeribles como almidón y proteína resistente, lignina, minerales, polisacáridos, polifenoles, entre otros (Saura-Calixto, 2006).

Se pesaron 300 mg de muestra en base seca, en tubos de vidrio de 50 mL, puestos previamente a peso constante, se adicionaron 10 mL de regulador HCl-KCl 0.2 M (pH 1.5). Se verificó el pH de 1.5. Se agregaron 0.2 mL de una solución de pepsina (300 mg de pepsina/1 mL de regulador HCl-KCl) y se incubaron en un baño de agua a  $40\pm 0.5$  °C durante 60 min. Se agregaron 9 mL de regulador tris-maleato 0.1 M (pH 6.9) y se verificó que el pH fuera de 6.9. Se adicionó 1 mL de solución de  $\alpha$ -amilasa pancreática (120 mg de  $\alpha$ -amilasa pancreática/1 mL de regulador tris-maleato) y se incubaron en un baño de agua a  $37\pm 0.5$  °C por 16 h con agitación constante. Las muestras se centrifugaron (20 min a 2500 g). Se recogió el sobrenadante en vasos de precipitados. Los residuos se lavaron dos veces con 10 mL de agua destilada y se centrifugaron nuevamente. El residuo de los tubos se secó a  $100\pm 1$  °C durante 16 h para posteriormente obtener el peso del residuo. Por otro lado, los sobrenadantes se transfirieron a tubos de diálisis, con un tamaño de poro de 12000 Da, los cuales fueron hidratados con agua a ebullición durante 20 min. Los tubos se cerraron y se colocaron en un baño con un flujo de agua de 7.2 L/h, durante 48 h a temperatura ambiente. El contenido de los tubos se transfirió a matraces aforados de 100 mL. Se ajustó el volumen de estos para tomar 17 mL de la muestra, en un matraz Erlenmeyer. Posteriormente se

adicionó 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado a cada matraz, para hidrolizar la muestra. Se calentaron en un baño de agua a ebullición por 90 min. Se dejaron enfriar. Se tomó 1 mL de muestra, se vertió en un tubo que contenía 1 mL de DNS. Se adicionó solución saturada de NaOH hasta que cambiara el pH de la solución con la muestra de ácido a alcalino. Los tubos se calentaron a ebullición durante 15 min. Se dejaron enfriar. Posteriormente se agregó a cada tubo 10 mL de agua destilada, se agitaron para homogeneizar la muestra. La fracción indigestible soluble (FIS) se cuantificó como azúcares reductores presentes después de la hidrólisis con ácido sulfúrico, mediante la reducción del DNS, utilizando una curva estándar preparada con maltosa. Las absorbancias fueron leídas a 530 nm. La fracción indigestible insoluble (FII), soluble (FIS) y total (FIT) se calculó con las siguientes fórmulas:

$$FII = \frac{\text{Peso del residuo (g)}}{\text{Peso de la muestra seca (g)}} \times 100$$

$$FIS = \frac{\text{Maltosa} \left( \frac{mg}{L} \right) \times 10.58}{\text{Peso de la muestra seca (g)}}$$

$$FIT = FII + FIS$$

Donde:

FFI: Fracción indigerible insoluble

FIS: Fracción indigerible soluble

FIT: Fracción indigerible total

### 5.2.3 Fermentación in vitro de la fracción indigestible

Una vez que se cuantificó y extrajo la FIT total de las muestras, se procedió a realizar el estudio de fermentación in vitro en base al protocolo adaptado de Olano-Martín y col. (2000) y de Ferguson y Jones y col. (2000).

La fermentación *in vitro* se realizó por triplicado en baño maría a 37 °C, empleando rafinosa como control. Primero, se preparó el medio de cultivo que consistió de (g/L): agua peptonada (2.0), extracto de levadura (2.0), NaCl (0.1), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0.04), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0.04), MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (0.01), CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (0.01), NaCHO<sub>3</sub> (2.0), cisteína HCl (0.5), sales biliares (0.5), tween 80 y hematina (0.2) (diluida en 5 mL de NaOH). Al medio de cultivo se le ajustó el pH (7.0) con HCl 1 M, se esterilizó por filtración y posteriormente se adicionó 9 mL a tubo falcon de 15 mL. Se utilizó un inóculo fecal preparado a partir de las heces de dos personas que no habían presentado antecedentes de ingesta de antibióticos en los últimos tres meses, así como también ausencia de enfermedades gastrointestinales. Las heces se colectaron en bolsas de plástico, previamente sometidas a un flujo con dióxido de carbono y se trasladaron inmediatamente al laboratorio para su procedimiento. Ya en el laboratorio, las heces fueron mezcladas con una solución amortiguadora de fosfato 0.1 M a pH 7.0. En seguida se tomó 1 mL del inóculo ya preparado y se adicionó a cada tubo con 100 mg de muestra (sustrato), en este caso, se utilizó la fracción indigestible total de las galletas como sustrato. Finalmente, se procedió a colocar los tubos en baño maría a 37 °C bajo una atmósfera anaerobia. El proceso se detuvo a las 6, 12 y 24 h para la medición del pH. Una vez concluido el tiempo de fermentación, las muestras fueron

centrifugadas a 3000 *g* por 10 min recolectando los sobrenadantes (para determinar el perfil de ácidos grasos de cadena corta), y después, estos fueron etiquetados y congelados a – 18 °C hasta su posterior uso.

#### **5.2.3.1 Cuantificación de ácidos grasos de cadena corta**

La cuantificación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) se desarrolló por cromatografía de gases, para lo cual, se utilizó 1.5 µL de la muestra (sobrenadante de la fermentación). Se empleó un cromatógrafo de gases equipado con una columna (CARBOWAX 20 M, capillary 25.0 m x 320 µm x 0.30 µm nominal), y acoplado con un detector de flama. Como fase móvil se utilizó helio a un flujo de 1.0 mL/min. La temperatura de inicio fue de 95 °C mantenida por 2 min, y después, se elevó a 180 °C a 20 °C/min. Como estándares externos se emplearon ácido acético, propiónico y butírico de grado HPLC. Los AGCC que se formaron en el proceso de fermentación *in vitro*, fueron cuantificados interpolándolos en una curva estándar. Se estimó la relación molar de los AGCC de acuerdo a las proporciones producidas durante la fermentación.

#### **5.2.4 Estudios de actividad antioxidante**

Para la determinación de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante se utilizó un extracto metanólico, el cual se obtuvo de la siguiente manera: A 1 g de muestra se le agregó 10 ml de metanol, se dejó en agitación constante durante 24 h en un matraz de 50 mL protegiendo de la luz, después se centrifugó a 5000 *g* durante 10 min a temperatura ambiente, el sobrenadante se

colocó en un frasco ámbar. El extracto se utilizó el mismo día de su obtención (Cardador-Martínez y col., 2002).

#### **5.2.4.1 Determinación de compuestos fenólicos totales**

Una vez obtenidos los extractos metanólicos, se procedió a determinar los compuestos fenólicos totales mediante el método Folin-Ciocalteu. La absorbancia producida por la coloración azul se midió a 760 nm. Se realizó una curva estándar con ácido gálico, los resultados son expresados en mg equivalentes de ácido gálico/100g de muestra (mgEAG/100g).

#### **5.2.4.2 Determinación de flavonoides**

Para la determinación de flavonoides se utilizaron 100  $\mu\text{L}$  del extracto metanólico, al cual se le adicionaron 1250  $\mu\text{L}$  de agua destilada, se agregaron 75  $\mu\text{L}$  de nitrito de sodio (5%) ( $\text{NaNO}_2$ ) y se dejó reposar por 6 minutos. Posteriormente se adicionaron 150  $\mu\text{L}$  de cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ), se dejó reposar por 5 minutos y se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ , 1M). Para finalizar se agregaron 425  $\mu\text{L}$  de agua para alcanzar un volumen final de 2,500  $\mu\text{L}$ . Se leyó la absorbancia a 510 nm. Se realizó una curva estándar con catequina, por lo que los resultados son expresados en mg equivalentes de catequina/100 g de muestra (mgEC/100g).

### 5.2.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante por ABTS

En este análisis se cuantifica la capacidad de un compuesto antioxidante para captar el radical libre ABTS•+ (Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). Este radical catión pre-formado por oxidación de ABTS con persulfato potásico, es reducido por la presencia de antioxidantes. Para ello se mide la decoloración producida en la mezcla por el antioxidante y se valora frente a un control sin antioxidante. El radical produce una coloración verde-azul a través de la reacción que ocurre entre el ABTS (7 mM) y el persulfato de amonio (2.45 mM). La solución se preparó y se almacenó en completa oscuridad con un tiempo de 12 horas antes de su uso. Cabe mencionar que la solución debe usarse entre las 12-16 h después de su preparación (Arts y col., 2003).

La solución de ABTS con persulfato de amonio fue diluida con metanol hasta obtener una absorbancia final de  $0.7 \pm 0.02$  a una longitud de onda de 734 nm. Para la determinación de la capacidad antioxidante se mezcló la solución de la muestra con la del ABTS (10  $\mu$ L de muestra en 990  $\mu$ L de ABTS) y, esta solución se leyó a los 6 min a la misma longitud de onda.

Para obtener los equivalentes de trolox ( $\mu$ M eq de trolox/g de muestra), se realizó una curva estándar de trolox preparada con etanol, para la cual se adicionaron 10  $\mu$ L de trolox a diferentes concentraciones (0-800  $\mu$ M) en 990  $\mu$ L de ABTS y su absorbancia se midió a los 6 min a 734 nm. El blanco se preparó con 10  $\mu$ L de etanol en 990  $\mu$ L de ABTS. La concentración de equivalentes de trolox se calculó mediante la relación lineal de la disminución de la absorbancia en una relación molar.

### **5.2.5 Análisis sensorial**

Se utilizó un método afectivo, la prueba de preferencia, la cual consistió en evaluar como su nombre lo indica, la preferencia que tiene un grupo de consumidores hacia las muestras, de acuerdo a una escala hedónica de nueve puntos (Cuadro 2). El grupo de consumidores fue de 100 personas (63 mujeres, 37 hombres) con un intervalo de edad entre 17 y 57 años. Las muestras (1 g) se colocaron en recipientes de plástico con tapa hermética y se les asignó un número aleatorio por grupo. Además de las tres muestras, se utilizó una galleta comercial (Barra Multigrano Linaza, Bimbo México). Los participantes de la prueba se acercaron al azar al lugar de la evaluación, se les tomó sus datos demográficos y se les explicó el procedimiento de la evaluación. Las muestras fueron degustadas de manera ordenada, de izquierda a derecha, después de la degustación de cada muestra, el consumidor indicó de acuerdo a la escala hedónica su nivel de preferencia. El orden de presentación de las muestras fue diferente en cada evaluación (Angulo y O'Mahoney, 2009).

### **5.2.6 Digestibilidad de carbohidratos *in vitro***

Se determinó el contenido de almidón total (AT), la fracción de almidón de digestión rápida (ADR), de digestión lenta (ADL) y resistente (AR), de acuerdo a la metodología propuesta por Englyst y col. (1992). La estimación de AR también se llevó a cabo por otro método, el cual fue propuesto por Goñi y col. (1996). Además, se estimó la tasa de digestión del almidón presente en las muestras a

**Cuadro 2.** Escala hedónica de nueve puntos

<b>Escala hedónica</b>	<b>Puntos</b>
Gusta muchísimo	1
Gusta mucho	2
Gusta moderadamente	3
Gusta poco	4
Ni gusta ni disgusta	5
Disgusta poco	6
Disgusta moderadamente	7
Disgusta mucho	8
Disgusta muchísimo	9

través del índice de hidrólisis y la predicción del índice glucémico (Grandfelt y col., 1992).

#### **5.2.6.1. Determinación de glucosa libre y almidón total**

Se pesaron 800 mg de muestra, a la cual se le adicionaron 25 mL de regulador de acetato (0.1 M) y 0.2 mL de invertasa, se incubó a 37 °C por 30 min. Se tomó una alícuota de 1 mL para la determinación de glucosa libre. Posteriormente, se adicionó 0.1 mL de  $\alpha$ -amilasa termoestable y se incubó en un baño maría en ebullición por 15 minutos con agitación cada 5 minutos. Se adicionaron 10 mL de hidróxido de potasio (KOH) y se colocó en un baño a 0°C por 30 minutos. Después, se tomó una alícuota de 1 mL, se transfirió a un tubo de centrifuga, previamente al tubo se le había adicionado 10 mL de ácido acético (0.5 M), se adicionó 0.2 mL de amilogucosidasa y se incubó a 70 °C por 30 min. Finalmente se adicionaron 40 mL de agua y se centrifugó a 1500 g por 10 min para remover el precipitado. Se cuantificó el contenido de glucosa por medio del reactivo glucosa oxidasa-peroxidasa (GOP-POD). Se realizó un análisis de regresión lineal para calcular la concentración de las muestras. Empleando ésta, se calculó la concentración de glucosa y a su vez, el contenido de almidón total (Englyst y col., 1992).

### **5.2.6.2 Determinación de las fracciones de almidón de digestión rápida, lenta y almidón resistente**

Se pesaron 800 mg de muestra y 50 mg de goma guar en matraces erlenmeyer de 125 mL. Se adicionaron 10 mL de una solución de pepsina (50 mg enzima/10mL de HCl 0.05M) y 5 perlas de ebullición, se homogenizó el contenido con el vórtex. Para la incubación, los matraces se colocaron en un baño de agua con agitación orbital (200 *strokes*/min) a 37 °C durante 30 min. Después se adicionaron 5 mL de acetato de sodio (0.5 M) y se homogenizó el contenido. Los matraces se colocaron en baño de agua a 37 °C, se adicionó 5 mL de una mezcla de enzimas (pancreatina, invertasa y amiloglucosidasa) a intervalos de 1 minuto entre cada tubo. El baño de agua con agitación orbital se ajustó a una velocidad de agitación 200 *strokes* /min. Después de 20 min, se tomó una alícuota de 0.5 mL de la muestra (G<sub>20</sub>), se colocó en un tubo de centrifuga de 50 mL, el cual contenía 20 ml de etanol al 66% y se homogenizó con la ayuda del vortex. Después de 120 minutos, se tomó la segunda alícuota (G<sub>120</sub>) de 0.5 mL. De igual manera, la alícuota se transfirió a un tubo de centrifuga con 20 mL de etanol al 66%. Los tubos con las muestras (G<sub>20</sub> y G<sub>120</sub>) se centrifugaron a 1500 *g* por 5 min y se cuantificó el contenido de glucosa con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD-POD). Se realizó un análisis de regresión lineal para calcular la concentración de las muestras (Englyst y col., 1992). Empleando ésta, se calculó la concentración de glucosa y por tanto de las fracciones del almidón de digestión rápida y lenta. El contenido de almidón resistente se determinó por diferencia.

Para el cálculo de las fracciones del almidón se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$ADR = G20 * 0.9$$

$$ADL = (G120 - G20) * 0.9$$

$$AR = AT - (ADR + ADL)$$

Donde:

ADR: Almidón de digestión rápida

ADL: Almidón de digestión lenta

AR: Almidón resistente

G20: Concentración de glucosa determinada a los 20 minutos

G12: Concentración de glucosa a los 120 minutos

0.9: Factor de conversión de glucosa a glucano

### **5.2.6.3 Determinación de almidón resistente**

Este método permitió determinar el contenido de almidón indigestible en muestras tal y como se ingieren. Para ello, se analizaron las muestras como son consumidas. Se realizó una hidrólisis proteica con pepsina a pH ácido para simular las condiciones estomacales. Posteriormente, se hidrolizó el almidón digerible con  $\alpha$ -amilasa pancreática durante 16 h con un pH cercano a la neutralidad. Una vez eliminados los productos de la hidrólisis por centrifugación, en el residuo permanece la fracción de almidón indigestible. Esta fue dispersada en medio

alcalino e hidrolizada en su totalidad con amiloglucosidasa, la glucosa liberada se determina mediante un método enzimático-colorimétrico.

Se pesaron 100 mg de muestra en base seca en tubos de centrifuga de 50 ml, se adicionaron 10 ml de regulador KCl-HCl 0.2 M (pH 1.5) y se verificó que el pH estuviera a 1.5. Se añadieron 0.2 ml de solución de pepsina, la cual se preparó solubilizando 1 g de pepsina en 10 ml de regulador KCl-HCl 0.2 M. Las muestras con enzima, se mezclaron e incubaron en un baño a  $40\pm 0.5$  °C con agitación continua durante 60 min. Posteriormente se dejaron enfriar. A continuación se añadieron 9 mL de regulador Tris-Maleato 0.1 M (pH 6.9). Se ajustó el pH a 6.9. Se añadió 1 mL de solución de  $\alpha$ -amilasa pancreática, (40 mg de  $\alpha$ -amilasa en 1 ml de regulador Tris-Maleato 0.1 M). Se mezclaron e incubaron por 16 h en un baño con agitación constante a  $37\pm 0.5$  °C. Las muestras se centrifugaron (15 min, 3000 g) y se eliminó el sobrenadante. Se realizaron dos lavados con 10 ml de agua destilada y se repitió la centrifugación. Se agregaron 3 ml de agua destilada sobre los residuos y se agitaron. Se añadieron 3 ml de KOH 4 M, se mezclaron y agitaron vigorosamente a temperatura ambiente durante 30 min. Se adicionaron 5.5 ml de HCl 2M y 3 mL de regulador acetato sódico 0.4 M ( $\text{CaCl}_2$  20 mM, pH 4.75). Se ajustó el pH a 4.75. Se añadieron 80  $\mu$ l de suspensión de amiloglucosidasa. Se mezclaron e incubaron a  $60\pm 0.5$  °C durante 45 min en un baño con agitación continua. Se centrifugaron (15 min, 3000 g) y se recogió el sobrenadante en matraces aforados de 50 mL. El residuo se lavó dos veces con 10 mL de agua destilada y se repitió la centrifugación. El contenido del matraz se llevó a 50 mL con agua destilada. El contenido de glucosa liberada se midió con el

reactivo glucosa oxidasa/peroxidasa (GOD-POP) a 510 nm. Se realizó un análisis de regresión lineal para calcular la concentración de la curva patrón (Goñi y col., 1996).

#### **5.2.6.4 Tasa de digestión del almidón in vitro. Determinación del índice de hidrólisis y predicción del índice glucémico.**

Con esta técnica se puede calcular la tasa de digestión del almidón presente en muestras de productos alimenticios, tal y como se consumen normalmente. Para lo cual, se pesó el alimento recién preparado, equivalente a  $1\text{g} \pm 0.5$  de almidón potencialmente disponible. El contenido de almidón disponible de las muestras se obtuvo sumando el valor de las fracciones de almidón de digestión rápida y lenta. Los voluntarios (seis) masticaron la muestra 15 veces, durante 15 segundos aproximadamente, después descargaron el material en un vaso de precipitados que contenía 50 mg de pepsina disueltos en 6 mL de regulador de fosfato. Cada persona se enjuagó la boca con 5 mL de regulador de fosfato (0.05M, pH, 6.9), se recogió el líquido en el mismo vaso, se ajustó el pH a 1.5 con HCl y se incubó por 30 minutos a 37 °C con agitación constante. Posteriormente, se ajustó el pH a 6.9 con NaOH y se transfirió a un tubo de diálisis (tamaño de poro 12000 Da) previamente hidratado con regulador de fosfato. A cada tubo se le adicionó 1 mL de una solución de  $\alpha$ -amilasa, se ajustó el volumen con 30 mL de regulador fosfato y se cerró el tubo de diálisis. Se incubó a 37°C con agitación por 3 h, dentro de un matraz con 800 mL de regulador. Durante este tiempo, se tomó

una alícuota de 2 mL del medio de diálisis, cada 30 minutos. Se cuantificó el contenido de azúcares reductores con 3-5 dinitrosalísilico (DNS). La cuantificación, en función del tiempo, de los productos de digestión en el medio de diálisis, permite representar la correspondiente gráfica de hidrólisis, cuya magnitud se calcula sobre la base del área bajo la curva. El índice de hidrólisis (IH) se calculó por medio de la relación porcentual entre el área bajo la curva obtenida del alimento a prueba (galletas) y la registrada para el alimento de referencia (pan de trigo). A través del IH se realizó la predicción del IG ( $pGI=0.86 \times IH + 8.198$ ).

### **5.2.7 Evaluación del efecto antihyperglucémico y hipoglucemiante de las galletas en ratas.**

El efecto antihyperglucémico se da cuando un agente evita que el nivel de glucosa en sangre incremente, mientras que el hipoglucémico es aquel en donde se logra disminuir el nivel de glucosa en sangre. Los medicamentos que controlan la concentración de glucosa en sangre en el tratamiento de diabetes son agentes hipoglucemicos.

#### **5.2.7.1 Material biológico**

Se utilizaron ratas Wistar macho, de 200 a 250 g de peso, las cuales fueron obtenidas de la compañía Harlan, México. Dichos animales se colocaron en grupos de 5 ratas por jaula y se mantuvieron bajo condiciones ambientales de humedad, ciclos de luz-oscuridad (12h) controlados y con alimentación *ad libitum*.

Los animales se trataron bajo las normas establecidas por el Comité de Ética de la Universidad Autónoma de Querétaro.

#### **5.2.7.2 Dieta estándar**

La dieta estándar de las ratas consistió en alimento autoclaveable para roedor NIH-31: 18-4 (18% proteína- 4% grasa) de la marca Zeigler (Zeigler Bros., Inc., USA). El alimento está elaborado a base de trigo, maíz, harinilla de trigo, harina de pescado, harina de soya, harina de alfalfa, gluten de maíz, aceite de soya, fosfato di cálcico, levadura de cerveza deshidratada, carbonato de calcio, sal, suplemento de vitamina D3, bisulfito sódico de menadiona (fuente de vitamina K, activa), mononitrato de tiamina, niacina, acetato de vitamina A, suplemento de vitamina B12, suplemento de vitamina E, pantotenato de calcio, suplemento de riboflavina, hidrocloreuro de piridoxina, biotina, ácido fólico, óxido de magnesio, sulfato ferroso, óxido de zinc, yodato de calcio, carbonato de cobalto, hidrocloreuro de colina.

#### **5.2.7.3 Efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas en ayuno**

Se evaluó el efecto antihiper glucémico de diferentes dosis de galletas en ratas sanas. Para esto, se utilizó únicamente la galleta adicionada con plátano en estado inmaduro debido a que fue la muestra que presentó la velocidad de hidrólisis más baja en el experimento *in vitro*. En este experimento se utilizaron 16 ratas, con las que se formaron cuatro grupos de cuatro animales cada uno. A tres grupos se les administró una dosis y un grupo se considero como control. Las

ratas tenían 12 horas de ayuno. Se utilizaron tres dosis, las cuales fueron equivalentes a 2, 4 y 6 galletas de 15 gramos cada una. Se considero que las dosis son consumidas por una persona con un peso promedio de 70 kg, esto con el objetivo de determinar la cantidad que se iba a administrar a cada rata en función a su peso. De acuerdo a esto las dosis quedaron de la siguiente manera, 0.42, 0.85 y 1.28 g de galleta/ kg de peso de la rata (2, 4 y 6 galletas, respectivamente). Al grupo control se le administró únicamente agua (3 mL). De acuerdo a la dosis se realizó el cálculo de muestra a utilizar para cada rata, la muestra se pesó y colocó en un tubo falcon de 15 mL, a cada tubo se le adicionaron 3 mL de agua para realizar una suspensión y así realizar su administración. Las galletas se administraron por vía intragástrica, para realizar este procedimiento se utilizó una cánula intragástrica que se acopló a una jeringa de 5 mL. Con ayuda de la jeringa, se tomó la suspensión del tubo falcón, previamente agitada con el cuidado de tomar toda la muestra. Se sujetó a la rata en dirección vertical, se metió la cánula por la laringe, al haber ingresado  $\frac{3}{4}$  partes se procedió a la administración de la solución para finalmente retirar la cánula y liberar a la rata. Una vez administrada la dosis se registró la hora para tomar el tiempo de la toma de sangre. La muestra de sangre se obtuvo de la vena caudal de las ratas. La concentración de glucosa en sangre se midió con un glucómetro (Accu-Chek Performa®, Roche) a los tiempos de 0, 60, 120, 180 minutos.

La dosis que presentó el mejor resultado se utilizó en el experimento con ratas diabéticas para evaluar su efecto hipoglucemico. Una vez establecida la

mejor dosis (0.85g/kg), se realizó el experimento con las galletas adicionadas con maíz blanco y azul; el procedimiento utilizado fue el descrito previamente.

#### **5.2.7.4 Efecto antihiper glucémico de galletas evaluadas en ratas sanas después de la ingestión de alimento estándar**

Se evaluó el efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas después de la ingestión del alimento estándar, para simular la manera en que este tipo de alimento se consume normalmente (entre comidas). Para lo cual, se utilizaron cuatro grupos de animales (4 animales por grupo), los cuales habían permanecido con alimentación *ad libitum* hasta una hora antes de la prueba. A cada grupo se le administró una muestra (galleta) a una misma dosis (0.85 g/kg). La administración de la dosis se realizó como se describió previamente. Se midió la concentración de glucosa en sangre a intervalos de 60 minutos durante 3 horas.

#### **5.2.7.5 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas**

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa en cuatro grupos de ratas sanas (4 ratas por grupo). Los animales se dejaron en ayuno 12 horas previas al experimento. Un grupo fue considerado como control, mientras que a los tres grupos se les dio un tipo de galleta (G-1, G-2 o G-3) y una carga de glucosa (3g/kg de peso) para simular la ingesta de un alimento. Al grupo control se le administró únicamente la carga de glucosa. Dicha administración fue por vía intragástrica, como se describió previamente. Después de suministrar la dosis de galletas, se

extrajo sangre de la vena caudal del animal para determinar la concentración de glucosa a los 0, 30, 60, 90 y 120 minutos (Singh y col., 2008).

#### **5.2.7.6. Efecto de los carbohidratos disponibles de las galletas en la respuesta glucémica de ratas sanas**

Para esta evaluación se utilizaron cuatro grupos de ratas (4 animales por grupo); los animales estuvieron en ayuno 12 horas previas a la evaluación. A los animales se les administró vía intragástrica una dosis de 3g/kg de carbohidratos disponibles de las galletas a evaluar. El grupo control recibió la misma dosis pero de glucosa. Los niveles de glucosa en sangre se evaluaron a los 0, 15, 30, 45, 90, y 120 minutos después de la administración de la dosis. La sangre fue obtenida de la vena caudal del animal y la determinación se realizó con un glucómetro (Accu-Chek Performa®, Roche) (Severijnen y col., 2007).

#### **5.2.7.7 Evaluación del efecto hipoglucémico de las galletas en ratas diabéticas**

Se realizó la inducción de la diabetes mediante la administración de estreptozotocina (45mg/kg) por vía intraperitoneal en ratas Wistar macho de 250 a 300 g de peso (Singh y col., 2008). La solución de estreptozotocina se preparó antes de su administración, disolviendo la cantidad respectiva en un regulador de citrato de sodio 0,1 M pH 4,5. Se cuantificó la glucosa en sangre cuatro días

después de la inyección. Si los niveles en ayuno eran mayores a 180 mg/dl los animales se consideraron dentro del grupo experimental.

Se realizó una prueba preliminar del efecto hipoglucémico de la dosis establecida (0.85g/kg) de las tres galletas en ratas diabéticas, para lo cual se siguió el procedimiento descrito en la evaluación del efecto hiperglucémico en ratas sanas.

Se hicieron tres grupos de ratas diabéticas (siete animales por grupo), uno para la evaluación de cada galleta. En este experimento no se utilizaron las ratas diabéticas de la prueba preliminar. A cada grupo se les dio la dosis establecida de galleta correspondiente, dos veces al día, con horario establecido (10 am y 5 pm) por 21 días, para simular la manera que se consume el alimento (entre comidas). Las ratas tuvieron alimento estándar y agua *ad libitum*. Además de estos grupos se utilizó un grupo de ratas diabéticas y otro de ratas sanas como control positivo y negativo, respectivamente. A los grupos control se les dio únicamente, alimento y agua *ad libitum*. Los niveles de glucosa fueron evaluados cada 7 días, por la mañana (8:00 am) previas 12 horas de ayuno. Adicionalmente, se realizó un seguimiento al peso, cantidad de alimento y agua consumida por los diferentes grupos con el propósito de establecer una tendencia en el comportamiento de los animales.

Una vez transcurrido el periodo de tratamiento, se dejaron a los animales en ayuno (12 horas) y se anestesiaron en una cámara saturada con éter etílico. Se realizó una disección para realizar una punción cardiaca y obtener una muestra de sangre. Se cuantificó glucosa, insulina, colesterol, HDL, LDL y triglicéridos con un

mediante la prueba de Elisa con ayuda del kit comercial de Randox Life Science® (Reino Unido).

### **5.2.8 Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los resultados obtenidos, se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una vía con un nivel de significancia  $\alpha=0.05$ , utilizando el paquete estadístico SigmaStat (Jandel Scientific, versión 2.03). Cuando los datos no presentaron una distribución normal y/o homogeneidad de varianza, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las muestras se utilizó una prueba de comparación múltiple de Tukey.

## **VI. Resultados y discusión**

### **6.1 Composición química proximal de las harinas y galletas**

La composición química de las harinas de cereales integrales y plátano en estado inmaduro se presenta en el Cuadro 3. Las harinas de plátano, maíz azul y blanco presentaron el contenido más bajo de humedad ( $\approx 8$  g/100 g), sin que se presentaran diferencias entre ellas, mientras que la harina de avena fue la que presentó el valor más alto (12.40 g/100g). Las harinas de cebada y trigo tuvieron valores de humedad de 10.86 y 9.54 g/100g, respectivamente. Las diferencias encontradas pueden estar relacionadas al proceso de obtención de las harinas, las cuales fueron a partir de la molienda de los granos secos, como en el maíz y la cebada, o de hojuelas, como la avena. En el caso del plátano su obtención involucró un proceso de cortado y secado para su molienda posterior. La norma oficial mexicana (NOM-147-SSA1-1996) indica que el contenido de humedad para las harinas que se utilizan en productos de panificación debe de ser menor al 15%, por lo que las harinas utilizadas en este trabajo cumplen con esta especificación.

En cuanto al contenido de cenizas, las harinas de cereales no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $\approx 1\%$ ). La determinación de cenizas es referida como el análisis de residuos inorgánicos (minerales) que quedan después de la ignición u oxidación completa de la materia orgánica de un alimento. En general, los cereales tienen cantidades considerables de hierro (1.8-4.7 mg), magnesio (121-177 mg) y zinc (1.93-5.95 mg), así como niveles bajos de elementos traza, como el selenio (Slavin, 1999). En los cereales, los minerales se encuentran principalmente en el pericarpio, germen y capa de

**Cuadro 3.** Composición química de harinas de cereales integrales y plátano en estado inmaduro (g/100g)

Harinas	Humedad	Cenizas	Lípidos	Proteínas*	Carbohidratos
<b>Trigo</b>	9.54 ±0.27 <sup>b</sup>	1.72±0.01 <sup>a</sup>	2.35±0.04 <sup>b</sup>	14.08±0.31 <sup>e</sup>	72.31±1.51 <sup>b</sup>
<b>Avena</b>	12.48±0.29 <sup>d</sup>	1.50±0.04 <sup>a</sup>	3.30±0.21 <sup>c</sup>	12.77±0.50 <sup>d</sup>	69.97±0.97 <sup>a</sup>
<b>Cebada</b>	10.86±0.08 <sup>c</sup>	1.62±0.05 <sup>a</sup>	7.05±0.19 <sup>e</sup>	11.49±0.27 <sup>c</sup>	68.98±0.53 <sup>a</sup>
<b>Maíz azul</b>	7.23±0.49 <sup>a</sup>	1.12±0.01 <sup>a</sup>	8.67±0.58 <sup>f</sup>	10.95±0.06 <sup>c</sup>	72.03±0.22 <sup>b</sup>
<b>Maíz blanco</b>	8.01±0.32 <sup>a</sup>	1.23±0.03 <sup>a</sup>	5.47±0.42 <sup>d</sup>	8.32±0.56 <sup>b</sup>	76.97±49 <sup>c</sup>
<b>Plátano inmaduro</b>	8.81±1.06 <sup>a,b</sup>	2.28±0.10 <sup>b</sup>	1.08±0.09 <sup>a</sup>	3.27±0.07 <sup>a</sup>	84.56±1.09 <sup>d</sup>

\*N x 6.25. Los carbohidratos se determinaron por diferencia

Los valores representan la media de tres repeticiones, en base seca

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas (p < 0.05).

aleurona. (McKevith, 2007), y en el endospermo la fracción es muy pequeña (0.31%) (Paredes-López y col., 2006). En general, se ha reportado que el contenido de minerales en cereales es de 2g/100g (Slavin, 1999; Mendez-Montealvo y col., 2005; Agama-Acevedo y col., 2005). En el grano de trigo se encontró un contenido de minerales de 1.8 g/100g (Slavin, 1999). Otros autores reportan un contenido de cenizas en harina de trigo entre 0.35 y 2.3 g/100g (Kent y Evers, 1994). Mendez-Montealvo y col. (2005) encontró valores de cenizas entre 1.1 y 1.7 g/100g en 20 variedades de maíz, mientras que para maíz azul el valor encontrado es de 1.1% (Agama-Acevedo y col., 2005).

El contenido de cenizas en la harina de plátano fue mayor en comparación con los cereales (2.28g/100g). En general, los frutos son una fuente importante de minerales como potasio, magnesio, hierro y calcio. En el plátano, el mineral más abundante es el potasio, sus valores oscilan entre 4.1 y 5.5 mg por 100 gramos de de peso seco (Goswami y Borthakur, 1996). da Mota y col. (2000) reportaron un contenido de cenizas en ocho variedades de plátano entre 2.6 y 3.5 g/100g. Rodríguez-Ambriz y col. (2008) reportaron un contenido más alto de cenizas para harina de plátano, el cual fue de 4.4 g/100g. Estas diferencias pueden estar en función de la variedad de plátano usado y al estado de madurez del fruto.

En las harinas de cereales, el contenido de lípidos oscilaron entre 2.33 y 8.67 g/100 g, presentando el valor más alto maíz azul y el menor la harina de trigo, respectivamente. Estos valores son mayores en comparación al contenido de lípidos presentada en la harina de plátano en estado inmaduro (1.08 g/100 g), lo cual, se puede atribuir a que en los frutos suele ser bajo (entre 0.1- 0.6 g/100g)

(Cámara y col., 2003), mientras que en los cereales está entre 1 y 10 g/100g. En el caso de plátano se han reportado valores entre 0.2 y 0.82 g/100g (DaMota y col., 2000; Pacheco-Delahaye y col., 2008; Aurore y col., 2009). Entre los cereales, el contenido de lípidos también varía, en cebada y arroz se han reportado valores entre 1 y 3 g/100g, mientras que para centeno, trigo, maíz y cebada este oscila entre 5 y 10 g/100g (McKevith, 2007). Para diferentes variedades de maíz, se reportaron valores de lípidos entre 4.1 y 6.7 g/100g (Mendez-Montealvo y col., 2005).

La proteína presente en los cereales estuvo en un intervalo entre 8.32 y 14.02 g/100g. Los cereales contienen entre el 6 y 15 g/100g de proteína (Goldber, 2003), en el endospermo se encuentra el 90% del total de proteínas del grano de maíz que corresponden principalmente a proteínas de almacenamiento (Paredes-López y col., 2006). La cantidad de proteínas depende del tipo de cereal. Por ejemplo, en el caso de maíz se reportó que el tipo de grano (dentado o cristalino) influye en el contenido de proteínas, ya que se encontró que un grano dentado presenta un contenido mayor de proteína que maíces cristalinos (Méndez-Montealvo y col., 2005). Se ha encontrado que el contenido de proteína del maíz azul es mayor en comparación a otras variedades de maíces dentados (Dickerson y col., 1990). En el caso de los frutos, el contenido de proteínas es bajo (<1%) (Mataiz y col., 1998), por lo que en la harina de plátano este valor menor a la de los cereales (3.2 g/100g). Diversos autores reportaron un contenido de proteína para plátano entre 2.5 y 3.4 g/100g (Da Mota y col., 2000; Juárez-García y col., 2007; Rodríguez- Ambriz y col., 2008).

El valor de carbohidratos de las harinas de cereales estuvo entre 68.90 y 76.97 g/100g, mientras que la harina de plátano en estado inmaduro fue mayor (84.56 g/100g). En el caso de los cereales, en el endospermo es la mayor fuente de carbohidratos del grano, ya que en esta estructura es donde se almacena el almidón. De manera general, los cereales contienen entre 65 y 75 g/100g de carbohidratos (Paredes-López y col., 2006), mientras que en el plátano en estado inmaduro se ha reportado un contenido de almidón total de 73.36 g/100g (Juárez-García y col., 2007), aunque estos valores pueden variar dependiendo del estado de madurez del plátano así como de la variedad utilizada.

La composición química proximal de las galletas elaboradas se presenta en el Cuadro 4. Las tres galletas presentaron un contenido de humedad bajo ( $\approx$  1g/100g) sin tener diferencia significativa entre ellas. En general, las galletas son productos de poca humedad, la Norma Oficial Mexicana (NMX-F-006-1983) establece que el contenido de humedad debe ser entre 6 y 8 g/100g, como máximo, y esto estará en función del tipo de galleta. El agua se pierde durante el horneado, por lo que el tiempo y la temperatura utilizada influyen en la humedad final del producto.

En diversos estudios con galletas se pueden observar que el contenido de humedad es variable. Por ejemplo, Han y col. (2010) reportaron un contenido de humedad de 0.86% para galletas tipo “*craker*” elaboradas con harina de chícharo. En galletas elaboradas con diferentes sustituciones de orujo de uva, el contenido de humedad estuvo entre 4.85 y 7.70 g/100g (Canett-Romero y col., 2004). García (2003) reportó valores de humedad de 3.31 y 2.23 g/100g en galletas elaboradas

**Cuadro 4.** Composición química de galletas elaboradas con harinas integrales  
(g/100g)

<b>Componente</b>	<b>G-1</b>	<b>G-2</b>	<b>G-3</b>
Humedad	1.28 ±0.08 <sup>a</sup>	1.18±0.08 <sup>a</sup>	0.92±0.3 <sup>a</sup>
Cenizas	2.17±0.05 <sup>a</sup>	2.22±0.11 <sup>a</sup>	2.05±0.05 <sup>a</sup>
Lípidos	17.0±0.22 <sup>a</sup>	21.49±0.26 <sup>b</sup>	15.78±0.06 <sup>c</sup>
Proteínas*	9.29±0.13 <sup>a</sup>	11.11±0.15 <sup>b</sup>	7.30±0.07 <sup>c</sup>
Fibra dietética	11.64±0.09 <sup>a</sup>	10.18±0.03 <sup>b</sup>	6.95±0.29 <sup>c</sup>
Fracción indigerible total	40.1±0.55 <sup>a</sup>	38.17±0.39 <sup>b</sup>	36.92±0.84 <sup>c</sup>
Fracción indigerible soluble	14.64±0.54 <sup>a</sup>	17.25±0.61 <sup>b</sup>	17.17±0.71 <sup>b</sup>
Fracción indigerible insoluble	25.46±0.65 <sup>a</sup>	20.92±0.15 <sup>b</sup>	19.75±1.05 <sup>b</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1. G-1=Maíz blanco; G-2=Maíz Azul, G-3=Plátano.

\*N x 6.25.

Los valores representan la media de tres repeticiones, en base seca

Letras iguales en la misma fila indican que no existen diferencias significativas (p < 0.05).

con cáscara de mango y salvado de trigo, respectivamente. Athayde y col. (2009) encontraron un contenido de humedad de 4.9 y 4.1 g/100g en galletas adicionadas con marañón y guayaba, respectivamente. Un valor más alto se encontró en galletas elaboradas con trigo y fibra de mango (12 g/100g) (Vergara-Valencia y col., 2007). El contenido de humedad en galletas adicionadas con almidón resistente de plátano obtenido a través de linterización y tratamientos térmicos, fue de 5.7 g/100g (Aparicio-Saguilán, y col., 2007). Bello-Pérez y col. (2004) elaboraron galletas con almidón de maíz y plátano, las cuales presentaron un contenido de humedad entre 4 y 5 g/100g. La variación en el contenido de humedad se puede deber a varios factores, como los ingredientes utilizados, los cuales pueden absorber más agua. Por ejemplo, el gluten, presente en la harina de trigo, tiene una gran capacidad de absorción de agua que al hidratarse adquiere sus propiedades de elasticidad y extensibilidad. Además, si la harina tiene gránulos de almidón dañados, tienden a absorber más agua.

El contenido de cenizas de las tres galletas fue de  $\approx 2$ g/100g, sin encontrarse diferencias significativas entre ellas, lo cual está relacionado con el contenido de cenizas de las harinas con la que se elaboran las galletas. Como se observó, el contenido de cenizas entre las harinas de cereales no varía ( $\approx 1$  g/100g), mientras que la de plátano es ligeramente mayor ( $\approx 2$  g/100 g), por lo que se puede decir que la adición de maíz (azul o blanco), así como el plátano verde, no influyeron en el contenido de cenizas de las muestras. Existen diversos reportes del contenido de cenizas en galletas, en donde se observa que el nivel de minerales es variable. Se pueden encontrar niveles de cenizas bajos, como es el

caso de las galletas elaboradas con trigo y almidón modificado de plátano verde (0.49 g/100g) (Aparicio-Saguilán y col., 2007); así como valores más altos, como es el caso de galletas adicionadas con fibra de mango (4.3 g/100g) (Vergara-Valencia y col., 2007). De manera general, el porcentaje de cenizas encontrado en galletas oscila entre 1 y 2 g/100g (Athayde y col., 2009; Escobar y col., 2009; Villarroel y col 2009; Calderon, 2010)

El contenido de lípidos de las tres formulaciones de galletas fue significativamente diferente. La G-2 presentó el valor más alto (21.49 g/100g), seguida por G-1 (17.00 g/100g), y finalmente por la G-3 (15.78 g/100g). Por lo que, las diferencias entre G-1 y G-2 puede deberse al uso de diferentes variedades de maíz, ya que el contenido de lípidos entre las harinas de estos dos maíces presenta diferencias significativas, siendo mayor para maíz azul (8.67g/100g). Lo anterior concuerda con lo reportado por Hernández-Urbe y col. (2009) reportaron diferencias en el contenido de lípidos entre tortillas elaboradas con maíz blanco y azul, siendo estas últimas las que presentaron el valor más alto.

En las tres muestras se presentaron diferencias significativas en el contenido de proteínas (Cuadro 4). La G-3 presentó el contenido más bajo de proteínas (7.3 g/100g), mientras que la G-2 el más alto (11.1 g/100g), lo que está en función del contenido de proteínas presentes en sus harinas, el cual presentó el mismo comportamiento. Por lo que la sustitución de harina de plátano en G-3 produce que el valor sea bajo en comparación a las otras dos galletas. Este comportamiento se ha observado en espagueti elaborado con harina de plátano verde, ya que a mayor adición de harina de plátano (45%) el contenido de

proteínas disminuyó significativamente con respecto al control. En otro estudio, se reportó que galletas elaboradas con diferentes niveles de sustitución de harina de plátano verde no presentaron diferencias significativas con respecto al control (Fasolin y col., 2007).

La fracción de fibra dietética presente en las muestras fue de 11.6, 10.1 y 6.9 g/100g para G-1, G-2 y G-3, respectivamente. De acuerdo a las directrices para el uso de declaraciones nutricionales y saludables del CODEX *alimentarius*, un alimento con contenido alto en fibra dietética es aquel que tenga 6 g por 100 g o 3 g por 100 kcal. Por lo que las tres galletas cumplen con ser un alimento con un contenido alto en fibra dietética. Los cereales integrales son los principales factores que influyen en este valor, ya que la cebada, avena y trigo tienen un contenido de fibra dietética de 20.5, 14.8 y 11.7 g/100g, respectivamente (Ragaee y col., 2001). Las diferencias entre las G1 y G2 con respecto a la G-3 es, como se ha visto, por la utilización de la harina de plátano. Los frutos son una fuente de fibra dietética, sin embargo, generalmente ésta se encuentra en la cáscara. Por ejemplo, en galletas elaboradas con harina de mango (fibra y pulpa) el contenido de fibra fue de 17.4 g/100g (Vergara-Valencia y col., 2007). En galletas adicionadas con cáscara de uva se observó un incremento del contenido de fibra dietética (9.78 g/100g) en comparación a la galleta control (3.9 g/100g) (Cannet-Romero y col., 2004). García (2003) reporta un contenido de fibra dietética de 16.6 y 15.8 g/100g para galletas adicionadas con fibra de mango y salvado de trigo, respectivamente. La harina de plátano utilizada en este trabajo proviene de la pulpa de plátano inmaduro variedad macho, el cual presenta un contenido de fibra

dietética de ~3 g/100g (Lassoudiere, 2007). Las diferencias encontradas entre las formulaciones de las galletas de cereales (G-1 y G-2) pueden estar relacionadas con la variación en el contenido de fibra dietética entre las variedades de maíz, ya que se han reportado valores entre 7.1 y 13 g/100g (Mendez-Montealvo y col., 2005). Ragaee y col. (2011) elaboraron panes a partir de granos enteros (sustitución del 30%): cebada, avena, centeno y trigo; en estos panes el contenido de fibra dietética fue de 9.1, 7.5, 8.2 y 6.4 g/100g, respectivamente. Las galletas (tipo barra) multigrano linaza, avena y nuez (marca Bimbo®) tienen un contenido de fibra de 7.2, 6.2 y 4.4 g/100g, respectivamente.

El mismo patrón encontrado en fibra dietética se observó en la fracción indigerible (FI) entre las tres formulaciones de galletas. La G-1 presentó mayor fracción indigerible total (40.1 g/100g), seguida de la G-2 (38.1 g/100g) y G3 (36.9 g/100 g), las cuales, fueron significativamente diferentes. La fracción indigerible son todos aquellos componentes de los alimentos no disponibles para la digestión en el intestino delgado, tales como la fibra dietética, almidón y proteína resistente, polifenoles y compuestos asociados (Saura-Calixto y col., 2000). Como se ha observado, la G-3 ha presentado los valores más bajos de proteínas y fibra dietética, lo cual puede influir en el contenido de FI de la muestra. Aunque algunos de los cereales (avena y cebada) usados en la elaboración de las galletas son una buena fuente de fibra soluble ( $\beta$ -glucanos) (Wood y col., 1991). La fracción indigerible insoluble (FII) fue predominante en comparación con la soluble (FIS). La G-1 tuvo la FII más alta (25.4 g/100g) en comparación a G-2 (20.9 g/100g) y G-

3 (19.7 g/100g), las cuales no presentaron diferencias significativas. De manera contraria, la FIS, en la G-1 fue más baja (14.6 g/100g) que G-2 (17.2 g /100g) y G-3 (17.1 g/100g); entre G-2 y G-3 no existieron diferencias significativas. La harina de plátano es una fuente de FII, se ha reportado que su adición en pan y espagueti, produce un incremento en esta fracción (22.3 y 26.18 g/100g, respectivamente) en comparación con las muestras control (12.4 y 10.7 g/100 g, respectivamente). Sin embargo, el aporte FIS de la harina de plátano es bajo, en estos mismos productos (pan y espagueti) se observó un valor menor en comparación a la FII ( $\approx 3$  g/100g). Como se puede observar en este trabajo el valor de FII de las galletas adicionadas con plátano en estado inmaduro fue uno de los valores más altos, lo cual concuerda con lo reportado. Sin embargo, el valor de FIS también es alto (17.1 g/100g) en comparación a lo encontrado en otros productos adicionados con harina de plátano ( $\approx 3$ g/100g), lo cual puede deberse a las harinas de cebada y avena utilizadas en la elaboración de la galleta, aportan una fracción significativa de la fracción soluble.

En el caso de la G-1 y G-2, las diferencias pueden estar dadas por una diferente composición del pericarpio entre las dos variedades, ya que se lleva a cabo un metabolismo diferente en este órgano entre las dos variedades por la biosíntesis y acumulación de antocianinas (Espinosa y col., 2009), por lo que esto puede influir en el tipo de carbohidratos que lo constituyen.

## 6.2 Fermentación *in vitro* de la fracción indigerible de las galletas

La fermentación de carbohidratos no digeribles produce ácidos grasos de cadena corta (AGCC), lo cual disminuye el pH del intestino grueso. La medición del pH en la fermentación *in vitro* de la FI se presenta en el Cuadro 5. El pH de las muestras fue muy similar, se presentó una disminución pequeña ( $\approx 0.20$ ) a partir de las 6 horas; a partir de las 12 horas el pH tiende a subir ligeramente y/o se mantiene en las 24 horas. En el caso de la rafinosa, el cambio de pH es significativo en las primeras 6 horas (3 unidades) debido a que es un oligosacárido que se fermenta rápidamente, por eso el pH después de este tiempo disminuyó ligeramente.

Los valores de AGCC producidos mediante la fermentación *in vitro* se presentan en el Cuadro 6. De manera general, se observó que la formación de los tres AGCC (ácido acético, propiónico y butírico) se incrementó con el tiempo. El ácido acético fue el principal AGCC producido (hasta 79.9 mmol/L), seguido por ácido butírico (hasta 31.05 mmol/L) y por el propiónico (hasta 17.97 mmol/L). De manera general, se conoce que la proporción molar de AGCC es 60:35:15 para acetato, propionato y butirato, respectivamente (Cummings, 1995). La proporción molar de AGCC (acético-propiónico-butírico) producidos a las 24 horas de fermentación fue de 70:6:23, 69:7:22 y 60.3:25 para G-1, G-2 y G-3, respectivamente.

**Cuadro 5.** Evolución del pH durante el proceso de fermentación *in vitro*.

<b>Muestra</b>	<b>0 h</b>	<b>6 h</b>	<b>12 h</b>	<b>24 h</b>
<b>G-1</b>	6.79±0.01 <sup>a</sup>	6.55±0.03 <sup>a</sup>	6.62±0.06 <sup>a</sup>	6.80±0.10 <sup>a</sup>
<b>G-2</b>	6.88±0.01 <sup>b</sup>	6.65±0.03 <sup>a</sup>	6.67±0.03 <sup>a</sup>	6.86±0.06 <sup>a</sup>
<b>G-3</b>	6.77±0.05 <sup>a</sup>	6.47±0.03 <sup>b</sup>	6.54±0.02 <sup>a</sup>	6.88±0.02 <sup>a</sup>
<b>Rafinosa</b>	7.15±0.03 <sup>c</sup>	4.36±0.16 <sup>c</sup>	4.33±0.06 <sup>b</sup>	4.17±0.05 <sup>b</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1. G-1=maíz blanco; G-2=maíz azul, G-3=plátano inmaduro.

Los valores representan la media de tres experimentos ± error estándar

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

**Cuadro 6.** Producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) a las 6, 12 y 24 h de fermentación *in vitro* (mmol/L)

Muestras	Ácido acético			Ácido propiónico			Ácido butírico		
	6	12	24	6	12	24	6	12	24
<b>G-1</b>	9.65±1.3 <sup>c</sup>	47.24±3.6 <sup>b</sup>	79.90±2.9 <sup>c</sup>	3.55±0.01 <sup>b</sup>	10.4±0.08 <sup>c</sup>	7.51±1.1 <sup>a</sup>	0.13±0.4 <sup>a</sup>	19.07±0.3 <sup>c</sup>	26.45±0.8 <sup>c</sup>
<b>G-2</b>	1.30±1.3 <sup>a</sup>	14.58±1.5 <sup>a</sup>	50.92±0.5 <sup>b</sup>	1.09±1.0 <sup>a</sup>	7.54±0.3 <sup>b</sup>	5.55±2.3 <sup>a</sup>	0.54±0.9 <sup>a</sup>	9.67±1.4 <sup>b</sup>	16.56±1.4 <sup>b</sup>
<b>G-3</b>	5.58±1.7 <sup>b</sup>	57.22±0.2 <sup>c</sup>	74.86±1.2 <sup>c</sup>	0.37±0.8 <sup>a</sup>	23.05±2.0 <sup>d</sup>	17.97±2.2 <sup>b</sup>	0.42±1.0 <sup>a</sup>	28.11±1.5 <sup>d</sup>	31.05±0.1 <sup>d</sup>
<b>Rafinosa</b>	5.57±0.2 <sup>b</sup>	15.88±0.5 <sup>a</sup>	16.62±0.2 <sup>a</sup>	0.71±0.03 <sup>a</sup>	1.95±0.2 <sup>a</sup>	4.05±0.1 <sup>a</sup>	0.72±0.3 <sup>a</sup>	1.42±0.04 <sup>a</sup>	1.90±0.1 <sup>a</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1 Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

Los valores representan la media de tres experimentos ± error estándar

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En las primeras 6 horas de fermentación de la FI de la G-1 se produjo más ácido acético, seguido de G-3, el valor más bajo fue para G-2, estos valores fueron significativamente diferentes. Se observó un incremento en la producción de ácido acético de las 6 a las 12 horas en todas las muestras. El ácido acético producido por la FI de la G-2 fue el más bajo en todos tiempos (6, 12 y 24 horas); el valor para G-1 fue el más alto (79.90 mmol/L) a las 24 horas.

En las primeras 6 horas la G-1 presentó el valor más alto de ácido propiónico (3.55 mmol/L), sin embargo a las 24 horas fue la G-3 (17.97 mmol/L). Al igual que en la producción de ácido acético, la G-2 produjo también menos ácido propiónico (0.37- 17.97 mmol/L). En cuanto a ácido butírico, los valores iniciales (6 horas) fueron bajos en las tres muestras (0.13- 0.42 mmol/L), sin diferencias significativas. A las 12 horas se encontró una mayor producción de este AGCC en la G-3 (28.11 mmol/L), seguido de la G-1 (19.07 mmol/L) y G-2 (9.67 mmol/L); este comportamiento se observó también a las 24 horas (31.05, 26.45, 16.56 mmol/L, respectivamente).

Como se puede observar se llevó a cabo una disminución de pH durante la fermentación de rafinosa en las primeras seis horas, lo cual indica la producción de AGCC. Sin embargo, el cambio de pH no está directamente relacionado con la cantidad de AGCC producidos, ya que también se observó que durante la fermentación de la FI de las galletas no existe un cambio drástico de pH, ( $\approx$  pH 6), pero si una mayor producción de AGCC. Esto puede estar relacionado con la composición de la FI de las galletas. De acuerdo a la definición de FI, esta puede contener polisacáridos no amiláceos, proteína, almidón y oligosacáridos

resistentes, así como lignina compuestos polifenólicos asociados frecuentemente a las estructuras de la pared celular de vegetales (Saura-Calixto y col., 2000). En la fermentación de proteínas, también se forman algunos productos de la fermentación de carbohidratos como AGCC, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y biomasa, además de ácidos grasos ramificados como isobutirato, isovalerato y 2-metilbutirato, junto con otros ácidos orgánicos. Otros compuestos formados son amonio, aminas, fenoles e índoles producto de la deaminación, descarboxilación, fermentación y reacciones de eliminación  $\alpha$  o  $\beta$  (Hughes y col 2000). Algunos de los productos de la fermentación de proteínas, como el amonio y las aminas, presentan pH básicos, lo que puede estar influyendo en que no se presenten cambios significativos de pH durante la fermentación de la FI de las galletas.

Las variaciones en la producción de AGCC pueden relacionadas con la constitución de la FI de cada una de las muestras, ya que se ha observado que el tipo de carbohidrato tiene influencia sobre el perfil de AGCC formado. Wang y Gibson (1993) encontraron que si bien los carbohidratos producen AGCC, las cantidades varían dependiendo del tipo de carbohidrato fermentado. En este mismo trabajo se reportó que la fermentación de AR produce mayor cantidad de butirato en comparación con otros carbohidratos como la inulina y fructooligosacaridos. Aunque, recientemente también se ha reportado que la fermentación de AR de una marca comercial (Resistant Starch 60, PROMITOR®) no produjo una concentración de butirato mayor, como se ha indicado (relación molar, 58.1: 21.7:20.3 acetato:propionato:butirato, respectivamente).

En este mismo sentido, se ha encontrado que un carbohidrato con diferente longitud de cadena presenta variaciones en la cantidad de AGCC producidos. Jenkins y col. (2011) reportaron que con una longitud de cadena mayor (5-12) los fructooligosacáridos producen más AGCC (77.4 mmol) en comparación a unos de menor longitud de cadena (3-4). Por lo que no solo el tipo de carbohidrato influye en la formación de AGCC, sino también la estructura de dicho carbohidrato.

Otro factor que tiene influencia en la producción de AGCC es el tipo de microflora bacteriana con la cual se lleve a cabo la fermentación, debido a que las bacterias tienen productos de fermentación específicos, es decir no todas las bacterias producen los AGCC principales (ácido acético, propiónico y butírico). Las especies de bacteroides van a tener como productos de fermentación ácido acético, propiónico y succínico; las bifidobacterias ácido acético, láctico, fórmico y etanol; el género *Clostridia*, ácido acético, propiónico, butírico, láctico y etanol (Macfarlane y col., 1995). La dieta puede modificar el tipo de microflora bacteriana presente en el colón, se ha encontrado que los carbohidratos estimulan el crecimiento especialmente, aunque no de manera exclusiva, de bacterias del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (Escudero y Álvarez, 2006). Se puede inferir que el perfil de AGCC está en función de la microflora bacteriana y esto pueden también estar influyendo en los resultados obtenidos en este trabajo.

Otro resultado que vale la pena señalar es el valor de ácido butírico obtenido de la fermentación de la G-3 (31.05 mmol/L), ya que se ha comprobado, de manera *in vitro*, que a concentraciones de 2 mmol/L de ácido butírico se inhibe

el crecimiento de células cancerígenas HT-29 (Davido y col., 2001). En ese mismo estudio, Davido y col. (2001) demostraron que una concentración de 5 mmol/L de ácido propiónico afecta la proliferación de estas células.

### **6.3 Estudios de capacidad antioxidante**

En el Cuadro 7 se presentan los valores de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante. El contenido de compuestos fenólicos en la G-2 es mayor (92.29 mgEAG/100g) que en las G-1 y G-3 (88.06 y 85.28 mgEAG/100g), sin que se presenten diferencias significativas entre estas dos últimas muestras. La G-2 también presentó el mayor contenido de flavonoides (34.53 mg/100g), seguida de G-1 (13.56 mg/100g), mientras que la G-3 presentó el valor más bajo (4.56 mg/100g). Este mismo comportamiento se observó en la capacidad antioxidante, lo cual está en relación con el contenido de fenoles y flavonoides. La adición de maíz azul en la formulación de la G-2, es el factor principal que influyó en estos resultados. El maíz azul es una fuente importante de antocianinas, las cuales son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos (anillo benzopirilio y fenólicounidos) (Mazza, 1995). Dentro de las variedades pigmentadas, el maíz azul presenta un alto contenido de antocianinas (36.9 mg equivalentes de cianidina3-glucósido/100g), mientras que otras variedades llegan a presentar niveles más bajos (0.57-4.63 mg equivalentes e cianidina3-glucósido/100g) (De la Parra y col., 2007).

**Cuadro 7.** Contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de galletas elaboradas con harinas integrales

<b>Muestra</b>	<b>Polifenoles<sup>1</sup></b>	<b>Flavonoides<sup>2</sup></b>	<b>Actividad antioxidante<sup>3</sup></b>
<b>G-1</b>	88.06±0.42 <sup>a</sup>	13.50±0.24 <sup>b</sup>	11.01±0.23 <sup>b</sup>
<b>G-2</b>	92.29±0.55 <sup>b</sup>	34.53±0.36 <sup>c</sup>	21.75±0.71 <sup>c</sup>
<b>G-3</b>	85.28±1.12 <sup>a</sup>	4.56±0.14 <sup>a</sup>	6.80±0.49 <sup>a</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1 Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro

<sup>1</sup>Polifenoles son expresados en mgEAG/100g; <sup>2</sup>flavonoides en mgEC/100g y <sup>3</sup>la capacidad antioxidante en µmoLET/100g.

EAG, equivalente de ácido gálico; EC, equivalente de catequina; ET, Equivalente a trolox.

Los valores representan la media de tres experimentos ± error estándar.

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas (p < 0.05).

López-Martínez y col. (2009) reportaron el contenido de polifenoles y antocianinas de diferentes variedades de maíces pigmentados, encontrándose un contenido de polifenoles entre 343-3400 mgEAG/100g, y de antocianinas 99 a 850 mg equivalentes e cianidina3-glucósido/100g. En el caso de maíz blanco, se ha reportado un contenido de compuestos fenólicos entre 8.45 y 29.95 mgEAG/100g (Ruiz y col., 2008). En plátano maduro se ha reportado un contenido de compuestos fenólicos de 57.3 mgEAG/100g (Fu y col., 2011), mientras que para una plátano en estado inmaduro (*Musa acuminata*) fue de 50.65 mgEAG/100g (Wenzel y col., 2011).

#### **6.4 Análisis sensorial**

En el Cuadro 8 se presentan el resultado de la evaluación sensorial de las galletas. La escala hedónica se usa para medir el nivel de agrado de un alimento, esta prueba afectiva se aplica para probar preferencia o aceptación en consumidores potenciales o habituales del producto. La aceptación intrínseca de un producto es la consecuencia de la reacción del consumidor ante las propiedades físicas, químicas y texturales del mismo, es decir, su valoración sensorial. En este aspecto, la G-3 fue la muestra que tuvo la mejor calificación ( $\approx 6$ ), solamente a una unidad de la galleta comercial. La G-1 y G-2 presentaron calificaciones menores ( $\approx 5$ ) y no presentaron diferencias significativas entre ellas. La adición de fibra dietética, en este caso, el uso de harinas de cereales integrales, hacen que pierda palatabilidad; la G-1 y G-2 presentaron mayor contenido de FD que G-3. Aunado a esto, los productos elaborados con granos

**Cuadro 8.** Aceptabilidad de galletas elaboradas con harinas integrales

Muestra	Evaluación hedónica
G-1	5.47±0.17 <sup>a</sup>
G-2	5.59±0.15 <sup>a,b</sup>
G-3	6.08±0.15 <sup>b</sup>
Galleta comercial*	7.55±0.13 <sup>c</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1. Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro

Escala hedónica: 1 = disgusta muchísimo, 5 = ni gusta ni disgusta, 9 = gusta muchísimo.

Los valores representan la media de cien repeticiones ± error estándar.

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Multigrano linaza, Bimbo ®

enteros son de reciente aparición en el mercado, por lo que todavía existe rechazo a este tipo de alimentos porque el consumidor no está acostumbrado a su sabor, textura o apariencia (Nestlé, 2011).

### **6.5 Digestibilidad de carbohidratos *in vitro***

Los valores de glucosa libre (GL), almidón total (AT), almidón de digestión rápida (ADR) y lenta (ADL), así como del almidón resistente (AR) se presentan en el Cuadro 9. Las tres galletas no presentaron diferencias significativas en los valores de GL. Este término hace referencia a la cantidad de glucosa que no se encuentra asociada a otra(s) molécula(s) en la matriz del alimento, por lo que es de fácil disponibilidad. Después de su consumo, la GL se absorbe rápidamente, incrementando el nivel de glucosa en sangre en un tiempo corto (20 minutos). Englyst y col. (2003) reportan la composición nutricional de 23 productos de cereales, dentro de los que se encuentran, cereales para desayuno, panes y galletas. El valor promedio de GL para cereales para desayuno fue de 7.3 g/100g, para productos de panificación 3.9 g/100g y galletas 9.4 g/100g. Por otro lado, se ha reportado en diferentes productos de panificación (*biscuits, muffins, croissants y hotcakes*), un contenido de GL entre 3.66 y 25.22 g/100g (Bravo y col., 1998).

El almidón total de las muestras fue similar ( $\approx 57$  g/100g) para la G1 y G-2, mientras que la G-3 presentó el valor más alto (60.2 g/100g). El contenido de AT en 21 variedades de maíz blanco se ha reportado entre 69.1 y 86 g/100 g (Mendez-Montevalvo y col., 2005).

**Cuadro 9.** Contenido de almidón total, almidón de digestión rápida, digestión lenta y almidón resistente de galletas elaboradas con harinas integrales (g/100g)

Determinación	G-1	G-2	G-3
Glucosa libre	3.36±0.08 <sup>b</sup>	4.58±0.07 <sup>a</sup>	4.33±0.63 <sup>a</sup>
Almidón total	57.06±0.83 <sup>a</sup>	57.92±0.73 <sup>a</sup>	60.25±0.24 <sup>b</sup>
Almidón de digestión rápida	45.83±1.53 <sup>a</sup>	45.42±1.66 <sup>a</sup>	51.92±0.61 <sup>b</sup>
Almidón de digestión lenta	7.06±1.47 <sup>a</sup>	10.75±1.63 <sup>b</sup>	4.18±0.52 <sup>c</sup>
Almidón resistente*	4.37±0.76 <sup>a</sup>	3.55±1.81 <sup>a</sup>	4.15±0.45 <sup>a</sup>
Almidón resistente <sup>#</sup>	1.13±0.12 <sup>a</sup>	1.84±0.13 <sup>a</sup>	6.32±0.21 <sup>b</sup>

La formulación de las galletas se puede ver en el Cuadro 1. G-1=maíz blanco; G-2=maíz azul, G-3=plátano inmaduro.

Los valores representan la media de tres repeticiones, en base seca

Letras iguales en la misma fila indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

El resultado fue obtenido de acuerdo al método usado: \*Englyst y col., (1992) y <sup>#</sup>Goñi y col., (1996).

Por otro lado, Agama-Acevedo y col. (2005) reportaron un contenido de AT mayor para maíz azul (73.5 g/100g) en comparación con una variedad blanca (66.2 g/100g). Cuando se han utilizado dos variedades de maíz (azul y blanco) en la elaboración de tortillas, el resultado es inverso, es decir, la tortilla elaborada con maíz azul, presentó el valor de AT menor (68.47 g/100g) (Hernández-Uribe y col., 2007). Sin embargo, en este trabajo la adición de diferentes variedades no influyó en este parámetro. Ragaee y col (2011) elaboraron panes de cebada, avena, centeno y trigo, en esta investigación se encontró que el contenido de AT no fue diferente entre las muestras ( $\approx 62$  g/100g).

En la harina de plátano verde, el contenido de carbohidratos es mayor en comparación a la harina de cereales; el principal carbohidrato del plátano en estado inmaduro es el almidón, por lo que esto pudiera explicar el resultado obtenido en el AT de la G-3. Ovando-Martínez y col. (2009) elaboraron un espagueti con diferentes mezclas de harina de plátano y trigo, y encontraron que a mayor sustitución de harina de plátano el contenido de AT en el espagueti incrementaba. Un comportamiento similar se observó en un estudio en el que adicionaron harina de plátano en estado inmaduro en un pan, el contenido de AT fue mayor para el pan con plátano en comparación al pan control (Juárez-García y col., 2006).

Al conocer el contenido de AT de las muestras, se da una idea aproximada de la cantidad de glucosa que se puede liberar durante la digestión del producto. Sin embargo, como se ha mencionado, existen fracciones del almidón que se digieren a diferente velocidad (ADR y ADL), así como una parte del almidón que

es resistente al ataque enzimático (AR). Las galletas adicionadas con las harinas de maíz (G-1 y G-2) presentaron un contenido menor de ADR ( $\approx 45$  g/100g) en comparación a la de harina de plátano inmaduro (G-3) (51.9 g/100g). En cuanto al contenido de ADL, las tres muestras presentaron diferencias significativas. La G-2 fue la que tuvo el valor mayor (10.75 g/100g), seguido de la G-1 (7.06 g/100g) y la G-3 presentó el contenido más bajo de ADL (4.18 g/100g).

El contenido de ADL en las muestras G-1 y G-2 podría deberse a que todas las harinas utilizadas en su formulación, son harinas de cereales, y se conoce que el almidón nativo de los cereales son una fuente importante de ADL (>50%) (Zhang y col., 2006), siendo la estructura de este polisacárido, la responsable de la propiedad de digestión lenta. Cuando el almidón es utilizado en la preparación de alimentos es gelatinizado, lo cual ocasiona una desorganización de la estructura cristalina y por lo tanto se produce una disminución o pérdida de la propiedad de digestión lenta de los almidones de cereales (Zhang y col., 2006). Sin embargo, aún con la gelatinización los alimentos pueden ser digeridos lentamente, para que esto suceda, deben de tener una estructura física que disminuya la accesibilidad de la enzima y/o una estructura química que limite la velocidad de la acción de las enzimas (Zhang y Hamaker, 2009). En los alimentos, la fibra dietética soluble puede inducir una digestión y absorción lenta de los carbohidratos debido a su viscosidad, la cual reduce la velocidad de vaciamiento gástrico, disminuye la accesibilidad de las enzimas al sustrato (Leclère y col., 1994; Slavin, 2005), además que la velocidad de difusión de los carbohidratos digeridos en el intestino para su absorción también es lenta (Briani y col., 1987).

Por lo tanto, como se observó, la G-2 es la muestra que tiene el contenido más alto de proteínas, lípidos y fracción indigerible soluble, estos componentes pueden formar una matriz más compleja en comparación a la que se encuentra presente en G-1 y G-3, lo cual puede estar contribuyendo a que el almidón se hidrolize de una manera más lenta. Este comportamiento se ha observado en espagueti, en este alimento es la proteína la que limita la accesibilidad de las enzimas amilolíticas hacia el almidón, a lo que se puede decir que la estructura física de la matriz del alimento es la que produce la digestión lenta (Fardet y col., 1998).

En este sentido, se puede decir entonces, que la G-3 es la muestra que tiene una estructura menos compleja, ya que presenta el contenido menor de lípidos, proteínas, fibra dietética y fracción indigerible, lo cual repercute en un valor más alto de ADR y el menor de ADL. Aunque la fracción indigerible soluble de G-2 y G-3 es similar, esta parece no tener influencia en el ADL de la G-3.

El AR no presentó diferencias significativas entre las muestras, este valor osciló entre 3.55 y 4.37 g/100g. Sin embargo, cuando el contenido de AR fue determinado por el método propuesto por Goñi y col., (1996), los resultados fueron diferentes, la G-1 y G-2 no presentaron diferencias significativa entre ellas (1.13 y 1.84 g/100g), mientras que la G-3 tuvo el valor más alto (6.32 g/100g). Aunque el método de Englyst y col. (1992) actualmente es muy utilizado y aceptado para la estimación de ADR, ADL y AR, podría estar sobreestimando el contenido de AR. En general, se conoce que el almidón nativo de plátano es resistente al ataque enzimático por su estructura cristalina, (patrón de difracción tipo B, cadenas largas) y la ausencia de poros que permitan el acceso de las enzimas para

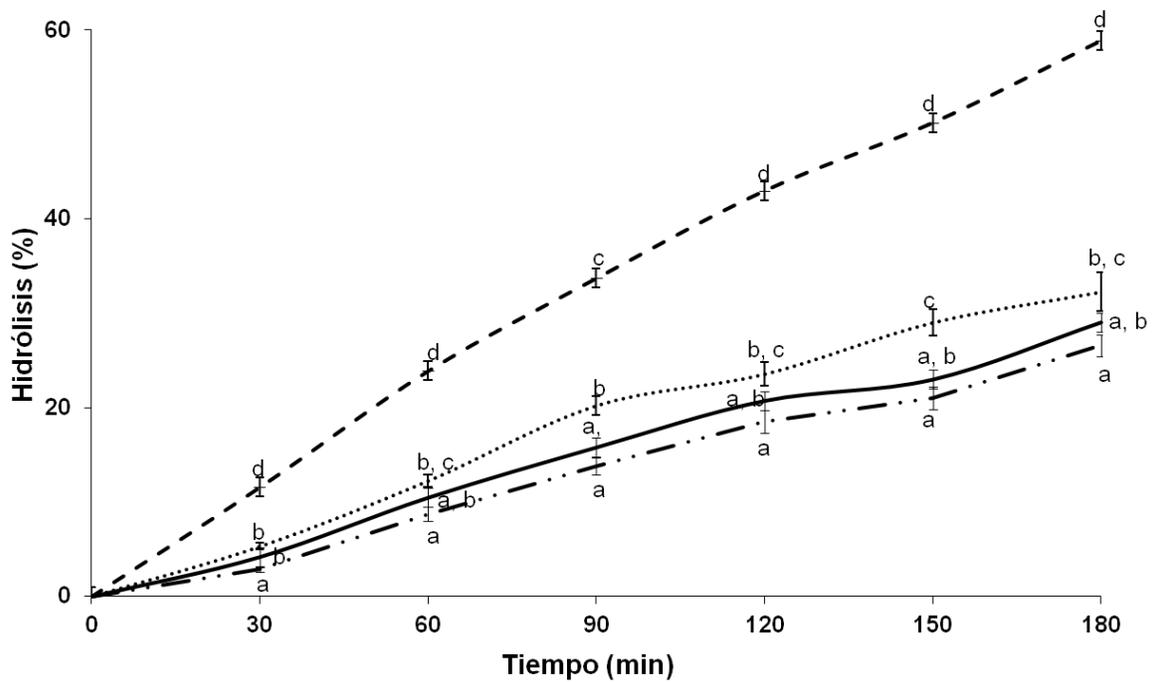
hidrolizarlo (Zhang y Hamaker, 2009). Se ha observado, que cuando se somete a gelatinización el almidón de plátano existe una fracción de AR que se mantiene. Esto se ha reportado en alimentos a los cuales se les ha adicionado harina o almidón de plátano inmaduro como, pan, galletas y pastas (Juárez-García y col., 2006; Aparicio-Saguilán y col., 2007; Fasolin y col., 2008; Rendón Villalobos y col., 2008; Hernández-Nava y col., 2009; Saifullah y col., 2009; Ovando-Martínez y col., 2009).

El contenido de AR presentado por la G-3 puede ser uno de los motivos por el cual la FI de esta muestra produce más butirato durante el proceso de fermentación *in vitro* realizado en este trabajo. Como se mencionó, el butirato puede inhibir el crecimiento de células cancerígenas (Davido y col., 2010).

#### **6.6 Tasa de digestión del almidón *in vitro*. Determinación del índice de hidrólisis y predicción del índice glucémico**

La velocidad de hidrólisis del almidón disponible presente en las tres muestras se puede observar en la Figura 6, mientras que el Índice de hidrólisis (IH) y la predicción del Índice glucémico se puede ver en el Cuadro 10.

El porcentaje de hidrólisis de las tres muestras y el pan blanco (alimento de referencia) incrementó durante los 180 minutos de la prueba. La hidrólisis del pan blanco es mayor y significativamente diferente a las muestras, alcanzando a los 180 minutos una hidrólisis del  $\approx 60\%$ . La G-1 fue la muestra cuya hidrolisis fue



**Figura 6.** Curvas de hidrólisis *in vitro* de galletas elaboradas con harinas integrales. En la gráfica se representan valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=6$ . Muestras: Pan blanco (----), G-1 (.....), G-2 (—) y G-3 (— · —). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

mayor (32%, 180 minutos), mientras que la G-2 y G-3 presentaron una menor velocidad de hidrólisis, sin tener diferencias significativas entre ellas. El comportamiento de la G-2 se puede explicar debido a que presentó el contenido más alto de lípidos, proteínas, FD y FIS, debido a que una matriz más compleja del alimento puede disminuir la velocidad de hidrólisis. Sin embargo, la G-3 presenta una composición menos compleja, por lo que se esperaría que al estar el almidón más disponible físicamente para ser hidrolizado, la velocidad de hidrólisis fuera mayor. Una posible explicación del comportamiento de la G-3 puede estar en función del contenido de FIS, ya que la G-3 y G-2 presenta un contenido de similar de FIS. La FIS puede disminuir la velocidad de hidrólisis del almidón debido a un incremento en la viscosidad, lo cual no permite una difusión de la enzima hacia su sustrato (almidón) y por lo tanto la velocidad de hidrólisis es menor. Por otro lado, se ha reportado que el AR disminuye la velocidad de digestión (Sajilata y col., 2006), este puede ser otro factor que interviene en el resultado obtenido con la galleta adicionada de plátano. Este comportamiento se ha observado en diversos estudios en donde se adicionó almidón o harina de plátano a diferentes alimentos (pan, galletas y pastas), en estos trabajos se encontró que un incremento en el contenido de AR produce una reducción en la velocidad de hidrólisis en comparación a los productos control (Juárez-García y col., 2006; Aparicio-Saguilán y col., 2007; Rendón Villalobos y col., 2008; Hernández-Nava y col., 2009; Saifullah y col., 2009; Ovando-Martínez y col., 2009).

El IH es mayor para G-1 (53.5), en comparación a G-2 y G-3 (45.3 y 39.9, respectivamente), las cuales no tuvieron diferencias significativas (Cuadro 11). De igual manera, se observó el mismo comportamiento en la pIG. Las tres galletas se

**Cuadro 10.** Índice de hidrólisis (IH) y predicción del índice glucémico (pIG) de galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y plátano en estado inmaduro\*

Muestras	IH <sup>a)</sup>	pIG <sup>b)</sup>
G-1	53.55±1.08 <sup>a</sup>	54.36
G-2	45.32±1.26 <sup>b</sup>	47.27
G-3	39.95±2.09 <sup>b</sup>	42.63
Pan blanco (referencia)	100 <sup>c</sup>	94

\* Para ver la formulación de las galletas ver cuadro 1. G-1=maíz blanco; G-2=maíz azul, G-3=plátano inmaduro.

a) El índice de hidrólisis (IH) fue relacionado con pan blanco = 100% (Grandfeldt y col., 1992). Los valores representan la media de seis repeticiones ± error estándar.

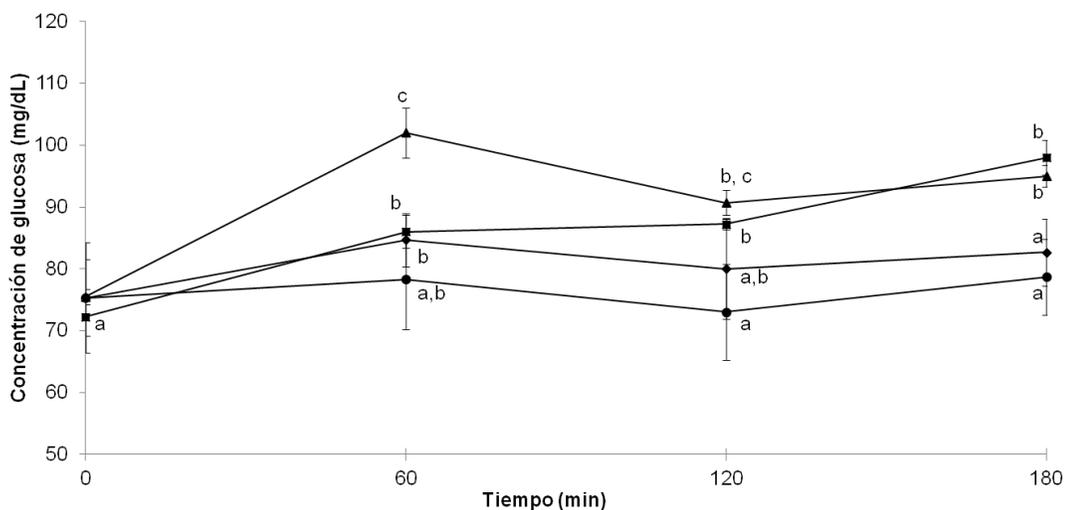
b) Predicción del índice glucémico (pIG)=0.862HI+8.198 (Grandfeldt, 1994).

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas (p < 0.05).

consideran de IG bajo, de acuerdo a la clasificación de IG de los alimentos. Tanto el IH y el IG están influenciados por las características de los productos, como la textura, tamaño de partícula y viscosidad, así como por las características fisicoquímicas y estructurales del almidón, ya sea dentro de un sistema de digestión *in vitro* (sistema de diálisis) o en el intestino delgado (Jenkins y col., 1987; 1987; Granfeldt y col., 1992). Además de la reducción en la velocidad de absorción de glucosa después del consumo de alimentos de IG bajo, estos productos puede provocar una disminución en la liberación de ácidos grasos libres (AGL) al torrente sanguíneo y también que se presenten períodos de saciedad más prolongados, debido a que el vaciado gástrico es lento. La presencia de fibra dietética en los alimentos de IG bajo prolonga la distensión del tracto gastrointestinal, cuasando un incremento y un secreción prolongada de péptidos del intestino como colecistocinina, grelina, glucagón, GLP-1 y GIP, los cuales se cree son factores de saciedad.

### **6.7 Efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas en ayuno**

El efecto antihiper glucémico de galletas en ratas sanas se llevo a cabo por medio de la evaluación de tres dosis de la galleta adicionada con plátano en estado inmaduro (G-3) (D-1, 0.42; D-2, 0.85; D-3, 1.28 g/kg). Como se observa en la Figura 7, la administración de la D-1 produce una elevación de los niveles de glucosa de 13.7 mg/dL en los primeros 60 minutos (86 mg/dL); no se presentan

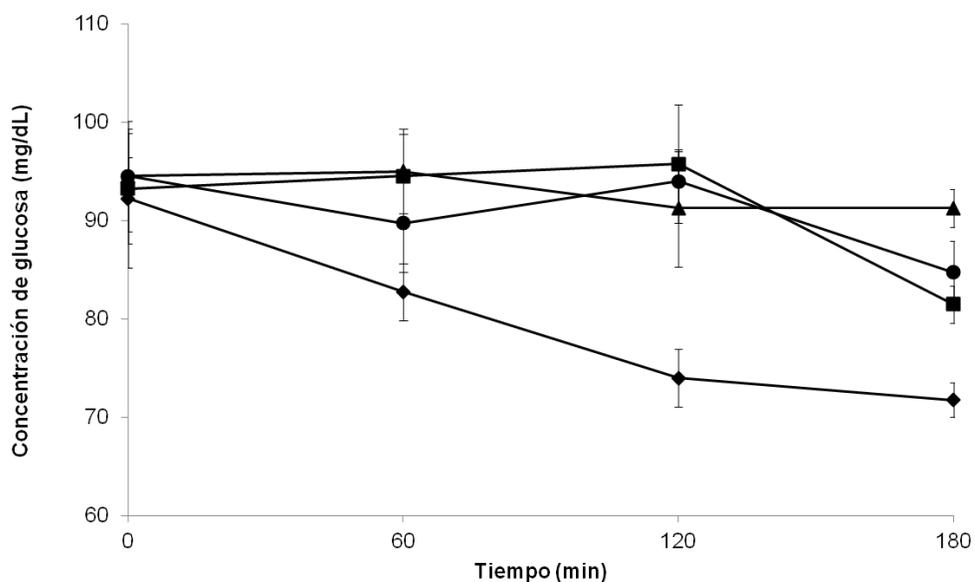


**Figura 7.** Respuesta glucémica del consumo de diferentes dosis de una galleta adicionada con harina de plátano en estado inmaduro en ratas sanas. Las dosis equivalen a 2, 4 y 6 galletas de 15 g para una persona de peso promedio (70 kg). Los valores son promedios de 4 ratas  $\pm$  error estándar. Dosis: 0.42 g/kg (■), 0.85 g/kg (◆), 1.28 g/kg (▲) y control (●). Al grupo control se le administró agua.

cambios significativos a los 120 minutos, y posteriormente el nivel de glucosa se incrementa 25.7 mg/dL para alcanzar un valor máximo de 98 mg/dL a los 180 minutos. Este comportamiento puede deberse a que por ser la dosis más baja, el aporte de glucosa proveniente de carbohidratos glucémicos de la G-3 se metabolizan en los primeros 120 minutos. El incremento a los 180 minutos puede estar relacionado con el inicio de la gluconeogénesis. La D-2 no presentó diferencias significativas durante 120 minutos en comparación con D-1.

A los 180 minutos la D-2 incrementa ligeramente la concentración de glucosa (82.7 mg/dL), el cual no es un cambio significativo con respecto al valor de los 120 minutos (80.0 mg/dL). En este caso, la digestión de la G-3 a la D-2 es lentamente, proporcionándole glucosa durante los 180 minutos. Los niveles de glucosa provocados por la D-3 fueron significativamente diferentes al minuto 60 y 120 con respecto a D-1 y D-2. Al incrementar la dosis (D-3), el nivel de glucosa incrementó a los 60 minutos, en donde se produce un pico de glucosa a una concentración de 102 mg/dL, la cual disminuye a los 120 minutos (92.6 mg/dL) por acción de la respuesta de insulina; el nivel de glucosa se mantuvo sin diferencias significativas a los 180 minutos. Debido a que la D-2 tiene una digestión lenta, se eligió esta dosis para realizar los siguientes experimentos.

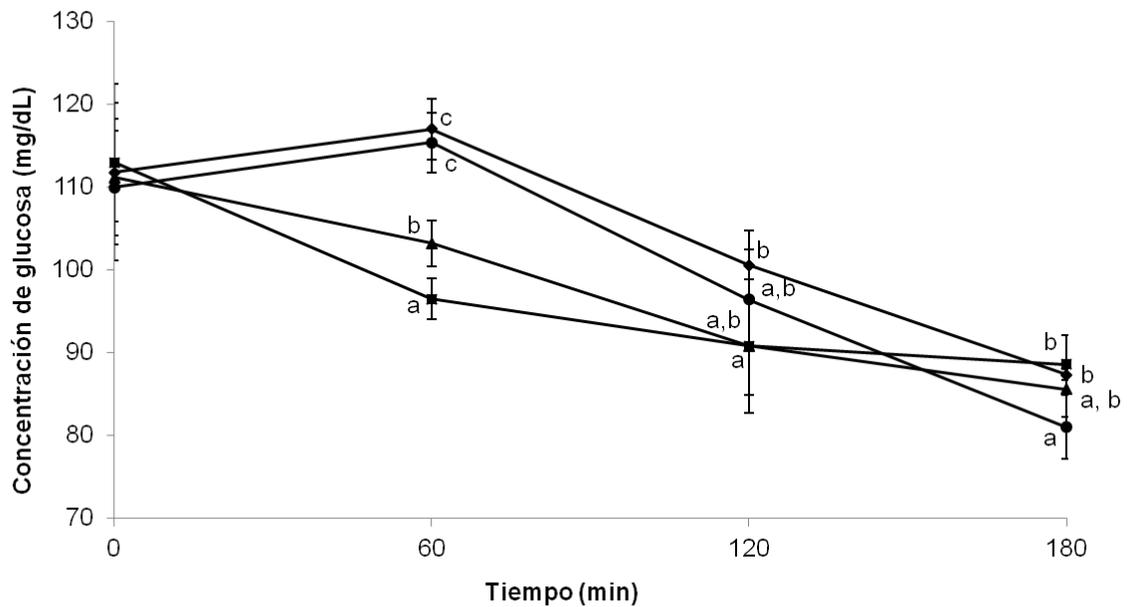
La Figura 8 muestra la respuesta glucémica de las tres galletas (G-1, G-2 y G-3) con la dosis establecida previamente (0.85 g/kg). Para las tres curvas, no existe un cambio significativo en los niveles de glucosa. En la muestra G-3 y G-1, se observa una disminución en la concentración de glucosa a los 180 minutos, siendo significativa en comparación a G-2 que se mantiene. Esto indica que la liberación de glucosa para G-2 fue sostenida durante los 180 minutos.



**Figura 8.** Respuesta glucémica postprandial de tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano inmaduro en ratas sanas. La dosis equivale a 4 galletas de 15 g para una persona de peso promedio (70 kg). Los valores son promedios de 4 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■) y control (♦). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano en estado inmaduro. Al grupo control se le administró agua.

En estas curvas no se observa el pico característico de una respuesta de glucosa, esto es debido a que de acuerdo a la dosis elegida, se le administró 0.11 g de muestra a cada rata, de la cual, poco más del 50% corresponde al almidón disponible (el almidón disponible fue calculado como la suma de ADL y ADR). Generalmente, se puede observar que en diversos trabajos la dosis de carbohidratos utilizadas son mayores ( $> 0.11\text{g}$ ) (Severijnene y col., 2007; Hashimoto y col., 2009); la dosis de prueba está en función de lo que se requiera observar en el experimento. En esta ocasión, no se incrementó la dosis debido a que se trató de simular la forma y cantidad en que se consume este alimento.

En la Figura 9 se muestran la respuesta glucémica de las tres galletas administradas a media tarde con la dosis establecida ( $0.85\text{g/kg}$ ); este experimento se realizó con el objetivo de probar las galletas como se consumen comúnmente, entre comidas. Los valores iniciales de glucosa fueron  $111\text{ mg/dL}$  en promedio, estos son mayores a los encontrados en ratas en ayuno, lo cual indica que los animales han consumido el alimento estándar. Al igual que los experimentos anteriores, las evaluaciones de glucosa se realizaron cada 60 minutos durante 3 horas después de la administración de las galletas. En la curva obtenida del grupo control, en donde a las ratas se les administró agua únicamente, la concentración de glucosa se mantuvo sin cambios durante los primeros 60 minutos, esto es resultado de la ingestión del alimento estándar. Posterior a los 60 minutos, la concentración de glucosa disminuyó para regresar a los niveles basales, como resultado de la respuesta insulinémica. La G-1 presentó un perfil similar, la G-1 no incrementa de manera significativa la concentración de glucosa en los primeros 60 minutos, el aporte de glucosa se mantiene constante, sin embargo, a los 120

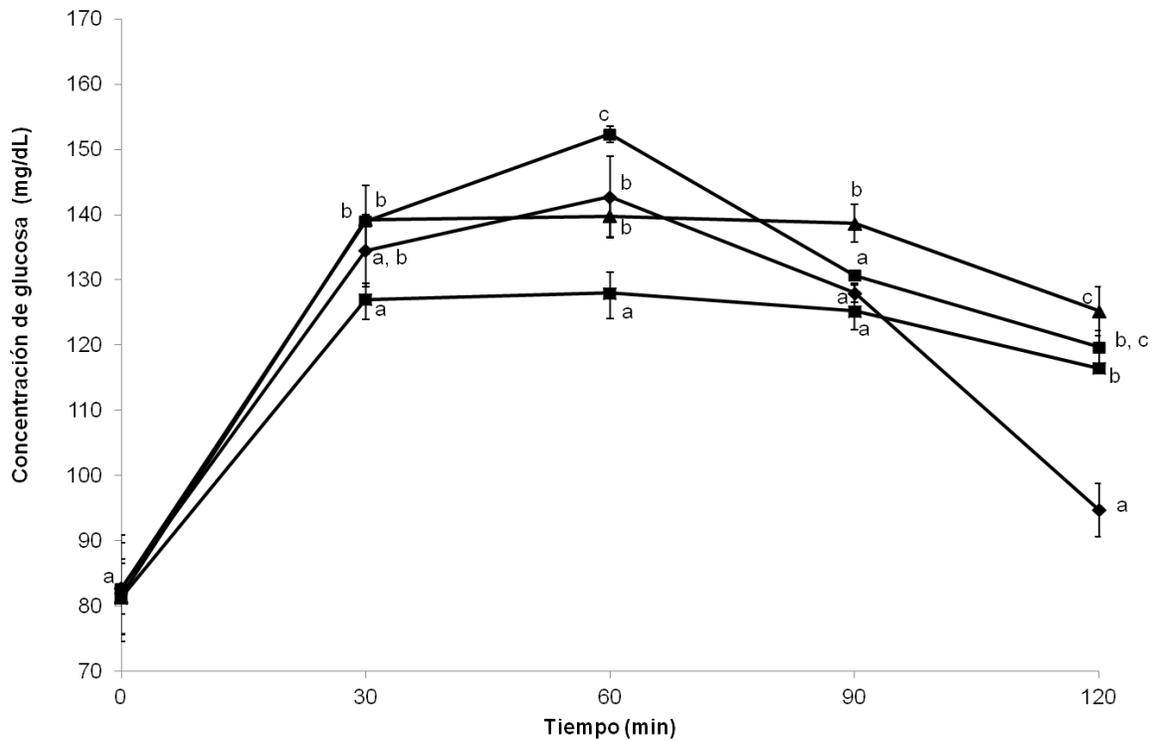


**Figura 9.** Respuesta glucémica postprandial de tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano inmaduro consumidas por ratas previamente alimentadas con alimento estándar. La dosis equivale a 4 galletas de 15 g para una persona de peso promedio (70 kg). Los valores son promedios de 5 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■) y control (◆). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano en estado inmaduro. Al grupo control se le administró agua.

minutos ésta disminuye. Esto se puede deber a que los animales ya habían ingerido el alimento estándar, por lo que se puede inferir que la concentración de glucosa estaba regresando a niveles basales. Sin embargo, la respuesta glucémica de G-2 y G-3 no tienen este mismo comportamiento. Desde los primeros 60 minutos existió una disminución de la glucosa en sangre, sin que se presenten diferencias significativas entre las muestras. En este caso, el mecanismo implicado en la disminución de la concentración de glucosa está relacionado el contenido de ADL y AR en G-2 y G-3, respectivamente. Se ha reportado que tanto el ADL como el AR promueven la secreción de hormonas incretinas (GIP y GLP-1) (Wachters-Hagedoorn y col., 2006). Una elevada cantidad de GLP-1 en los primeros minutos después de la ingesta de un alimento puede influir en la liberación de los nutrientes al intestino, ya que la GLP-1 tiene la capacidad de disminuir la velocidad del vaciado gástrico (Nauck y col., 1997; Liljeberg y col., 1999), además también promueve la secreción de insulina, por lo que se puede producir una disminución en la concentración de glucosa postprandial (Wachters-Hagedoorn y col., 2006).

### **6.8 Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas**

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa, la cual se puede observar en la Figura 10. El grupo control recibió únicamente una carga de glucosa (3g/kg). La carga de glucosa produce un pico hiperglucémico; en los primeros 30 minutos se observó un incremento significativo de la concentración de glucosa (51.7 mg/dL), a los 60 minutos se obtuvo la concentración más alta de glucosa (141.7 mg/dL), dicha concentración fue disminuyendo a los 90 minutos (128.0 mg/dL),



**Figura 10.** Curva de tolerancia a la glucosa en ratas sanas que consumieron galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y harina de plátano en estado inmaduro. A los animales se les administró una carga de glucosa de 3g/kg y una dosis equivalente a 4 galletas de 15 g para una persona de peso promedio (70 kg). Los valores son promedios de 4 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■) y control (◆). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano en estado inmaduro. Al grupo control se le administró únicamente la carga de glucosa.

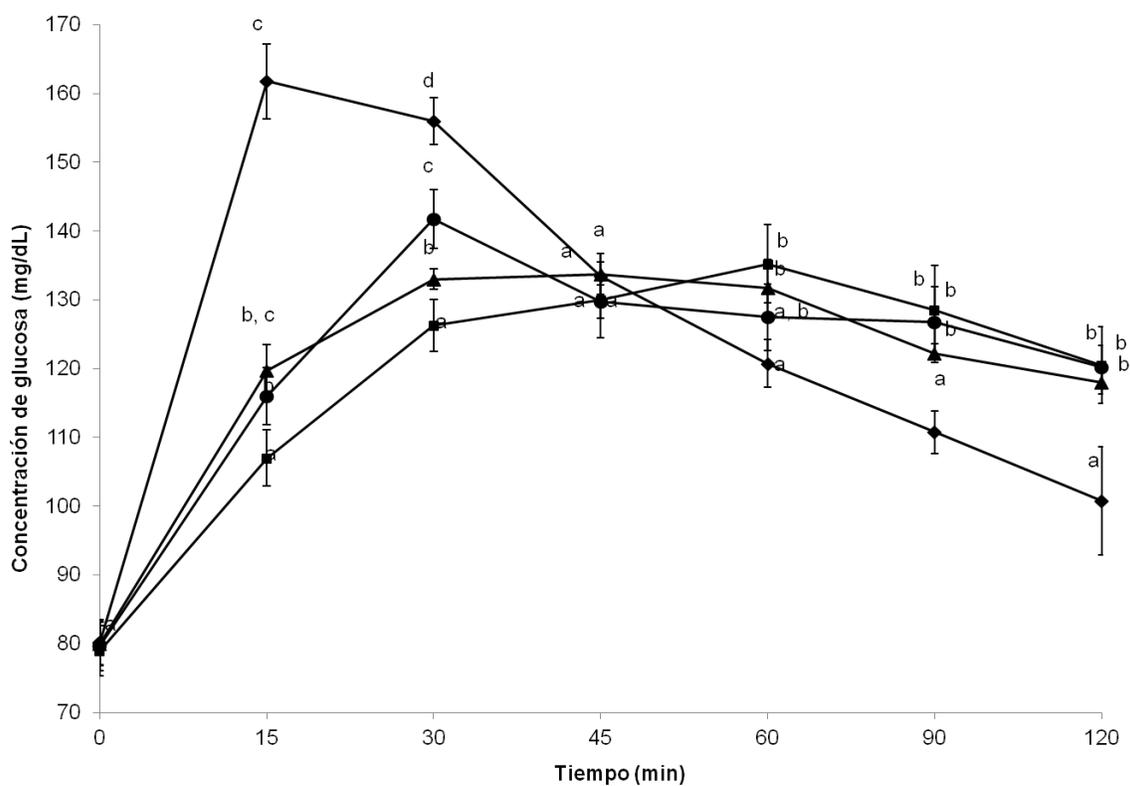
hasta alcanzar 94.75 mg/dL a los 120 minutos. La respuesta glucémica de las tres galletas más la carga de glucosa presentaron un comportamiento similar al grupo control. Sin embargo la G-1 produjo un pico más alto debido a que la concentración de glucosa fue más alta a los 60 minutos (152.3 mg/dL); la disminución de glucosa se dio de una manera más lenta, en comparación al control. La G-2 no presentó diferencias significativas durante los primeros 60 minutos con respecto al control, pero a los 90 minutos la liberación de glucosa se sostuvo, y fue hasta los 120 minutos que el nivel de glucosa disminuyó. Un comportamiento similar lo presentó la G-3, pero la concentración de glucosa se mantuvo sin cambios significativos entre los 30 y 120 minutos. El nivel de glucosa entre los 30 y 60 minutos fue más bajo en la G-3 en comparación a las otras muestras y el control.

De forma general, se esperaría que la respuesta glucémica de las muestras fuera más alta con respecto al control, debido a que se administró una mayor cantidad de carbohidratos disponibles (carga de glucosa más los carbohidratos de las muestras), tal y como se observó en la respuesta glucémica de la G-1. Tanto la G-2 y G-3 tienen la capacidad de atrapar glucosa dentro de la matriz del alimento, produciendo una liberación de glucosa lenta y sostenida a través del intestino delgado; dicho comportamiento fue más pronunciado en la G-3. Esto puede estar relacionado con la FIS presente en las muestras, ya que ambas presentan un contenido similar de dicha fracción. La fibra dietética soluble produce una digestión y absorción de carbohidratos lenta, lo cual produce una respuesta glucémica e insulinémica baja (Jenkins y col., 1976; 1977). Este efecto de la fibra soluble sobre la respuesta glucémica es debido a la viscosidad de esta fracción (Wood y col.,

1990), ya que produce una disminución en el vaciamiento gástrico, así como en la accesibilidad de las enzimas amilolíticas al sustrato (Leclère y col., 1994; Slavin, 2005) y/o una lenta velocidad de difusión de los carbohidratos digeridos hacia el intestino. Además, otros factores que pueden producir diferencias entre las respuestas glucémicas de las muestras son las variaciones de los componentes de los alimentos, como lípidos, proteínas, FD, FI, ADL y AR. Por ejemplo, los lípidos reducen la respuesta glucémica porque retrasan el vaciado gástrico (Welch y col., 1987). Aunado a esto, el ADL, AR, los lípidos y proteínas estimula la secreción de GIP y GLP-1, las cuales producen la síntesis y secreción de insulina y la inhibición del vaciado gástrico (Wettergren y col., 1993; Imeryuz y col., 1997, Rachtman y col., 1997; Flint y col., 1998; Toft-Nielsen y col., 1999).

### **6.9 Efecto de los carbohidratos disponibles de las galletas en la respuesta glucémica de ratas sanas.**

Se realizó la evaluación de la respuesta glucémica de carbohidratos disponibles (3g/kg) de las tres galletas (Figura 11). Al grupo control se le administró 3 g/kg de glucosa. El nivel de glucosa en sangre del grupo control incrementó significativamente en los primero 15 minutos de la prueba (81.5 mg/dL), en los siguientes 15 minutos la concentración de glucosa disminuyó ligeramente (5.7 mg/dL). Esta disminución continuó hasta los 120 minutos en donde se alcanzó una concentración de glucosa de 100.7 mg/dL. En el caso de las tres galletas, la respuesta glucémica fue similar. En los primeros 15 minutos el incremento de glucosa entre la G-1 y G-2 fue muy similar (37 y 39 mg/dL, respectivamente), mientras que en la G-3, éste fue menor (28 mg/dL). El valor más



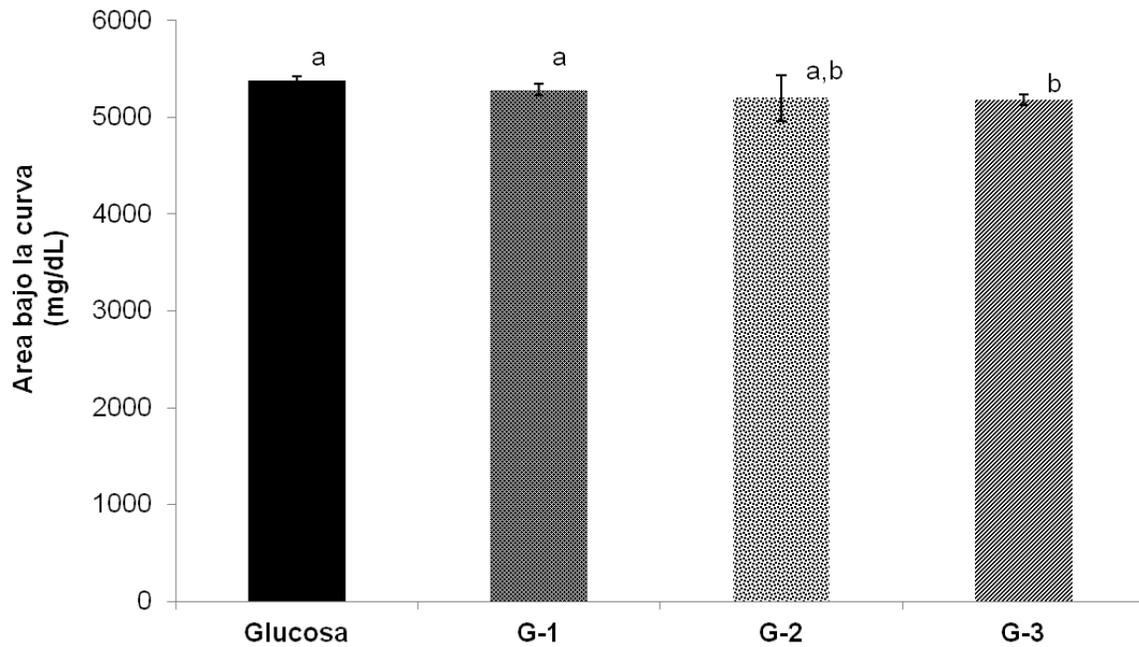
**Figura 11.** Respuesta de glucosa postprandial de ratas sanas alimentadas con galletas elaboradas con harinas de cereales integrales y harina de plátano en estado inmaduro. La dosis equivale a 3g/kg de carbohidratos disponibles. Al grupo control se le administro 3 g/kg de glucosa. Los valores son promedios de 4 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■) y control (◆). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro

alto de glucosa para G-1 lo presentó a los 30 minutos (141.4 mg/dL); la G-2 fue en el mismo tiempo, pero fue un valor más bajo (133 mg/dL), el cual se mantuvo hasta los 45 minutos; para el caso de la G-3 el nivel más alto de glucosa lo presentó a los 60 minutos (135. 2 mg/dL). Esto puede estar influenciado por el tipo de carbohidratos presentes en la muestras. Un contenido mayor de AR y FIS en la G-3 puede ser el responsable de la digestión lenta de la muestra, mientras que la diferencia entre la G-1 y G-2 puede estar ocasionada por el ADL, FIS, así como por la presencia de antocianinas en la G-2. Se ha reportado que las antocianinas son inhibidores de la actividad de  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa (Matsui y col., 2001; McDougall y col., 2005; Zhang y col., 2010), lo que pudiera estar influyendo en la baja digestibilidad de G-2.

A partir del minuto 45 no se presentaron diferencias significativas entre las tres muestras, y la disminución en el nivel de glucosa fue muy bajo (9-15 mg/dL). En general, la absorción de glucosa entre las tres muestras fue lenta y sostenida. Un alimento con este comportamiento induce una respuesta de insulina menor, lo cual es importante para evitar el estrés en el sistema de regulación de glucosa (Ludwing, 2002), el cual puede provocar daños en células, órganos y tejidos, así como ayudar a prevenir enfermedades relacionadas con el metabolismo de glucosa (resistencia a la insulina, diabetes y obesidad). Además, promueve la secreción de hormonas incretinas (GIP y GLP-1), que pueden disminuir el vaciamiento gástrico, incrementar el periodo de saciedad, estimular la secreción de insulina y la proliferación de células  $\beta$  (Arechavaleta, 2006).

En la Figura 12, se puede observar el valor del área bajo la curva de la respuesta glucémica de 3g/kg de carbohidratos disponibles. Se puede observar al igual que en las respuestas glucémicas (Figura 11), que el área más pequeña fue para G-3, seguida de G-2 y G-1. Al realizarse el cálculo del IG en base a las áreas bajo la curva de la respuesta de glucosa, se puede ver que existe una relación de este experimento con la tasa de hidrólisis y la pGI (*in vitro*). En el experimento *in vitro* la pGI más alta fue para G-1, seguida por G-2 y finalmente el valor más bajo fue para G-3; dichos valores son 116, 97 y 90, respectivamente, los cuales, corresponden a alimentos con IG alto. Sin embargo, como se puede observar en la figura 10, la glucosa produce un pico hiperglucémico, mientras que las tres muestras presentan un incremento lento y sostenido de los niveles de glucosa. Al tener esta característica, la concentración de glucosa no regresa a los niveles basales durante el tiempo que dura la prueba, lo que produce que las áreas bajo la curva sean iguales. Por el contrario, la glucosa presenta una caída de alrededor de 80 mg/dL en 15 minutos y a partir de los 45 minutos hasta los 120 minutos disminuyó a 56 g/dL por acción de la respuesta de insulina a las grandes cantidades de glucosa en sangre. Debido a esto es que el área bajo la curva es menor, lo que indica que no necesariamente un alimento de respuesta glucémica baja tiene un IG bajo.

A pesar de que hay evidencias suficientes sobre la utilidad potencial del IG en la salud y nutrición humana, en la actualidad no existe un consenso sobre su uso generalizado. En este sentido, ha sido cuestionado por algunos investigadores quienes lo consideran irrelevante y poco práctico (Barranco y col., 2004). También



**Figura 12.** Área bajo la curva de la respuesta glucémica de 3g/kg de carbohidratos disponibles de galletas elaboradas con cereales integrales y plátano en estado inmaduro. Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

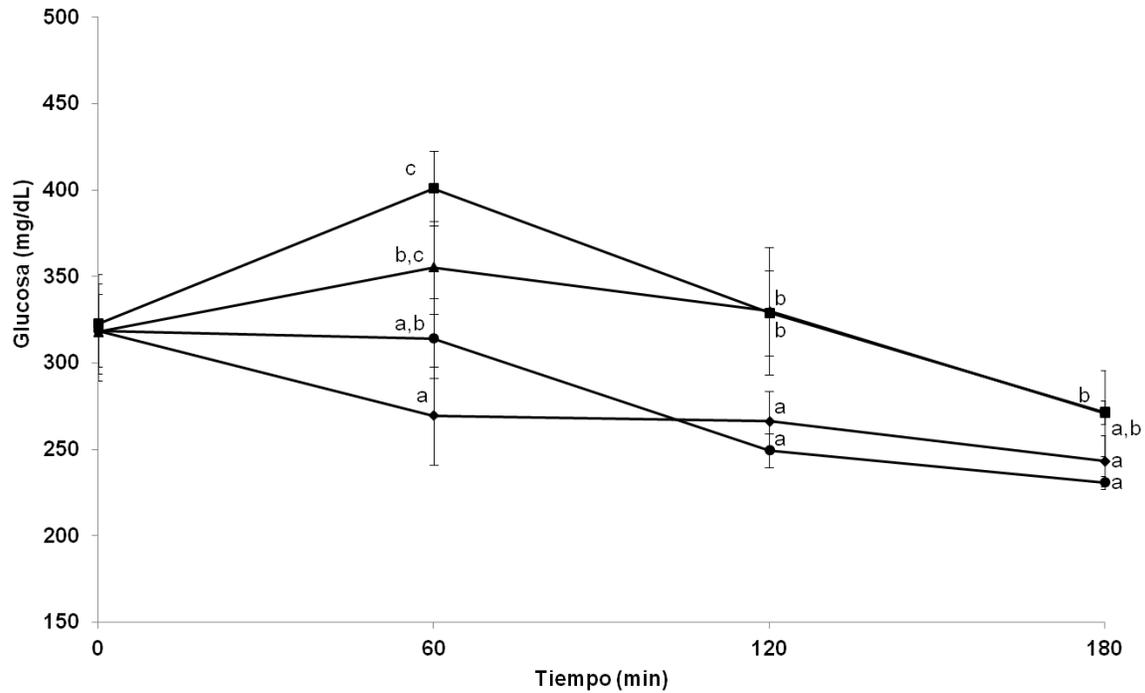
diversas organizaciones como la Asociación Americana de Diabetes no reconoce la función que pudiera tener el IG en la prevención y en el tratamiento de ciertas enfermedades (American Diabetes Associations, 2001). En este sentido, Rosen y col. (2009) proponen que el perfil de glucosa (PG) describe la respuesta glucémica mejor que el IG. El PG se define como la relación de la duración del incremento de la respuesta de glucosa postprandial entre el incremento del pico máximo de glucosa (min/mmol). Este concepto surgió como una alternativa para explicar el comportamiento de la respuesta de glucosa de productos elaborados con centeno, ya que se encontró que panes elaborados con diferentes variedades producían una demanda de insulina baja y una mayor sensación de saciedad, con respecto a pan blanco; sin embargo el IG que presentaban las muestras fue alto (Rosen y col., 2009; 2011a, 2011b).

En este mismo sentido, se han encontrado más controversias con respecto al IG en relación con el contenido de ADL de los alimentos, ya que se acepta de manera general que un alimento con ADL puede producir un IG bajo (Englyst y col., 2003). Sin embargo, este supuesto no siempre se cumple, tal y como se puede observar en este trabajo. Por lo que, se confirma que la respuesta glucémica no puede estar en función de un solo parámetro, sino de un conjunto de factores los cuales incluyen tanto las características propias del alimento, su composición química, así como el modelo en el que se evalúa.

## **6.10 Efecto de la dosis de galletas en la respuesta glucémica en ratas diabéticas.**

La respuesta glucémica de las tres galletas a la dosis de 0.85 g/kg en ratas diabéticas. A las se les indujo diabetes por medio de la administración de estreptozotocina (STZ). La STZ es un compuesto diabetogénico que actúan específicamente sobre las células- $\beta$  pancreáticas, inducen daño al ADN debido a la alquilación de sitios específicos de sus bases, generando radicales libres, como el óxido nítrico, durante su metabolismo. También se ha encontrado que este compuesto aumenta la generación de radical superóxido por el sistema xantina oxidasa de las células pancreáticas, de la misma forma que estimula la producción de peróxido de hidrógeno, causando la fragmentación del ADN en los islotes pancreáticos de ratas (Bolzan y col., 2002). Este daño pancreático, causado por agentes diabetogénicos, se conoce como “hipótesis de Okamoto” (Takasu y col., 1991).

En la Figura 13, se puede observar que a diferencia de los otros experimentos, los niveles de glucosa en sangre producidos por el consumo de la G-3 son mayores en comparación a G-1 y G-2. La concentración más alta de glucosa que tuvo G-3 fue a los 60 minutos (401 mg/dL), después de este tiempo dicha concentración disminuyó hasta 271 mg/dL a los 180 minutos. La G-2 incrementó el nivel de glucosa a los 60 minutos (37 mg/dL) pero este fue menor que el producido por G-1 (355 mg/dL), aunque no se presentaron diferencias significativas. A los 180 minutos el valor de glucosa fue igual para G-2 y G-3 (271g/dL). La G-1 presentó la respuesta glucémica más baja, a los 60 minutos la concentración de glucosa promedio fue ligeramente menor (314.2 mg/dL) sin

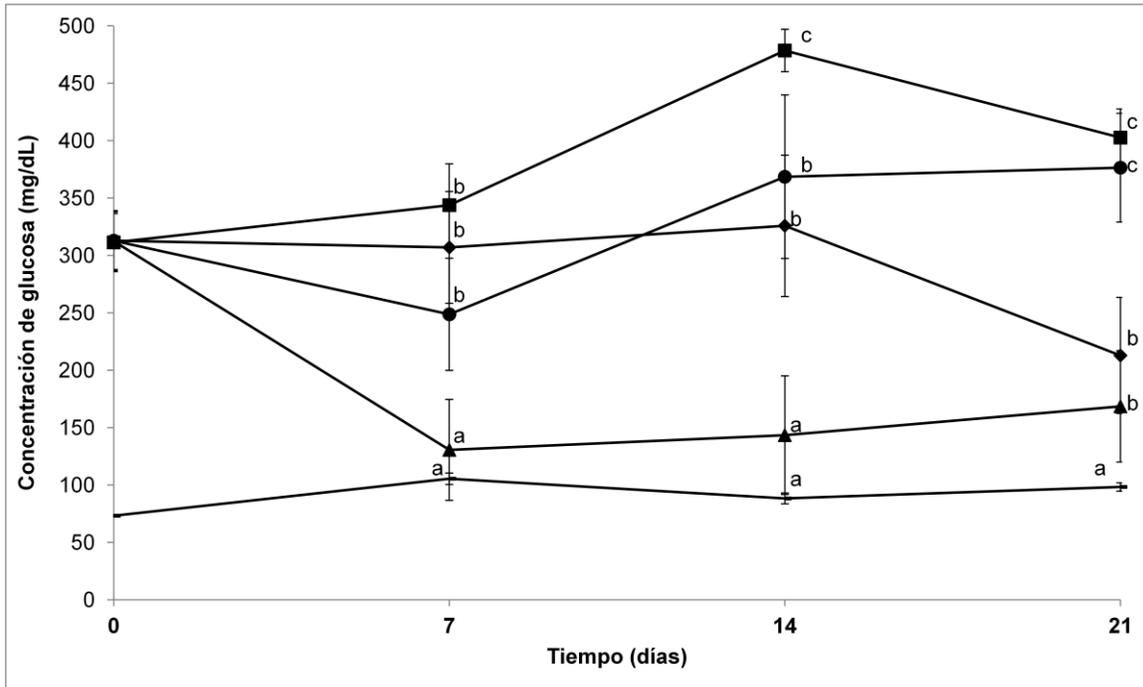


**Figura 13.** Respuesta glucémica postprandial de tres galleta elaboradas con harina de cereales integrales y plátano en estado inmaduro en ratas diabéticas. Las dosis equivale a 4 galletas de 15 g para una persona de peso promedio (70 kg). Los valores son promedios de 4 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■) y control (◆). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano en estado inmaduro. Al grupo control se le administró únicamente agua.

diferencias significativas en comparación a la concentración de glucosa en ayuno (318.8 mg/dL). La concentración de glucosa fue disminuyendo hasta alcanzar 230 mg/dL a los 180 minutos. Estos resultados son contrarios a los que se obtuvieron para ratas sanas, en donde la G-3 y G-2 no producen cambios significativos en la concentración de glucosa. En la diabetes, la absorción de los carbohidratos no se encuentra dañada, sino, como se ha dicho, es la síntesis, secreción y/o acción de la insulina la que se encuentra alterada. En este caso, el tipo de diabetes inducida a las ratas es del tipo 1, es decir la estreptozotocina destruye las células- $\beta$  pancreáticas. Como se ha mencionado, uno de los efectos benéficos que pueden estar asociados con una mejor respuesta glucémica en ratas sanas con la ingesta de G-3 y G-2 está en relación al contenido de AR, ADL y la secreción de hormonas incretinas, las cuales pueden promover una mejor respuesta insulinémica. En este caso, las células  $\beta$  están dañadas, las hormonas incretinas no pueden promover la síntesis de insulina de manera suficiente para que la glucosa pueda ser metabolizada por diferentes órganos y/o tejidos. Sin embargo, para poder explicar el comportamiento de G-1 es necesario realizar otros análisis para conocer el mecanismo por el cual no incrementa la concentración de glucosa en sangre en ratas diabéticas.

### **6.11 Evaluación del efecto antihiper glucémico de las galletas en ratas diabéticas**

Los valores de glucosa en ratas diabéticas durante la administración de las tres galletas (tres semanas) se presentan en la Figura 14. Para este experimento se



**Figura 14.** Concentración de glucosa de ratas diabéticas alimentadas con tres galletas elaboradas con harina de cereales integrales y plátano en estado inmaduro en ratas diabéticas. Las dosis (4 galletas de 15 g para una persona de peso promedio, 70 kg) se administró dos veces al día (10 y 17 h). Las ratas se mantuvieron con agua y alimento estándar *ad libitum*. Los valores son promedios de 7 ratas  $\pm$  error estándar. G-1 (●), G-2 (▲), G-3 (■), control positivo (♦) y control negativo (-). Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

utilizaron 5 grupos de ratas, un grupo de ratas sanas (control negativo) y cuatro (3 grupo para las muestras y un grupo como control positivo) a las que se les indujo diabetes por medio de la administración de estreptozotocina (STZ).

En la gráfica se puede observar que todos los grupos diabéticos iniciaron con una concentración de glucosa alta ( $\approx 300$  mg/dL), a excepción del control negativo (73.1 mg/dL). En la primera semana, los niveles de glucosa aumentaron para G-3 (32g/dL), mientras que para G-1 y G-2 estos niveles disminuyeron (64.1 mg/dL y 182 mg/dL, respectivamente), siendo significativos sólo para G-2. Para la segunda semana tanto G-1 como G-3 aumentaron la concentración de glucosa llegando a valores de 368.5 y 478.5 mg/dL, respectivamente. La G-2 incrementó ligeramente dicha concentración (13 mg/dL) pero siguió presentando el valor más bajo (143.4 mg/dL). En la tercera semana, la G-3 siguió con los valores más altos de glucosa (402.6 mg/dL), seguido de la G-1 (376.4 mg/dL). La G-2 presentó valores de 168.5 mg/dL. La concentración de glucosa en el control positivo se mantuvo constante durante las dos primeras semanas ( $\sim 300$  mg/dL), para la tercera semana estos niveles de glucosa disminuyeron (212.8 mg/dL) por el deterioro del sistema de homeostasis de glucosa. Esta misma disminución ocurre en el grupo de la G-3, se observó una disminución de la concentración de glucosa (76mg/dL). Como se observó, este grupo fue el que presentó los niveles más altos de glucosa, la dosis de G-3 no controló dichos niveles, y por el contrario, dos ratas de este grupo murieron antes de llegar a la tercera semana.

Una de las complicaciones de la diabetes es la cetoacidosis; las complicaciones derivadas de cetoacidosis pueden ser diversas tales como

hipotensión, dilatación gástrica, pancreatitis, infarto agudo de miocardio, accidentes cerebrovasculares, entre otros.. La cetoacidosis se produce por la deficiencia de insulina y los niveles altos de las hormonas contrareguladoras (e.g. glucagón) en el hígado y tejido adiposo, debido a que se liberan ácidos grasos libres y existe una saturación del ciclo de Krebs en el hígado lo que origina la formación de ácido acetoacético, ácido hidroxibutírico y acetona (Bracho, 2005). La acumulación de estos cuerpos cetónicos es lo que ocasiona la cetoacidosis.

Los valores de insulina se presentan en el Cuadro 101, en él se pueden observar que en los grupos de tratamiento, la insulina es ligeramente mayor al control positivo (0.03  $\mu\text{g/dL}$ ), siendo más pronunciado en la G-2 (0.41 $\mu\text{g/dL}$ ). Estos valores son muy bajos en comparación al control negativo (4.02  $\mu\text{g/dL}$ ). La insulina promueve la glucogénesis (síntesis de glucógeno) y lipogénesis (síntesis de lípidos) en el hígado, en ausencia de ella se produce un aumento de la gluconeogénesis (síntesis de glucosa a partir de precursores no glucídicos) y de la glucogénolisis (degradación de glucógeno) (Magee y Bhatt, 2001).

En ausencia de insulina, la actividad de lipoproteína lipasa disminuye. Esta enzima es la responsable de la hidrólisis de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés), lo cual produce ácidos grasos libres y glicerol para su utilización en músculo y tejido adiposo. Además, en presencia de niveles bajos de insulina hay un aumento en la actividad de la lipasa tisular, lo que causa hidrólisis de los triglicéridos presentes en músculo y tejido adiposo.

**Cuadro 11.** Concentración de colesterol, triglicéridos, HDL e insulina en ratas diabéticas alimentadas con galletas elaboradas con harinas integrales y plátano en estado inmaduro durante tres semanas

<b>Muestra</b>	<b>Colesterol*</b>	<b>Triglicéridos*</b>	<b>HDL*</b>	<b>Insulina**</b>
<b>G-1</b>	41.74±3.61 <sup>a</sup>	177.35±30.70 <sup>b</sup>	42.65±5.21 <sup>b</sup>	0.14±0.4 <sup>b</sup>
<b>G-2</b>	39.74±5.36 <sup>a</sup>	123.43±39.61 <sup>b</sup>	50.07±3.35 <sup>b</sup>	0.41±0.7 <sup>d</sup>
<b>G-3</b>	46.68±9.54 <sup>a</sup>	383.46±70.46 <sup>c</sup>	48.37±4.84 <sup>b</sup>	0.21±0.4 <sup>c</sup>
<b>Control positivo</b>	38.82±5.38 <sup>a</sup>	212.59±21.94 <sup>b</sup>	34.60±4.29 <sup>a</sup>	0.03±0.1 <sup>a</sup>
<b>Control negativo</b>	44.80±5.89 <sup>a</sup>	28.21±5.68 <sup>a</sup>	49.09±3.01 <sup>b</sup>	4.02±0.58 <sup>e</sup>

Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

HDL= High density lipoprotein; lipoproteínas de alta densidad.

\*mg/dL: \*\*ng/mL

Los valores representan la media de siete repeticiones ± error estándar.

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Los valores de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de alta densidad se presentan en el Cuadro 12. Los triglicéridos son mayores para G-3 (383.4 mg/dL), mientras que G-1, G-2 y el control positivo no presentan diferencias significativas. En cuanto al colesterol, no se presentaron diferencias significativas entre los grupos (~40 mg/dL). El HDL fue mayor para los tres grupos con tratamiento en comparación al control positivo, pero fue similar al control negativo.

Las HDL son aquellas lipoproteínas que transportan el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado. Debido a que las HDL pueden retirar el colesterol de las arterias y transportarlo de vuelta al hígado para su excreción, se les conoce como el colesterol “bueno”. Este es uno de los mecanismos por medio del cual las HDL evitan el riesgo de enfermedades cardiovasculares, las cuales son una de las principales complicaciones de la diabetes.

Otro de los síntomas de la diabetes es la pérdida de peso, debido a que no se pueden metabolizar totalmente los carbohidratos de la dieta, y por tanto se requiere energía para las actividades normales, la cual se toma de la energía almacenada en el organismo, proteínas principalmente. Por eso en las ratas diabéticas se observa una disminución de peso en los grupos G-1, G-3 y control positivo. Sin embargo, el grupo G-2 presentó una ganancia de peso, inclusive mayor al control negativo, lo cual es benéfico en un cuadro de diabetes (Cuadro 12).

Como se puede observar, el grupo de ratas que se les administró la G-2, presentó niveles de glucosa más bajos, una concentración de insulina mayor a los demás grupos y también mayor ganancia de peso. La insulina encontrada en el

grupo G-2 es bajo, para poder metabolizar la glucosa, y por lo tanto disminuir los niveles de glucosa en el grupo diabético es necesaria u concentraciones mayores de insulina, como se observa en el grupo de ratas sanas (control negativo). La ganancia de peso indica que de alguna manera los carbohidratos de la dieta fueron siendo asimilados por las ratas. Una de las posibles explicaciones es que se lleve a cabo la captación de glucosa en el músculo y tejido adiposo, pero que esta, no está en función de la insulina, y posiblemente se relacione con los compuestos fenólicos presentes en el maíz azul. Kim y col (2009) encontraron un comportamiento similar cuando administraron un extracto de seis hierbas medicinales a ratas diabéticas. Los resultados obtenidos en este trabajo fueron: 1) no existió un incremento en los niveles de insulina, 2) la concentración de glucosa en sangre disminuyó con respecto al grupo control, y 3) se obtuvo ganancia de peso. La acción más importante de la insulina es la estimulación del transporte de glucosa en las células. La familia de los transportadores GLUT son los encargados de que este proceso se realiza y está regulado por la insulina. Una disminución en la captación de glucosa en diabéticos es causada en parte por la pérdida de expresión de proteínas y RNA mensajero de GLUT4 (Sivitz y col 1981). En este trabajo, se encontró que los niveles de RNA mensajero de GLUT4 se incrementó con la infusión de hierbas medicinales. Aunque para conocer el mecanismo exacto es necesario realizar más investigación en este sentido. Estos extractos son una fuente importante de iridoides y flavonoides, los cuales pueden ser responsables de este efecto (Kim y col., 2009).

**Cuadro 12.** Peso de ratas diabéticas alimentadas con galletas elaboradas con harinas integrales y plátano en estado inmaduro durante tres semanas (g).

Las galletas fueron adicionadas con: G-1, maíz blanco; G-2, maíz azul y G-3, plátano inmaduro.

<b>Tratamiento</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Diferencia de peso</b>
<b>G-1</b>	296.22±9.68 <sup>a</sup>	250.36±21.10 <sup>a</sup>	37.78 ±13.10 (-) <sup>a</sup>
<b>G-2</b>	294.03±10.66 <sup>a</sup>	366.9±16.32 <sup>b</sup>	72.87±13.49 (+) <sup>c</sup>
<b>G-3</b>	281.54±8.39 <sup>a</sup>	243.76±17.81 <sup>a</sup>	45.87±9.68 (-) <sup>a</sup>
<b>Control positivo</b>	310.29±12.10 <sup>a</sup>	259.16±24.10 <sup>a</sup>	51.13±12.23 (-) <sup>a</sup>
<b>Control negativo</b>	313.80±8.30 <sup>a</sup>	363.64±11.20 <sup>b</sup>	49.84± (+) <sup>b</sup>

Los valores representan la media de siete repeticiones ± error estándar.

Letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

(+) peso ganado, (-) peso perdido.

## VII. Conclusiones

✓ Las galletas elaboradas con los cereales integrales (G-1 y G-2) y el plátano en estado inmaduro (G-3) presentaron un alto contenido de carbohidratos no digeribles (fibra dietética).

✓ El uso de maíz azul en la galleta G-2 incrementó el contenido de proteína y lípidos, lo cual, influyó junto con la fibra dietética en la velocidad de hidrólisis del almidón, ya que presentó el contenido más alto de almidón de digestión lenta.

✓ El maíz azul, también influyó en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, porque la galleta adicionada con esta harina (G-2) presentó los valores más altos.

✓ En general, la aceptación de las galletas fue buena, la galleta adicionada con harina de plátano presentó mayor preferencia entre los consumidores.

✓ La harina de plátano adicionado en una galleta (G-3) incrementó el contenido de AR, el cual influyó en una menor tasa de hidrólisis *in vitro* y predicción del índice glucémico, así como en una mayor producción de butirato en la fermentación de su fracción indigerible.

✓ La combinación de cereales que se realizó en las galletas con maíz azul (G-2) y plátano en estado inmaduro (G-3) logró tener un efecto anti-hiperglucémico en ratas sanas, siendo más notable en la muestra G-3.

✓ En ratas diabéticas, la galleta con maíz azul (G-2) produjo un efecto hipoglucémico debido a que los animales pudieron metabolizar los carbohidratos de la dieta, esto se reflejó en el incremento de peso; dicho proceso no estuvo en función de insulina, lo que sugiere que puede estar relacionado con un mecanismo alterno que involucra a los compuestos fenólicos (flavonoides)

## VIII. Bibliografía

- AACC, Dietary Fiber Technical Committee. **2001**. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 46:112–126.
- AACC, International. **1999**. Definition of whole grain. Published online at [www.aaccnet.org/definition/wholegrain.asp](http://www.aaccnet.org/definition/wholegrain.asp). AACC International, St. Paul, M.N.
- AACC, 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Tenth Edition. Vol. I y II
- Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria. **2010**. Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. Secretaría de Salud, México.
- Adom, K. K., Sorrells, M. E. and Liu, R.H. n. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 7825-7834.
- Adom, K. K. and Liu R. H. **2002**. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6182-6187.
- Adom, K. K. and Liu, R. H. **2005**. Rapid peroxy radical scavenging capacity (PSC) assay for assessing both hydrophilic and lipophilic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6572-6580.
- Agama-Acevedo E., Ottenhof, M-A., Farhat, I.A., Paredes-López, O., Ortíz-Cereceres, J. y Bello-Pérez, L.A. **2005**. Aislamiento y caracterización del almidón de maíces pigmentados. *Agrociencia*, 39: 419-429.
- Alberts, D. S., Einspahr, J., Rees-McGee, S., Ramanujam, P., Buller, M. K., Clark, L., Ritenbaugh, C., Atwood, J., Pethigal, P., Earnest, D., Villar, H., Phelps, J., Lipkin, M., Wargovich, M. and Meyskens, F. L. **1990**. Effects of dietary wheat bran fiber on rectal epithelial cell proliferation in patients with resectio for colorectal cancers. *Journal of the National Cancer Institute*, 82: 1280-1285.
- Alberts, D. S., Einspahr, J., Ritenbaugh, C., Aickin, Ml., Rees-McGee, S., Atwood, J., Emmerson, S., Mason-Liddil, N., Bettinger, L., Patel, J., Bellapralu, S., Ramanujam, P., Phelps, J. and Clark, L. **1997**. The effect of wheat bran fiber and calcium supplementation on rectal mucosal proliferation rates in patients with resected adenomatous colorectal polyps. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 6: 161-169.

- Álvarez, C. E. and Cambeiro, F. O. **2003**. Actividad biológica de los flavonoides. Acción frente al cáncer. *Bioquímica*, 22: 130-140.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K. and Gallagher, E. **2010**. Polyphenol composition and in vitro antioxidants activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119: 770-778.
- American Diabetes Association. **2004**. Hyperglycemic crises in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27: S94-102.
- American Diabetes Association. **2001**. Nutrition recommendations and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 24: S44-47.
- Anderson, J. W., Brinkman-Kaplan, V. L., Lee, H. and Wood, C.L. **1994**. Relationship of weight loss to cardiovascular risk factors in morbidly obese individuals. *Journal of the American College of Nutrition* 14: 256–261.
- Anderson, J. W., Hanna, T. J., Peng, X. and Kryscio, R.J. **2000**. Whole grain foods and heart disease risk. *Journal of the American College of Nutrition*, 19: 291S–299S.
- Anderson, J. W., Randles, K. M., Kendall, C. W.C. and Jenkins, D. J. A. **2004**. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: A quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*, 23: 5-17.
- Angioloni, A. and Collar, C. **2011**. Physicochemical and nutritional properties of reduced-caloric density high-fibre breads. *Food Science and Technology*, 44: 747-758.
- Anson, M. N., Havennar, R., Vaes, W., Coulier, L., Venema, K., Selinheimo, E., Bast, A. and Haenen, G. R. M. M. **2011**. Effect of bioprocessing of wheat bran in wholemeal wheat breads on the colonic SCFA production *in vitro* and postprandial plasma concentrations in men. *Food Chemistry*, 128: 404-409.
- AOAC, International. **2005**. Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. The Association, Gaithersburg, M.D.
- Aparicio-Saguilán, A., Sáyago-Ayerdi, S. G., Vargas-Torres, A., Tovar, J., Ascencio-Otero, T. A. and Bello-Perez L. A. **2007**. Slowly digestible cookies

- prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 175-181.
- Arai, S. **1996**. Studies of functional foods in Japan:state of the art. *Bioscience Biotechnology and Biochemical*, 60: 9-15.
- Arechavaleta, G. R. **2006**. El efecto fisiológico de las hormonas incretinas. *Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine*, 6: 581-585.
- Arts, M., Haenen G., Voss, H. P. and Bast, A. **2003**. Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 45-49.
- Ashwell, M. **2002**. Concepts of Functional Foods. ILSI Europe Concise Monograph Series. Belgium.
- Asp, N. G. **1994**. Nutritional classification of food carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59: S679–681
- Athayde, U. A. M., Correia, C. J. M., Arraes, M. G. Ribeiro M. T., Mchado, S. P. H. and Montenegro, N. I. **2009**. Formulation and physicochemical and sensorial evaluation of biscuit-type cookies supplemented with fruit powders. *Plant Food for Human Nutrition*, 64: 153-159.
- Atkinson, M., and Maclaren, N. **1994**. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*, 331:1 428–1436.
- Aurore, G., Parfait, B. and Fahrasmane, L. **2009**. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science and Technology*, 20: 78-91.
- Barranco, J., Espinal, G., Canela, A. y Bell, M. **2004**. Índices y respuestas glucémicas e insulínicas de mezclas de arroz con leguminosas (Moros). *Ciencia y sociedad*, 29; 301-320.
- Bell, S., Goldman, V., Bistrrian, B. R., Arnold, A. H., Ostrff, G., and Forse, R. A. **1999**. Effect of –Glucan from oats and yeast on serum lipids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39; 189-202.

- Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., Mendez-Montealvo, G. and Tovar, J. **2004**. In vitro digestibility of banana starch cookies. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59: 79-83.
- Beyer-Sehlmeyer, G., Gleis, M., Hartmann, E., Hugher, R., Persin, C., Bohm, V., Rowland, I., Schubert, R., Jahreis, G. and Pool-Zobel, B. L. **2003**. Butyrate is only one of several growth inhibitors produced during flore-mediated fermentation of dietary fibre sources. *British Journal Nutrition*, 90: 1057-1070.
- Bhattacharya, S., Dey, D. and Roy, S. S. **2007** Molecular mechanism of insulin resistance. *Journal of Biosciences*, 32: 405–413
- Braaten, J. T., Scott, F. W., Wood, P. J., Riedel, K. D., Wolynetz, M. S. and Collins, M. W. **1994**. High b-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin in subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetes Medical*, 11: 312-318.
- Braaten, J. T., Wood, P. J., Scott, F. W., Riedel, K. D., Poste, L. M., and Collins, M. W. **1991**. Oat gum lowers glucose and insulin after an oral glucose load. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53: 1425–1430.
- Bravo, L., Englyst, H. N. and Hudson, G. J. **1998**. Nutritional evaluation of carbohydrates in the Spanish diet: Non-starch polysaccharides and in vitro digestibility of breads and breakfast products. *Food Research International*, 31: 129-135.
- Brennan, C. S. and Cleary, L. J. **2005**. The potential use of cereal (1-3, 1-4)- $\beta$ -D-glucan as functional food ingredients. *Journal of Cereal Science*, 42: 1–13.
- Briani, G., Bruttomesso, D., Bilardo, G., Giorato, C., Duner, E., Iori, E., Calderon, B. A. M., Rojas-Martínez, M. E., Islas-Rubio, A. R and Cabrera-Chávez, F. **2010**. Gluten-free breads and cookies of raw and popped amaranth flours with attractive technological and nutritional qualities. *Plant Foods and Human Nutrition*, 65: 241-246.
- Brownlee, I. A., Moore, C., Chatfield, M., Richardson, D. P., Ashby, P., Kuznesof, S. A., Jebb, S. A. and Seal, C. J. **2010**. Markers of cardiovascular risk are not changed by increased whole-grain intake: the WHOLE heart study, a

- randomised, controlled dietary intervention. *British of Journal Nutrition*, 104: 125–134.
- Buttris, J. L. and Stokes, C. S. **2008**. Dietary fibre and health: an overview. *Nutrition Bulletin*, 33: 186-200.
- Cannet-Romero, R., Ledesma-Osuna, A. I., Robles-Sanchez, M. R., Morales-Castro, S. R., Leon-Martinez, L. and Leon-Galvez, R. **2004**. Caracterización de galletas elaboradas con cascarilla de orujo de uva. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54: 93-99.
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G. and Oomah, B. D. **2002**. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6975-6980.
- Chandalia, M., Garg, A., Lutjohann, D., von Bergmann, K., Grundy, S. M. and Brinkley L. J. **2000**. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 342: 1392–1398.
- Chávez M. M., Hernández M. and Roldan J. A. **1992**. Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Comisión Nacional de Alimentación del Instituto Nacional de Nutrición.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S. and Webb, C. **2002**. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of food Microbiology*, 79: 131-141.
- Cheynier, V., **2005**. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 223S-229S.
- Chopra, M. U., Mc Loone M., O'Neill, N. and Williams, D. I. **1996**. Fruit and vegetable supplementation-effect on ex-vivo LDL oxidation in humans, In Natural Antioxidant and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention, eds Kumpulaine, J. T., Salonen, J. P. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, UK, pp 151-55.
- Ciaraldi, P. **2009**. Cellular mechanisms of insulin action. In: Principles of Diabetes Mellitus, Ed. Poretsky, L. Springer, New York. pp

- Cordario, R. A. **2005**. Type 2 Diabetes, pre-diabetes, and the metabolic syndrome. The primary care guide to diagnosis and management. Humana Press Inc, New Jersey.
- Cummings, J. H. **1995**. Short chain fatty acids. In Human Colonic Bacteria: Nutritional, Physiological and Pathological Aspects, eds. G. T. Macfarlane and G. R. Gibson, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 101-130
- Cummings, J. H. and Stephen, A. M. **2007**. Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61: 5-18.
- Czerniak, B., Herz, F. and Koss, L. **1987**. DNA distribution pattern in early gastric carcinomas. *Cancer*, 59: 113.
- da Mota, R. V., Lajolo, F. M., Ciacco, C. and Cordenunsi, B. R. **2000**. Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Starke*, 52: 63–68.
- Davido, D. J., Richter, F., Boxberger, F., Stahl, A., Menzel, T., Lührs, H., Löffler, S., Dusel, G., Rapp, U. R. and Scheppach, W. **2001**. Butyrate and propionate downregulate ERK phosphorylation in HT-29 colon carcinoma cells prior to differentiation. *European Journal of Cancer Prevention*, 10: 313-321.
- De la Parra, C., Serna, S. S. O. and Liu, R. H. **2007**. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidants activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 4177-4183.
- Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Saldivar, S. O. S. and Talcott, S. T. **2006**. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. *Food Research International*, 39: 696-703.
- Dickerson, G. W., **1990**. Blue Corn Production and Marketing in New Mexico, New Mexico Co-op Ext. Serv. Guide H-226,
- Diplock, A. T., Aggett, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B., and Roberfroid, M. B. **1999**. Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81:1–27.

- Dong, J., Cai, F., Shen, R. and Liu, Y. **2011**. Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Chemistry*, 129: 1066-1071.
- Drewnowski, A. and Popkin, B. M. **1997**. The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutrition Reviews*, 55: 31-43
- Eastman, J. and Lee, G. **2005**. Whole grains in extruded products. *Cereal Food World*, 50: 168-172.
- Edwards, C. A., Johnson, I. T. and Read, N. W. **1988**. Do viscous polysaccharides slow absorption by inhibiting diffusion or convection? *European Journal of Clinical Nutrition*, 42: 307-312.
- Ells, L. J., Seal, C. J., Kettlitz, B., Bal, W., and Mathers, J. C. **2005**. Postprandial glycaemic, lipaemic and haemostatic responses to ingestion of rapidly and slowly digested starches in healthy young women. *British Journal of Nutrition*, 94: 948-955.
- Englyst, H. N., and Cummings, J. H. **1986**. Digestion of the carbohydrates of banana (*Musa paradisiaca sapientum*) in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*, 44: 42–50.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., and Cummings, J. H. **1992**. Classification and measurement of nutritional important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46: S33-S50.
- Englyst, K. N., Vinoy, S., Englyst, H. N., and Lang, V. **2003**. Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *British Journal of Nutrition*, 89: 329-339.
- Ernst, E. **2002**. The risk-benefit profile of commonly used herbal therapies: ginkgo, St. John's Wort, ginseng, echinacea, saw Palmetto, and Kava. *Annals of Internal Medicine*, 136: 42–53.
- Escobar, B., Estévez, A. A. M., Fuentes, G. C. and Venegas, F. D. **2009**. Uso de harina de cotiledón de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) como fuente de proteína y fibra dietética en la elaboración de galletas y hojuelas fritas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59: 191-198.

- Escribano-Bailón, M. T., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. **2004**. Anthocyanins in cereals. *Journal of Chromatography A*, 1054: 129-141.
- Escudero, A. E. and González, S. P. **2006**. La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21: 61-72.
- Espinosa, T. E., Mendoza, C. M. C., Castillo, G. F., Ortiz, C. J., Delgado, A. A. y Carrillo, S. A. **2009**. Acumulación de antocianinas en pericarpio y aleurona del grano y sus efectos genéticos en poblaciones criollas de maíz pigmentado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32: 303-309.
- Faisant, N., Buleon, A., Colonna, P., Molis, C., Lartigue, S., Galmiche, J. P., and Champ, M. **1995a**. Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: Structural features of resistant starch. *British Journal of Nutrition*, 73: 111–123.
- Faisant, N., Champ, M., Colonna, P., Buleon, A., Molis, C., Langkilde, A. M., Schweizer, T., Flourie, B., and Galmiche, J. P. **1993**. Structural features of resistant starch at the end of the human small intestine. *European Journal of Clinical Nutrition*, 47: 285–296.
- FAO/OMS. **2003**. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation. Organización Mundial de la Salud, Geneva (World Health Organization technical report series; 916).
- Fardet, A., Hoebler, C., Baldwint, P. M., Bouchet, B., Gallant, D. J., and Barry, J. L. **1998**. Involvement of the protein network in the in vitro degradation of starch from spaghetti and lasagne: a microscopic and enzymatic study. *Journal of Cereal Science*, 27:133–145.
- Fardet, A., Rock, E. and Rémésy, C. **2008**. Is the in vitro antioxidant potential of the whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? *Journal of Cereal Science*, 48: 258-276.
- Fasolin, L. H., Almeida, G. C., Castanho P. S. and Netto-Oliveira, E. R. **2007**. Cookies produced with banana meal: chemical, physical and sensorial evaluation. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27: 524-529.
- Ferguson, M. J. and Jones, G. P. **2000**. Production short-chain fatty acids following in vitro fermentation of saccharides, saccharides sterd, fructooligosaccharides,

- starches, modified starches and non-starch polysaccharides. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 80:166-170.
- Ferro-Luzzi, A. and Martino, L **1996**. Obesity and physical activity. *Ciba Foundation Symposium*, 201: 207--221.
- FitzGerald, R. J. and Meisel, H. **2000**. Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *British Journal of Nutrition*, 84: S33–S37.
- Flint, A., Raben, A., Astrup, A. and Holst, J. J. **1998**. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *Journal of Clinical Investigation*, 101: 515–520.
- Flint, A, Raben, A., Astrup, A. and Holst, J. J. **1998** Glucagon like peptide-1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *Journal of Clinical Investigations*, 101: 515–520.
- Foss, F., Veillette, A., Sartor, O., Rosen, W. and Bolen, J. **1989**. Alteration in the expression of pp60<sup>src</sup> and p56<sup>lck</sup> associated with butyrate-induced differentiation of human colon carcinoma cells. *Oncogene Research*, 5: 13-19.
- Fraser, G. E. **1999**. Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all-cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 532-538.
- Fuessl, H. S., Williams, G., Adrian, T. E. and Bloo, R. **1987**. Guar sprinkled on food: effect on glycaemic control, plasma lipids and gut hormones in non-insulin dependent diabetic patients. *Diabetic Medical*, 4: 463-468.
- Fu, L., Xu, B.-T., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q. and Li, H.-B. **2011**. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129: 345-350.
- Gamet, L., DaVaind, D., Denis-Pouxviel, C., Ramsey, C. and Murat, J. C. **1992**. Effects of short-chain fatty acids on growth and differentiation of the human colon cancer cell line HT 29. *International Journal of Cancer*, 52: 286–289.
- García, L. I. N. **2003**. Caracterización fisicoquímica y funcional de los residuos fibrosos de mando criollo (*Manguífera indica*. L) y su incorporación en galletas. Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica de la Mixteca.

- García-Peris, P., Bretón-Lesmes, I., De la Cuerda-Compes, C., Camblor-Álvarez, M. **2002**. Metabolismo colónico de la fibra. *Nutrición Hospitalaria*, 17: 11-16.
- Garsetti, M., Vinoy, S., Lang, V., Holt, S., Loyer, S. and Brand-Miller, J. **2005**. The glycemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: relationships to in vitro starch digestibility. *Journal of the American College of Nutrition*, 21:441-447.
- German, J. B., and Watkins, S. M. **2004**. Metabolic assessment, a key to nutritional strategies for health. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 541–549.
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E. **2003**. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical and Engineered Journal*, 14: 217-225
- Goke, R., Larsen, P. J., Mikkelsen, J. D. and Sheikh, S. P. **1995**. Distribution of GLP-1 binding sites in the rat brain: evidence that exendin is a ligand of brain GLP-1 sites. *European Journal of Neuroscience*, 7: 2294–2300.
- Górecka, D., Korczak, J., Konieczny, P., Hes, M., and Flaczyk, E. **2005**. Adsorption of bile acids by cereal products. *Cereal Foods World*, 50: 176–178.
- Goñi I., García-Díaz, L., Mañas, E. and Saura-Calixto, F. **1996**. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. *Food Chemistry*, 56: 445-449.
- Gordon, M. H. **1990**. The mechanism of antioxidant action in vitro. In: B.J.F. Hudson (Ed.), *Food antioxidants* Elsevier Applied Science, London, pp. 1–18.
- Goswami, B. and Borthakur, A. **1996**. Chemical and biochemical aspects of developing culinary banana (*Musa ABB*) 'Kachkal'. *Food Chemistry*, 55: 169-172.
- Granfeldt, Y., Björck, I., Drews, A. and Tovar, J. **1992**. An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *European Journal of Neuroscience*, 46: 649–660.
- Gross, J. **1987**. Anthocyanins, In: *Pigments in Fruits*. New York. pp 59-63.
- Varela, G. y Grotiuz, G. **2006**. Fisiología y Metabolismo Bacteriano, In: *Temas de bacteriología y virología*. Ed. Departamento de Bacteriología y virología, Instituto de Higiene. Universidad de Medicina de Montevideo, FEFMUR, Montevideo, Argentina. pp. 43-57.

- Hague, A., Díaz, G. D., Hicks, D. J., Krajewski, S., Reed, J. C. and Paraskeva, C. **1997**. bcl-2 and bak may play a pivotal role in sodium butyrate-induced apoptosis in colonic epithelial cells; however overexpression of bcl-2 does not protect against bak-mediated apoptosis. *International Journal of Cancer*, 72, 898–905.
- Hague, A., Manning, A. M., Hanlon, K. A., Huschtscha, L. I., Hart, D. and Paraskeva, C. **1993**. Sodium butyrate induces apoptosis in human colonic tumour cell lines in a p53-independent pathway: implications for the possible role of dietary fiber in the prevention of large bowel cancer. *International Journal of Cancer*, 55: 498-505.
- Harris, K. A. and Kris-Etherton, P. M. **2010**. Effects of whole grains on coronary heart disease risk. *Current Atherosclerosis Reports*, 12: 368-376.
- Han, J. J., Janz, J. A. M. and Gerlat, M. **2010**. Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Research international*, 43: 627-633.
- Hashimoto, N., Noda, T., Kim, S.-J., Islam, S. Z.I., Yamauchi, H., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Suzuki, T., Han, K.-H. and Fukushima, M. **2009**. Yam contributes to improvement of glucose metabolisms in rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64:193-198.
- Heerdt, B. G., Houston, M. A. and Augenlicht, L. H. **1994**. Potentiation by specific short-chain fatty acids of differentiation and apoptosis in human colonic carcinoma cell lines. *Cancer Research*, 54: 3288–3293.
- Heerdt, B. G., Houston, M. A. and Augenlicht, L. H. **1997**. Short-chain fatty acid-initiated cell cycle arrest and apoptosis of colonic epithelial cells is linked to mitochondrial function. *Cell Growth and Difference*. 8: 523 -532
- Heredia, A., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R. and Rodríguez, R. **2002**. Fibra Alimentaria. Biblioteca de ciencias, Madrid. pp. 1–117.
- Hernández-Nava, R. G., Berrios, J. De J., Pan, J., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L. A. **2009**. Development and characterization of spaghetti with high resistant starch content supplemented with banana starch. *Food Science and Technology International*, 15: 73-78.

- Hernández-Uribe, J. P., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Tovar, J. and Bello-Pérez, L. A. **2007**. Chemical composition and in vitro starch digestibility of pigmented corn tortilla. *Journal Science and Food Agricultural*, 87: 2482-2487.
- Herrera, E.; Jimenez, R.; Aruoma, O. I.; Hercberg, S.; Sanchez-Garcia, I.; Fraga, C. **2009**. Aspects of antioxidant foods and supplements in health and disease. *Nutrition Reviews*, 67: S140-S144.
- Higgins, P. J. and Ryan, M. P. **1991**. p52 (PAI-1) and actin expression in butyrate-induced flt revertants of v-ras-transformed rat kidney cells. *Biochemical Journal*, 279: 883-890.
- Hill, J. O and Prentice, A. M. **1995**. Sugar and body weight regulation. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:264-273.
- Howart, N. C., Saltzman, E. and Roberts, S. B. **2001**. Dietary fiber and weight regulation. *Nutrition Reviews*, 59:129-139.
- Howe, G. R., Benito, E., Casetelleto, R., Cornée, J., Esteve, J., Gallagher, R. P., Iscovich, J. M., Deng-ao, J., Kaaks, R., Kune, G. A., Kune, S., L'Abbé, K. A. L., Lee, H. P., Lee, M., Miller, A. B., Peters, R. K., Potter, J. D., Riboli, E., Slattery, M. L., Trichopoulos, D., Tuyns, A., Tzonou, A., Whittemore, A. S., Wu-Williams, . H. and Shu, Z. **1992**. Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies. *Journal of the National Cancer Institute*, 84: 1887-1896.
- Hughes, R., Magee, E. A. M. and Bingham, S. **2000**. Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 1: 51-58.
- Hurs, H. and Martin, J. **2005**. Low-carb and beyond: the health benefits of inulin. *Cereal Food World*, 50: 57-60.
- Hussein, M. R. **2005**. Ultraviolet radiation and skin cancer: molecular mechanisms. *Journal of Cutaneous Pathology*, 32: 191–205
- Hyun, J. W. and Chung, H. S. **2004**. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G2/M phase and induction of apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52; 2213-2217.

- Imeryuz, N., Yegen, B. C., Bozkurt, A., Coskun, T., Villanueva-Penacarrillo, M. L. and Ulusoy, N. B. **1997**. Glucagon-like peptide- 1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *American Journal of Physiology*, 273: G920–G927.
- Jacobs, D. R., Meyer, K. A., Kushi, L. H. and Folsom, A. R. **1998**. Wholegrain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 248–257.
- Jacobs, D. R. Jr, and Gallaher D. D. **2004**. Whole grain intake and cardiovascular disease: a review. *Current Atherosclerosis Report*, 6: 415–423.
- Jenkins, D. J., Kendall, C. W., McKeown-Eyssen, G., Josse, R. G., Silverberg, J., Booth, G. L., Vidgen, E., Josse, A. R., Nguyen, T. H., Corrigan, S., Banach, M. S., Ares, S., Mitchell, S., Emam, A., Augustin, L. S., Parker, T. L. and Leiter, L. A. **2008**. Effect of a low glycemic index or a high cereal fiber diet on type 2 diabetes: a randomized trial. *Journal of the American Medical Association*, 300: 2742–2753.
- Jenkins, D. J., Kendall, C. W., Vuksan V., Vidgen, E., Parker, T., Faulkner, D., Mehling, C. C., Garsetti, M., Testolin, G., Cunnane, S. C., Ryan, M. A. and Corey, P. N. **2002**. Soluble fiber intake at a dose approved by the US Food and Drug Administration for a claim of health benefits: serum lipid risk factors for cardiovascular disease assessed in a randomized controlled crossover trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75: 834-839.
- Jenkins, C. L. D., Lewis, D., Bushel, R., Belobrajdic, D. P. and Bird, A. R. **2011**. Chain length of cereal fructans isolated from wheat stem and barley grain modulates in vitro fermentation. *Journal of Cereal Science*, 53:188-191.
- Jenkins, D. J., Leeds, A. R., Gassul, M. A., Cochet, B. and Alberti, K. G. M. M. **1977**. Decrease in postprandial insulin and glucose concentrations by guar and pectin. *Annual International Medical*, 86: 20-23.
- Jenkins, D. L., Wolever, T. M., Collier, G. R., Ocana, A., Ro, A. V., Buckley, G., Lam, Y., Mayer, A. and Thompson, L. U. **1987**. Metabolic effects of a low-glycemic-index diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 46: 968-975.

- Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Jenkins, A., Brighenti, F., Vuksan, V., Rao, A. V., Cunnane, S. C., Ocana, A., Corey, P., Vezina, C., Connelly, P., Buckley, G. & Patten, R. **1991**. Specific types of colonic fermentation may raise low-density-lipoprotein cholesterol concentrations. *American Journal of Clinical Nutrition* 54: 141-147.
- Jensen, M. K., Koh-Banerjee, P., Hu, F. B., Franz, M., Sampson, L., Gronbak, M. and Rimm, E. R. **2004** Intakes of whole grains, bran, and germ and the risk of coronary heart disease in men. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80: 1492–1499.
- Jiménez-Escrig, A., Rincón, M., Pulido, R., and Saura-Calixto, F. **2001**. Guava fruit as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5489–5493.
- Joklik, W. K., Willett, H. P., Amos, D. B., Wilgert, C. M. **1994**. Zinsser Microbiología. 20ª ed. BsAs. Panamericana;
- Jones, M. J. **2006**. Grain-based foods and health. *Cereal Food World*, 51: 108-113.
- Juárez-García, E., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S. G., Rodríguez-Ambríz, S. L., and Bello-Pérez, L. A. **2006**. Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61: 131–137.
- Katcher, H. I., Legro, R. S., Kunselman, A. R., Gillies, P. J., Demers, L. M., Baskaw, D. M. and Kris-Etherton, P. M. **2008**. The effects of a whole grain-enriched hypocaloric diet on cardiovascular disease risk factors in men and women with metabolic syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition* 87: 79–90.
- Kay, R. M. **1982**. Dietary fiber. *Journal of Lipid Research*, 23: 221–242.
- Kelly, S. A., Summerbell, C. D., Brynes, Whittaker, V. and Frost, G. **2007**. Wholegrain cereals for coronary heart disease. *Cochrane Database of Systematic Review*, 2: 50-55.
- Kendall, C. W. C., Esfahani, A. and Jenkins, D. J. A. **2010**. The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloid*, 24, 42–48.
- Kendall, C. W., Augustin, L. S., Emam, A., Josse, A. R., Saxena, N., Jenkins, D. J. **2006**. The glycemic index: methodology and use. Nestle Nutrition Institute

- Workshop Series: Clinical and Performance Program, 11, 43–53, discussion 53–56.
- Kent, N. L. and Evers, A. D. **1994**. Technology of cereals: An introduction for students of food science and agriculture. Woodhead Publishing, Oxford England, New York.
- Kim, J-O., Kim, K.-S., Lee, G.-D. and Kwon, J.-H. **2009**. Antihyperglycemic and antioxidative effects of new herbal formula in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 12: 728-735.
- Kochar, J., Gaziano, M. and Djoussé.L. **2011**. Breakfast cereals and risk of hypertension in the Physician's healthy study I. *Clinical Nutrition*, 34; 1-4.
- Kulp, K. and Ponte, J. G. **2000** Handbook of Cereal Science and Technology, 2nd eds. Marcel Dekker, New York
- Lairon, D. **1997**. Soluble fiber and dietary lipids. *Advances Experimental in Medicine and Biology*, 427: 99-108.
- Larrauri, J. A., Goñi, I., Martín-Carrón, N., Rupérez, P., and Saura-Calixto, F. **1996**. Measurement of health-promoting properties in fruit dietary fibres: Antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71: 515–519.
- Lassoudiere, A. **2007**. Le bananier et sa culture. France: Editions QUAE.
- Leclere, C. J., Champ M, Boillot J, Guille, G., Lecannu, G., Molis, C., Krempf, M., Delort-Laval J. and Galmiche, J. P. **1994**. Role of viscous guar gums in lowering the glycemic response after a solid meal. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59: 914-921.
- Leu, J. P. and Zonszein, J. **2009**. Diagnostic criteria and classification of diabetes. In: Principles of Diabetes Mellitus, Ed. Poretzky, L. Springer, New York. pp. 107-115.
- Lewis, C. J., Park, Y. K., Dexter, P. B. and Yetley, E. A. **1992**. Nutrient intakes and body weights of persons consuming high and moderate levels of added sugars. *Journal of American Dietetic Association*, 92: 708-713.
- Liljeberg, H. G. M., Akerberg, A. K. E. and Björck, I. M. E. **1999**. Effect of the glycemic index and content of indigestible carbohydrates of cereal-based

- breakfast meals on glucose tolerance at lunch in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69: 647-655.
- Liu, S., Stampfer, M., Hu, F. B., Giovannucci, E., Rimm, E., Manson, J., Hennekens, C. and Willett, W. **1999**. Whole-grain consumption and risk of coronary heart disease: results from the Nurses' Health Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 412–419.
- Liu, C., Blount, J. W., Steele, C. L. and Dixon, R. A. **2002**. Bottlenecks for metabolic engineering of isoflavone glycoconjugates in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America*, 99: 14578–14583.
- López-Martínez, L. X., Oliart-Ros, R., Valerio-Alfaro, G., Lee, C.-H., Parkin, K. L. and Garcia, H.S. **2009**. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Science and Technology*, 42:1187-1192.
- Ludwig, D. S. **2002**. The glycemic index: Physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *Journal of American Medical Association*, 18: 2414-2423.
- Lund, E. K. **1989**. Effect of oat gum on the physical properties of the gastrointestinal contents and on the uptake of C-galactose and cholesterol by rat small intestine *in vitro*. *British Journal Nutrition*, 62: 91-101.
- Maathuis, A. Hoffman, A., Evans, A., Sanders, L. and Venema, K. **2009**. The effect of the undigested fraction of maize products on the activity and composition of the microbiota determined in a dynamic *in vitro* model of the human proximal large intestine. *Journal of the American College of Nutrition*, 28: 657-666.
- Macfarlane, G. T., Gibson, G. R., Drasar, B. S. and Cummings, J. H. **1995**. Metabolic significance of the gut microflora. In: *Gastrointestinal and Oesophageal Pathology*. Ed. Whitehead, R. Edinburgh: Churchill Livingstone. pp. 249–274
- Maga, J. A. and Liu, M. B. **1993**. Hopi blue corn extrusion. *Development in Food Science*, 32: 983–986.

- Magee, M. and Bhatt, B. **2001**. Management of descompensated diabetes: Diabetic Ketoacidosis and Hyperglycemic Hiperosmolar Syndrome. *Critical Care Clinics*, 17: 75-106.
- Maki, K. C., Beiseigel, J. M., Jonnalagadda, S. S., Gugger, C. K., Reeves, M. S., Farmer, M. V., Kaden, V. N. and Rains, T. M. **2010**. *Journal of the American Dietetic Association*, 110: 205–214.
- Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. and Remesy, C. **2005**. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, S230–S242.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., and Jimenez, L. **2004**. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727–747.
- Martínez, J. I. and Villezca, B. P.A. **2003**. La alimentación en México: un estudio a partir de la encuesta nacional de ingresos y gastos de los hogares. *Revista de información y análisis*, 21:26-37.
- Mataix-Verdú, J.; Mañas-Almendros, M.; Llopis-González, J.; Martínez de Victoria, Muñoz, E.; Juan Sánchez, J and Borregón, Martínez, A. **1998** Tabla de composición de alimentos españoles 3ª ed. Ed. Universidad de Granada. Granada.
- Matsui, T., Ueda, T., Oki, T., Sugita, K., Terahara, N. and Matsumoto, K. **2001**. a-glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:1948-1951.
- Mazza, G. **1995**: Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35: 341-371.
- McDougall, G. J., Shpiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart. **2005**. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit a-amylase and a-glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2760-2766.
- McKevith, B. **2007**. Nutritional aspects of cereals. *Nutrition Bulletin*, 29: 111-142.
- Meisel, H. **1997**. Biochemical properties of bioactive peptides derived from milk proteins: potential nutraceuticals for food and pharmaceutical applications. *Livestock Production Science*, 50:125–138.

- Melnikova, V. O. and Ananthaswamy, H. N. **2005**. Cellular and molecular events leading to the development of skin cancer. *Mutation Research*, 571:91-106.
- Mermelstein, N. H. **2011**. Analyzing for dietary fiber. *Food Technology*, 65; 56-60.
- Méndez-Montealvo, G., Solorza-Feria, J., Velázquez del Valle, M., Gómez-Montiel, N. and Bello-Pérez, L.A. **2005**. Chemical composition and calorimetric characterization of hybrids and varieties of maize cultivated in México. *Agrociencia*, 39: 267-274.
- Milner, J. A. **2000**. Functional foods: the US perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1654S–1659S.
- Morris, J. N., Mar, J. W. and Clayton, D. G. **1977**. Diet and heart: a postscript. *British Medical Journal*, 19: 1307-1314.
- Mozaffarian, D., Kumanyika, S. K., Lemaitre, R. N., Olson, J. L., Burke, G. L. and Siscovick, D. S. **2003**. Cereal, fruit, and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease in elderly individuals. *Journal of American Medical Association*, 289: 1659-1666.
- Musch, M. W., Bookstein, C. and Xie, Y. **2001**. SCFA increase interfinal Na absorption by induction of NHE3 in rat colon and human intestinal C2/bbe cells. *American Journal of Physiology*, 280: G687-693.
- Nauck, M. A., Niedereihholz, U., Ettl, R., Holst, J. J., Orskov, C., Ritzel, R. and Schmiegel, W. H. **1997**. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *American Journal of Physiology*, 273: E981-E988
- Negri, E., La Vecchia, C., Pelucchi, C., Beertuzzi, M. and Tavani, A. **2003**. Fiber intake and risk of nonfatal acute myocardial infarction. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57: 464-470.
- Nettleton, J. A., Steffen, L. M., Loehr, L. R., Wayne, D., Rosamond, D. W. and Folsom, A. R. **2008**. Incident heart failure is associated with lower whole-grains intake and greater high-fat dairy and egg intake in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Journal of American Dietetic Association*, 108: 1881-1887.
- Nestle, **2011**. Cereales integrales, beneficios íntegros. pp.1-10.

- Norton, RA. **1999**. Inhibition of aflatoxin B-1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by anthocyanidins and related flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 1230-1235.
- Olano-Martin, E., Mountzouris, K. C., Gibson, G. R. and Rastall, R. A. **2000**. *In vitro* fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria. *British Journal Nutrition*, 83: 247-255.
- OMS. **2011**. Estadísticas Sanitarias Mundiales. Organización Mundial de la Salud, Francia.
- Önning, G. **2004**. The use of cereal beta-glucans to control diabetes and cardiovascular disease. In: Functional Foods, Cardiovascular Disease and Diabetes. Ed. Arnoldi, A. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge, U. K.
- Ovando-Martínez, M., Sáyago-Ayerdi, S., Agama-Acevedo, E., Goñi, I. and Bello-Pérez, L. A. **2009**. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chemistry*, 113: 121-126.
- Pacheco-Delahaye. E., Maldonado, R., Pérez, E. and Schroeder, M. **2008**. Production and characterization of unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) flours. *Interciencia*, 33: 290-296.
- Painter, J., Rah, J. H. and Lee, Y. K. **2002**. Comparison of international food guide pictorial representations. *Journal of the American Dietetic Association*, 102: 483-489.
- Paredes-López, O., Guevara-Lara F. and Bello-Pérez, L. A. **2006**. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Fondo de cultura económica, México.
- Pastors, J. G., Blaisdell, P. W., Balm, T. K., Asplin, C. M. and Pohl, S. L. **1991**. Psyllum fiber reduces rise in postprandial glucose and insulin concentrations in patients with non-insulin-dependent diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53: 1431-1435.
- Pereira, M. A. and Ludwig, D. S. **2001**. Dietary fiber and body-weight regulation, observations and mechanisms. *Pediatric Clinics of North America*, 48: 969-980.

- Pereira, M. A., Jacobs, D.R., Pins, J.J., Raats, S. K., Gross, M.D., Slavin, J. L. and Seaquist, E. R. **2002**. Effect of whole grains on insulin sensitivity in overweight hyperinsulinemic adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 75: 848-855.
- Percival, M. **1998**. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, 96; 1-4.
- Pessin, J. E. and Saltiel, A. R. **2000**. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 106: 165–169.
- Pick, M. E., Hawrysh, Z. J., Gee, M. I., Toth, E., Garg, M. L. and Hardin, R. T. **1996**. Oat bran concentrate bread products improve long-term control of diabetes: a pilot study. *Journal of the American Dietetic Association*, 96, 1254-1261.
- Plascencia-González, G., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Sánchez-Sinencio, F. and Hernández-Montes, A. **1999**. Evaluation of pigmented corns in the elaboration of corn and tortilla chips using nixtamalized flours prepared by a hydrothermal process. In: 10th World Congress of Food Science & Technology. Australian Institute of Food Science and Technology Incorporated, Sydney, Australia, pp. 72.
- Plaza, M., Cifuentes, A. and Ibáñez, E. **2008**. In the search of new functional food ingredients from algae and microalgae. *Trends Food Science Technology*, 19: 31-39.
- Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nichas, G. J. E., Komaitis, M. **2005**. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts: investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 53: 1190-1195.
- Programa Nacional de Salud, **2007**. Secretaría de Salud, México
- Rachman, J., Barrow, B. A., Levy, J. C. and Turner, R. C. **1997**. Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM. *Diabetologia*, 40:205-211.

- Ragae, S. Guzar, I., Dhull, N. nd Seetharaman, K. **2011**. Effects of fiber addition on antioxidant capacity and nutritional quality of wheat bread. *Food Science and Technology*, 44: 2147-2153.
- Ragae, S. M., Campbell, G. L., Scoles, G. J., McLeod, J. G., and Tyler, R. T. **2001**. Studies on rye (*Secale cereale* L.) lines exhibiting a range of extract viscosities. II. Rheological and baking characteristics of rye and rye/wheat blends and feeding value for chicks of whole meals and breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 2446-2453.
- Rendón-Villalobos, R., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Tovar, J. and Bello-Pérez, L. A. **2008**. Composite wheat-plantain starch salted noodles. Preparation, proximal composition and in vitro starch digestibility. *Interciencia* 39: 658-662.
- Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J. and Willett, W. C. **1996**. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *Journal of American Medical Association*, 275: 447-451.
- Roberfroid, M. B. **2000**. Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1660S–1664.
- Rodríguez-Ambríz, S. L., Islas-Hernández, J. J., Agama-Acevedo, E., Tovar, J. and Bello-Pérez, L. A. **2008**. Characterization of a fiber-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food Chemistry*, 107: 1515-1521.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J. Guillén, R. and Heredia, A. **2006**. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 3-15.
- Rodríguez-Moran, M., Guerrero-Romero, F. and Lazcano-Burciaga, G. **1998**. Lipid- and glucose-lowering efficacy of *Plantago psyllum* in type II diabetes. *Journal of Diabetes Complications*, 12: 273-278.
- Roediger, W. E. **1980**. The colonic epithelium in ulcerative colitis: an energy deficient disease? *Lancet*, 2: 712-715.

- Roldán, E., Sánchez-Moreno, C., de Ancos, B. and Cano M.P. **2008**. Characterisation of onion (*Allium cepa* L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. *Food Chemistry*, 108: 907-916.
- Rolls, B. J. **1995**. Carbohydrates, fats, and satiety. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61: 960-967.
- Roselló-Soberón, M. E. and Casanueva, E. **2005**. Orientación alimentaria en el control prenatal. Una herramienta educativa. *Perinatología y Reproducción Humana*, 19: 168-176.
- Rosén, L. A. H., Östman, E. M., Shewry, P. R., Ward, J. L., Anderson, A. A. M., Piironen, V., Lampi, A.-M., Rakszegi, M., Medö, Z. and Björck, I. M. E. **2011**. Postprandial glycemia, insulinemia, and satiety responses in healthy subjects after whole grain rye bread made from different rye varieties. 1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 12139-12148.
- Rosén, L. A. H., Östman, E. M. and Björck, I. M. E. **2011**. Postprandial glycemia, insulinemia, and satiety responses in healthy subjects after whole grain rye bread made from different rye varieties. 2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59; 12149-12154.
- Rosen, L. A. H., Blanco, S. L. O., Andersson, U. K., Holm, C., Östman, E. M. and Björck I. M. E. **2009**. Endosperm and whole grain ryes breads are characterized by low post-prandial insulin response and a beneficial blood glucose profile. *Nutrition Journal*, 8: 42-53.
- Ruiz, T. N. A., Rincón, S. F., Hernández, L. V. M., Figueroa, C. de D. and Loarca, P. M. G. F. **2008**. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidantes en granos de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31: 29-34.
- Saifullah, R., Abbas, F. M. A., Yeoh, S.-Y. and Azhar, M. E. **2009**. Utilization of green banana flour as a functional ingredient in yellow noodle. *International Food Reserach Journal*. 16: 373-379.
- Salmeron, J., Ascherio, A., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Spiegelman, D., Jenkins, D. J., Stampfer, M. J., Wing, A. L. and Willett, W. C. **1997**. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care*, 20: 545–550.

- Salmeron, J., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Wing, A. L. and Willett, W. C. **1997**. Dietary fiber, glycemic load, and risk of noninsulin-dependent diabetes mellitus in women. *Journal of the American Medical Association*, 277: 472–477.
- Saltzman, E. and Roberts, S. B. **1997**. Soluble fiber and energy regulation, current knowledge and future directions. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 427: 89-97.
- Sastre, G. A. **2003**. Fibra y prebióticos: conceptos y perspectivas. *Gastroenterology and Hepatology*, 26: 6-12.
- Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I. and Bravo, L. **2000**. *In vitro* determination of the indigestible fraction in foods: an alternative to dietary fiber analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3342-3347.
- Scheneeman, B. O. **2007**. Carbohydrates and gastrointestinal tract function. In: Functional foods carbohydrates. Eds. Billiaderis, C. G. and Izydorczyk, M. S. CRC Pres, Boca Ratón Florida, USA. pp. 471-472.
- Schulze, M. B., Liu, S., Rimm, E. B., Manson, J. E., Willett, W. C. and Hu, F. B. **2004**. Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80: 348–356.
- Seal, C.-J., Daly, M. E., Thomas, L. C., Bal, W., Birkett, A. M., and Jeffcoat, R. **2003**. Postprandial carbohydrate metabolism in healthy subjects and those with type 2 diabetes fed starches with slow and rapid hydrolysis rates determined in vitro. *British Journal of Nutrition*, 90: 853-864.
- Setchell, K. D .R. and Cassidy A. **1999**. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *Journal of Nutrition*, 129: 758–767.
- Severijnen, C., Abrahamse, E., van der Beek, E. M., Bucs, A., van de Heijning, B. J. M., van Laere, K. and Bouritius, H. **2007**. Sterilization in a liquid of a specific starch makes it slowly digestible in vitro and low glycemic in rats. *Journal of Nutrition*, 133:2202-2207.
- Sgnaolin, E., Pedrini, P. and Tiengo, A. **1987**. Guar-enriched pasta and guar gum in the dietary treatment of type II diabetes. *Phytotherapy Research*, 1: 177–179.

- Sievenpiper, J. L., Carleton, A. J., Chatha, S., Jiangm H. Y., de Souza, R. J., Beyene, J., Kendal, C. W. and Jenkins, D. J. **2009**. Heterogeneous effects of fructose on blood lipids in individuals with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of experimental trials in humans. *Diabetes Care*, 32: 1930-1937.
- Singh, S. K., Rai, P. K., Jaiswal, D. and Watal, G. **2008**. Evidence based critical evaluation of glycemic potential of *Cynodon dactylon*. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 5: 415-420.
- Sivitz, W. I., Desautel, S. L., Kayano, T., Bell, G. I. and Pessin, J. E. **1981**. Regulation of glucose transporter messenger RNA in insulin-deficient states. *Nature*, 340: 72-74.
- Slavin, J. L., Martini, M. C., Jacobs, D. R. and Marquart L. **1999**. Plausible mechanisms for the protectiveness of whole grains. *American Journal of Clinical Nutrition* 70: 459S-463S.
- Slavin, J. L. **2005**. Dietary fiber and body weight. *Nutrition Journal*, 21: 411-418.
- Slavin, J. L. **2001**. Dietary fiber and colon cancer. In: Handbook of dietary fiber. Eds. Cho, S. and Dreher, M. Marcel Dekker, New York. pp. 31-45.
- Slavin J. L. **2003**. Why whole grains are protective: biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 129-134.
- Souleimani, A. and Asselin, C. **1993**. Regulation of c-myc expression by sodium butyrate in the colon carcinoma cell line Caco-2. *FEBS Letters* 326: 45-50
- Steinmetz, K. A., and Potter, J. D. **1991**. Vegetables, fruit, and cancer. I. *Epidemiology. Cancer Causes and Control*, 2: 325-357
- Steffen, L. M., Jacobs, D. R. Jr, Stevens, J., Shahar, E., Carithers, T. and Folsom, A. R. **2003**. Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 383-390.
- Stephen, A. M. and Cummings, J. H. **1980** Mechanism of action of dietary fibre in the human colon. *Nature*, 284: 283-284.

- Strack, D. and Wray, V. **1989**. Anthocyanins, In: Methods in Plant Biochemistry, Plant phenolics. Ed. Harborne H.B. Academic Press, New York. pp. 325-356.
- Stubbs, R. J., Mazlan, N. and Whybrow S. **2001**. Carbohydrates, appetite and feeding behavior in humans. *Journal of Nutrition*, 131: 2775-2781.
- Takasu, N., Komiya, I., Asawa, T., Nagasawa, Y. and Yamada T. **1991**. Streptozocin- and alloxan-induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*; 40: 1141-1145
- Tang-Christensen, M., Larsen, P. J., Goke, R., Fink-Jensen, A., Jessop, D. S., Moller, M., Sheikh, S. P. **1996**. Central administration of GLP-1 (7–36) amide inhibits food and water intake in rats. *American Journal of Physiology*, 271: R848–R856.
- Taylor, S. I. **1995**. Diabetes mellitus. In: The Metabolic Bases of Inherited Diseases.Molecular. Eds. Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D. McGraw-Hill, New York. pp. 843-893.
- Thomson, C., Blich, A. and Hasler, C. M. **1999**. Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *Journal of American Dietetic Association*, 99: 1278-1285.
- Tobin, G. and Muller, H.G. **1988**. Nutrición y ciencia de los alimentos. Editorial Acribia, S.A. pp. 171-173.
- Toft-Nielsen, M. B., Madsbad, S. and Holst J. J. **1999**. Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide-1 lowers plasma glucose and reduces appetite in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 22: 1134–1137.
- Trock., B., Lanza, E. and Greenwald, P. **1990**. Dietary fiber, vegetables, and colon cancer: critical review and meta-analyses of the epidemiologic evidence. *Journal of the National Cancer Institute*, 82: 650-661.
- Trowell, H. **1976**. Definition of dietary fibre and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 29: 417-427
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H. and Osawa, T. **2003**. Dietary cyanidin 3-O-β-d-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *Journal of Nutrition*, 7: 2125–2130.

- Turton, M. D., O'Shea, D., Gunn, I., Beak, S. A., Edwards, C. M. B., Meeran, K., Choi, S. J., Taylor, G. M., Heath, M. M., Lambert, P. D., Wilding, J. P. H., Smith, D. H., Ghatei, M. A., Herbert, J. and Bloom, S. R. **1996**. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 379: 69 –72.
- Velazquez, O. C., Lederer, H. M. and Rombeau, J. L. **1996**. Butyrate and the colonocyte: implications for neoplasia. *Digestive Diseases and Sciences*, 41: 727–739
- Verdich, C., Flint, A., Gutzwiller, J. P., et al. **2001**. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7-36)amide on ad libitum food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86: 4382–4389.
- Vergara-Valencia, N., Granados-Pereza, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J. and Bello-Pérez, L. A. **2007**. Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *Lebens Wiss Technology*, 40: 722–729.
- Villarroel, M., Huriqueo, C., Hazbun, J. y Carrillo, D. **2009**. Desarrollo de una formulación optimizada de galletas para celíacos utilizando harina desgrasada de avellana chilena (*Gevuina avellana*, Mol) y harina de quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59: 184-190.
- Yang, J., Meyers, K. J., VanderHeide, J. and Liu, R.H. **2004**. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6787–6793.
- Wachters-Hagedoorn, R. E., Priebe, M. G., Heimweg, J. A. J., Heiner, A. M., Englyst, K. N. and Holst, J. J. **2006**. The rate of intestinal glucose absorption is correlated with plasma glucose dependent insulinotropic polypeptide concentrations in healthy men. *Journal of Nutrition*, 136: 1511-1516.
- Wang, H., Cao, G. and Prior, R.L. **1997**. The oxygen radical absorbing capacity and anthocyanins. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 45: 304-309.
- Wang, X. and Gibson, G. R. **1993**. Effect of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 373–380.

- Weisburger, J. H. **2000**. Approaches for chronic disease prevention based on current understanding of underlying mechanisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1710S-1714S.
- Welch, I. M. L., Bruce, C., Hill, S. E. and Read, N. W. **1987**. Duodenal and ileal lipid suppresses postprandial blood glucose and insulin responses in man: possible implications for the dietary management of diabetes mellitus. *Clinical Science*, 72: 209-216.
- Wenze, M. E., Tadini, C. C., Tribess, T. B., Zuleta, A., Binaghi, J., Pak, N., Vera, G., Tanasov, D. M. C., Bertolini, A. C., Cordenusi, B. R. and Lajolo, F. M. **2011**. Chemical composition and nutritional value of unripe banana flour (*Musa acuminata*, va. Nanicao). *Plants Foods for Human Nutrition*, 66: 231-237.
- Wettergren, A., Schjoldager, B., Mortensen, P. E., Myhre, J., Christiansen, J. and Holst, J. J. **1993** Truncated GLP-1 (proglucagon (78–107 amide) inhibits gastric and pancreatic functions in man. *Digestive Diseases and Sciences*, 38: 665–673.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King H. **2004**. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27: 1047-1053.
- Witte, J. S. Relation of vegetable, fruit, and grain consumption to colorectal adenomatous polyps. *American Journal of Epidemiology*, 144: 1015-1025.
- Wolever, T. M., Jenkins, D. J., Jenkins, A. L. and Josse, R. G. **1991**. The glycemic index: methodology and clinical implications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54: 846–854.
- Wolever, T. M. **1990**. Relationship between dietary fiber content and composition in foods and the glycemic index. *American Journal of Clinical Nutrition*, 51: 72-75.
- Wolever, T. M., Csima, A., Jenkins, D.J., Wong, G.S. and Josse, R.G. **1989**. The glycemic index: variation between subjects and predictive difference. *Journal of American of College Nutrition*, 8: 235-247.
- Wood, P. J., Braaten, J. T., Scott, F. W., Riedel, K. D. and Poste, L. M. **1990**. Comparisons of viscous properties of oat and guar gum and the effects of these

- and oat bran on glycemic index. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 753–757.
- Wood, P. J. 1991. Oat  $\beta$ -glucan-physicochemical properties and physiological effects. *Trends in Food Science and Technology*, 2: 311-314.
- World Cancer Research Fund. American Institute for Cancer Research. **1997**. Food, Nutrition, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective, American Institute for Cancer Research, Washington, D. C.
- Xu, R. J. **1998**. Bioactive peptides in milk and their biological and health implications. *Food Reviews International*, 14:1–16.
- Yang, J., Meyers, K. J., Vander-Heide, J. and Liu, R. H. **2004**. Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6787–6793.
- Young, G. P., Macrae, F. A., Gibson, P. R., Alexeyeff, M., Whitehead, R. H. **1992**. Brush border hydrolases in normal and neoplastic colonic epithelium. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 7: 347–354.
- Yu, L., Perret, J., Davy, B., Wilson, J. and Melby, C. L. **2002**. Antioxidant properties of cereal products. *Journal of Food Science*, 67: 2600–2603.
- Zhang, G. and Hamaker, B. R. **2009**. Slowly digestible starch: concept, mechanism, and proposed extended glycemic index. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 852-867.
- Zhang, G., Ao, Z., and Hamaker, B. R. **2006**. Slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules*, 7: 3252–3258.
- Zhang, L., Li, J., Hogan, S., Chung, H., Welbaum, G. E. and Zhou, K. **2010**. Inhibitory effect of raspberries on starch digestive enzyme and their antioxidant properties and phenolic composition. *Food Chemistry*, 119: 592-599.
- Zhang, P., Whistler, R. L., BeMiller, J. N. and Hamaker, B. R. **2005**. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility –a review. *Carbohydrate Polymers*, 59: 443-458
- Zhou, K., Laux, J. J. and Yu, L. **2004**. Comparison of swiss red wheat grain and fractions for their antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1118–1123.

- Zhou, J., Martin, R. J., Tulley, R. T., Raggio, A. M., McCutcheon, K. L., Shen, L., Danna, S. C., Tripathy, S., Hegsted, M. and Keenan, M. **2008**. Dietary resistant starch upregulates total GLP-1 and PYY in a sustained day-long manner through fermentation in rodents. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, 295: 1160-1166.
- Zick, Y. **2001**. Insulin resistance: a phosphorylation-based uncoupling of insulin signaling. *Trends in Cell Biology*, 11: 437–441.
- Zimmet, P., Alberti, K.G. and Shaw J. **2001**. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 414: 782-778.

## IX. Anexos

### Abreviaturas

μL	Microlitro
°C	Grado centígrado
AACC	American Association of Cereal Chemist
ABTS	Ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
ADL	Almidón de digestión lenta
ADn	Ácido desoxirribonucleico
ADR	Almidón de digestion rápida
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
AGL	Ácidos grasos libres
ANDEVA	análisis de varianza
AOAC	Association Official Analytical Chemists
AR	Almidón resistente
ATP	Adenosin trifosfato
CaCl	Cloruro de calcio
H <sub>2</sub> O	Agua
AlCl <sub>3</sub>	Cloruro de aluminio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
dL	Decilitro
DNS	Ácido 3'-5'-dinitrosalicílico.
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

FAO	Food and Agriculture Organization
FD	Fibra dietetic
FI	Fracción indigerible
FII	Fracción indigerible insoluble
FIS	Fracción indigerible soluble
g	Gramo
<i>g</i>	Gravedad
G-1	Galleta adicionada con maíz azul
G-2	Galleta adicionada con maíz blanco
G-3	Galleta adicionada con plátano en estado inmaduro
GAB1	Growth factor receptor-bound
GIP	Glucose-dependent insulintropic polypeptide
GLP-1	Glucagón-like peptide 1
GOP-POD	Glucosa oxidasa-peroxidasa
h	Hora
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfuric
HCl	Ácido clorhídrico
HDL	High density lipoprotein
IG	Índice glucémico
InsR	Insulin receptor
IRS	Insulin receptor substrate
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Fosfato dipotásico
KCl	Cloruro de potasio

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Fosfato monopotásico
KOH	Hidróxido de potasio
LDL	Low density lipoprotein
M	Mol
mg	Miligramos
mgEC	Miligramos equivalentes de catequina
$\text{MgSO}_4$	Sulfato de magnesio
min	Minutos
mL	Mililitros
mmol	Milimol
$\text{NaHCO}_3$	Bicarbonato de sodio
NAD	Nicotinamida adenín dinucleótido
NADH	Nicotinamida adenín dinucleótido reducido
NaOH	Hidróxido de sodio
$\text{NaNO}_2$	Nitrito de sodio
ng	Nanogramos
NOM	Norma oficial mexicana
-OH	Grupo hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
PG	Perfil de glucosa
pH	Potencial de hidrógeno
PIK-3	Fosfatidilinositol-3-cinasa
SSA	Secretaria de Salud y Asistencia

## RESEARCH ARTICLE

# Composition and starch digestibility of whole grain bars containing maize or unripe banana flours

Rubí G. Utrilla-Coello<sup>1</sup>, Edith Agama-Acevedo<sup>1</sup>, Perla Osorio-Díaz<sup>1</sup>, Juscelino Tovar<sup>2,3</sup> and Luis A. Bello-Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. Yautepec-Jojutla, colonia San Isidro, Yautepec, Morelos, México

<sup>2</sup> Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Functional Food Science Centre, Lund University, Lund, Sweden

The development of functional foods with low glycemic index and high levels of RS are of importance in the fight against the rapidly increasing rates of obesity and chronic diseases in modern societies. In this work, three cereal bars containing white maize, blue maize, or unripe banana flours were prepared. The proximal composition, in vitro starch digestibility and product acceptability were evaluated. The bar prepared with blue maize exhibited the highest level of protein and fat, and that containing white maize the highest dietary fiber and indigestible fraction contents. However, the product prepared with unripe banana flour showed the highest total and rapidly digestible starch levels, while that added with blue maize exhibited greater slowly digestible starch values. No difference in RS content was detected among the three bars. The starch hydrolysis indices and predicted glycemic indices of the three preparations were low (40–54% and 42–54%, respectively). Similar acceptance scores were recorded for the three experimental bars. Cereal bars with variable starch digestibility features and good acceptance by consumers may be prepared following the proper choice of functional ingredients.

Received: June 28, 2010  
Revised: September 19, 2010  
Accepted: September 21, 2010

**Keywords:**

Chemical composition / Dietary fiber / Indigestible fraction / Starch digestion / Whole cereal

## 1 Introduction

Functional – or nutraceutical – foods have received increased interest in the last years in the context of the different health problems related with food consumption, such as overweight and obesity. As many other countries, Mexico has recently intensified its efforts to reduce the prevalence of obesity and a national program has been

initiated to increase the consumption of healthy foods, aiming to reduce the energy level of the diet. A current trend in nutrition is the consumption of low-carbohydrate diets, including slowly digested food products, as well as an increased intake of functional foods [1]. Diets lows in carbohydrates have been in the focus of international attention due the recent WHO recommendations to reduce the overall consumption of sugars and foods that promote high glucose responses [2]. Nutritionally, carbohydrates may be classified as digestible (glycemic) and nondigestible (non-glycemic). Starch is one of the most important glycemic carbohydrate components in foods. It is supplied by traditional staple food materials such as cereals, roots, tubers, and unripe fruits and the many ingredients made from them that are incorporated into formulated foods. The rate of starch digestion and absorption in the small intestine is a major determinant of the GI of starchy foods [3–5]. For nutritional purposes, starch has been classified

---

**Correspondence:** Professor Luis Arturo Bello-Pérez, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN. Km 8.5 carr. Yautepec-Jojutla, colonia San Isidro, Yautepec, Morelos, México

**E-mail:** labellop@ipn.mx

**Fax:** +52-735-3941896

**Abbreviations:** **DF**, dietary fiber; **HI**, hydrolysis index; **RDS**, rapidly digestible starch; **pGI**, predicted glycemic index; **SDS**, slowly digestible starch; **WHO**, world health organization.

into rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS), and RS to differentiate its digestion properties in food products [6]. RDS is rapidly digested and absorbed in the proximal regions of the small intestine leading to a rapid elevation of blood glucose and usually a subsequent episode of hypoglycemia. SDS, on the other hand, would provide a longer, more consistent source of systemic glucose with a low glycemic response [7].

RS is not digested in the upper gastrointestinal tract [8], but it is largely fermented by microorganisms in the colon producing SCFAs, which provide additional energy to the body. In addition, fermentation of RS is believed to yield a high proportion of butyrate, an SCFA with beneficial action on the colonic health [9]. SDS, as an intermediate starch fraction between RDS and RS, is digested slowly throughout the entire small intestine to provide sustained glucose release with a low initial increase in glycemia. Although it cannot be regarded as a general rule, a nutritional variable that may be linked to low GI properties is the RS and SDS content [10]. Englyst et al. [11] have shown that a low glycemic index in cereal products is related with high SDS contents.

Whole cereal grains are particularly interesting due to their SDS content. In addition, the whole grains are low in saturated fat and high in dietary fiber (DF), vitamins (especially the B vitamins), minerals, and a wide range of phytochemicals that have been associated with improved long-term health [12].

Similarly, several studies have suggested that consumption of unripe bananas exerts a beneficial effect on human health, associated with indigestible components as RS [13, 14]. In this sense, the unripe banana flour has shown a nutritional/nutraceutical potential [6, 15, 16], as it represents an alternative source of indigestible carbohydrates and antioxidants compounds. Recently, several authors have found that when unripe banana starch or whole banana flour are added to different foods as pasta [17–20], bread [21], and cookies [22, 23], the resulting products exhibit high RS content and low starch digestion rates. Pigmented maize varieties constitute another novel potential source of SDS. Hernandez-Urbe *et al.* [24] have shown a significantly lower predicted glycemic index (pGI) value for tortillas made from nixtamalized blue maize as compared to conventional white maize.

The objective of this study was to evaluate starch digestibility and the *in vitro* pGI of three different snack bars prepared by blending unripe banana, white maize, or blue maize flours with whole grain flours (barley, oat, and wheat). A consumer preference test was also performed.

## 2 Materials and methods

Oat (Granvita<sup>®</sup>, Grupo Industrial Vida, Zapopan, Jalisco, México), barley (EW<sup>®</sup> Ernesto Weinstein, México D. F.,

México), and wheat whole flour (Tres Estrellas<sup>®</sup>, Toluca, Estado de México, México) were purchased in supermarket of Cuernavaca, Morelos, Mexico. Blue and white maize grains were a gift of INIFAP, Texcoco, Mexico. Oat flakes, barley grains, blue, and white maize grains were milled (Cyclotec 1092 Sample Mill, Foss Tecator, Höganäs, Sweden) and sifted through sieve no. 40 (425  $\mu\text{m}$ ).

### 2.1 Banana flour preparation

Commercial hard green (unripe) preclimacteric banana (*Musa paradisiaca* L.) fruits were purchased from the local market of Cuautla, Morelos, México. They were peeled and cut into 1 cm slices, immediately rinsed in citric acid solution (0.3% w/v). The slices were dried at 50°C, ground using a commercial grinder (Mapisa Internacional S.A. de C.V., México, D.F.) to pass a US 50 sieve and stored at 25°C in sealed plastic containers for further analyses.

### 2.2 Sample preparation

For the preparation of the cereal bars, raw materials were acquired in local supermarkets and stored in glass/plastic containers at room temperature (25°C), or under refrigeration depending on the storage requirements of the material.

Three different cereal bars were studied. The basis of all three products was a blend of wheat, barley, and oat flours to which white maize flour (bar 1), blue maize flour (bar 2), or unripe banana flour (bar 3) were incorporated. The formulation of the different bars is shown in Table 1. Butter was beaten until creaming, mixed with high fructose syrup, egg, milk, and baking powder added onto the corresponding flours and mixed perfectly until having a 0.5 cm height surface. Bars were cut with a rectangular mold

**Table 1.** Formulation of the cereal bars

Formulation	White maize bar	Blue maize bar	Unripe banana bar
Wheat flour (100 g)	X	X	X
Barley flour (100 g)	X	X	X
Oat flour (100 g)	X	X	X
White maize flour (100 g)	X	–	–
Blue maize flour (100 g)	–	X	–
Banana flour (100 g)	–	–	X
Butter (100 g)	X	X	X
High-fructose syrup (50 mL)	X	X	X
Milk (62.5 mL)	X	X	X
Egg (1 piece)	X	X	X
Baking powder (7 g)	X	X	X
Vanilla (10 mL)	X	X	X

(4 cm × 7 cm) and placed on greased aluminum mold. The bars were baked in a household oven (Hotpoint, 6B4411LO. Leisser S.A. de C.V., San Luis Potosi, México), at an approximate temperature of 180°C for 25 min. Once baked, cereal bars were allowed to cool down during 30 min and stored in a plastic container with hermetic cover.

### 2.3 Chemical composition

Moisture content was determined by gravimetric heating (130 ± 2°C for 2 h) using a 2–3 g sample. Ash, protein, and fat were analyzed according to AACC methods 08–01, 46–13, and 30–25, respectively [25]. DF was tested using 985.29 AOAC method [26]. The total indigestible fraction was determined as the sum of soluble and insoluble indigestible fractions, following the procedure of Saura-Calixto *et al.* [27]. In brief, 300 mg of samples, were mixed with 10 mL of 0.1 M HCl–KCl buffer and 0.2 mL of pepsin solution (300 mg/mL, Sigma P7000). Then, 9 mL of 0.1 M Tris-maleate buffer (pH 6.9) was added. Hog pancreatic alpha-amylase was then added (1 mL, 120 mg/mL) (Sigma A3176) and the samples were incubated in a water bath (37°C, 16 h) with constant shaking. The samples were centrifuged (3000 × *g*, 15 min) and the supernatants were removed. The residues (insoluble IF) were dried (105°C, overnight) and quantified gravimetrically. Supernatants were dialyzed against water (25°C, 48 h, water flow 7 L/h) (cellulose dialysis membranes, 12 000–14 000 MWCO, Sigma–Aldrich, St. Louis MO, USA). Dialysate was hydrolyzed with 1 M sulfuric acid (100°C/90 min) for measuring SIF after reaction with dinitrosalicylic acid.

### 2.4 Starch digestibility

The enzymatic method proposed by Englyst *et al.* [6] for the assessment of free glucose, total starch, RDS, SDS, and RS was followed.

### 2.5 Starch hydrolysis index (HI) of products “as eaten” (chewing/dialysis test)

Starch HI of products as eaten (chewing/dialysis test) was assessed with the protocol developed by Granfeldt *et al.* [28]. Samples of cereal bars containing 1 g available starch were tested. Available starch was calculated as the sum of RDS + SDS of the Englyst’s test. Six healthy subjects participated in the chewing phase of the experiments, which was followed by pepsin digestion (P-7012, Sigma Chemical, St Louis MO, USA) and incubation with porcine pancreatic amylase (A-6255, Sigma Chemical) in a dialysis bag (12 000–14 000 MWCO, Sigma–Aldrich). The reducing amylolysis products appearing in the dialysate

were measured colorimetrically, and expressed as maltose equivalents. Data were plotted as “hydrolysis degree” versus “time” curves and the HI was calculated as the area under the curve (0–180 min) for the test product, expressed as a percentage of the corresponding area for a white bread reference sample, chewed by the same person.

### 2.6 Preference test

For preference assessment, cereal bars were served on coded plates. Consumers were asked to assess their degree of liking by paper ballot using the ranking preference test and the 9-point hedonic rating scale, where 9 = like extremely and 1 = dislike extremely. One hundred consumers were briefed on evaluation protocol and then proceed to randomly evaluate the coded bars.

#### 2.6.1 Consumers

A total of 100 Mexican consumers (63 female, 37 male, age range 17–57 years) of cereal bars were sampled from CEPROBI-IPN personnel, students, and visitors.

#### 2.6.2 Stimuli

The bars made in the laboratory (Table 1) and a commercial bar (Multigrano Linaza, Grupo BIMBO S.AB de C.V., México, D.F.) were tested.

#### 2.6.3 Procedure

Consumers were randomly approached and after obtaining demographic details, they were asked to perform the tasting and express their liking by using a hedonic scale (Table 2). The stimuli were placed on separate plastic trays and labeled with three digit random numbers. The order of

**Table 2.** Nine-point hedonic scale used in the preference test, with the corresponding Spanish translation<sup>a)</sup>

English	Spanish
Like extremely	Gusta muchísimo
Like very much	Gusta mucho
Like moderately	Gusta moderadamente
Like slightly	Gusta poco
Neither like nor dislike	Ni gusta ni disgusta
Dislike slightly	Disgusta poco
Dislike moderately	Disgusta moderadamente
Dislike very much	Disgusta mucho
Dislike extremely	Disgusta muchísimo

a) Hedonic scale: 1 = dislike extremely, 5 = neither like nor dislike, 9 = like extremely.

presentation of the stimuli was counterbalanced over consumers. Each consumer tasted ~1 g of each sample. Rinses were taken before tasting and swallowing the samples. Consumers responded by filling in a response sheet.

## 2.7 Statistical analysis

Means and SDs were determined for all the physical and quality properties studied. The significant differences of mean values was assessed with one-way analysis of variance (ANOVA) with three degrees of freedom followed by Tukey's test using the Sigma Stat software version 3.01 (Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA, significant level  $p < 0.05$ ).

## 3 Results and discussion

### 3.1 Chemical composition

Moisture content of the three types of bars was low and no statistical difference ( $p < 0.05$ ) was found in the three formulations (Table 3). These products are characterized by the low water content that increase their shelf-life. For example, different biscuit types (crackers and semi-sweet) showed moisture content between 1 and 2% [29]. Similar pattern in moisture content was found in cookies made with variable contents of deseeded grape pomace, showing values ranging between 4.85 and 7.70% [30]. Cookies prepared with RS-rich powder of banana starch presented a moisture content of 5.7% [22]. A similar cookie type was prepared adding native corn or banana starches to wheat flour [31], showing moisture levels that resemble those recorded here (4–5%). Cookies containing mango DF exhibited higher moisture content values (11.9–12.0%) [32].

Whole cereal grains and unripe banana flour were used in the present study, and relatively high mineral levels

characterized these raw materials. No statistical difference ( $p < 0.05$ ) was found in the three formulations (Table 3). Lower ash values were previously determined in composite cookies baked with an RS-rich powder from banana (0.49%) [22]. In deseeded grape pomace-containing cookies the ash content increased when the fruit powder level increased in the formulation [30], with similar values to those determined here. Higher ash content was found in cookies added with mango DF (4.3%) due to the abundance of polyphenols and minerals in the peel of this raw material [32].

Variation in the lipid and protein contents was found in the three formulations; the bar with the lowest lipid content had the lowest protein level and conversely (Table 3). This pattern may be related to the formation of complexes between these two types of macromolecules, as reported in bread [33]. Lower fat contents were determined in cookies elaborated with mango DF [32] and RS-rich powder [22]. This might be due to the use in the present study of whole cereal grains, where the germ contributes to an increased fat content of the final product. A higher fat content was found in cookies added with deseeded grape pomace [30]. The protein content determined in breakfast cereals (6.2 g/g portion) and bakery products and crackers (7.2 g/g portion) [11] were higher to those determined in our bars, a fact that seems to reflect the dilution effect produced by using whole cereal grains. However, cookies containing a banana RS-rich preparation showed lower protein values (5.1%), which was attributed to the partial wheat substitution by a poorer protein source [22]. A slightly decreased protein content was determined in cookies baked with deseeded grape pomace, with values between 7.98 and 8.46% [30].

The three bar formulations differed in their total DF content ( $p < 0.05$ , Table 3). The product prepared with banana flour (bar 3) presented the lowest level, which probably reflects the relatively low non-starch polysaccharide content of the unripe banana flour [34]. A slight

**Table 3.** Chemical composition of cereal bar elaborated with different flours (g/100 g)<sup>1)</sup>

Composition	White maize bar	Blue maize bar	Unripe banana bar
Moisture	1.28 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.18 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.3 <sup>a</sup>
Ash	2.17 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.22 ± 0.11 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.05 <sup>a</sup>
Fat	17.0 ± 0.22 <sup>a</sup>	21.49 ± 0.26 <sup>b</sup>	15.78 ± 0.06 <sup>c</sup>
Protein	9.29 ± 0.13 <sup>a</sup>	11.11 ± 0.15 <sup>b</sup>	7.30 ± 0.07 <sup>c</sup>
Dietary fiber	11.64 ± 0.09 <sup>a</sup>	10.18 ± 0.03 <sup>b</sup>	6.95 ± 0.29 <sup>c</sup>
Total indigestible fraction	40.1 ± 0.55 <sup>a</sup>	38.17 ± 0.39 <sup>b</sup>	36.92 ± 0.84 <sup>c</sup>
Soluble indigestible fraction	14.64 ± 0.54 <sup>a</sup>	17.25 ± 0.61 <sup>b</sup>	17.17 ± 0.71 <sup>b</sup>
Insoluble indigestible fraction	25.46 ± 0.65 <sup>a</sup>	20.92 ± 0.15 <sup>b</sup>	19.75 ± 1.05 <sup>b</sup>

1) For cereal bar formulation see Table 1. Values are means of three replicates ± SE. Dry matter basis. Means in row not sharing the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

difference was observed between the two maize-containing preparations (bars 1 and 2). Such a difference might be due to the variation of DF among diverse maize varieties, which range between 7.1 and 13.0% [35]. A cookie containing mango DF showed higher total DF content (17.4%), with higher amount of the insoluble fraction due to the use of mango pulp and peel for preparing this functional ingredient [32].

The indigestible fraction focuses on the constituents unavailable for digestion in the small intestine. This fraction comprises DF, RS, resistant protein, certain polyphenols, and other associated compounds [27]. The total indigestible fraction content exhibited a tendency similar to that determined for total DF (Table 3), with predominance of the insoluble fraction. The bar added with banana flour (bar 3) showed the best soluble/insoluble indigestible fraction ratio, i.e., closer to 1. This can be of physiological importance, given the beneficial effect of the soluble indigestible constituents, especially indigestible carbohydrates. Total indigestible fraction in the bars was higher than that reported in cookies added with RS-rich powder (23.4%) and its control (16.8%) [22]. The high level of total indigestible fraction in the bar added with unripe banana flour can be explained by the high level of this component in this ingredient (52.9%), although it contains a higher proportion of the insoluble fraction (44.0%) [34]. Perhaps the banana flour suffered process-induced changes in the soluble/insoluble indigestible fraction ratio during the bar preparation, a possibility that deserves further investigation. To the best of our knowledge there are no studies reported of the insoluble indigestible fraction of whole cereal grains and derived products. The significant indigestible fraction level determined here in the experimental snack bars may be important for the goal of increasing indigestible materials in foods, with their potential positive effects due to colonic fermentation.

### 3.2 In vitro starch digestibility

Free glucose content of a food is important as this sugar can increase glycemia only few minutes post-ingestion.

The bars studied here had relatively low free glucose contents (Table 4). The product made with white maize flour (bar 1) had a lower free glucose level than those prepared with blue maize and unripe banana flour. According to Englyst et al. [11] cornflakes and high-Ca cracker exhibit similar free glucose (4.5 g/100 g and 5 g/100 g, respectively) to those determined in the bars containing blue maize and banana flour. However, Special K® and other cereal breakfasts show higher free glucose values [11]. Present results regarding free glucose content speak in favor of the potential use of the experimental bars in regimes aiming to promote moderate glycemic responses. This idea is also supported by the markedly low fructose levels found in the unripe fruits of different banana varieties [36].

Bars elaborated with maize flour (bars 1 and 2) had similar total starch content, lower than the product prepared with unripe banana flour (Table 4). Lower total starch amount was determined in cookies containing mango DF (45.5%) [32] or banana RS-rich powder (48.5%) [22]. Higher total starch values were recorded in cornflakes (81.4%), Special K (60.5%), and other cereal products (57–60%) [11].

Evidence of the beneficial effects of RS for human health is accumulating [37] and is therefore an advantage to increase the regular intake of this indigestible component. No difference ( $p < 0.05$ ) in RS content was detected among the bars studied; the values ranged between 3.55 and 4.37%, which may be considered important whether they are compared with those recorded in cookies made with regular wheat (1.48%) or cookies containing banana RS-rich powder (8.42%) [22]. Similar RS levels were determined in cornflakes (3.96%), but lower value was recorded in Special K (1.56%), and different crackers (1.6–1.7%) [11].

More than 50% of starch in raw normal maize is slowly digested in vitro [38]. When maize starch was cooked by boiling for 20 min RDS increases to 85%, with concomitant reduction of SDS [39], as consequence of the destruction of crystalline array of native starch promoted by wet heating, i.e., gelatinization. However, bars containing maize

**Table 4.** Starch content and in vitro starch digestibility of the cereal bars (g/100 g)<sup>1)</sup>

Determination	White maize bar	Blue maize bar	Unripe banana bar
Free glucose	3.36 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.58 ± 0.07 <sup>a</sup>	4.33 ± 0.63 <sup>a</sup>
Total starch	57.06 ± 0.83 <sup>a</sup>	57.92 ± 0.73 <sup>a</sup>	60.25 ± 0.24 <sup>b</sup>
Rapidly digested starch	45.83 ± 1.53 <sup>a</sup>	45.42 ± 1.66 <sup>a</sup>	51.92 ± 0.61 <sup>b</sup>
Slowly digested starch	7.06 ± 1.47 <sup>a</sup>	10.75 ± 1.63 <sup>b</sup>	4.18 ± 0.52 <sup>c</sup>
RS	4.37 ± 0.76 <sup>a</sup>	3.55 ± 1.8 <sup>a</sup>	4.15 ± 0.45 <sup>a</sup>

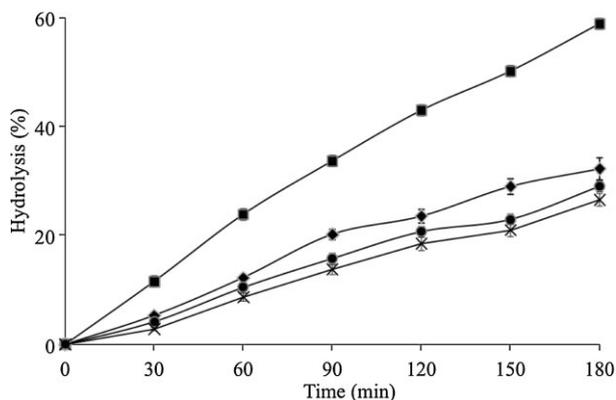
1) For cereal bar formulation see Table 1. Values are means of three replicates ± SE. Dry matter basis. Means in row not sharing the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

flour (white and blue) had lower RDS contents than the bar baked with unripe banana flour (Table 4). Perhaps the baking procedure followed for the bar production was less effective to promote gelatinization of the maize ingredient starch than on the banana flour polysaccharide. According to Englyst et al. [11], cornflakes, Special K, and various commercial crackers had higher RDS values (58–79%) than those determined in our cereal bars.

SDS content varied among the three bars; the blue maize-containing product had the highest value and that with unripe banana flour the lowest (Table 4). SDS of cooked normal maize starch is 8.3% [39], which is similar to that determined here in the bars prepared with maize flour. Cornflakes (3.1%) and Special K (3.0%) [11] exhibit lower SDS contents than here-studied snacks. Consumption of products with high level of SDS is considered beneficial, as they should not produce the postprandial hyperglycemic and hyperinsulinemic spikes associated with RDS-rich meals [39, 40]. In this context, the bars made with cereal whole grains and unripe banana flour show interesting characteristics of starch digestion.

### 3.3 Starch hydrolysis index

HI calculated from the starch hydrolysis curves (Fig. 1) and the corresponding pGI are presented in Table 5. The three bars presented low digestion rates. The product containing white maize (bar 1) presented the highest HI value, while the other two preparations behaved similarly. It is noteworthy that the HIs did not agree with the trend observed for RDS (Table 4) since, according to that parameter, bar 3 should have displayed the greatest HI. Both HI and GI are influenced by physic characteristics of the products such as texture (hardness, porosity), particle size, and viscosity, as well as by the starch structural and physicochemical



**Figure 1.** Average hydrolysis curves of starch in cereal bars. Values are means of six chewing/digestion experiments. Areas under curves were used for calculation of HI figures reported in Table 5. ■, white bread; ◆, white maize bar; ●, blue maize bar; ×, unripe banana bar.

**Table 5.** HI and pGI of cereal bars

Samples	HI (%) <sup>a)</sup>	pGI (%) <sup>b)</sup>
White maize bar	53.55 ± 1.08 <sup>a</sup>	54.36
Blue maize bar	45.32 ± 1.26 <sup>b</sup>	47.27
Unripe banana bar	39.95 ± 2.09 <sup>b</sup>	42.63
White bread reference	100 <sup>c</sup>	94

a) HI was related to bread = 100% (Grandfeldt et al., 1992). Values are mean of six chewing and dialysis replicates ± SE.

b) pGI = 0.862HI + 8.198 (Grandfeldt, 1994).

Means in columns not sharing the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

properties, whether in the in vitro digestion in the dialysis system or in the small intestine [28, 41]. Therefore, it is generally more meaningful to assess HI as a physiologically closer parameter, in addition to the simple RDS/SDS content.

Soluble components of DF can slow not only digestion but also diffusion of digestion products to the absorptive mucosa [41–43]. Perhaps the higher soluble indigestible fraction of bars prepared with blue maize and unripe banana flour increases the viscosity and retards the absorption phase of the digesta, resulting in a rather “slow” feature.

pGI values suggest important “slow digestion” features for the experimental bars. GI values for cornflakes (93) and Special K (84) [11] were higher than those obtained for our whole cereal bars. The pGI of the maize-containing product, however, ranked similar to those of commercial cereal-based crackers, whose values ranged between 52 and 64%.

### 3.4 Preference test

Table 6 presents the acceptability of cereal bars using a hedonic scale. In general, the acceptability of the experimental bar containing white maize, blue maize, and unripe

**Table 6.** Acceptability score of cereal bars<sup>1)</sup>

Sample	Hedonic ratings
White maize bar	5.47 ± 0.17 <sup>a</sup>
Blue maize bar	5.59 ± 0.15 <sup>a,b</sup>
Unripe banana bar	6.08 ± 0.15 <sup>b</sup>
Commercial bar	7.55 ± 0.13 <sup>c</sup>

1) Hedonic scale: 1 = dislike extremely, 5 = neither like nor dislike, 9 = like extremely. Means in columns not sharing the same letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

banana flour was similar, but they were slightly less appreciated than the commercial reference product. Evidently, technological adjustments may be necessary to improve the sensory features our test preparations.

## 4 Conclusions

The bar containing unripe banana flour showed the lowest protein, lipid, DF, and indigestible fraction values, while the product prepared with blue maize had the highest SDS content. No difference in RS content was found among the three bars. Bar containing unripe banana flour presented the lowest pGI followed by bar added with blue maize and white maize. The three bars may be considered low GI products. The preference scores of the three bars were similar and slightly lower than for a commercial reference bar. Depending on the formulation, it is possible to prepare snack bars with reduced rate of starch digestion and/or with higher contents of RS, features that may be of use in dietary regimes for people with different nutritional requirements.

*We appreciate the financial support from SIP-IPN, COFAA-IPN, and EDI-IPN. One of the authors (RGUC) also acknowledges the scholarship from CONACYT-México.*

*The authors declare that no conflict of interest exist related with this publication.*

## 5 References

- [1] Hurs, H., Martin, J., Low-carb and beyond: The health benefits of inulin. *Cereal Food World* 2005, 50, 57–60.
- [2] World Health Organization, Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. *WHO Technical Report Series* 916, 2003.
- [3] O'Dea, K., Snow, P., Nestel, P., Rate of starch hydrolysis in vitro as a predictor of metabolic responses to complex carbohydrates in vivo. *Am. J. Clin. Nutr.* 1981, 34, 1991–1993.
- [4] Englyst, H. N., Veenstra, J., Hudson, G. J., Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: A potential in vitro predictor of the glycaemic response. *Br. J. Nutr.* 1996, 75, 327–337.
- [5] Englyst, H. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., Cummings, J. H., Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycaemic response. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, 69, 448–454.
- [6] Englyst, H. N., Kingman, S. M., Cummings, J. H., Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1992, 46, S33–S50.
- [7] Wolf, B. W., Bauer, L. L., Fahey, G. C., Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: An attempt to discover slowly digested starch. *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 4178–4183.
- [8] Asp, N. G., Björck, I., Resistant starch. *Trends Food Sci. Technol.* 1992, 3, 111–114.
- [9] Topping, D. L., Clifton, P. M., Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and non-starch polysaccharides. *Physiol. Rev.* 2001, 81, 1032–1054.
- [10] Truswell, A. S., Glycaemic index of foods. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1992, 46, S91–S101.
- [11] Englyst, K. N., Vinoy, S., Englyst, H. N., Lang, V., Glycaemic index of cereal products explained by their rapidly and slowly available glucose. *Br. J. Nutr.* 2003, 89, 329–339.
- [12] Liu, S., Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *J. Am. Coll. Nutr.* 2002, 21, 298–306.
- [13] Faisant, N., Buleon, A., Colonna, P., Molis, C. et al., Digestion of raw banana starch in the small intestine of healthy humans: Structural features of resistant starch. *Br. J. Nutr.* 1995a, 73, 111–123.
- [14] Faisant, N., Gallant, D. J., Bouchet, B., Champ, M., Banana starch breakdown in the human small intestine studied by electron microscopy. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1995b, 49, 98–104.
- [15] da Mota, R. V., Lajolo, F. M., Ciacco, C., Cordenunsi, B. R., Composition and functional properties of banana flour from different varieties. *Starch/Stärke* 2000, 52, 63–68.
- [16] Pacheco-Delahaye, E., Maldonado, R., Pérez, E., Schroeder, M., Production and characterization of unripe plantain (*Musa paradisiaca* L.) flours. *Interciencia* 2008, 33, 290–296.
- [17] Rendón-Villalobos, R., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Bello-Pérez, L. A., Composite wheat-plantain starch salted noodles. Preparation, proximal composition and in vitro starch digestibility. *Interciencia* 2008, 39, 658–662.
- [18] Hernández-Nava, R. G., Berrios, J. De. J., Pan, J., Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L. A., Development and characterization of spaghetti with high resistant starch content supplemented with banana starch. *Food Sci. Technol. Int.* 2009, 15, 73–78.
- [19] Saifullah, R., Abbas, F. M. A., Yeoh, S.-Y., Azhar, M. E., Utilization of green banana flour as a functional ingredient in yellow noodle. *Int. Food Res. J.* 2009, 16, 373–379.
- [20] Ovando-Martínez, M., Sáyago-Ayerdi, S., Agama-Acevedo, E., Goñi, I., Bello-Pérez, L. A., Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chem.* 2009, 113, 121–126.
- [21] Juárez-García, E., Agama-Acevedo, E., Sáyago-Ayerdi, S. G., Rodríguez-Ambríz, S. L., Bello-Pérez, L. A., Composition, digestibility and application in breadmaking of banana flour. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2006, 61, 131–137.
- [22] Aparicio-Saguilán, A., Sáyago-Ayerdi, S. G., Vargas-Torres, A., Ascencio-Otero, T. E. et al., Slowly digestible cookies prepared from resistant starch-rich lintnerized banana starch. *J. Food Compos. Anal.* 2007, 20, 175–181.
- [23] Fasolin, L. H., Almeida, G. C., Castanho, P. S., Netto-Oliveira, E. R., Cookies produced with banana meal: Chemical, physical and sensorial evaluation. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2007, 27, 524–529.
- [24] Hernandez-Urbe, J. P., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernandez, J. J., Tovar, J., Bello-Pérez, L. A., Chemical composition and in vitro digestibility of pigmented corn tortilla. *J. Sci. Food Agric.* 2007, 87, 2482–2487.
- [25] AACC, American Association of Cereal Chemists, *Approved Methods of the AACC*, 10th Methods, St. Paul, MN 2000.
- [26] AOAC, Association of Official Analytical Chemists, in: Horwitz, W. (Ed.), *Official Methods of Analysis of*

Association of Official Analytical Chemists, 16th Edn., AOAC International, Gaithersburg 1999.

- [27] Saura-Calixto, F., García-Alonso, A., Goñi, I., Bravo, L., In vitro determination of the indigestible fraction in foods: An alternative to dietary fiber analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 3342–3347.
- [28] Granfeldt, Y., Björck, I., Drews, A., Tovar, J., An in vitro procedure based on chewing to predict metabolic response to starch in cereal and legume products. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1992, 46, 649–660.
- [29] Pareyt, B., Delcour, J. A., The role of wheat flour constituents, sugar and fat in low moisture cereal based products: A review on sugar-snap cookies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2008, 48, 824–839.
- [30] Cannet-Romero, R., Ledesma-Osuna, A. I., Maribel-Robles, M., Morales-Castro, S. R. et al., Caracterización de galletas elaboradas con cascarilla de urojo de uva. *Arch. Latin. Nutr.* 2004, 54, 93–99.
- [31] Bello-Pérez, L. A., Sáyago-Ayerdi, S. G., Mendez-Montealvo, G., Tovar, J., In vitro digestibility of banana starch cookies. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2004, 59, 79–83.
- [32] Vergara-Valencia, N., Granados-Pereza, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J. et al., Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *Lebens. Wissen. Technol.* 2007, 40, 722–729.
- [33] Preston, K. R., in: Hamer, R. J., Hosney, R. C. (Eds.), *Protein Carbohydrate Interaction*, American Association of Cereal Chemists, St. Paul MN 1998, pp. 81–93.
- [34] Rodríguez-Ambríz, S. L., Islas-Hernández, J. J., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Bello-Pérez, L. A., Characterization of a fibre-rich powder prepared by liquefaction of unripe banana flour. *Food Chem.* 2008, 107, 1515–1521.
- [35] Méndez-Montealvo, G., Solorza-Feria, J., Velázquez del Valle, M., Gómez-Montiel, N. et al., Chemical composition and calorimetric characterization of hybrids and varieties of maize cultivated in México. *Agrociencia* 2005, 39, 267–274.
- [36] Gibert, O., Dufour, D., Giraldo, A., Sanchez, T. et al., Differentiation between cooking bananas and dessert bananas. 1. Morphological and compositional characterization of cultivated Colombian Musaceae (*Musa* sp.) in relation to consumer preference. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 7857–7869.
- [37] Champ, M., Langkilde, A. M., Browns, F., Kettlitz, B., Collet, Y. L. B., Advances in dietary fiber characterization 1. Definition of dietary fiber, physiological relevance, health benefits and analytical benefits. *Nutr. Res. Rev.* 2003, 16, 71–82.
- [38] Ferguson, L. R., Tasman-Jones, C., Englyst, H., Harris, P. J., Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short-chain fatty acid production in rats. *Nutr. Cancer* 2000, 36, 230–237.
- [39] Zhang, G., Ao, Z., Hamaker, B. R., Slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules* 2006, 7, 3252–3258.
- [40] Zhang, G., Venkatachalam, M., Hamaker, B. R., Structural basis for the slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules* 2006, 7, 3259–3266.
- [41] Jenkins, D. J. A., Wolever, T. M. S., Collier, G. R., Ocana, A. et al., Metabolic effects of a low-glycemic-index diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 1987, 46, 968–975.
- [42] Trejo-González, A., Feria-Morales, A., Wild-Altamirano, C., in: Feeney, R. E., Whitaker, J. R. (Eds.), *The Role of Lime in the Alkaline Treatment of Corn for Tortillas Preparation*, American Chemical Society, Washington, DC 1982, pp. 245–262.
- [43] Tovar, J., Bioavailability of carbohydrates on legumes: digestible and indigestible fractions. *Arch. Latin. Nutr.* 1994, 44, 36S–40S.