



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



**Desarrollo de una Galleta de Avena Funcional
Enriquecida con Harina de Frijol (*Phaseolus vulgaris L*)
Azufrado-Higuera Extrudido: Estudio de su Potencial
Nutracéutico y Bioaccesibilidad.**

TESIS

Que presenta:

LBG. Fedra Carolina López Villa

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

Directores de tesis:

Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez

Dr. Vicente Adrián Canizalez Román

Culiacán, Sinaloa, México, junio de 2026.



Universidad Autónoma de Sinaloa

Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso



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

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

Esta obra está bajo una Licencia [Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)



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

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Nutracéuticos y Alimentos Funcionales de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa bajo la dirección de la Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez y el Dr. Vicente Adrián Canizalez Román, con la asesoría de la Dra. Claudia del Rosario León Sicairos y el Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor. El desarrollo de este trabajo contó con el apoyo de una beca de posgrado otorgada por SECIHTI a Fedra Carolina López Villa con CVU: 1312179.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la **Universidad Autónoma de Sinaloa y al Programa de Posgrado Integral en Biotecnología** por permitirme realizar mis estudios de posgrado. A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)** y al **Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI)** por otorgar el financiamiento para la realización del proyecto.

A mis directores de tesis, la **Dra. Edith Oliva Cuevas Rodríguez** y al **Dr. Vicente Adrián Canizalez Román** por la confianza y apoyo que me brindaron durante la realización de este proyecto. A la **Dra. Claudia del Rosario León Sicairos** y al **Dr. Héctor Manuel Flores Villaseñor**, por su paciencia, asesorías y apoyo durante la parte experimental; gran parte de este trabajo se debe a ustedes.

Al personal docente y compañeros del laboratorio N° 18 “Alimentos Funcionales y Nutraceuticos” por sus atenciones durante los últimos cinco años, en especial a la Dra. Evelyn Isabel Osuna Gallardo, Dra. Eslim Sandoval Sicairos, Dra. Ada Keila Milán Noris y a la Dra. Liliana León López por el apoyo que me han brindado durante este trayecto.

A Kendra Baldenebro y a Fernando Quintero por compartir conmigo esta etapa e iluminar mis días cuando había un poco de oscuridad. Gracias por los buenos momentos, las risas, la paciencia y el apoyo que recibí de ustedes. Son los mejores compañeros de laboratorio que me pudieron haber tocado en esta etapa, los quiero mucho. También quiero hacer una mención especial a Lizbeth Cazares, Olga López y Kenia Nevarez por los buenos momentos que hemos pasado juntas y brindarme su amistad. Las aprecio mucho.

A mis compañeros de los laboratorios de Biología Celular, Biología Molecular, Biotecnología y Enfermedades Metabólicas en la Facultad de Medicina: Edgar Vázquez, Yahaira Félix, Mariana Arce, Antonio Monroy, Alejandra Karam y Elsie Zavala, por brindarme su amistad y apoyo durante el poco tiempo que estuve de estancia. Quiero hacer una mención especial a Diana Ruiz que fue una persona que me guió en una parte crucial de mi proyecto, gracias por ser tan paciente y ayudarme cuando lo necesitaba. Eres buena amiga y espero que podamos seguir con nuestra amistad muchos años más.

A mis compañeros del laboratorio N°19 : Leonela Edeza, Mariana Molina y Ana Delia Martos por abrirme las puertas de su espacio y recibirme con amabilidad. Gracias por cada risa, cada café y cada comida que compartimos. A Gabriel León por toda la ayuda y paciencia que nos brindó mientras estábamos haciendo el experimental con los parásitos, eres un buen amigo.

A mis compañeros de posgrado, en especial a Rocío Cervantes y Lucía Padilla. Gracias por su amistad y compañerismo que tuvimos dentro y fuera del aula, sin ustedes la maestría no hubiera sido tan amena. Las quiero mucho.

A mis padres, Graciela y José Luis, y a mi hermana, Dulce, que me han brindado apoyo a lo largo de mi vida académica y han creído en mis sueños, esto es gracias a ustedes. Son lo más valioso en mi vida.

A mis amigos Airyne González, Mariana Villafuerte y Jorge Osuna, por su cariño y apoyo durante este tiempo. Gracias por escucharme y estar para mí en los últimos meses. Espero seguir

contando con ustedes por muchos años más. También quiero agradecer a Lynethe Torres, Fernanda Diaz, Daniela Recio, Hector Vazquez y José Manuel Tirado por estar en estos últimos dos años y brindarme su amistad.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xi
I. RESUMEN	1
II. ABSTRACT	2
III. INTRODUCCIÓN.....	3
IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
A. ALIMENTOS FUNCIONALES	5
B. FRIJOL	8
1. Generalidades y Diversidad.....	8
2. Estadísticas y Producción	8
3. Composición química.....	10
a. Proteína	10
b. Lípidos	11
c. Carbohidratos.....	11
d. Minerales	11
e. Vitaminas	12
f. Fibra	12

4. Compuestos Bioactivos de Frijol.....	12
5. Procesamiento de Frijol.....	15
C. AVENA	17
1. Generalidades y Diversidad.....	17
2. Estadísticas y Producción.....	17
3. Composición Química.....	19
a. Proteína.....	19
b. Lípidos.....	19
c. Carbohidratos.....	20
d. Minerales	20
e. Vitaminas	21
f. Fibra	21
4. Propiedades Nutraceuticas de la Avena	21
5. Procesamiento de Avena.....	22
E. PRODUCTOS DERIVADOS DE LEGUMINOSAS Y CEREALES	23
F. SIMULACIÓN GASTROINTESTINAL <i>In vitro</i>	31
1. Bases del Mecanismo del Sistema Digestivo	31
2. Modelos de digestión <i>in vitro</i>	31
a. Modelos de digestión <i>in vitro</i> dinámicos.....	32

b. Modelos de digestión <i>in vitro</i> estáticos	33
3. Fases del Sistema Digestivo <i>in vitro</i>	34
a. Fase Oral	34
b. Fase gástrica	34
c. Fase Intestinal	35
4. Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos	36
a. Péptidos	36
a. Fenólicos.....	37
V. JUSTIFICACIÓN	39
VI. HIPÓTESIS	40
VII. OBJETIVOS	41
A. Objetivo General.....	41
B. Objetivos Específicos	41
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
A. Materiales	42
B. Métodos	42
1. Procesamiento de frijol.....	42
2. Preparación de galletas	43
3. Propiedades fisicoquímicas	43

a. Color	43
b. Actividad de agua	46
c. pH	47
4. Composición proximal	47
a. Humedad	47
b. Proteína	47
c. Lípidos	48
d. Cenizas	48
e. Fibra	48
f. Carbohidratos	49
5. Análisis sensorial	49
6. Composición tecnofuncional	50
a. Índice de absorción de agua (IAA)	50
b. Índice de solubilidad en agua (ISA)	50
c. Índice de absorción de aceite (IAAc)	51
7. Composición Antinutricional	51
a. Ácido Fítico	51
b. Inhibidores de tripsina	52
c. Lectinas	53

d. Saponinas.....	54
8. Preparación de extractos estanoólicos	55
9. Digestibilidad de proteína <i>in vitro</i> (DPIV).....	56
10. Simulación de Digestión Gastrointestinal INFOGEST 2.0.....	56
11. Caracterización proteínica	57
a. Extracción de proteína	57
b. Perfil de proteínas (SDS-PAGE)	57
c. Proteína soluble	58
d. Cuantificación de péptidos	58
12. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.	59
a. Compuestos fenólicos totales (CFT).....	59
b. ABTS	59
13. Índice de Bioaccesibilidad e Índice de recuperación.....	60
a. Índice de bioaccesibilidad (IB).....	60
b. Índice de recuperación (IR).....	61
14. Actividad antiinflamatoria de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas	61

15. Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (< 10 kDa) de galleta	63
16. Actividad Antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas.....	63
a. Preparación de medios TYI-S-33	63
b. Cultivo de <i>Giardia duodenalis</i> en medio TYI-S-33	64
c. Evaluación de la actividad antiparasitaria	64
17. Análisis Estadístico.....	65
VIII. RESULTADOS	66
A. Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas crudas y extrudidas de frijol Azufrado Higuera.....	66
1. Composición química.....	66
2. Propiedades fisicoquímicas	69
3. Propiedades tecnofuncionales.....	71
4. Compuestos Antinutricionales.....	73
B. Composición química, propiedades fisicoquímicas, tecnofuncionales, sensoriales y nutricionales de galletas.....	76
1. Composición proximal	76
2. Propiedades Fisicoquímicas	82

3.	Propiedades tecnofuncionales.....	84
4.	Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i>	86
5.	Compuestos antinutricionales.....	86
6.	Análisis sensorial.....	88
7.	Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos etanólicos.....	91
C.	Caracterización proteínica de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.....	94
1.	Perfil de proteínas SDS-PAGE de harinas y galletas.....	94
2.	Proteína soluble (PS) y cuantificación de péptidos de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.	96
D.	Compuestos fenólicos totales (CFT) y actividad antioxidante (AAOX) de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.....	99
E.	Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y proteína soluble de galletas.....	102
F.	Efecto antiinflamatorio de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.	105
1.	Viabilidad Celular.....	105
2.	Actividad Antiinflamatoria	105
G.	Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.....	109

H. Actividad antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas.	116
IX. CONCLUSIONES	121
X. BIBLIOGRAFÍA	123
XI. ABREVIATURAS.....	133
XII. ANEXOS.....	138

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Imágenes representativas que muestran la diversidad del tamaño, la forma y el color de las semillas de frijol	9
2	Principales actividades farmacológicas de los péptidos del frijol común (<i>Phaseolus vulgaris L.</i>)	14
3	Morfología de grano de avena	18
4	Principales métodos de procesamiento de avena	24
5	Proceso de producción de galletas	45
6	Imágenes representativas de las galletas	83
7	Perfil de proteínas SDS-PAGE de harinas y galletas con sus respectivas fracciones digeridas solubles e insolubles de (<10 kDa)	97
8	Viabilidad celular de las fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de la galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol extrudido (GAFE)	106
9	Efecto antiinflamatorio de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE).	107
10	Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galleta de Avena sin Adicionar (GA) y galleta de Avena	111

adicionada con frijol extrudido (GAFE) contra *Escherichia coli* ATCC 25922.

- 11** Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (10 kDa) de la galleta de avena comercial (GAC), galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol extrudido (GAFE) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 113

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Compuestos bioactivos	6
2	Galletas funcionales	27
3	Formulación de galletas	44
4	Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas crudas y extrudidas de frijol Azufrado Higuera.	67
5	Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de galletas	77
6	Evaluación sensorial de las galletas	89
7	Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos etanólicos de galletas	92
8	Contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.	97
9	Contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.	100
10	Índices de recuperación y bioaccesibilidad en proteína soluble, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de galletas	103
11	Actividad antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas	118

I. RESUMEN

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L) es una de las leguminosas más consumidas debido a su composición nutricional y propiedades nutraceuticas. Su uso como ingrediente se ha incrementado en los últimos años al considerarse de alto valor nutricional en productos de gran demanda, como las galletas, y al combinarse con un cereal, puede ofrecer un producto con mejor calidad nutricional. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial nutraceutico de galletas funcionales elaboradas a partir de harinas de frijol azufrado-higuera extrudida y avena. Se formularon galletas con una proporción avena: frijol de 50:50 y se evaluó su contenido nutricional y funcional. Después de la simulación gastrointestinal *in vitro* (SDG), se obtuvieron fracciones digeridas solubles e insolubles de (<10 kDa,) en las cuales se evaluó la actividad antioxidante *in vitro*, actividad antiinflamatoria en células RAW264.7, actividad antimicrobiana en *e.coli* y *s.aureus*, y actividad antiparasitaria contra *G.duodenalis*. Los resultados mostraron que la incorporación de frijol extrudido en galletas de avena incrementó significativamente ($p \leq 0.05$) el contenido de proteínas y minerales, y redujo el contenido de lípidos y carbohidratos. Asimismo, se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la capacidad antioxidante en comparación con una galleta comercial de avena, así como una disminución significativa ($p \leq 0.05$) de compuestos antinutricionales (ácido fítico, saponinas, inhibidores de tripsina y lectinas) sin afectar la digestibilidad. Después de la SGD, las fracciones digeridas mostraron actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana y antiparasitaria, lo cual podría atribuirse a la liberación de compuestos bioactivos, como péptidos y fenólicos, durante la digestión. Estos resultados indican que la adición de harinas de Frijol Higuera Extrudido puede potenciar las propiedades nutricionales y funcionales en galletas elaboradas a base de avena, lo cual podría ser una opción más saludable en comparación con los productos que se venden en el mercado.

Palabras clave: frijol, avena, extrusión, digestión, compuestos bioactivos, antioxidantes, antimicrobianos.

II. ABSTRACT

Beans (*Phaseolus vulgaris*) are one of the most widely consumed legumes due to their nutritional composition and nutraceutical properties. Their use as an ingredient has increased in recent years as they are of high nutritional value in products in high demand, such as cookies, and when combined with cereal, they can offer a product of better nutritional quality. The objective of this study was to evaluate the nutritional and nutraceutical potential of functional cookies made from extruded azufrado-higuera beans and oats. Cookies were made using a 50:50 oat-to-bean ratio, and their nutritional and functional properties were evaluated. After in vitro gastrointestinal simulation (SDG), soluble and insoluble (<10 kDa) digested fractions were obtained, in which in vitro antioxidant activity, anti-inflammatory activity in RAW264.7 cells, antimicrobial activity in *E. coli* and *S. aureus*, and antiparasitic activity against *G. duodenalis* were evaluated. The results showed that incorporating extruded beans into oatmeal cookies significantly ($p \leq 0.05$) increased protein and mineral content while reducing lipid and carbohydrate content. Likewise, a significant increase ($p \leq 0.05$) in antioxidant capacity was observed compared to a commercial oatmeal cookie, and a significant decrease ($p \leq 0.05$) in antinutritional compounds (phytic acid, saponins, trypsin inhibitors, and lectins) was observed, without affecting digestibility. After SGD, the digested fractions showed antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and antiparasitic activity, which could be attributed to the release of bioactive compounds, such as peptides and phenolics, during digestion. These results suggest that adding extruded azufrado-higuera bean flour can improve the nutritional and functional properties of oat-based cookies, making them a healthier option than products currently on the market.

Keywords: beans, oats, extrusion, digestion, bioactive compounds, antioxidant, antimicrobial.

III. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el interés por la relación entre la alimentación y la salud ha aumentado de manera significativa, impulsado por el incremento de la prevalencia de enfermedades crónicas no degenerativas y por la necesidad de estrategias preventivas basadas en la alimentación. En este contexto, ha surgido el concepto de alimentos funcionales, que pueden definirse como alimentos procesados que, además de su valor nutritivo, pueden tener beneficios para la prevención de enfermedades y/o la promoción de la salud (Pradhan y col., 2023).

Las leguminosas se caracterizan por su alto contenido de proteínas, el cual oscila entre 15 y 40%. El frijol es una de las leguminosas más consumidas a nivel mundial, gracias a su contenido nutricional, en especial proteína y fibra, y nutracéutico, por su contenido de compuestos fenólicos, antinutricionales y péptidos bioactivos que funcionan como inhibidores de α -amilasa, α -glucosidasa y ECA (Oseguera-Toledo y col., 2015)

Los cereales también son una fuente importante de nutrientes, su contenido proteico oscila entre 6 y 16%. La avena es uno de los cereales de mayor importancia económica y el sexto cereal en producción. Es una opción ideal para un determinado grupo de personas debido a sus pequeños porcentajes de gluten y sus compuestos, como β -glucano, avenamidas y fenólicos. También se caracteriza por sus péptidos bioactivos, con potencial anticancerígeno y antimicrobiano (Sood y col., 2022) .

En los últimos años, se ha implementado la combinación de cereales y leguminosas en diversos productos de consumo diario, debido a la eficacia proteica que se ve reforzada por los perfiles complementarios de aminoácidos esenciales. En productos de panadería, como las galletas, se ha observado que este tipo de combinaciones aumenta el contenido proteico y

mineral, disminuye el contenido de carbohidratos, y aumenta la digestibilidad y la capacidad antioxidante (Monet y col., 2019; Orozco-Angelino y col., 2023).

Durante el tránsito por el tracto gastrointestinal, la matriz alimentaria es sometida a variaciones de pH y de actividad enzimática que pueden modificar la liberación y la estabilidad de compuestos bioactivos, como péptidos y compuestos fenólicos. En consecuencia, es fundamental emplear modelos de simulación gastrointestinal *in vitro*, que permiten estimar la bioaccesibilidad de estos componentes y comprender cómo el proceso digestivo puede influir en las propiedades finales del producto adicionado con frijol (Calero y col., 2024).

Por lo tanto, la presente investigación surge de la necesidad de evaluar no solo la composición inicial de una galleta funcional a base de avena y frijol, sino también su comportamiento dinámico en condiciones digestivas. Los resultados obtenidos permitirán validar este producto como una alternativa viable para mejorar la ingesta de compuestos promotores de la salud en la dieta diaria, aportando datos científicos sobre la persistencia de sus propiedades nutraceuticas tras la digestión.

IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

A. ALIMENTOS FUNCIONALES

El término alimentos funcionales surge a principios de los años 1980 en Japón. Aunque no existe una definición unificada, un concepto común y básico es alimentos procesados que tienen beneficios para la prevención de enfermedades y/o la promoción de la salud, además de su valor nutritivo, que permite diferenciarlo de nutracéuticos que se definen como alimentos o componentes aislados de los mismos que proporcionan beneficios médicos o para la salud, incluida la prevención y/o el tratamiento de enfermedades (Pradhan y col., 2023; Faienza y col., 2024).

Actualmente, los alimentos funcionales se han popularizado por diversos factores, como una mayor conciencia sobre la salud humana, la expansión de la industria alimentaria, la medicina y las disciplinas de las ciencias naturales que investigan la relación entre la nutrición y la salud. Asimismo, se ha comprobado que están enriquecidos de diversos componentes no nutritivos, identificados como compuestos bioactivos, que contribuyen a la promoción de la salud y a la prevención de enfermedades, los cuales se metabolizan, oxidan o modifican y se clasifican como compuestos bioactivos en lugar de nutrientes (Marcía-Fuentes y col., 2026).

Estos compuestos bioactivos se pueden obtener principalmente de fuentes vegetales, como frutas, cereales, leguminosas y pseudocereales, y de fuentes animales, como peces, crustáceos e insectos, entre otros. Dentro del extenso grupo de compuestos bioactivos se encuentran alcaloides, fenólicos, flavonoides, compuestos antinutricionales, péptidos bioactivos, carotenoides y omega-3, los cuales se han encontrado que ejercen diversas bioactividades que pueden mejorar la salud (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Compuestos Bioactivos

Compuesto Bioactivo	Características	Función	Referencia
Alcaloides	Son metabolitos secundarios y son comunes en hongos filamentosos y se forman mediante la condensación de algunos aminoácidos, como el triptófano, la prolina y la leucina.	Actividad antimicrobiana, antiviral, anticancerígena, inmunomoduladora, antioxidante e insecticida	Deng y col., 2023
Flavonoides	Se encuentran en alimentos como frutas, verduras, té, vino y chocolate	Activación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), asociada con la regulación del metabolismo lipídico y la adipogénesis.	García y Shaw., 2017.
Péptidos Bioactivos	Son segmentos de 2 a 20 aminoácidos. Se pueden obtener de diversas fuentes alimentarias por medio de hidrólisis enzimática	Poseen diversas propiedades biológicas como antihipertensivas, antidiabéticas, anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes	Vlaicu y col., 2023

Carotenoides	<p>Son pigmentos lipofílicos y están formados por un esqueleto de aproximadamente 40 carbonos que contienen grupos poliéneos con grupos terminales en ambos extremos de la cadena. Los carotenoides pueden clasificarse en dos categorías: carotenos y xantofilas.</p>	<p>Actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora y regulación del ciclo celular y de la apoptosis que presentan estas moléculas.</p>	Amengual, 2019
Omega-3	<p>El omega-3 no suele ser sintetizado por el cuerpo humano, por lo que se puede encontrar en alimentos como pescados grasos, las semillas de lino y las nueces.</p>	<p>Poseen propiedades antiinflamatorias que contribuyen a la salud cardiovascular al mitigar la inflamación de los vasos sanguíneos y reducir el riesgo de aterosclerosis</p>	Vlaicu y col., 2023

B. FRIJOL

1. Generalidades y Diversidad

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es una de las especies más cultivadas y consumidas a nivel mundial gracias a su valor nutritivo y a su carácter como fuente de proteínas de alta calidad. Es un cultivo que pertenece a la familia *Fabaceae*, tercera familia de angiospermas más grande después de *Orchidaceae* y *Compistae*. El género *Phaseolus* abarca aproximadamente 70 especies, que se distribuyen según su tamaño, forma y color (**Figura 1**) (Corzo-Rios y col., 2024; Vieira y col., 2023).

2. Estadísticas y Producción

En 2024, el país con mayor producción de frijol a nivel mundial fue India con 7,99 millones de toneladas, seguida de países como Brasil (3 millones de toneladas), Myanmar (2,3 millones de toneladas), Tanzania (1,4 millones de toneladas), Estados Unidos (1,4 millones de toneladas), México (996.392 toneladas) y Kenia (903.859 toneladas) (FAOSTAT, 2026).

En el contexto nacional, Zacatecas se posicionó como líder en la producción de frijol en México, con el 33 % de la producción total. Por su parte, Sinaloa registró una producción de 172,239 toneladas en 2024, lo que la posicionó en el segundo lugar a nivel nacional, con el 20.5 % del total del año agrícola. Posteriormente se encuentran los estados de Nayarit, Chiapas y Durango, cada uno con una contribución inferior al 10 % de la producción nacional (DGSIAP, 2026).



Figura 1. Imágenes representativas que muestran la diversidad del tamaño, la forma y el color de las semillas de frijol (Choudhary y col., 2018)

3. Composición química

a. Proteína

El frijol se caracteriza por ser una fuente de proteínas, la cual varía entre el 18% y el 30%, porcentajes que pueden variar dependiendo de algunos factores como la variedad y las condiciones de cultivo. Corzo-Ríos y col (2020) evaluaron dos tipos de frijol, frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y frijol ayocote (*Phaseolus coccineus L.*), reportando porcentajes de 17.1% a 26.7% en distintas variedades de frijol común y de 17% a 18% en dos variedades de frijol ayocote.

El frijol contiene proteínas como las faseolinas, que son proteínas de almacenamiento y constituyen el grupo más abundante, con un 30%-50% de la proteína total en el frijol común, mientras que la familia de las lectinas abarca un 10%-12% de la proteína total (Luna-Vital y col., 2015). Las lectinas del frijol se encuentran en las fracciones de albúmina y globulina, con funciones principalmente de almacenamiento y de defensa cuando la semilla es atacada por insectos u hongos (Mani-López y col., 2021). Los inhibidores de la α -amilasa y la fitohemaglutinina se caracterizan por su poder reductor en los mecanismos de absorción de glucosa y disminución de grasas, así como su participación en la regulación del apetito por medio de hormonas anoxigénicas (Ramirez-Jimenez y col., 2015).

En aminoácidos, el frijol se caracteriza principalmente por ser rico en lisina y treonina, pero carece de aminoácidos que contienen azufre como metionina y cisteína, los cuales se pueden encontrar en mayor proporción en cereales, por lo que se recomienda la combinación de cereales y leguminas para obtener un mayor equilibrio proteico (Santos y col., 2020).

b. Lípidos

El frijol contiene del 1,5 % al 6,2 % de contenido lipídico dependiendo de su variedad, localización, condiciones ambientales y el tipo de suelo donde se desarrolla. Los ácidos grasos que se suelen encontrar en mayor concentración son el ácido oleico y linolénico, además de fracciones de α -linolénico (en forma de glicéridos), los cuales pueden oxidarse fácilmente (David y col., 2019).

c. Carbohidratos

Los carbohidratos son el principal componente en los frijoles, ya que cubren entre 50% y 60% de la materia seca. Las fracciones de carbohidratos del frijol están compuestas principalmente por monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y almidón. El almidón es un polisacárido de almacenamiento de las semillas de frijol y representa entre el 25% y el 45% de los carbohidratos totales del frijol. Al igual que el almidón de tubérculos, el almidón del frijol se compone de amilosa y amilopectina, teniendo mayor contenido de amilosa que de amilopectina (Punia y col, 2020; Kotha y col, 2020).

d. Minerales

El frijol es rico en micronutrientes como el hierro, el zinc y el cobre. El zinc y el hierro se encuentran presentes en diversas variedades de frijol en altas concentraciones y son esenciales para el organismo ya que participan como cofactores en procesos fisiológicos y metabólicos. El hierro se encuentra presente en los grupos hemo (hemoglobina, mioglobina, citocromo, oxido nítrico sintetasa), en clusters que se pueden encontrar en complejos respiratorios y en otros grupos funcionales, por lo que se considera un componente importante en procesos biológicos como replicación y reparación de ADN, fosforilación oxidativa y transporte de oxígeno. El

consumo habitual de frijol puede ayudar en la prevención de anemia (Campos-Vega y col., 2022).

e. Vitaminas

El frijol es una fuente de complejos de vitaminas B1, que participan en el metabolismo de macromoléculas, la síntesis de hormonas y la síntesis de purinas y pirimidinas. También conocida como tiamina, se convierte en formas biológicamente activas, como el difosfato de tiamina (ThDP), que es un coenzima presente en enzimas participan implicadas en el metabolismo de carbohidratos (Parkhomenko y col., 2020). La deficiencia de tiamina puede causar enfermedades como el beriberi, una afección caracterizada por trastornos del corazón, los nervios y los procesos digestivos.

f. Fibra

La fibra es uno de los componentes bioactivos más importantes de las leguminosas y se utiliza como ingrediente funcional en la gran mayoría de los alimentos funcionales. El frijol es una de las mayores fuentes de fibra, la cual puede regular la digestión de hidratos de carbono y lípidos y dar sensación de saciedad. Además, se asocia a beneficios para la salud, como la reducción de los niveles de colesterol y glucosa en sangre y la mejora de la digestión. (Santos y col., 2020; Tiwari y Cummins, 2021).

4. Compuestos Bioactivos de Frijol

El papel beneficioso del frijol para la salud humana se atribuye a sus moléculas bioactivas, de las cuales los compuestos fenólicos, saponinas, péptidos y pequeñas proteínas son los más relevantes. Algunos de ellos son ubicuos en la familia, mientras que otros son típicos de algunos géneros o especies y su síntesis es provocada por las condiciones de crecimiento de la planta.

Entre los distintos compuestos bioactivos que se encuentran en el frijol, cabe destacar los compuestos fenólicos y los polifenoles, que son los más estudiados, donde se ha descubierto que poseen una amplia gama de bioactividades, como la modulación del metabolismo, la homeostasis y la proliferación celular, así como propiedades antioxidantes, que son esenciales para la prevención de condiciones de estrés oxidativo y enfermedades como el cáncer (Conti y col., 2021).

Los polifenoles son metabolitos secundarios producidos por las plantas en respuesta a la radiación UV, los patógenos y las plagas. La mayor cantidad de compuestos polifenólicos se encuentra concentrada en la cubierta de la semilla, donde los niveles totales de polifenoles están influidos por factores genéticos y ambientales. El color de la cubierta de la semilla puede depender de la variabilidad de las sustancias polifenólicas, en las que las cubiertas oscuras presentan un mayor contenido de estos compuestos (Conti y col., 2021).

Los péptidos bioactivos reportados en el frijol pueden tener múltiples actividades fisiológicas, tales como antioxidantes, antihipertensivas, antidiabéticas, anticancerígenas, inmunomoduladoras, antimicrobianas e hipocolesterolémicas que contribuyen a regular las funciones fisiológicas y prevenir determinadas enfermedades crónicas, y al mismo tiempo, aplicar en el desarrollo de alimentos funcionales (**Figura 2**) (Reyes-Bautista y col., 2024).

El frijol también contiene compuestos bioactivos, conocidos como factores antinutricionales, que pueden limitar la asimilación de proteínas, minerales y vitaminas. Algunos ejemplos de este tipo de compuestos que se encuentran comúnmente en el frijol son los inhibidores de tripsina, saponinas, fitatos, taninos y lectinas. Se ha demostrado que la ingesta de altas concentraciones de estos compuestos puede ocasionar efectos adversos en la salud del consumidor. Por ello, se recomienda la aplicación de procesos tecnológicos como la extrusión,

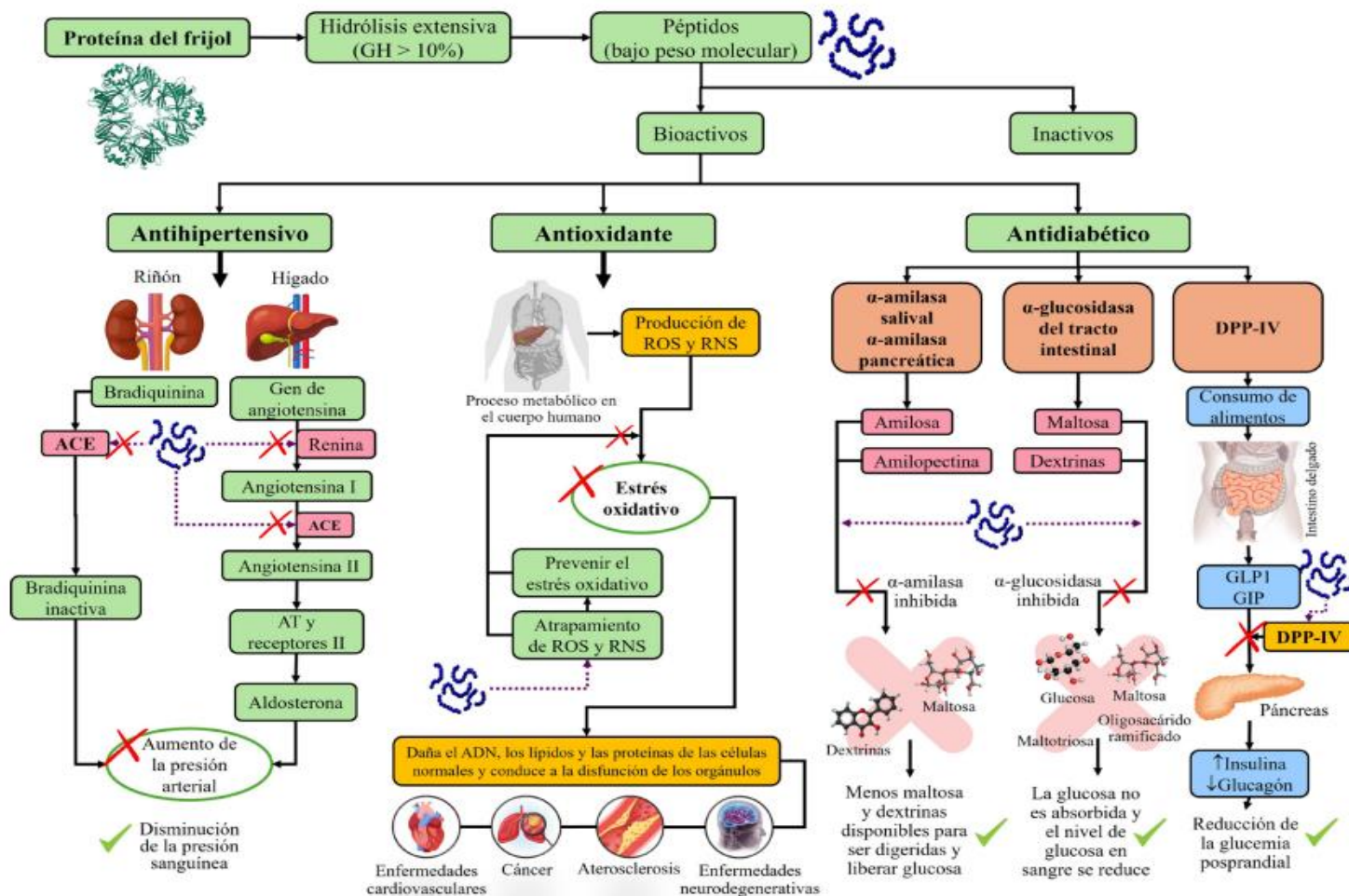


Figura 2. Principales actividades farmacológicas de los péptidos del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) (Reyes-Bautista y col., 2024)

germinación y fermentación, los cuales contribuyen a su reducción o inactivación (Alvarado-Ramos y col., 2024).

En los últimos años se ha estudiado posibles bioactividades en este tipo de compuestos que pueden resultar ser beneficiosos para la salud, como las saponinas, las cuales están relacionadas con actividades inmunoestimulantes, hipocolesterolémicas, antitumorales, antiinflamatorias, antibacterianas, antivirales, antifúngicas y antiparasitarias, y en la microbiota estas pueden tener efectos similares a los prebióticos (Navarro del Hierro y col., 2018).

5. Procesamiento de Frijol

A pesar de su alto contenido nutricional, los granos de frijol están infrautilizados, en parte porque su consumo puede provocar flatulencias, gracias a oligosacáridos, y una menor digestibilidad de las proteínas. Su reducida digestibilidad se le puede atribuir a la presencia de barreras naturales y compuestos no nutricionales dentro de las células vegetales. En la vida diaria, el consumo de frijol sin procesar o procesado de forma incorrecta puede provocar intoxicación alimentaria. La existencia de compuestos antinutricionales, como algunas proteínas y alcaloides, puede reducir la tasa de absorción de nutrientes, afectando la salud de todo aquel que lo consuma. Entre los compuestos antinutricionales se pueden encontrar principalmente lectina, inhibidor de tripsina, ácido fítico y saponinas, que inhiben la actividad de la proteasa, quelan cofactores iónicos o forman complejos irreversibles para bloquear la digestión de proteínas (Zhang y col., 2023). El procesamiento de leguminosas, como el frijol, suele implicar la alteración de la matriz alimentaria, mejorando su estructura para que sea más fácil de masticar y permitir la liberación de macromoléculas, como proteínas y almidón, y su digestión en el tracto gastrointestinal. Además, el procesado de los alimentos ayuda a eliminar antinutrientes,

incluyendo taninos, ácido fítico e inhibidores de tripsina, que pueden afectar la biodisponibilidad de las proteínas (King y col., 2024).

Los granos enteros son sometidos primero a una fase inicial de preparación o transformación. Estas técnicas han incluido el remojo, el descascarillado, la germinación, la fermentación y procesos térmicos, que son eficaces para reducir el contenido de antinutrientes a través de la transferencia de masa, la eliminación física de la cubierta externa de la semilla o por medio de reacciones bioquímicas dentro del grano, mejorando la digestibilidad de este (King y col., 2024; Ohanenye y col., 2022).

La cocción por extrusión es una tecnología multifuncional y un proceso térmicamente eficiente, ideal para el desarrollo de productos con alto valor nutricional, con una vida útil prolongada y asequibles. Productos como aperitivos tradicionales, pasta, alimentos para mascotas, cereales para el desayuno, aperitivos inflados, galletas saladas, productos listos para el consumo como snacks, galletas y pellets pueden fabricarse mediante extrusión. La exposición a los efectos combinados de alta temperatura, alta presión y cizallamiento desencadena una serie de reacciones y cambios en la composición nutricional y en las propiedades funcionales de los alimentos (Tas y Sha., 2021). Osuna-Gallardo y col (2023) reportaron que después del proceso de extrusión de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus L.*), este aumentaba su contenido de minerales, aumentaba su digestibilidad y disminuía el contenido de compuestos antinutricionales como inhibidores de tripsina, saponinas y taninos al compararlos con la harina de frijol ayocote sin procesar.

C. AVENA

1. Generalidades y Diversidad

La avena (*Avena sativa*) es un cultivo que pertenece a la familia *Poaceae*. El género avena consiste en 26 especies, destacando cuatro variedades como *Avena sativa*, *Avena byzantina*, *Avena strigosa* y *Avena abyssinica*, siendo la variedad *Avena sativa* la más cultivada (Boczkowska y col., 2016).

Los granos de avena están compuestos por una cáscara protectora y un grano, cariósipide, que contiene una capa de salvado grueso, germen y endospermo almidonado (**Figura 3**). La cáscara está conformada por celulosa y hemicelulosa, mientras que el salvado suele estar compuesto por la cubierta de la semilla, el núcleo, la capa de aleurona y el endospermo almidonado subaleurónico. Además, contiene componentes químicos como minerales, vitaminas, fitatos y polisacáridos de la pared celular, principalmente celulosa, arabinosilano y β -glucanos (Mao y col., 2021)

La avena se puede encontrar comercialmente como harina, copos y salvado que se utilizan principalmente como cereales para el desayuno, productos de panadería y alimento para ganado. En los últimos años, se han utilizado componentes de la avena como la fibra dietética soluble y proteínas para la elaboración de bebidas, aperitivos y alternativas cárnicas (Holopainen-Mantila y col., 2024).

2. Estadísticas y Producción

La avena es considerada como el sexto cereal más importante en cuanto a producción, cultivándose ampliamente en regiones con latitudes de 40°N y 60 °N, caracterizándose por ser frescas y húmedas (Yang y col., 2023). De acuerdo con datos reportados por la FAOSTAT, en

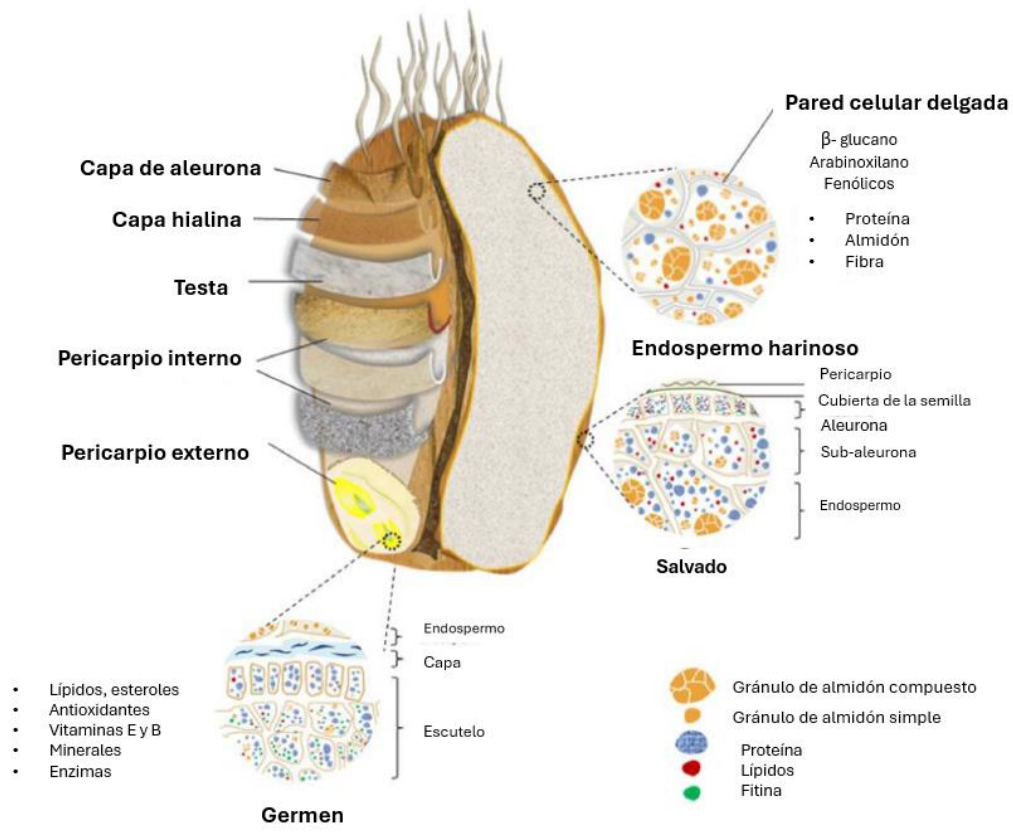


Figura 3. Morfología de grano de avena (Holopainen-Mantila y col., 2024).

2024 el país con mayor producción de avena fue Canadá con 3.3 millones de toneladas, seguido de Rusia, Polonia, Australia, Finlandia, España, Brasil y Reino Unido. En México, los estados de Chihuahua y Durango producen alrededor del 78.7 % del total de avena producida en el país, ambos estados cumplen con las condiciones climatológicas para su siembra.

3. Composición Química

a. Proteína

La avena es uno de los cereales con mayor porcentaje de proteína (12-20%) y con composición balanceada de aminoácidos, destacando con un 32% de aminoácidos esenciales. La proteína de avena se caracteriza por no contener la mayoría de los alérgenos que se suelen encontrar en otros cereales y leguminosas (Yang y col., 2023). Dentro de las proteínas de avena 12% y glutelinas (<10%) (Kumar y col., 2021).

b. Lípidos

La avena se caracteriza por tener un mayor contenido de lípidos (6-10%) en comparación con el resto de los cereales (2-3%), esto se debió a su alto contenido de grasas insaturadas. Los lípidos de la avena se suelen encontrar almacenados en el endospermo en comparación con otros granos que los almacenan en los gérmenes y el disco germinal. Entre el extenso grupo de ácidos grasos que contiene la avena se encuentran los ácidos linoleico y linolénico, que son conocidos por ser ácidos grasos insaturados, y el mirístico, el palmítico y el ácido esteárico, que son ácidos grasos saturados (Kim y col., 2021).

La avena se caracteriza por su alto contenido de ácido oleico, linoleico y palmítico. Los ácidos oleico y linoleico son ácidos grasos insaturados nutricionalmente esenciales, y el ácido

palmítico previene la peroxidación de la grasa, lo que causa toxicidad y reduce el sabor de los granos.

c. Carbohidratos

El almidón es el componente más abundante, comprendiendo aproximadamente el 60% del grano de avena. La amilosa y la amilopectina constituyen el 98-99% de los carbohidratos constituyentes de los gránulos de almidón de avena (Alemayehu y col., 2023).

Diversos estudios han identificado bioactividades en los polisacáridos que se encuentran en la avena, como efectos inmunomoduladores, reducción de colesterol, actividad reguladora del microbiota intestinal, digestibilidad y efectos hipoglucemiantes, así como su uso como edulcorante, que es una alternativa ideal para evitar los daños provocados por el consumo excesivo de sacarosa (Li y col, 2024).

d. Minerales

La avena es el cereal con mayor contenido de minerales, gracias a su alto contenido de hierro, magnesio, zinc, selenio, calcio y fósforo, los cuales se localizan principalmente en la capa de aleurona y en el embrión. Estos minerales son conocidos por ser cofactores de enzimas antioxidantes, protegen las células inmunitarias de los ataques de los radicales libres y regulan la proliferación de las células inmunitarias (Chen y col., 2021).

El calcio es un oligoelemento cuya función está relacionada con la construcción del sistema óseo, regulación de la glándula tiroidea, y disminución de los niveles de colesterol. El magnesio participa en la regulación de la coagulación de la sangre, además de que los bajos niveles de este mineral están asociados al desarrollo de diabetes tipo 1 y 2. El selenio contribuye

indirectamente al sistema inmunitario a través de su papel en el sistema de defensa antioxidante, se ha reportado que su constante ingesta disminuye el riesgo de infecciones víricas y bacterianas (Zhelyazkov y col., 2024).

e. Vitaminas

La avena es fuente de vitamina E, la cual se considera antioxidante y desempeña un papel importante en la prevención de enfermedades, protegiendo al organismo de los radicales libres dañinos, causantes de enfermedades como el cáncer. También se ha demostrado que los granos de avena son ricos en vitaminas del grupo B como tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina (vitamina B3) y ácido pantoténico (vitamina B5) y son reconocidos por participar en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y ácidos grasos, procesos de detoxificación, crecimiento de tejidos y producción de glóbulos rojos (Leszczynska y col., 2023).

f. Fibra

La avena es una buena fuente de fibra, principalmente de β -glucanos, compuestos que se caracterizan por la regulación del metabolismo de la glucosa, reduciendo la hiperglucemia, especialmente en dosis altas como la metformina, comportamiento que se ha observado en pruebas *in vivo* e *in vitro*. Además, se ha reportado que el consumo constante de β -glucanos disminuye la absorción de colesterol y efectos inmunológicos (innatos y adaptativos) (Quiñones-Muñoz y col., 2022).

4. Propiedades Nutracéuticas de la Avena

Además de su composición nutricional, la avena se caracteriza por sus diversos compuestos bioactivos que ofrece, los cuales la convierten en un alimento ideal para su consumo constante. Diversas investigaciones han reportado que los polisacáridos de la avena poseen

potencial nutracéutico como la regulación inmunitaria, antioxidantes, antitumorales, antiinflamatorios y la regulación de la microbiota intestinal (Li y col., 2024). También se ha demostrado un efecto positivo en la reducción del colesterol en sangre y se reduce el riesgo de enfermedades coronarias, efectos que fueron atribuidos al β -glucano que se suele encontrar en las fibras de la avena (Aparicio-Vizuet y Ortega-Anta, 2016).

La avena también se caracteriza por su contenido de fenólicos como los flavonoides y las avenatramidas poseen propiedades antialérgicas, antioxidantes y antiinflamatorias similares al β -glucano, y su mayor concentración de enzima lipasa que otros cereales, que tiene numerosas funciones fisiológicas, como actividad antibacteriana directa a través de la hidrólisis de los triglicéridos presentes en las membranas celulares de los microorganismos y la descomposición del colesterol (Sood y col., 2022).

Con respecto a la proteína, se ha reportado que los péptidos de avena tienen diversas bioactividades, que varían según el procesamiento y la enzima que se haya empleado para su obtención. Sánchez-Velázquez y col. (2021) obtuvieron péptidos de 0.2-4 kDa por medio de simulación gastrointestinal donde se observó mayor potencial antioxidante. Esfandi y col (2022) reportaron péptidos con inhibición de lipasa, oxidación de ácido linolénico e inhibidores de α -amilasa que fueron obtenidos a partir de hidrólisis con papaína.

5. Procesamiento de Avena

A pesar de ser un cereal rico en nutrientes, uno de los desafíos que enfrenta la avena es que carece de sabor y, para lograr su sabor característico, es necesario someterla a un procesamiento, el cual implica una serie de pasos previos como limpieza, clasificación de las semillas crudas y el descascarillado. El procesamiento puede beneficiar o afectar las propiedades

de la avena; esto se debe a que puede aparecer un sabor desagradable durante el procesado o el almacenamiento a largo plazo debido al contenido de lípidos de la avena. Además, las propiedades fisicoquímicas de la avena, como la ausencia de gluten y las propiedades del almidón, pueden dificultar su uso para la obtención de productos alimenticios de alta calidad en comparación con otros cereales como el trigo (Yang y col., 2023).

Actualmente se utilizan diversas estrategias para estabilizar y mejorar la calidad de la avena y sus alimentos (**Figura 4**). Uno de los más utilizados son los tratamientos térmicos, como el horneado, el tostado en seco con aire caliente, la extrusión, el tratamiento con vapor sobrecalentado y el tratamiento con microondas, y se ha observado que someter a la avena a este tipo de procesamiento puede mejorar la calidad sensorial de la avena. La extrusión es utilizada en la producción de botanas debido a su procesamiento eficiente. El tratamiento a alta temperatura y presión puede aumentar la digestibilidad de los componentes y reducir la actividad enzimática, así como minimizar los efectos nocivos sobre los alimentos, como el oscurecimiento y los daños nutricionales (Yang y col., 2023; Zhou y col., 2022). La germinación se ha utilizado para suavizar la estructura del grano, mejorar su valor nutricional, reducir los efectos antinutricionales y obtener proteínas de mayor calidad. También se ha observado un aumento en el contenido de avenatramidas, pero puede disminuir el contenido de β -glucano, afectando su uso como producto alimenticio (Rasane y col., 2015).

E. PRODUCTOS DERIVADOS DE LEGUMINOSAS Y CEREALES

En la búsqueda de alternativas de ingredientes convencionales para la elaboración de productos de consumo habitual y con el fin de generar alimentos más nutritivos, se ha venido promoviendo la combinación de distintas especies vegetales y animales. Los cereales y las

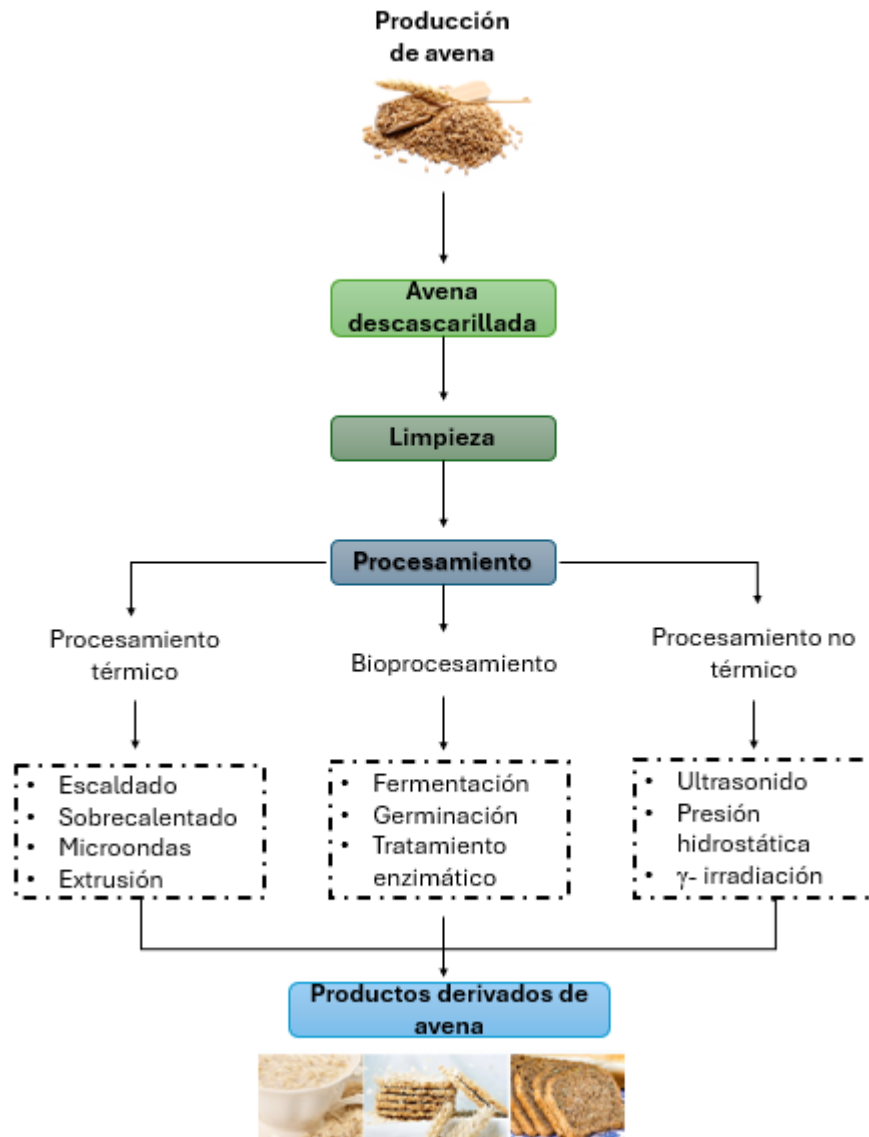


Figura 4. Principales métodos de procesamiento de avena (Adaptada de Yang y col., 2023)

leguminosas son una fuente de nutrientes y, al combinarse, la eficacia proteica mejora gracias a los perfiles complementarios de aminoácidos esenciales, metabolitos secundarios, vitaminas, minerales y fibra, lo que promueve un papel clave en la prevención de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, enfermedades del aparato digestivo, sobrepeso y obesidad (Monnet y col., 2019). La incorporación de diversos granos en productos de consumo habitual ha sido objeto de estudios como estrategia para su valorización y reutilización, contribuyendo a una economía circular al mitigar el consumo excesivo de materias primas. En el uso de cereales y leguminosas para el consumo humano intervienen varios aspectos, pero uno de los principales impulsores es su alto contenido en fibra dietética, minerales y fitoquímicos, así como proteínas, grasas y vitaminas (Orozco-Angelino y col., 2023). Además, el desarrollo de nuevos métodos de procesamiento de cereales y leguminosas ha facilitado el desarrollo de estos productos, mejorando la biodisponibilidad de algunos nutrientes, la digestibilidad y las cualidades sensoriales.

La incorporación de ingredientes a base de leguminosas en diferentes productos alimenticios puede expandir su uso potencialmente en la industria, más allá de los patrones de consumo tradicionales. Como ingredientes, las leguminosas son adecuadas para desarrollar nuevos productos alimenticios, como mezclas y masas compuestas, alternativas y extensores de carne, productos sin gluten, productos horneados, botanas, tortillas, productos lácteos y productos regionales (Affrifah y col., 2023).

a. Galletas funcionales

Entre los productos de panadería, las galletas son uno de los más consumidos a nivel mundial, ya que son un alimento versátil con una gran variedad que va desde dulces hasta

saladas. No solo sirven como un aperitivo rápido, sino también como un componente en diversas aplicaciones culinarias. En términos económicos, el mercado global se valoró en más de 42,900 millones de dólares en 2024 y se proyecta que supere los 63,240 millones para 2030. Este crecimiento es impulsado por la urbanización en países en desarrollo, lo que eleva la demanda de alimentos procesados y motiva la creación de opciones innovadoras para el consumidor (Statista, 2025).

Las galletas son un vehículo ideal para la adición de ingredientes nuevos e innovadores debido a que cumplen con una serie de cualidades deseables: son asequibles, tienen una vida útil prolongada y resultan atractivas para todos los grupos de edad, en especial para la población infantil. Convencionalmente se utiliza harina de trigo integral debido a su contenido en fibra y otros nutrientes. Sin embargo, ha crecido el interés sobre el potencial de las harinas de legumbres en combinación con cereales, las cuales pueden ser más nutritivas, con mayor calidad proteica e ideales para personas con poca tolerancia hacia el gluten (Weldeyohanis Gebremariam y col., 2024). Se han probado diversas formulaciones en donde se han observado cambios en su valor nutricional, fisicoquímico, tecnofuncional y funcional (**Cuadro 2**). Además, los diferentes tipos de procesamientos como la extrusión, fermentación y germinación en leguminosas y cereales han facilitado su incorporación, con el fin de obtener una galleta con características aceptables, y representa una alternativa importante para la industria alimentaria debido a su bajo coste, alto perfil nutricional y beneficios para salud, ya que se ha enfocado su estudio en diferentes bioactividades como antioxidante, antihipertensivo, antidiabético, antimicrobiano, entre otras (Escobedo y Mojica ,2021).

Cuadro 2. Galletas funcionales

Galleta	Nutricional	Fisicoquímico	Sensorial	Funcional	Fuente
Combinación de Harina de Lupino y Trigo (10:90, 20:80, 30-70)	<p>↑ Mayor contenido de minerales como K, Cu, Ni y Mn</p> <p>↑ Mayor contenido de lípidos</p> <p>↑ Mayor contenido de proteínas</p>		↔ Comparable con la galleta control (solamente trigo) en proporciones 10%-90%.	<p>↑ Mayor contenido de fenólicos totales</p> <p>↑ Mayor actividad antioxidante</p> <p>↓Menor índice glicémico en galletas con 20% de lupino y 80% de trigo</p>	Plustea y col., 2024
Combinación trigo, acha y frijol mungo (80:10:10; 75:15:15, 60:20:20, 50:30:20 y 50:20:30)	<p>↑ Mayor contenido de proteína, lípidos y fibra al disminuir la proporción de trigo</p> <p>↑ Mayor contenido de minerales como Ca,Fe y Zn</p> <p>↑Mayor contenido de Vitamina A y C</p>		↔ Comparable con la galleta control (solamente trigo) en proporciones de 80:10:10 y 75:15:15		Nanyen y col., 2016

	↓ Menor contenido de carbohidrato				
Combinación frijol mungo y harina de trigo (10:90, 15:85, 20:80, 25:75 y 50:50)	↑Mayor contenido de proteínas ↑Mayor contenido de minerales ↓Menor contenido de lípidos	Impacto en el color final de la galleta ↑Mayor valor de a* al aumentar el porcentaje de harina de frijol mungo ↓Menor valor de b* al aumentar el porcentaje de harina de frijol mungo	↔ Comparable con la galleta de control (solamente trigo) en proporciones de 10%-90% y 15%-85%.	↑Mayor contenido de actividad antioxidante ↑Mayor contenido fenólicos totales	Saeed y col., 2020
Combinación frijol y maíz (15:85, 30:70, 45:55, 60:40)	↑Mayor contenido de proteínas ↑Mayor contenido de lípidos ↑Mayor contenido de fibra ↓Menor contenido de carbohidratos			↑Mayor contenido de arginina y lisina en proporciones de 45%-55% y 60%-40% ↑Mayor contenido de compuestos fenólicos en proporciones de 45%-55% y 60%-40%	Mejía-Terán y Blanco-Lizazaro., 2025

				↓Menor índice glucémico	
Combinación de harina de papa con guisante, haba y frijol mungo	<p>↑Mayor contenido de proteína</p> <p>↑Mayor contenido de fibra</p> <p>↑Mayor contenido de minerales como P,K,Mg,Mn,Zn y Fe</p>	<p>Impacto en el color final de la galleta</p> <p>↑ Mayor valor de a* en galleta adicionada con guisante</p> <p>↑Mayor valor de b* en galleta adicionada con frijol mungo</p>	↔ Comparable con la galleta control (harina de papa y almidón) en sabor, textura y aceptabilidad general	<p>↑Mayor contenido de aminoácidos en comparación con la galleta control</p>	Aslan e Isik.,2024
Combinación de harina de trigo con lenteja negra (cruda, germinada, germinada con UV, germinada con ultrasonido y germinada con UV)	<p>↑Mayor contenido de proteínas en las galletas analizadas en comparación con la galleta control (galleta con harina de trigo)</p> <p>↑Mayor contenido de minerales como Ca, Fe, K, Mg y Zn</p>	<p>↓Menor dureza en comparación con la galleta control</p> <p>Impacto en el color final de la galleta</p> <p>↓Disminución de valor L* en la adición de harina de lenteja en cualquier presentación</p> <p>↑Aumento en el valor de a* en la adición de harina de lenteja en cualquier presentación</p>		<p>↑Mayor contenido de compuestos fenólicos</p> <p>↑Mayor contenido de ácido fítico</p> <p>↑Mayor porcentaje de inhibición en actividad antioxidante</p>	Leven y Atkas., 2024

Combinación de trigo, garbanzo y sorgo sin/y germinado (0:10:20:20, 50:20:10:20, 50:20:20:10)	↑Mayor contenido de proteínas	↓Menor dureza en comparación con galletas de control	↑Mayor contenido de fenólicos totales
	↑mayor contenido de minerales	↓Menor fracturabilidad en comparación con la galleta control.	↑Mayor actividad antioxidante
	↓Mayor contenido de lípidos	Impacto en el color final de la galleta	
	↓Menor contenido de carbohidratos	↓Disminución de valor L* en la adición de harina de garbanzo y sorgo en cualquier presentación	
		↑Aumento en el valor de a* en la adición de de garbanzo y sorgo en cualquier presentación	

Rahman y col.,
2025

↓ Indica disminución de la propiedad. ↑ indica aumento de la propiedad. ↔ indica que no hay diferencia entre las propiedades.

L*=Luminosidad, a*=tono rojo-verde. b*=tono amarillo-azul. Ca = Calcio. Cu = Cobre. P=Fosforo. Fe=Hierro. K=Potasio. Mn=

Manganeso. Ni = Níquel. Zn=Zinc

F. SIMULACIÓN GASTROINTESTINAL *In vitro*

1. Bases del Mecanismo del Sistema Digestivo

La digestión de los alimentos es un proceso complejo que involucra una serie de fenómenos fisicoquímicos dinámicos, donde se regulan la ingesta de alimentos, su desintegración en formas adecuadas, la absorción de las unidades básicas, su transporte hacia los órganos correspondientes y la eliminación de los residuos restantes. Este proceso se lleva a cabo a lo largo del tracto digestivo, un tubo continuo que se extiende desde la boca hasta el ano, e incluye la faringe, el esófago, el estómago y el intestino delgado y grueso. También participan órganos accesorios regulados por mecanismos neuronales y hormonales, tales como los dientes, la lengua, las glándulas salivales, el hígado, la vesícula biliar y el páncreas (Sensoy, 2021).

2. Modelos de digestión *in vitro*

Ante la creciente popularidad de los alimentos funcionales, ha surgido la necesidad de conocer que sucede con todo este tipo de macro y microcomponentes y la necesidad de buscar herramientas apropiadas para evaluar la digestibilidad, la bioaccesibilidad y la seguridad de los nuevos sistemas de administración oral que se proporcionan. Debido a las restricciones éticas y los costos del uso de estudios *in vivo*, se han desarrollado diversos modelos de simulación gastrointestinal *in vitro*, los cuales han sido diseñados para simular las condiciones fisiológicas del organismo, como reacciones químicas, enzimáticas y físicas, para poder predecir la bioaccesibilidad y absorción de nutrientes y compuestos bioactivos en matrices alimentarias. En la última década se ha desarrollado una gran variedad de modelos gastrointestinales *in vitro*, divididos en dinámicos y estáticos (Calero y col., 2024; Singh, 2024).

a. Modelos de digestión *in vitro* dinámicos

Los modelos dinámicos representan la movilidad de los alimentos digeridos, las descargas continuas de fluidos digestivos, las concentraciones fluctuantes de enzimas y las alteraciones progresivas del pH a lo largo del tiempo que ocurren en condiciones *in vivo*. Una de sus ventajas es que ofrecen una mejor aproximación a las condiciones observadas *in vivo*, permitiendo análisis resueltos en el tiempo y proporcionando resultados que pueden correlacionarse directamente con los estudios *in vivo*. Sin embargo, estos modelos requieren mucho tiempo y el uso de grandes cantidades de reactivos y enzimas (Calero y col.,2024).

Uno de los modelos dinámicos más populares es el simulador gastrointestinal humano dinámico de cuarta generación (DHSI-IV). Se caracteriza por imitar con precisión las características morfológicas del estómago, el duodeno y el intestino delgado. Mediante mecanismos controlados por ordenadores y accionados por un motor, se simulan las contracciones peristálticas, los cambios dinámicos de pH, la secreción en tiempo real de fluidos digestivos y los patrones de vaciamiento gástrico durante la digestión, aplicándose con éxito en el estudio de sistemas alimentarios complejos (Zhang y col., 2026).

Otros ejemplos de modelos dinámicos son el modelo gastrointestinal TNO (TIM) y el modelo Simulador del Ecosistema Microbiano Intestinal Humano (SHIME), que combinan procesos fisiológicos dentro del estómago y el intestino, proporcionando información sobre la digestibilidad de matrices alimentarias. Estos modelos son multicompartimentales, lo que significa que contienen diferentes compartimentos para las diferentes partes del tracto

gastrointestinal y se pueden monitorear en tiempo real diferentes variables, como pH y temperatura. (Kiran y col., 2025).

b. Modelos de digestión *in vitro* estáticos

Los modelos estáticos son técnicas más simples en comparación con los dinámicos, e incluyen dos o tres etapas de digestión (oral, gástrica e intestinal) cuyos productos pueden permanecer inmóviles en un solo biorreactor estático. Estos métodos simulan un número limitado de parámetros de la digestión fisiológica, sin imitar procesos físicos característicos de este proceso. Se caracterizan por ser secuenciales, lo que significa que una fase solo comenzará cuando la anterior se haya completado por completo, y las condiciones fisicoquímicas y las actividades enzimáticas se mantienen constantes durante la digestión en estos modelos, mientras que parámetros como el pH o las actividades enzimáticas cambian con el tiempo en condiciones fisiológicas (Alegria y col., 2015, Menard y col., 2023)

Uno de los más utilizados es el modelo INFOGEST, que simula las condiciones de digestión en las tres regiones gastrointestinales más importantes: la boca, el estómago y el intestino delgado. Se estandarizan las condiciones de cada región gastrointestinal, como la temperatura, el tiempo de incubación, las fuerzas mecánicas y el pH, que se ajustan a los valores observados en el cuerpo humano. Este modelo puede utilizarse para determinar las concentraciones finales de nutrientes específicos tras la digestión (como péptidos, aminoácidos, ácidos grasos y carbohidratos), o controlar la cinética de la liberación de nutrientes a lo largo del proceso de digestión, características que son ideales para el estudio de alimentos y bebidas (Brodkorb y col., 2019; Zhou y col., 2022).

3. Fases del Sistema Digestivo *in vitro*

a. Fase Oral

El proceso de digestión humana inicia en la boca, donde la masticación y la salivación actúan como mecanismos complementarios. En esta fase participan enzimas como la amilasa salival y la lipasa lingual, en un medio con un pH aproximado de 5 a 7. Durante el proceso de masticación, el alimento sufre una reducción en el tamaño de partícula al mezclarse con la saliva, lo que da lugar a la formación del bolo alimenticio, el cual será transportado hacia la siguiente fase del proceso digestivo.

En los métodos de digestión *in vitro*, como INFOGEST 2.0 descrito por Brodkorb y col. (2019), el proceso de simulación gastrointestinal inicia con el contacto de la matriz alimentaria con α -amilasa a pH 7, y para simular el proceso de masticación, se recomienda utilizar tamaños de partículas pequeños (50 a 1000 μm) y un tiempo de contacto con la enzima de 2 minutos y una temperatura de 37 °C.

b. Fase gástrica

El bolo alimenticio es transportado por la peristalsis esofágica hasta el estómago, el cual tiene cuatro funciones motoras: almacenamiento, mezcla, trituración y vaciado. El estómago humano se divide anatómicamente en cuatro secciones principales (fondo, cuerpo, antro y píloro) y su volumen inicial en reposo es de aproximadamente 25 ml y se puede expandir hasta 4 L para acomodar grandes volúmenes de alimentos. La digestión química en el estómago es una reacción causada por la pepsina, la lipasa y el jugo gástrico. La pepsina participa en la

digestión de proteínas en el intestino delgado, mientras que la lipasa gástrica hidroliza lípidos en el estómago (Kozy y col., 2025).

Tras finalizar la fase oral durante la digestión *in vitro*, el bolo alimenticio es diluido con fluido gástrico simulado y enzimas gástricas, como pepsina y lipasa, y se incuba bajo agitación durante 2 h, a pH 3.0 (Brodkorb y col., 2019).

c. Fase Intestinal

Después de la fase gástrica, la digestión de los alimentos continúa en el intestino delgado, lugar donde se da la descomposición de macromoléculas y la absorción de agua y vitaminas. El intestino delgado está conformado por duodeno, yeyuno e íleon. La mayor parte de la digestión tiene lugar en el duodeno, mientras que la absorción de los nutrientes digeridos ocurre en el yeyuno y el íleon. Durante la fase intestinal participan enzimas pancreáticas y otras enzimas digestivas que se producen por la pared interna del intestino delgado que actúan en conjunto en la descomposición de los componentes de los alimentos. El páncreas secreta bicarbonato en el duodeno para mantener el pH del intestino delgado entre 6 y 7, creando un ambiente adecuado para que las enzimas puedan digerir macromoléculas como grasas, carbohidratos y proteínas. Los carbohidratos se digieren en monosacáridos como glucosa, fructosa y galactosa, las proteínas en péptidos y aminoácidos, y las grasas en ácidos grasos libres y monoglicéridos antes de pasar al proceso de absorción (Sensoy y col., 2021).

Durante la digestión *in vitro*, el quimo gástrico simulado se diluye con líquido intestinal simulado, sales biliares y enzimas pancreáticas, y se incuba a pH 7 por 2 h (Brodkorb y col., 2019).

4. Bioaccesibilidad y Biodisponibilidad de Compuestos Bioactivos

La bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de los compuestos bioactivos derivados de los alimentos son cuestiones importantes al evaluar sus efectos fisiológicos *in vivo*. La bioaccesibilidad es la proporción de componentes alimenticios liberados de la matriz digestiva durante la digestión en el contenido luminal, disponibles para pasar al intestino delgado y ser absorbidos. La biodisponibilidad mide la cantidad de sustancia que puede llegar a los tejidos y se utiliza en los procesos metabólicos. De este modo, la biodisponibilidad de los compuestos depende de la bioaccesibilidad, la absorción, la transformación y el alcance de los tejidos diana para producir una respuesta. (Aguiar y Cazarin, 2021; Manzoor y col., 2024).

a. Péptidos

Dependiendo de su estructura y de la composición bacteriana del intestino, la proteína se fragmenta en oligopéptidos, péptidos y aminoácidos para su posible absorción y uso en los lugares de acción dentro del organismo. La digestión de las proteínas inicia en el estómago a un pH ácido con la actividad de la pepsina, que muestra una escisión preferencial de los péptidos que tienen residuos de aminoácidos L-aromáticos o dicarboxílicos. Sin embargo, la hidrólisis principal tiene lugar en el lumen intestinal con un entorno alcalino, en donde las proteasas pancreáticas, como la tripsina, la α -quimotripsina, la elastasa y las carboxipeptidasas, pueden hidrolizar los polipéptidos, liberar oligopéptidos y aminoácidos libres. Los oligopéptidos se someten a una segunda hidrólisis con peptidasas, presentes en las vellosidades intestinales y el líquido pancreático, liberando tripéptidos, dipéptidos y otros aminoácidos (Álvarez-Olguín y col., 2022).

Los péptidos pueden ser absorbidos por las células intestinales en condiciones normales, detectándose en el torrente sanguíneo y/o en los órganos diana de recién nacidos y adultos donde ejercen sus actividades biológicas y se han descrito cuatro vías diferentes de absorción de péptidos como difusión paracelular, difusión pasiva transcelular, transcitosis y transporte mediado por transportadores (Amigo y Hernández-Ledezma, 2020). Por otro lado, los péptidos que no pueden ser absorbidos en el intestino delgado pasan al intestino grueso y pueden ser hidrolizados por la microbiota intestinal gracias a la actividad de microorganismos como bacilos coliformes o ser absorbidos intactos. (Campos y col., 2011; Álvarez-Olguín y col., 2022).

Para evaluar la bioactividad de los péptidos después de la digestión, se han utilizado simuladores de digestión *in vitro* para imitar las condiciones del sistema digestivo y pueden utilizarse como herramientas de cribado eficaces para identificar péptidos bioactivos que son estables en el tracto gastrointestinal. Los péptidos deben ser capaces de soportar las condiciones del tracto gastrointestinal, como el bajo pH gástrico y la hidrólisis por la pepsina, y permanecer estructuralmente intactos para conservar su bioactividad. Además, algunos péptidos pueden soportar las condiciones del estómago y seguir siendo hidrolizados en la fase de digestión intestinal (Ohanenye y col., 2022).

a. Fenólicos

Los compuestos fenólicos se digieren aproximadamente en un 48 % en el estómago e intestino, y alrededor del 42 % son bioaccesibles en el colon, mientras que el 10% restante no es digerible y permanece intacto en la matriz alimentaria (Ketnawa y col., 2021). Los fenólicos interactúan con otros componentes alimentarios en el intestino al unirse a macromoléculas como fibras, para formar complejos químicos y estructuras coloidales que pueden disminuir o aumentar su biodisponibilidad. Las moléculas absorbidas por el intestino delgado son agliconas;

sin embargo, los polifenoles que pueden estar presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros son difíciles de absorber, por lo que deben ser sometidas a hidrólisis por parte de enzimas intestinales para facilitar su absorción y a través de mecanismos, como metilación, sulfatación y glucuronidación, se conjugan en el intestino delgado y el hígado, aumentando su hidrofilia y facilitando su eliminación urinaria (Lippolis y col., 2023).

V. JUSTIFICACIÓN

En la industria de la panificación, la producción de galletas constituye uno de los segmentos alimentarios de mayor popularidad entre la población, y gracias a su alto consumo representan una de las plataformas estratégicas para el desarrollo de alimentos funcionales, ya que son accesibles, tienen una facilidad de almacenamiento, asequibilidad, valor nutricional y vida útil relativamente larga. No obstante, las formulaciones convencionales a base de harinas refinadas presentan deficiencias en proteína, fibra y compuestos bioactivos. La combinación de leguminosas (frijol) y cereales (avena) en este tipo de productos permite obtener un alimento con mayor balance nutricional y compuestos bioactivos. Sin embargo, el aprovechamiento de los componentes se ve condicionado no solo por la concentración en el alimento, sino también por su liberación, transformación y estabilidad durante el procesamiento de los ingredientes y el proceso de digestión gastrointestinal. Por ello, estudiar la adición de ingredientes como el frijol, y el impacto del procesamiento en productos a base de avena es fundamental para comprender las interacciones frijol-avena y demás ingredientes de galletas, para asegurar la estabilidad y funcionalidad biológica de los componentes liberados. El presente estudio busca, por ende, fundamentar científicamente el potencial nutracéutico de galletas adicionadas con harinas de frijol extrudido como una estrategia para mitigar problemas de desnutrición y prevención de enfermedades no transmisibles a través de la dieta.

VI. HIPÓTESIS

La adición de harina de frijol azufrado-higuera extrudido en galletas de avena incrementa su potencial nutricional y nutracéutico, al favorecer el contenido, liberación y bioaccesibilidad de compuestos bioactivos con actividad biológica.

VII. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Evaluar el potencial nutricional y nutracéutico de galletas funcionales elaboradas a partir de harinas de frijol azufrado-higuera extruidas y avena.

B. Objetivos Específicos

1. Evaluar el efecto de la extrusión sobre las propiedades nutricionales, y fisicoquímicas de harinas de frijol azufrado-higuera.
2. Caracterizar las propiedades nutricionales de las galletas adicionadas con harina de frijol azufrado-higuera extrudida.
3. Evaluar el impacto de la adición de frijol azufrado-higuera extrudida en galletas de avena sobre las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y tecno funcionales.
4. Analizar el efecto de la simulación gastrointestinal de las galletas adicionadas con frijol sobre fracciones solubles e insolubles después de la digestión y el contenido de proteína, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.
5. Conocer el potencial antiinflamatorio de fracciones soluble e insoluble de los digestatos de galletas en células de macrófagos RAW 264.7
6. Medir la actividad antimicrobiana de las fracciones digeridas de galleta frente a bacterias gram positivas, gram negativas y actividad antiparasitaria.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

Como materias primas se utilizaron semillas de frijol azufrado-higuera (*Phaseolus vulgaris*) de Culiacán, Sinaloa, México y granos de avena (*Avena sativa*) de Cuautla, Morelos, México. Las semillas de frijol se limpiaron y clasificaron a fondo para eliminar las materias extrañas; luego, las semillas se almacenarán en una bolsa de plástico hasta su uso a 8 °C.

B. Métodos

1. Procesamiento de frijol

La harina de frijol azufrado-higuera extrudida se obtuvo siguiendo la metodología descrita por Milán-Carrillo y col (2012). Los granos de frijol se acondicionaron con agua destilada para alcanzar un contenido de humedad del 24%. La harina acondicionada se empacó en una bolsa de polietileno y se almacenó a 4 °C durante 12 h. Antes del proceso de extrusión, la harina acondicionada se atemperó a 25 °C durante 2-4 h. La harina se alimentó en un extrusor de laboratorio de un solo tornillo Modelo 20 DN (CW Brabender Instruments, Inc., NJ, EE. UU.) con un diámetro de tornillo de 19 mm; longitud a diámetro 20:1; relación de compresión nominal 2:1; y se utilizó una abertura de matriz de 3 mm. Las condiciones de la operación de extrusión fueron: 137 °C (TE) y velocidad del tornillo (VT) 220 rpm. Después de la extrusión, los extrudidos se enfriaron a temperatura ambiente y se molieron para obtener la harina frijol azufrado-higuera. Las harinas se almacenaron en bolsas plásticas a 4 °C hasta su posterior análisis.

2. Preparación de galletas

La elaboración de las galletas se llevó a cabo de acuerdo con lo descrito por Marcos y col. (2023) y se elaboraron dos galletas: galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol extrudido (GAFE). En la formulación de la galleta sin adicionar (GA) se utilizó harina de avena (60.5%), polvo para hornear (1.5%), azúcar (1%), sal (1%), aceite (7.5%) y agua (28.5%). Para GAFE, se sustituyó el 50% de la harina de avena por harina de frijol extrudido, manteniendo una proporción 50:50 entre ambas (**Cuadro 3**).

Los ingredientes secos se mezclaron en un recipiente de plástico antes de incorporar los ingredientes líquidos. La mezcla se amasó manualmente hasta obtener una masa consistente y homogénea y se dejó reposar a 25 °C por 10 min. Posteriormente, la masa se extendió con un rodillo sobre un papel encerado y se cortó utilizando un molde de galletas de 3.5 cm de diámetro para dar forma. Finalmente, las galletas fueron colocadas en charolas precalentadas (60°C, 15 min) y se hornearon durante 25 min a 162.77 °C en un horno eléctrico (Kitchen Aid, EE. UU.). Las galletas se dejaron enfriar a 25 °C y se almacenaron en bolsas herméticas y codificadas hasta su uso. El proceso de producción de las galletas se muestra en la **Figura 5**.

3. Propiedades fisicoquímicas

a. Color

El color de la superficie de las harinas y galletas se midió utilizando un colorímetro Minolta Modelo CR210 (Minolta LTD, Japón). La determinación del color se basó en el sistema de medición CIELAB. En este sistema, el parámetro L* representa la luminosidad, con valores que varían de 0 a 100, donde 0 corresponde al negro absoluto y 100 al blanco perfecto. Las

Cuadro 3. Formulación de galletas

Ingrediente (%)	GA Galleta de avena sin adicionar	GAFE Galleta de avena adicionada con frijol extrudido
Harina de frijol extrudida		30.25
Harina de avena	60.5	30.25
Agua	28.5	28.5
Aceite de girasol	7.5	7.5
azúcar	1	1
Sal	1	1
Polvo para hornear	1.5	1.5

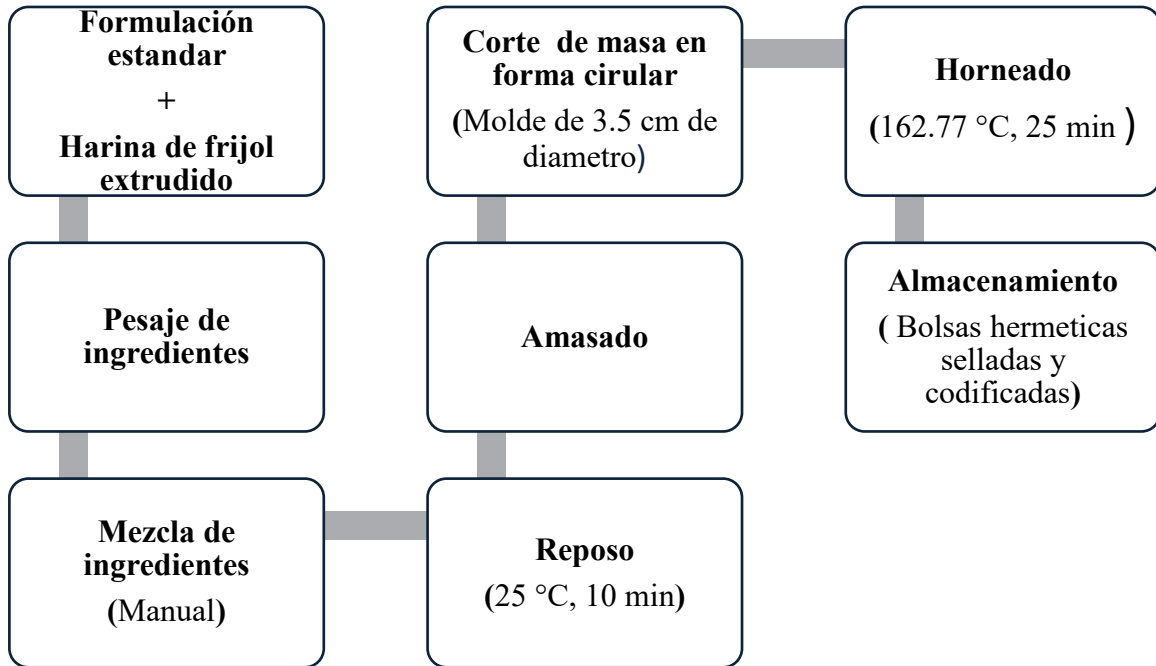


Figura 5. Proceso de producción de galletas.

coordenadas de cromaticidad se representaron con los parámetros a^* (+a indica rojo, -a indica verde) y b^* (+b indica amarillo -b indica azul). Para la evaluación del color, se utilizaron aproximadamente 5 g de harina, se colocaron en la tapa de 3 cm de diámetro, procurando una superficie uniforme. Se registraron los valores correspondientes de cada parámetro. Como referencia se empleó un mosaico blanco estándar con valores conocidos de L^* , a^* y b^* ($L^* = 93.6$, $a^* = 0.22$ y $b^* = 3.12$). La diferencia total de color (ΔE^*) entre la muestra y el estándar se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

donde:

ΔE = diferencia total de color entre el estándar y la muestra.

ΔL , Δa y Δb = diferencias absolutas de los valores de L^* , a^* y b^* del estándar utilizado y los valores correspondientes observados de la muestra.

b. Actividad de agua

La actividad del agua (a_w) se midió en un higrómetro Aqua Lab Modelo CX-2 (Decagon Devices Inc, Pullman, WA, EE. UU.). Previo a las lecturas, el equipo se calibró utilizando una solución saturada de cloruro de potasio ($a_w = 0.841$ a 25°C). Para cada medición, se introdujeron 3 g de muestra en la base, permitiendo un periodo de estabilización de 40 a 60 min. Se realizó por triplicado para cada muestra.

c. pH

El pH se determinó de acuerdo con la metodología de la AOAC (1999). A 1 g de harina de galleta se agregaron 10 mL de agua destilada; la suspensión se agitó en un agitador orbital (Thermolyne MIRAK) durante 10 min a 240 rpm, después se midió el pH de la suspensión con un potenciómetro (Hanna Instruments, Mod. HI3221). Las mediciones se realizaron por triplicado

4. Composición proximal

Los análisis de composición proximal de harinas y galletas se realizaron de acuerdo con los métodos publicados por la AOAC 2005 como humedad, proteínas, grasas, cenizas, fibra y carbohidratos en las harinas y galletas de avena.

a. Humedad

Se determinó humedad en las muestras por el método 950.46 de pesos constantes. Se calculó la pérdida de peso de 2 g de muestra, después de calentar a 70 °C durante 24 h en una estufa de circulación de aire (FELISA mod 142^a, México).

b. Proteína

De acuerdo con las especificaciones del método 978.04, se determinó el nitrógeno total para el posterior cálculo de la proteína cruda mediante el factor multiplicativo de 6.25. El procedimiento inició con la destrucción de la materia orgánica, para lo cual se sometieron 200 mg de muestra a una digestión a 200 °C en presencia de 5 mL de ácido sulfúrico y 1.625 g de mezcla reactiva a base de selenio (Merck Co., Alemania). Tras atemperar y diluir la muestra con 10 mL de agua destilada, se realizó la destilación empleando hidróxido de sodio

al 40% y se recolectó el amoníaco liberado por la destilación en una solución de ácido bórico al 4%. El volumen obtenido se tituló frente a una disolución valorada de HCl 0.1 N.

c. Lípidos

Para la determinación de lípidos se empleó la técnica de extracción Soxhlet 930.09. Las extracciones se realizaron en muestras de 3-4 g de harina, que pasaron a través de malla 80 (0.180 mm). Se utilizó el equipo Unidad de Extracción del Sistema Saxtec HT 1043 (Tecator, Suecia) utilizando como disolvente éter de petróleo durante 4 h. La prueba se realizó por triplicado.

d. Cenizas

La cantidad de ceniza en las galletas se determinó por el método 930.05. Se pesaron 3 g de muestra, los cuales se colocaron en crisol de porcelana, y se sometió a incineración en mufla a 550 °C hasta obtener una ceniza gris luminosa; los crisoles se atemperaron en un desecador y se pesaron. La prueba se realizó por triplicado.

e. Fibra

El contenido de fibra se determinó de acuerdo con el método oficial 962.09 por duplicado. Se pesaron 2 g de muestra desgrasada, se colocaron en matraces de 500 mL y se agregaron 50 mL de una solución reguladora de fosfato (pH 6.0) en cada matraz. Se adicionaron 100 µL de enzima α -amilasa y se sometieron a tratamiento térmico a 95 °C durante 20 min en baño maría (Precision, Mod. 89L) con agitación constante. Los matraces se enfriaron a temperatura ambiente, y el pH se ajustó a 7.5 con NaOH 0.275 M. Se adicionaron 100 µL de una solución de proteasa en cada muestra y se calentaron a 60 °C por 30 min. El pH se ajustó a 4 - 4.6 con HCl 0.325M, se adicionó 100 µL de amiloglucosidasa y se incubó 60 °C por 30 min.

Las muestras se enfriaron y filtraron (utilizando filtros Gösh #2, previamente secos con 0.5 g de celita, a peso constante). Posteriormente, se hicieron lavados con de etanol y se filtró al vacío con un crisol con celita. El residuo del filtrado se secó en una estufa a 105 °C por 12 h.

Al correrse por duplicado, una réplica se utiliza para determinar el contenido de cenizas por incineración y la otra para determinar el contenido de proteína mediante el método Kjeldahl.

Para determinar el contenido de fibra, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Fibra\ total = \frac{PRF - Poteína - Cenizas}{PMI} \times 100$$

Dónde:

PRF=Peso del residuo final

PMI= Peso de muestra inicial

f. Carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se calculó por la diferencia de 100%, restando el total de la suma de los porcentajes de proteína cruda, grasa cruda, fibra total y cenizas.

5. Análisis sensorial

El análisis sensorial de las galletas se realizó a partir de una escala hedónica de nueve puntos (1 = me disgusta demasiado, 2 = me disgusta mucho, 3 = me disgusta moderadamente, 4 = me disgusta levemente, 5 = no me gusta ni me disgusta, 6 = me gusta levemente, 7 = me gusta moderadamente, 8 = me gusta mucho, 9 = me gusta demasiado) para evaluar los siguientes atributos: olor, sabor, apariencia, textura y la aceptabilidad global. Las pruebas fueron realizadas en un ambiente tranquilo, buena temperatura y luz, y sin olores que puedan distraer el análisis

sensorial. Las muestras se codificaron y presentaron en forma aleatoria. Al participante se le recomendó tomar agua o enjuagar la boca antes de probar cada galleta.

6. Composición tecnofuncional

a. Índice de absorción de agua (IAA)

Para determinar el índice de absorción en agua se utilizó el método descrito por Anderson y col (1969). Se pesaron 2.5 g de muestra y se suspendió en 30 ml de agua a 30 °C en un tubo para centrífuga de 50 ml previamente tarado, la suspensión se mantuvo en agitación por 30 min.

Una vez transcurrido ese tiempo, se centrifugó a 3000 xg durante 10 min. El líquido sobrenadante se decantó cuidadosamente en un vaso tarado para la determinación de sólidos (ISA). El gel formado se pesó, y el índice de absorción de agua se calculó con este peso como gramos de gel por gramo de muestra seca. La prueba se realizó por triplicado.

$$\text{IAA} = \text{peso gel} - \text{peso muestra}$$

b. Índice de solubilidad en agua (ISA)

El índice de solubilidad en agua (ISA) se determinó de acuerdo con el método reportado por Anderson y col (1969). Esta determinación se calculó a partir del peso (2.5 g de muestra en 30 mL de agua) de los sólidos secos recuperados mediante evaporación del sobrenadante líquido que se obtiene durante la determinación de IAA durante la noche a 110°C. El ISA se expresó como gramos de sólidos por gramo de sólidos originales. La prueba se realizó por triplicado.

$$\text{ISA} = (\text{Peso vaso con muestra después de 1 día} - \text{Peso vaso vacío} / \text{Peso muestra}) \times 100$$

c. Índice de absorción de aceite (IAAc)

El índice de absorción de aceite se determinó mediante la metodología descrita por Lin y col (1974). Se pesaron 0.5 g de muestra en un tubo de centrifuga graduado y se adicionaron 3 mL de aceite. La mezcla se homogeneizó durante 1 min en un vortex y se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifugó a 1,600 x g durante 25 min (centrifuga marca Eppendorf, Mod. 5804R) y se midió el volumen de aceite libre con ayuda de una probeta. Los resultados se expresaron como mL de aceite absorbido/g de harina. La prueba se realizó por triplicado.

$$\text{IAAc} = \text{Vol. aceite inicial} - \text{Vol. aceite libre}$$

7. Composición Antinutricional

a. Ácido Fítico

El contenido de ácido fítico fue determinado mediante el método colorimétrico descrito por Vaintraub y Lapteva. (1988), con modificaciones. El método se fundamenta en la decoloración del reactivo de Wade (un complejo morado de Fe^{3+} y ácido sulfosalicílico). La disminución de la absorbancia es proporcional a la concentración de ácido fítico, debido a que este secuestra los iones de hierro destruyendo el complejo colorido.

Para la extracción de fitatos, se pesaron 0.5 g de muestra en tubos para centrifuga de 50 mL y se adicionaron 10 mL de HCl al 2.4% (0.65 N). La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 6 h a temperatura ambiente y, una vez transcurrido este tiempo, los extractos se recuperaron mediante centrifugación (4,000 xg, 10 min). Para la curva, se preparó una solución estándar de fitato de sodio en agua destilada (0.04 g de fitato de sodio en 25 mL de agua destilada para obtener una concentración de 1600 $\mu\text{g/mL}$). A partir de esta solución

estándar se prepararon diluciones (0, 100, 200, 400, 800 y 1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$), de las cuales se tomaron alícuotas de 100 μL y se les añadió 500 μL de agua destilada y 400 μL de Reactivo de WADE (0.035 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 0.35 g de ácido sulfosalicílico + 100 mL de agua destilada) a cada una de las diluciones y se midió su absorbancia a 500 nm contra un blanco de agua destilada. Para la valoración de fitatos, se tomaron alícuotas 100 μL del sobrenadante que posteriormente se les agregó 500 μL de agua destilada para tener un volumen final 150 μL y 400 μL de reactivo de Wade. Los valores de las absorbancias obtenidas para cada muestra se introdujeron en la curva de fitato de sodio. Los resultados fueron expresados como mg de ácido fítico/ 100 g de muestra seca.

b. Inhibidores de tripsina

Para la evaluación de los inhibidores de tripsina se utilizó el método reportado por Liu y col (2019), el cual constituye una modificación del protocolo original de Kakade y col (1974). Este método determina por espectrofotometría la capacidad de la muestra para inhibir la actividad que la tripsina control ejerce sobre el sustrato sintético α -N-benzoil-DL-arginina- ρ -nitroanilina (BAPNA). Para llevar a cabo la extracción de los inhibidores de tripsina, se pesaron 0.2 g de muestra y se les añadieron 10 mL de NaOH 0.01 M. Se mantuvieron en agitación durante 1 h a temperatura ambiente. Pasado dicho tiempo, los tubos se centrifugaron a 4000 $\times\text{g}/10$ min y se recolectó el sobrenadante. La cuantificación de la actividad enzimática incluyó la preparación de soluciones para el control, blanco de control, muestra y actividad máxima. Específicamente, para el control se adicionó 200 μL de tampón Tris pH 7.5 (0.1512 g aforados a 50 mL con agua destilada) y 200 μL de tripsina (10 mg de enzima de 16,700 unidades/mg disueltos en 500 mL de HCl 1 mM con CaCl_2 5 mM). Tras una incubación previa de 1 min a 37 $^\circ\text{C}$ en baño maría, la reacción se detuvo adicionando 100 μL de ácido acético al 30%, seguido

de otro minuto de incubación a 37 °C, para finalmente incorporar 500 µL de la solución BTC (BAPNA en dimetilsulfóxido con Tris-HCl 0.05M a pH 8.2 y CaCl₂ 1M).

La valorización de la muestra se llevó a cabo en tubos de 2 mL, combinando 200 µL del extracto obtenido con 500 µL de la solución BTC; esta mezcla se incubó a 37 °C en baño maría durante 2 min. Acto seguido, la reacción enzimática inició al incorporar 200 µL de tripsina, manteniendo la incubación bajo las mismas condiciones térmicas por un periodo de 10 min. La inactivación de la enzima se logró mediante la adición de 100 µL de ácido acético al 30%. Tras una centrifugación a 3,800 g durante 10 min, se determinó la absorbancia a 410 nm empleando un espectrofotómetro (Thermo Scientific, modelo GENESYS 10 UV-Visible). Esta lectura permitió cuantificar la *p*-nitroanilina (amina), un producto colorido que se libera tras la hidrólisis del sustrato amídico BAPNA por acción de la tripsina libre.

La actividad inhibitoria de tripsina se expresó en unidades de inhibición de la tripsina por miligramo de muestra, definiéndose una unidad de inhibición de la tripsina (UIT) como la disminución de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm con respecto a la reacción de control de la tripsina. El cálculo se realiza a través de la siguiente fórmula:

$$\text{UIT} = \frac{\text{Abs tripsina} - \text{Abs muestra}}{0.01}$$

c. Lectinas

Se realizó la determinación de lectinas con base en la metodología de las diluciones seriadas con eritrocitos lavados en solución salina reportada por Calderón de la Barca y col (1985) y González De Mejía y col (2005). Se pesó 1 g de muestra y se adicionaron 10 mL del agua con cloruro de sodio al 0.9%. La extracción se realizó durante 2 h en el vórtex giratorio, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min y se separó el extracto. Para la preparación de glóbulos

rojos se extrajo sangre humana tipo A+. Se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min y se desechó el suero de la concentración de glóbulos rojos. Se realizaron tres lavados con cloruro de sodio al 0.9% adicionando 8 mL de solución salina por cada 2 mL de glóbulos rojos, mezclando cuidadosamente para no destruir los eritrocitos, hasta que el sobrenadante se visualizara transparente. Se tomaron 200 μ L de glóbulos rojos lavados y se diluyó con solución salina completando 10 mL, formando una suspensión de glóbulos rojos al 2%.

La valoración del experimento se realizó en una microplaca de 96 pocillos. En el pocillo A se colocaron 100 μ L de extracto, mientras que del pocillo B al pocillo H se colocaron 50 μ L de solución salina. Se transfirieron 50 μ L de extracto del pocillo A al pocillo B y se homogeneizó la mezcla de extracto con solución salina con ayuda de una micropipeta. Se tomaron 50 μ L de la mezcla del pocillo B y se transfirieron al pocillo C, repitiendo el procedimiento de homogeneizar y transferir sucesivamente hasta llegar al pocillo H. Del último pocillo se desecharon 50 μ L para asegurar que todos los pocillos mantuvieran un volumen final de 50 μ L. Una vez realizadas estas diluciones seriadas, se agregaron en todos los pocillos 50 μ L de suspensión al 2 % de glóbulos rojos lavados previamente con solución salina.

d. Saponinas

El contenido de saponinas totales fue determinado usando el método espectrofotométrico descrito por Hiai y col (1976), utilizando vainillina y H_2SO_4 para la generación de grupos cromóforos en saponinas, los cuales son visibles en longitudes de onda alrededor de 455 – 460 nm. Para la extracción de las saponinas, se pesaron 0.5 g de muestra y se adicionaron 8 mL de etanol al 95%. Los extractos se mantuvieron en agitación durante 16 h a temperatura ambiente

en un agitador orbital y concluido el tiempo, los extractos fueron recuperados por centrifugación (3800 rpm, 10 min).

Para la curva, se preparó una solución estándar disolviendo 10 mg de diosgenina en 10 mL (1 mg/mL) de etanol 95% y se sonicó durante 5 minutos hasta su dilución. Partiendo de esta solución se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 y 0.03125 mg/mL en un volumen de 1 mL, respectivamente. A cada dilución se le agregaron 100 μ L de reactivo de vainillina (vainillina al 8% en etanol al 95% y 1 mL de ácido sulfúrico al 72%). Las diluciones se incubaron a 60°C por 10 minutos. Terminado este periodo de tiempo, se enfriaron los tubos en un baño de hielo y finalmente se midió su absorbancia a 520 nm contra un blanco de reactivos (100 μ L de etanol al 95%, 100 μ L reactivo de vainillina+ 2.5 mL ácido sulfúrico).

Para la cuantificación de las saponinas, se tomaron 200 μ l de extracto y se adicionaron 50 μ l de metanol al 80%, se transfirieron a un baño de hielo para la adición de 100 μ L del reactivo de vainillina y 1 mL de ácido sulfúrico y se incubó a 60°C durante 10 min.

Transcurrido el tiempo de reacción, se midió su absorbancia a 520 nm y los valores obtenidos fueron interpolados en la curva estándar de diosgenina. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de diosgenina en 100 g de muestra.

8. Preparación de extractos estanolícos

La extracción de fenólicos se realizó siguiendo la metodología reportada por Milán-Noris y col (2018) con modificaciones. Se pesaron 50 mg de harina de galleta y se suspendió en 1 mL de etanol al 80 %. Los extractos se sonicaron durante 15 min y posteriormente, se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min a 4 °C. El sobrenadante se recuperó y el residuo

sólido se sometió a una segunda etapa de extracción bajo las mismas condiciones. Ambos sobrenadantes se mezclaron y se concentraron hasta sequedad a presión reducida y una temperatura de 45 °C. El residuo resultante se reconstituyó con 1 mL de etanol al 80 % para su uso.

9. Digestibilidad de proteína *in vitro* (DPIV)

La digestibilidad proteica *in vitro* de las galletas se determinó siguiendo el método reportado por Tinus y col (2012) basado en el método de Hsu y col (1977). Se pesó el equivalente a 312.5 mg de proteína de galleta, la cual se rehidrató en 50 mL de agua destilada a 37°C durante 1 h con agitación constante (85 rpm) y transcurrido ese tiempo, se ajustó el pH (potenciómetro marca Hanna Instruments) a 8.0 con NaOH/HCl 0.1 M. Se preparó al momento del análisis 10 mL de una solución multienzimática compuesta por tripsina, quimotripsina y proteasa, previamente ajustada a pH 8.0.

Se añadieron 5 mL de la solución a la dispersión de la muestra tomando la lectura de pH inicial y final después de 10 minutos en agitación (85 rpm). El cambio en el pH a los 10 min de la digestión ($\Delta\text{pH}_{10\text{ min}}$) se utilizó para calcular el porcentaje de digestibilidad proteica *in vitro* (DPIV) de las muestras con la siguiente fórmula:

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

10. Simulación de Digestión Gastrointestinal INFOGEST 2.0

La simulación de la digestión gastrointestinal *in vitro* se llevó a cabo de acuerdo con el método INFOGEST 2.0, descrito por Brodkorb y col (2019). Se pesaron 5 g de harina de galleta y se suspendieron en agua destilada para simular el bolo. La muestra se mezcló con fluido salival simulado (pH 7, 37 °C) y amilasa salival (300 U/mL de digesta) durante 2 min con un volumen final de 15 mL (fase oral). Para la fase gástrica, se agregó jugo gástrico simulado (pH 3, 37 °C)

que contenía pepsina (2000 U/mL de digesta) y lipasa gástrica (60 U/mL de digesta), incubándose durante 120 min con un volumen final de 30 mL. Finalmente, para la fase intestinal, se añadió jugo intestinal simulado (pH 7) que contenía pancreatina (100 U de actividad de tripsina/mL de digesta) y sales biliares (10 mmol/L de digesta total) y se incubó durante 120 min con un volumen final de 50 mL. La reacción enzimática se detuvo a través de un baño térmico a 100 °C por 5 min.

Después de detener la digestión, las muestras se dividieron por centrifugación (13 000 xg a 4 °C durante 15 min) mediante la recolección del sobrenadante (fracción soluble) y el sedimento (fracción insoluble), respectivamente. Para obtener las fracciones de menor peso, las fracciones digeridas de galletas se separaron por medio de membranas de ultrafiltración (Amicon Ultra-15 10 k) para obtener péptidos de tamaño menor a 10 kDa.

11. Caracterización proteínica

a. Extracción de proteína

Se realizó de acuerdo con lo reportado por Montoya-Rodríguez y col (2014) con modificaciones. El extracto de proteína se preparó usando una solución de buffer fosfato salino (PBS) 0.05 mM a un pH de 7.4. Se pasaron 10 mg de muestra y suspendieron en 1 mL de PBS. Las muestras se agitaron por 15 min y se sonicaron durante 5 min. La mezcla se centrifugó a 14000 g por 10 min a 4 °C, se recolectaron los sobrenadantes y se mantuvieron a -20 °C hasta su uso.

b. Perfil de proteínas (SDS-PAGE)

El ensayo se llevó a cabo a temperatura ambiente por el método de Laemmli (1970). Se utilizó una unidad de electroforesis en el Mini-Protean 3 (Bio-Rad) y gel Criterion TGXTM

Precast Any kD (5671124 Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, EE. UU.). Las muestras se disolvieron en buffer Laemmli (Tris-Tricina 0,1 M, pH 6,8, SDS al 2%, β-mercaptoetanol al 5% y azul de bromofenol al 0,025%), las muestras se hirvieron durante 5 min, se cargaron en el gel (1 equivalente a 15 μg de proteína/pocillo) y se corrió a 110 V. El gel se tiñó usando azul de Coomassie R250 al 0.125% en ácido acético al 7% y solución de MeOH al 40% (v/v) por 24 h y se destiñó con una solución de ácido acético al 7% y EtOH al 30% (v/v) por 30 min. Como marcador molecular se utilizó el estándar Precision Plus Protein™ (10-250 kDa, Bio-Rad Laboratories Inc., CA, EE. UU.).

c. Proteína soluble

La proteína soluble total se determinó mediante el BCA-Protein Assay kit (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL). Este es un ensayo colorimétrico para la concentración de proteína soluble. Se colocaron 25 μl de muestra (harina sin digerir, fracción digerida soluble e insoluble) con 200 μl de reactivo de trabajo (preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante mezclando reactivo A con el reactivo B) y se incubó a 37°C durante 30 min. La placa se enfrió hasta alcanzar temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 562 nm usando un espectrofotómetro. El volumen del sobrenadante se multiplicó por la concentración de proteína para determinar la cantidad de proteína y la recuperación de la proteína usando la ecuación:

$$\text{Recuperación de proteína (\%)} = \text{Proteína en } \frac{\text{digestato}}{\text{muestra inicial}} * 100$$

d. Cuantificación de péptidos

El ensayo de péptidos colorimétricos se determinó mediante el Pierce™ Quantitative Peptide Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Rockford, IL). Se colocaron 20 μl de curva y fracciones digeridas solubles e insolubles y se mezclaron con 180 μl de reactivo de trabajo

(preparado de acuerdo con las instrucciones del fabricante mezclando reactivo A, reactivo B y reactivo C) en una placa de 96 pocillos. Se agitó la placa por 30 segundos, se incubó a temperatura ambiente por 30 min y se midió la absorbancia a 480 nm usando un espectrofotómetro.

12. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

a. Compuestos fenólicos totales (CFT)

La cuantificación de compuestos fenólicos totales se llevó a cabo utilizando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton y col (1999). Este método consiste en mezclar ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico que se reduce, por la acción de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno en un medio altamente básico (carbonato de sodio al 7 %). Se colocaron 20 μL de la curva y extracto en una placa de 96 pocillos, posteriormente se añadieron 180 μL del reactivo Folin-Ciocalteu y 50 μL de carbonato de sodio al 7%.

La placa se incubó a temperatura ambiente durante 90 minutos en oscuridad y, una vez finalizado el tiempo, se tomó la lectura a 750 nm. La cuantificación se llevó a cabo utilizando una curva de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra.

b. ABTS

La actividad antirradical se determinó mediante el ensayo del radical catiónico ABTS siguiendo el método descrito por Re y col (1999). La solución madre del radical se generó haciendo reaccionar una solución de ABTS con persulfato de potasio (2.45 mM, concentración

final), manteniendo la mezcla en oscuridad y a temperatura ambiente durante 12–16 h antes de su uso.

Previo al ensayo, una alícuota de la solución con radical ABTS (2.45 mM) se diluyó en PBS (pH 7.4) hasta alcanzar una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ a 734 nm. En una placa transparente de 96 pocillos, se colocaron 7.5 μ l del blanco (PBS), los extractos y la curva. Posteriormente, se agregaron 292.5 μ l de solución ABTS ajustada y se dejó incubando durante 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se tomó la lectura a 732 nm La pérdida de absorbancia de ABTS se calculó con respecto al blanco y los datos se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por 100 g de muestra (μ mol de ET / 100 g).

13. Índice de Bioaccesibilidad e Índice de recuperación

a. Índice de bioaccesibilidad (IB)

El índice de bioaccesibilidad se define como la proporción de un compuesto que se libera de la matriz alimentaria durante el proceso digestivo y queda disponible para su potencial absorción en el intestino. Se calculó a partir de la ecuación reportada por Ortega y col (2011):

$$\% \text{ Índice de Bioaccesibilidad} = (S/A) \times 100$$

Dónde: S es el contenido del compuesto en la fracción digerida soluble después de la digestión gastrointestinal y A es el contenido total del compuesto en el digerido (fracción digerida soluble + fracción digerida insoluble) después de la digestión.

b. Índice de recuperación (IR)

El índice de recuperación representa la cantidad de compuesto presente en el digerido total (soluble + insoluble) después de la digestión gastrointestinal de la matriz alimentaria. Se calculó con la siguiente ecuación reportada por Ortega y col (2011):

$$\% \text{ Índice de Recuperación} = (A/B) \times 100$$

Dónde: A es el contenido total del digerido completo (Soluble + insoluble) y B es el contenido total del compuesto en la muestra antes de la digestión.

14. Actividad antiinflamatoria de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas

La línea celular RAW 264.7 de células de ratón se cultivó en medio DMEM suplementado con 10 % de suero fetal bovino y 1 % de penicilina / estreptomicina e incubada a 37 °C en 5 % de CO₂ (Milán-Noris y col., 2018). El medio de cultivo se cambió cada 2 días. Las células se sembraron a una densidad de 5×10⁴ células/pozo en una placa de 96 pocillos y, tras verificar su completa adhesión, se trataron con las fracciones digeridas solubles (FS) e insolubles (FI) de cada galleta a concentraciones de 1 a 4 mg/mL durante 24 h. Las muestras se esterilizaron previamente por filtración.

Para inducir la respuesta inflamatoria, las células se trataron con 1 µg/mL de lipopolisacárido LPS disuelto en medio de crecimiento. Como controles del ensayo, se utilizaron células con medio con LPS (control positivo) y células solo con medio (control negativo). Transcurrido un periodo de 24 h de incubación con los tratamientos, se recolectaron alícuotas del medio y fueron guardadas en congelación (-20 °C) para futuras evaluaciones de marcadores proinflamatorios.

a. Viabilidad celular

La viabilidad de las células RAW 264.7 se determinó mediante el ensayo de proliferación celular (CellTiter® 96 Aqueous One Solution) utilizando el compuesto tetrazolio MTS combinado con el reactivo fenazina de ethosulfato (PES) (Promega Corporation, Madison, WI, USA). Las células se sembraron en una placa de 96 pozos con una densidad de 5×10^4 células/pozo y se incubaron durante 24 h a 37 °C, 5 % CO₂ para permitir su adhesión. Transcurrido este tiempo, se removió el medio de crecimiento y se trataron las células con los tratamientos estériles disueltos en medio de cultivo completo a una concentración máxima de 4 mg/mL. Las células tratadas con medio de cultivo completo sirvieron como control.

Después de 24 h de tratamiento, se midió la viabilidad celular removiendo el medio de crecimiento, se adicionaron 100 µL de medio de crecimiento y 20 µL de reactivo MTS. Las placas se incubaron durante 1 h a 37 °C en 5 % CO₂ y la absorbancia fue leída a 490 nm, utilizando un lector de microplacas (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA). Los resultados se expresaron como porcentaje de células viables con respecto a las células tratadas sólo con medio de cultivo.

b. Evaluación del contenido de óxido nítrico (NO)

El óxido nítrico es un producto celular liberado por macrófagos después de una estimulación inflamatoria y es oxidado a nitrito o nitrato por el oxígeno. La producción de nitrito se midió mediante la reacción de reactivo de Griess descrito por Martínez-Villaluenga y col (2009). En una placa de 96 pocillos, se colocaron 100 µL de medio recolectado de las células tratadas y controles (+ y -) con 100 µL de reactivo de Griess (1 % sulfanilamida y 0.1 % N-1-(naftil) etilendiamina-diHCl en 2.5 % H₃PO₄). La mezcla se mantuvo en incubación durante 10 minutos a 25 °C y la absorbancia fue leída a 550 nm en un lector de microplacas. La

concentración de NO se calculó mediante la interpolación de los valores de absorbancia en una curva estándar de nitrito de sodio (0-10 µg/mL) como estándar.

15. Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (< 10 kDa) de galleta

La actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles (FI) y solubles (FS) (<10 kDa) se realizó sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Primeramente, se tomaron bacterias previamente congeladas y se llevaron a 1×10^5 UFC/ml, después se incubaron en una microplaca de 96 pozos (Corning, Nueva York, Estados Unidos) conteniendo medio Mueller-Hinton con los tratamientos a concentraciones de 4, 8 y 10 mg/mL. Como controles, se usaron bacterias en Mueller-Hinton sin tratamiento como control de crecimiento y como control de inhibición de crecimiento se utilizó gentamicina a 100 µg/mL, los cultivos se incubaron a 37 °C haciendo lecturas cada 30 minutos durante 3.5 h para evaluar la actividad antimicrobiana de los tratamientos.

16. Actividad Antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas

a. Preparación de medios TYI-S-33

Para la preparación de los medios TYI-S-33 se aplicó el método de Bagchi (2012). El medio se compone de K₂HPO₄ (0.2525g), KH₂PO₄ (0.1623g), ácido ascórbico (0.0513g), cisteína (0.5015g), bilis (0.2095g), amonio Fe⁺³ (0.0062g), NaCl (0.57g), peptona (5g), levadura (2.5g) y glucosa (2.5g). Se mezclaron los componentes, se disolvieron en 150 mL de agua desionizada. Posteriormente, el pH fue ajustado a 7.0 y se aforó a 250 mL con el mismo disolvente. Se procedió a prefiltrar con un embudo de vidrio y papel filtro Whatman número 2. La solución filtrada fue llevada a una campana de bioseguridad nivel II y, posteriormente, se

usó el kit de filtración por vacío. Una vez realizado este proceso, se agregaron 277.5 µL de gentamicina (se colocan 15 µL por cada 13.5 µL de medio). Finalmente, se distribuyeron los 250 mL de medio en 18 tubos de cristal con capacidad de 15 mL, agregando un volumen de 13.5 mL de medio y 1.5 mL de suero fetal bovino. Posteriormente se cerraron y sellaron los tubos de cristal con Parafilm® y se almacenó a 37 °C durante 48 horas.

b. Cultivo de *Giardia duodenalis* en medio TYI-S-33

El cultivo de *G. duodenalis* se realizó en medio TYI-S-33 y suero fetal bovino al 10%, bilis 1 g/L, pH de 7.0, 50 µg/mL de gentamicina y se filtró con membrana de 0.45 µm. Los trofozoítos fueron cosechados en tubos falcon de 15 mL con medio nuevo por enfriamiento a 4°C, se centrifugaron a 1500 rpm durante 8 min (Bagchi, 2012). El sobrenadante se decantó y la pastilla se resuspendió con 1.5 mL de suero fetal bovino; se homogeneizó y se añadieron 13.5 mL de medio nuevo, finalmente se incubó a 37 °C por 24 h (Tasca y col., 2005). Al obtener el número necesario de trofozoitos se procedió a decantar el medio de cultivo a tubos falcon de 15 mL, se centrifugaron a 1500 rpm durante 8 min a 4°C posteriormente se retiró el sobrenadante, la pastilla se resuspendió en 90% de suero fetal bovino y 10% de DMSO para su criopreservación a -70 °C y uso posterior (Bagchi, 2012).

c. Evaluación de la actividad antiparasitaria

La evaluación de la actividad antiparasitaria se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por Jiménez-Beltrán (2018) y Mora-Rochín y col (2024), con modificaciones. El ensayo de actividad contra *G. duodenalis* se realizó en placa de cultivo celular de 24 pozos (1.5 mL/pozo). Se utilizaron cultivos de 24 h con una densidad de 5×10^5 *Giardias*/mL. Para el ensayo se utilizaron concentraciones de 50, 100, 500 y 1000 µg/mL de fracción digerida insoluble

(FI) (<10 kDa). El desarrollo del cultivo de *G. duodenalis* se observó en el microscopio invertido y transcurridas 24 horas, se tomaron 10 μ L del cultivo y se colocaron en una cámara de Neubauer. Los datos obtenidos se reportaron como porcentaje de inhibición de crecimiento del parásito *Giardia duodenalis*.

17. Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos de las harinas de frijol Azufrado Higuera Crudo (HFAC) y Extrudido (HFAE) se analizaron mediante una prueba t- Student para comparación de medias, utilizando un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos de la galleta de avena sin adicionar (GA) y la galleta de avena adicionada con frijol extrudido (GAFE) se analizaron mediante la prueba de t-student, utilizando un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$). Se agregó una tercera galleta que será utilizada como un valor de referencia conocida como galleta de avena comercial (GAC)

Dado que los datos del análisis sensorial no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis para su análisis, por ser adecuada para variables medidas en escalas hedónicas y de preferencia.

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de las fracciones digeridas insoluble (FI) y soluble (FS) de las galletas se analizaron mediante una prueba de Dunnet. Esta prueba se seleccionó debido a que permite comparar múltiples tratamientos exclusivamente contra un control utilizando un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0.05$).

VIII. RESULTADOS

A. Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas crudas y extrudidas de frijol Azufrado Higuera.

1. Composición química

En el **Cuadro 4** se observa la composición proximal de frijol azufrado higuera crudo (HFAC) y frijol azufrado higuera extrudido (HFAE). En el contenido de proteína, se obtuvieron valores de 22.39% en HFAC y 23.38% en HFAE. Los resultados obtenidos en el contenido de proteína se encuentran dentro de los porcentajes reportados en la literatura, que oscilan entre 18-30% del peso total del frijol (Choudhury y col., 2025). Aunque el frijol fue sometido al proceso de extrusión, no se observaron diferencias significativas entre ambas harinas. Tendencias similares fueron reportadas por Osuna-Gallardo y col. (2023) en donde no hubo un cambio significativo en el contenido de proteína en las harinas de frijol ayocote crudo, cocido y extrudido en las mismas condiciones utilizadas en este estudio (137 °C). La extrusión es un proceso térmico donde tiene la ventaja de utilizar los granos completos, y no genera efluentes contaminantes, por lo tanto, se puede esperar que este parámetro no sufra cambios en el contenido de nitrógeno total.

En el contenido de lípidos se obtuvieron valores de 1.154% en HFAC y 0.509 % en la HFAE, por lo que, el proceso de extrusión disminuyó ($p \leq 0.05$) el contenido de lípidos alrededor del 55% en comparación con la harina sin procesar. El proceso de extrusión es un proceso térmico donde se utilizan altas temperaturas (137 °C), lo que reduce la actividad de enzimas como las lipasas y promueve la oxidación de ácidos grasos (Osuna-Gallardo y col., 2023).

Cuadro 4. Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de harinas crudas y extrudidas de frijol Azufrado Higuera.

Composición proximal (%bs)	HFAC	HFAE
Proteínas	22.398±0.522 ^a	23.381±0.371 ^a
Lípidos	1.154±0.076 ^a	0.509±0.013 ^b
Minerales	4.466±0.172 ^a	4.326±0.076 ^a
Carbohidratos	72.284±0.600 ^a	71.992±0.363 ^a
Fisicoquímicas		
Color		
L*	84.127 ±2.355 ^a	72.03±4.37 ^b
a*	0.617±0.098 ^b	1.273±0.116 ^a
b*	10.493±0.874 ^b	11.609±1.138 ^a
ΔE	10.730±0.526 ^b	25.525±1.321 ^a
Actividad de agua	0.417±0.011 ^a	0.427±0.003 ^a
pH	6.533±0.057 ^b	6.766±0.057 ^a
Tecnofuncionales		
Índice de absorción en agua ¹	2.471±0.025 ^b	4.581±0.115 ^a
Índice de solubilidad en agua ²	27.519±0.332 ^a	21.434±1.055 ^b
Índice de solubilidad en aceite ³	1.645±0.123 ^a	1.839±0.122 ^a
Antinutricionales		
Inhibidores de tripsina ⁴	1.774±0.009 ^a	0.1666±0.012 ^b

Ácido Fítico ⁵	1922.1±70.6 ^a	1832.1±25.2 ^a
Saponinas ⁶	2.031±0.050 ^a	0.320±0.001 ^b
Lectinas	D	ND

Los valores se representan con medias \pm la desviación estándar de tres réplicas. Letras minúsculas diferentes en superíndice indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). **HFAC**= harina de frijol azufrado higuera crudo, **HFAE**= harina de frijol azufrado higuera extrudido. **D**= Detectado. **ND**= No detectado

¹g gel/g muestra seca

²g de sólidos/ 100g muestra seca

³ml de aceite absorbido/ g de muestra seca

⁴UIT/mg

⁵μg equivalentes de fitato de sodio/g

⁶ mg ED/100 g muestra seca

Por otro lado, los resultados obtenidos mostraron que durante el proceso de extrusión del frijol no tuvo un impacto significativo en el contenido de minerales, con valores de 4.46% en HFAC y 4.36% en HFAE. Además, no se observaron diferencias significativas en el contenido de carbohidratos, con valores de 72.28% en HFAC y 71.99% en HFAE.

2. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas en los alimentos son parámetros esenciales para definir la calidad final del producto, ya que pueden influir en el diseño y el control de calidad durante el procesamiento de los alimentos (Igual y Martínez-Monzo., 2022). En el **Cuadro 4** se muestran las propiedades fisicoquímicas de la harina de frijol azufrado higuera crudo (HFAC) y la harina de frijol azufrado higuera extrudido (HFAE). El color se considera un atributo físico importante de los alimentos, mostrando como un indicador de la calidad fisicoquímica y sensorial del producto y se puede evaluar utilizando el sistema visual humano o instrumentos de medición de color (Dutha y Nath., 2024). La escala CIELAB, es uno de los sistemas de medición de color más utilizados, permitiendo describir el color en tres parámetros: L* (Luminosidad), a* (+a indica rojo, -a indica verde) y b* (+b indica amarillo, -b indica azul), y cuantificar las diferencias de color (ΔE) de las muestras. En la medición de color de las harinas, se obtuvieron valores de 84.127 en HFAC y 72.03 en HFAE en el parámetro L* (luminosidad) registrándose una disminución significativa de este valor después del proceso de extrusión, por lo que la harina se volvió más oscura. En el parámetro a* (+a indica rojo, -a indica verde), se obtuvieron valores de 0.617 en HFAC y 1.273 en HFAE, indicando que el proceso de extrusión aumentó su valor en este parámetro y que el producto final, HFAE, se encuentre en un rango de coloración cercano al color rojo. La misma tendencia se observó en el parámetro b* (+b indica amarillo, -b indica azul), donde HFAE tuvo un valor mayor de b* (11.069) en comparación con

HFAC (10.493). Sin embargo, ambas harinas se encuentran en un rango de coloración más cercano al amarillo. En la diferencia total de color (ΔE), HFAE presentó un valor de 25.525, significativamente mayor ($p \leq 0.05$) de ΔE en comparación con la HFAC, que fue de 10.730, lo que indica un cambio global de color perceptible. Los cambios de color observados después del proceso de extrusión puede atribuirse a que ocurren reacciones químicas como la de Maillard, provocado por la aplicación de altas temperaturas durante el procesamiento, donde los azúcares reductores pueden reaccionar con los grupos amino de las proteínas, favoreciendo el oscurecimiento del producto y por lo tanto se ve reflejado en el incremento en la diferencia total de color (Quispe y col, 2025).

La actividad de agua (a_w) es la relación entre la presión de vapor del alimento y la presión del agua destilada en condiciones idénticas y su evaluación en un alimento es importante ya que puede proporcionar información sobre la calidad de un producto, ofreciendo datos sobre la posibilidad de que se produzca crecimiento microbiológico en el producto, con el fin de conocer la estabilidad y la durabilidad del alimento (Sanadulachi., 2012). La actividad de agua (a_w) de las harinas HFAC y HFAE tuvieron valores de 0.417 y 0.427, indicando que las harinas contienen bajo contenido de humedad, ya que se sitúan por debajo de 0.6. Al tener un bajo contenido de humedad, esto ayuda a prevenir la proliferación de microorganismos patógenos y a garantizar la calidad del producto (FAO, 2025).

El pH en los alimentos puede influir en numerosos fenómenos y procesos, tales como las propiedades de las proteínas, las actividades enzimáticas, el crecimiento y la mortalidad de los microorganismos, y reacciones químicas como la reacción de Maillard. Por lo que medir este parámetro es necesario para producir productos seguros, de alta calidad y con valor añadido (Ándres-Bello y col., 2013). En la medición del pH se observó un aumento significativo ($p \leq$

0.05) en HFAE (6.76) en comparación con HFAC (6.53). Este incremento podría atribuirse a la solubilización y exposición de grupos amino de las proteínas durante el proceso de extrusión, lo cual puede modificar el pH final de la muestra (Osuna-Gallardo y col., 2023).

3. Propiedades tecnofuncionales

Las propiedades tecnofuncionales se refieren a las propiedades físicas y químicas que pueden influir en el comportamiento de los alimentos durante su procesamiento y consumo, impactando en las características sensoriales de los alimentos y determinar su uso final (Shevkani y col., 2024). En el **Cuadro 4** se muestran las propiedades tecnofuncionales de frijol azufrado higuera crudo (HFAC) y frijol azufrado higuera extrudido (HFAE). En el índice de absorción en agua (IAA), se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las muestras tras el proceso de extrusión, pasando de 2.471 g gel/g muestra seca en HFAC a 4.581 g gel/g muestra seca en HFAE. Este fenómeno se puede atribuir a las elevadas fuerzas de cizallamiento mecánico y el tratamiento térmico que pueden alterar la organización estructural de las macromoléculas (Xu y col., 2025). Por un lado, la gelatinización del almidón durante el proceso de extrusión provoca la pérdida de su estructura cristalina y una reorganización molecular que expone una mayor cantidad de grupos hidrofílicos, facilitando la retención de agua. Por otro lado, la desnaturalización proteica y la posible fragmentación de cadenas polipeptídicas exponen sitios activos polares que antes se encontraban ocultos en la estructura nativa, potenciando la capacidad de hidratación de la harina (Lin y col., 2020; Osuna-Gallardo y col., 2023). La absorción en agua es una propiedad técnico funcional importante para aplicaciones de panadería y puede estar relacionada con las propiedades reológicas de la masa (Dogruer y col., 2023).

En el índice de solubilidad en agua (ISA) se obtuvieron valores de 27.519 g de sólidos/ 100g muestra seca en HFAC y 21.434 g de sólidos/ 100g muestra seca HFAE, observándose

una disminución en este parámetro después del proceso de extrusión. Este resultado podría atribuirse a la presencia de aminoácidos polares con cargas opuestas (por un lado, ácidos glutámico y aspártico, y por el otro, lisina y arginina), los cuales promueven el fenómeno de asociación y disociación, influyendo en la solubilidad. Al pasar por un proceso térmico prolongado como la extrusión, se puede dar la deprotonación de algunos aminoácidos, como arginina y lisina, que conduce a la agregación de la proteína y la reducción de la solubilidad de las harinas (Montoya-Ramos, 2023). También se ha relacionado el contenido de humedad previo al proceso de extrusión con la solubilidad y absorción de agua final, ya que las harinas que son alimentadas en el extrusor contienen agua que actúa como plastificante y probablemente reducen el cizallamiento y la degradación del almidón durante la extrusión. Por lo que una humedad alta en la materia prima antes de alimentarla en un extrusor (en este caso, la harina de frijol fue humectada para alcanzar un 28% de humedad antes de extrudir) puede causar que haya un IAA más alto y un ISA más bajo (Sotelo-Díaz y col., 2023).

En el índice de absorción en aceite (IAC), el procesamiento térmico del frijol no impactó en este parámetro, obteniendo valores de 1.645 mL de aceite absorbido/g de muestra seca en HFAC y 1.839 mL de aceite absorbido/g de muestra seca en HFAE, por lo que no se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las muestras. Algunos estudios han coincidido que el procesamiento del frijol no tiene un impacto significativo en este parámetro como en el estudio de Montoya-Ramos (2023), en el cual se reportaron valores de 0.76 a 0.8 g/g en harinas de frijol extrudidas en diferentes temperaturas (140, 160 y 180 °C) sin observar diferencias significativas entre las harinas procesadas térmicamente en comparación con la harina de frijol sin procesar.

La absorción en aceite es un parámetro importante en harinas y proteínas de origen vegetal, ya que puede influir en el sabor, la textura y la sensación en la boca, además de influir

en el rendimiento final del alimento y puede ser esencial en la fabricación de alimentos como productos de panadería, bebidas, aderezos para ensaladas y productos cárnicos. Este parámetro depende del atrapamiento físico del aceite dentro de las proteínas y de enlaces no covalentes, como los enlaces hidrofóbicos, electrostáticos y de hidrógeno, que son fuerzas que intervienen en las interacciones entre lípidos y proteínas. La retención de aceite sería el resultado de la unión de las cadenas de hidrocarburos del aceite a las cadenas laterales no polares de los aminoácidos (Wang y col., 2020).

4. Compuestos Antinutricionales

Los compuestos antinutricionales se asocian principalmente con compuestos o sustancias que pueden interferir en la absorción de nutrientes y actúan reduciendo la digestibilidad y otros efectos adversos, como náuseas, hinchazón, deficiencias nutricionales, etc. En los últimos años se ha demostrado que estos compuestos químicos pueden resultar claramente beneficiosos para el ser humano cuando se consumen con moderación al proporcionar bioactividades como antioxidantes y antimicrobianas (Popova y Mihaylova., 2019). Entre los compuestos antinutricionales en fuentes alimentarias de origen vegetal se pueden encontrar inhibidores de tripsina, saponinas, lectinas y ácido fítico, tal como se muestra en el **Cuadro 4**.

En el contenido de inhibidores de tripsina mostró una disminución significativa ($p \leq 0.05$) después del proceso de extrusión de 1.7774 a 0.1666 UIT/mg, representando una reducción en la actividad de alrededor del 90.64%. Este resultado se puede deber a que los inhibidores de tripsina son proteínas termolábiles que pueden perder su actividad durante el procesamiento térmico (temperaturas mayores a 100 °C) por la desnaturalización y desdoblamiento de la proteína (Osuna-Gallardo y col., 2023). Corzo-Ríos y col. (2020) reportaron una disminución significativa en distintas variedades de frijol común, como blanco, pinto, flor de mayo y negro,

y frijol ayocote después del proceso de cocción (TE= 120 °C), hasta el grado que el contenido de inhibidores de tripsina era indetectable.

Los inhibidores de tripsina son compuestos asociados al aumento de la actividad secretora pancreática, el aumento de la hipertrofia pancreática y la disminución de la digestibilidad de las proteínas al interferir en la actividad de la tripsina y quimiotripsina (Salim y col., 2023). Por lo que su disminución después del procesamiento podría mejorar la digestibilidad y la seguridad alimentaria del alimento.

En el contenido de ácido fítico se obtuvieron valores de 1922.1 µg equivalentes de fitato de sodio/g en HFAC y 1832.1 µg equivalentes de fitato de sodio/g en HFAE, sin observarse diferencias significativas ($p > 0.05$). El ácido fítico es el principal componente antinutricional en leguminosas y se caracteriza por ser un agente quelante fuerte, el cual forma complejos con proteínas y minerales, como Ca, Fe, Zn y Mg, y puede influir en que dichos nutrientes no estén disponibles. También se ha reportado que tienen actividad antioxidante, antibacteriana, antidiabética y anticancerígena, así como su participación en la reducción de los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre e inhibición de la formación de cálculos renales (Narrea y col., 2023).

Se ha reportado que el proceso de extrusión puede disminuir el contenido de ácido fítico en cereales como el trigo; sin embargo, no es común este comportamiento en leguminosas. Se considera que las condiciones de humedad y extrusión pueden ser un factor que influye en el contenido de ácido fítico, como temperaturas por debajo de 150 °C de extrusión no afecta su contenido (Singh y col., 2007). Este comportamiento es similar al reportado por Montoya-Ramos (2023), donde no se observaron diferencias significativas en el contenido de ácido fítico

entre el frijol crudo, frijol cocido y frijol extrudido en distintas temperaturas (140, 160 y 180 °C).

En el contenido de saponinas, se observó una disminución significativa ($p \leq 0.05$) entre HFAE (0.320 mg ED/100 g de muestra seca) al compararse con HFAC (2.031 mg ED/100 g de muestra seca). Las saponinas son metabolitos secundarios tensioactivos no volátiles que se encuentran normalmente en plantas, y estructuralmente están compuestas por un resto de azúcar unido a un grupo esteroide (o triterpenoide) y su degradación durante el proceso de extrusión puede explicarse por el hecho de que el enlace entre la posición C-3 del sapogenol B (triterpenoide) y la cadena de azúcares se rompe, generando una aglicona y una molécula de azúcar; si el procesamiento se realiza a temperaturas mayores a 100 °C, las cadenas principales de la aglicona también pueden romperse (Corzo-Ríos y col., 2020). Estudios previos han reportado tendencias similares a las observadas en este estudio utilizando el proceso de extrusión en granos. Sánchez-Velázquez y col. (2021) reportaron una disminución del 13% en el contenido de saponinas en frijol pinto después del proceso de extrusión. Corzo-Ríos y col. (2020) reportaron rangos similares en el contenido de saponinas en frijol común y frijol ayocote, donde también se observó que después de procesamiento térmico se redujo el contenido de saponinas hasta un 42%.

Las saponinas se encuentran presentes en leguminosas como el frijol, especias y hierbas. Tradicionalmente, se consideran antinutrientes por conferir astringencia y un sabor amargo en los alimentos. Además, se ha demostrado que disminuyen la disponibilidad fisiológica de nutrientes y enzimas, dificultando la actividad de ciertos catalizadores metabólicos, como la tripsina y la quimotripsina, afectando a la digestibilidad de las proteínas (Salim y col., 2023). A pesar de sus efectos adversos y el ser considerados antinutrientes, las saponinas poseen

beneficios a la salud como actividad anticancerígena, hepatoprotectora y antioxidante. También se ha atribuido el efecto benéfico de las saponinas en las membranas celulares biológicas, ya que pueden mejorar la permeabilidad de las células de la mucosa intestinal, inhibiendo el transporte de la mucosa activa y facilitar la absorción de sustancias que normalmente no suelen hacerlo (Nikmaram y col., 2016; Sharma y col., 2023).

En el contenido de lectinas sólo se detectaron en HFAC. Las lectinas son glicoproteínas que conforman entre el 2-10% del peso del grano y pueden inhibir enzimas digestivas, pero se ha observado que, durante el procesamiento térmico, como la extrusión, estas disminuyen a tal grado de ser indetectables. Osuna-Gallardo y col (2023) evaluaron el contenido de lectinas en harinas de frijol ayocote cocido, extrudido y sin procesar, donde se observó mayor contenido de lectinas en el frijol sin procesar, mientras que el proceso de cocción eliminó en su totalidad estos compuestos.

B. Composición química, propiedades fisicoquímicas, tecnofuncionales, sensoriales y nutricionales de galletas

1. Composición proximal

En el **Cuadro 5** se muestra la composición proximal de la galleta de avena sin adicionar (GA) y la galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE). Los resultados obtenidos indican que la adición de harina de Frijol Azufrado Higuera Extrudido en galletas de avena favoreció un incremento del 25% en el contenido de proteína en comparación con GA.

Cuadro 5. Composición química, propiedades fisicoquímicas y nutricionales de galletas

	MUESTRA		
	GA	GAFE	GAC
Composición proximal (%bs)			
Proteínas	15.023±0.405 ^b	18.791±0.220 ^a	10.900±0.226
Lípidos	13.087±0.88 ^a	11.220±0.158 ^b	18.221±0.225
Minerales	3.884±0.012 ^b	5.98±0.271 ^a	1.359±0.016
Fibra	0.621±0.007 ^b	1.817±0.073 ^a	ND
Carbohidratos	67.589±0.712 ^b	62.788±1.298	69.519±0.340
Fisicoquímicas			
Color			
L*	74.739 ±0.659 ^a	75.741±1.856 ^a	75.731±2.472
a*	5.048±0.320 ^a	4.938±0.197 ^a	6.143±0.491 ^a
b*	19.333±0.736 ^b	20.696±0.426 ^a	25.931±1.074
ΔE	27.451±0.495 ^a	27.784±0.972 ^a	29.677±0.855
Actividad de agua	6.133±0.057 ^b	6.7±0.00 ^a	7.866±0.057
pH	0.186±0.003 ^c	0.352±0.004 ^a	0.261±0.001
Tecnofuncionales			
Índice de absorción en agua ¹	2.730±0.014 ^b	3.025±0.074 ^a	1.584±0.007 ^c

Índice de solubilidad en agua ²	7.428±0.396 ^c	15.246±0.717 ^b	26.348±0.759 ^a
--	--------------------------	---------------------------	---------------------------

Índice de solubilidad en aceite ³	1.55±0.116 ^a	1.315±0.119 ^a	0.9566±0.118
--	-------------------------	--------------------------	--------------

Nutricional

Digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> (%)	82.855±1.045 ^a	83.76±0.00 ^a	83.458±0.523
---	---------------------------	-------------------------	--------------

Antinutricionales

Inhibidores de tripsina ⁴	ND	ND	ND
--------------------------------------	----	----	----

Ácido Fítico ⁵	ND	ND	67.11±4.71
---------------------------	----	----	------------

Saponinas ⁶	1.649±0.077 ^a	1.311±0.051 ^b	1.482±0.081
------------------------	--------------------------	--------------------------	-------------

Lectinas	ND	ND	ND
----------	----	----	----

Los valores se representan con medias ± la desviación estándar de tres réplicas. Letras minúsculas diferentes en superíndice indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). **GA**= Galleta de Avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de Avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC**= Galleta de Avena Comercial (Se utilizó como valor de referencia) **ND**= No detectado. bs= base seca.

¹g gel/g muestra seca

²g de solidos/ 100g muestra seca

³mL de aceite absorbido/ g de muestra seca

⁴UIT/mg

⁵µg equivalentes de fitato de sodio/g

⁶ mgED/100 g muestra seca

Este incremento podría atribuirse al mayor contenido proteico del frijol en comparación con la avena. Asimismo, el contenido de proteína en ambas galletas formuladas resultó superior al valor observado en la galleta de avena comercial (GAC), la cual se empleó como referencia comercial. Se ha reportado que la adición de leguminosas puede favorecer el incremento de proteínas en galletas elaboradas a base de cereales. Aslan y Isik. (2024) reportaron que las galletas adicionadas con harinas de caupí, habas y frijol mungo aumentaban 4.50, 5.42 y 4.39 veces el contenido de proteína respecto a la galleta control. Hui y col. (2021) incorporaron harina de tempeh de soya en galletas elaboradas a base de trigo en distintas concentraciones, donde se observó que al aumentar el porcentaje de tempeh de soya en la mezcla, aumentaba el porcentaje de proteína.

En el contenido de lípidos, al adicionar HFAE en las galletas, se observó una disminución del 14% en lípidos al compararse con GA. Se puede destacar que el contenido lipídico de frijol extrudido (0.509%) es mucho menor que el de la avena (5.93%), por lo que, al sustituir parte de la avena por harina de frijol, se diluye el contenido total de lípidos de la formulación. Los valores observados en ambas galletas son inferiores a GAC, lo cual podría explicarse por los tipos de ingredientes que se encuentran presentes en la formulación y que podrían estar contribuyendo con un mayor aporte lipídico. Ghufuran-Saeed y col. (2023) reportaron una tendencia similar a lo observado en esta investigación donde observaron que la incorporación de harina de garbanzo cocida y germinada en galletas de trigo disminuyó hasta un 50% el contenido de lípidos al aumentar el porcentaje de la harina funcional en las galletas.

En el contenido de minerales, se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las tres galletas analizadas en este estudio, siendo GAFE con mayor porcentaje (5.98 %), representando un incremento cercano al 54% del contenido de cenizas con respecto a GA

(3.88%). Estos cambios significativos en el contenido de cenizas en las galletas podemos asociarlos a que el frijol es fuente de minerales como hierro, zinc y cobre. Asimismo, cabe destacar que el frijol presentó un contenido de cenizas de 4.32% (**Cuadro 4**), superior al de la avena (1.8%). Esta diferencia sugiere que la sustitución parcial con harina de leguminosa enriquece la matriz alimentaria con minerales totales; no obstante, los valores globales de cenizas en los productos terminados también reflejan el aporte de los demás ingredientes de la formulación (como sal, azúcar y polvo para hornear). Olaleye y col (2020) reportaron que la incorporación de harina de frijol lima en distintas concentraciones en galletas a base de harina de papa dulce aumentaba el contenido de cenizas hasta un 96% al compararse con la galleta control que no contenía harina de frijol.

En el contenido de fibra, GAFE fue la galleta con mayor porcentaje (1.817%) en comparación con GA (0.6215%), presentando un incremento aproximado de 190% en el contenido de fibra al adicionar harina de frijol en la galleta, por lo que se puede atribuir al frijol como el principal componente que aporta fibra al alimento. Estas tendencias son similares a las reportadas por Rahman y col (2025), quienes elaboraron galletas de trigo, garbanzo y sorgo germinado en diferentes proporciones (50:10:20:20, 50:20:10:20, 50:20:20:10) y mostraron mayor contenido de fibra (1.67-1.90 g/100 g) en comparación con la galleta control que era una galleta de trigo (1.04 g/100g). Estos resultados sugieren que el uso de leguminosas, como el frijol, puede mejorar significativamente el valor nutricional de la galleta, ya que la fibra está asociada con la salud intestinal.

En el contenido de carbohidratos se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las dos galletas evaluadas. GA presentó un porcentaje de 67.58%, mientras GAFE mostró el porcentaje más bajo que fue de 62.78%. Esta disminución puede atribuirse a la sustitución de la

avena por el frijol. Aunque ambas materias primas son fuentes de carbohidratos, la adición de frijol influyó en el mayor contenido de proteína, fibra y cenizas en la galleta, lo que podría modificar la distribución porcentual de macronutrientes en la formulación final. También podría atribuirse al proceso de extrusión al que fue sometido el frijol, donde el almidón pasa por cambios estructurales, como la gelatinización y la formación de almidón resistente, y puede estar relacionado con la disponibilidad final de algunos carbohidratos (Ali y col., 2024).

Estas tendencias son similares a los reportados en literatura respecto a la disminución en el contenido de carbohidratos. Chinenye Mba y col. (2023) elaboraron galletas de maíz adicionadas con harina de frijol en diferentes proporciones (15-60%). En este estudio se observó que al aumentar el contenido de la harina de frijol disminuye el porcentaje de carbohidratos hasta un 11% en comparación con la galleta control que era una galleta 100% harina de maíz, sugiriendo que la reducción en carbohidratos es un efecto consistente cuando se sustituyen harinas de cereal por leguminosas en productos horneados como galletas.

Estos resultados evidencian que la incorporación de harina de frijol azufrado higuera (HFAE) en la formulación de galletas de avena modificó el perfil nutricional del producto final, al incrementar el contenido de proteínas y cenizas, acompañado con la reducción en el porcentaje de lípidos y carbohidratos. Asimismo, el proceso de extrusión pudo contribuir en las modificaciones estructurales en los componentes del frijol, influyendo en sus propiedades nutricionales, funcionales y digestivas. En general, los resultados obtenidos demostraron que la formulación propuesta permitió desarrollar una galleta con un perfil nutricional más balanceado en comparación con una galleta que se puede adquirir comercialmente

2. Propiedades Fisicoquímicas

En la **Figura 6** y en el **Cuadro 5** se muestran las galletas y las propiedades fisicoquímicas de la galleta de avena sin adicionar (GA) y la galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extruida (GAFE). Respecto a la luminosidad (L^*), no se observaron diferencias significativas entre las galletas evaluadas, lo que indica que la incorporación de la HFAE no alteró este parámetro; los valores obtenidos fueron similares a los de GAC, la cual fue formulada para mantener un atractivo visual para el consumidor. En el valor de a^* , no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las muestras, por lo que la adición de HFAE en GAFE no tuvo un impacto en este parámetro. De acuerdo con el sistema CIELAB, los valores de a^* corresponden a las coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde) y con los datos obtenidos, las galletas se encuentran más cercanas al color rojo.

En el valor de b^* (+b indica amarillo, -b indica azul) se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las galletas, registrando valores de 19.333 en GA y 20.696 en GAFE. A pesar de estas diferencias, ambas galletas se ubicaron en un rango de coloración amarilla. Este comportamiento es consistente con las propiedades cromáticas medidas previamente en HFAE, cuyos valores de b^* tienden hacia el amarillo, influyendo así en la apariencia final de las formulaciones desarrolladas. En la diferencia total de color ΔE , la adición de HFAE en GAFE no modificó significativamente la diferencia total de color.

En cuanto al pH, la adición de harinas de frijol azufrado higuera incrementó el valor final de pH en la galleta (6.7) al compararse con GA (6.1), acercándose a un valor más alcalino como el de GAC (7.8). De acuerdo con la NMX-F-006-1983, se establece que las galletas deben presentar un rango de 6.0 a 8.0 en su pH para cumplir con los estándares de calidad y seguridad

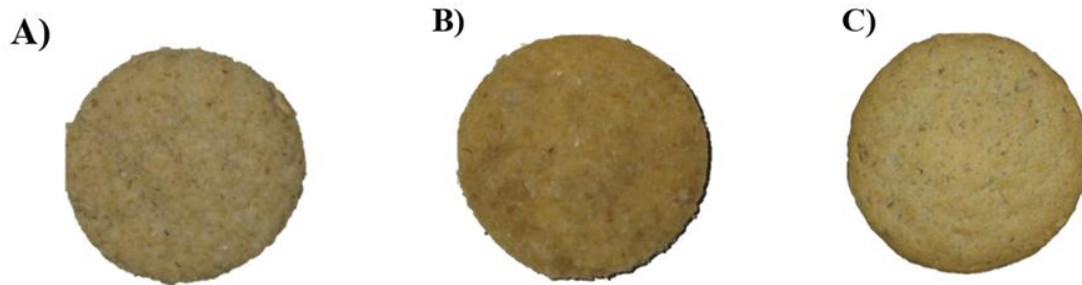


Figura 6. Imagen representativa de las galletas. (A) Galleta de avena sin adicionar (GA). (B) Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudida (GAFE). (C) Galleta de avena comercial (GAC).

alimentaria en México. Los datos obtenidos en esta investigación muestran que las formulaciones evaluadas se encuentran dentro de estos rangos.

La actividad en agua (a_w) en galletas es un parámetro que puede determinar su estabilidad microbiológica y su larga vida útil. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en ambas galletas; GAFE fue la galleta con mayor valor de a_w de 0.352, mientras que GA obtuvo un valor de 0.186. Las actividades del agua de las galletas analizadas se situaron en un rango inferior a 0.80. A modo de referencia, las actividades de agua para el deterioro del alimento causado por bacterias, levaduras y mohos son de 0.90, 0.85, 0.88 y 0.80 (Liu y col., 2017), por lo que estos productos pueden ser seguros para su consumo.

3. Propiedades tecnofuncionales

En el **Cuadro 5** se muestra la composición tecnofuncional de la galleta de avena sin adicionar (GA) y la galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE). Respecto al Índice de Absorción de Agua (IAA), se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las muestras; GAFE presentó el valor más alto (3.025 g gel/g muestra seca), seguido de GA (2.730 g gel/g muestra seca). Este incremento, equivalente a un 10% en GAFE respecto a GA, se puede atribuir a la incorporación de HFAE en la formulación de la galleta.

Retomando los resultados del **Cuadro 4**, el proceso de extrusión puede aumentar el IAA debido al cizallamiento mecánico y el tratamiento térmico que pueden alterar la organización estructural de macromoléculas como proteínas y carbohidratos. También se puede destacar que el frijol extrudido tiene un valor más alto de IAA (4.581 g gel/g muestra seca) en comparación con la harina de avena (2.323 g gel/g muestra seca). Ghufraan-Saeed y col (2023) reportaron que la adición de garbanzo tostado y germinado a las galletas aumentaba la capacidad de absorción de agua en comparación con la galleta control de trigo. Estas tendencias podrían deberse a la

naturaleza molecular y a las diferencias de la composición química entre leguminosas y cereales.

Respecto al índice de solubilidad en agua (ISA), se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las formulaciones desarrolladas; GAFE presentó un valor de 15.246 g de sólidos/100 g de muestra seca, el cual duplicó significativamente al obtenido por GA (7.428 g de sólidos/100 g de muestra seca). Por otra parte, al comparar estos resultados con la galleta comercial (GAC), esta última exhibió el valor más alto (26.348 g de sólidos/100 g de muestra seca), atribuido a su naturaleza altamente procesada, caracterizada por el uso de harinas refinadas, azúcares solubles y aditivos que favorecen una rápida disolución en un medio acuoso.

Este comportamiento sugiere que componentes de la avena como β -glucanos, actúan como fibra soluble que, dependiendo de su estructura molecular, puede formar soluciones viscosas y afectar la solubilidad. En el caso de la GAFE, el incremento respecto a la GA podría deberse a la degradación molecular del almidón durante el proceso de extrusión del frijol. Además, el ISA en el frijol extruido fue de 21.434 g de sólidos/100 g de muestra, superior al observado en la avena, que fue de 3.615 g de sólidos/100 g.

En el índice de absorción en aceite, se obtuvieron valores de 1.55 mL de aceite absorbido/g de muestra seca en GA y 1.315 mL de aceite absorbido/g de muestra seca en GAFE. Aunque no se presentaron diferencias significativas entre GA y GAFE, presentaron valores superiores que GAC, y una mayor absorción de aceite puede atribuirse a una mayor cantidad de proteínas expuestas o porosidad de la matriz alimentaria, influyendo positivamente en la palatabilidad al generar productos con mayor sensación de humedad, mejorando percepción sensorial y la vida útil del producto, especialmente en productos de panadería como galletas (Thongram y col., 2016).

4. Digestibilidad proteínica *in vitro*

La digestibilidad proteínica *in vitro* se considera un parámetro para medir la calidad nutricional de las proteínas, ya que se utiliza como indicador de la biodisponibilidad de los aminoácidos. A medida que aumenta la digestibilidad de las proteínas y la cantidad de proteína absorbida, también lo hace el valor nutricional (Cao y col., 2023). En este estudio, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre GA (82.85%) y GAFE (83.76%). Aunque no se observaron cambios, el hecho de que GAFE tenga una digestibilidad similar a la observada en GAC, que es una galleta comercial, podría deberse a la disminución del contenido de compuestos antinutricionales como inhibidores de tripsina y lectinas (**Cuadro 5**), los cuales suelen reducir la digestibilidad del alimento.

Los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango observado en el estudio de Chinma y col (2022), donde se reportó un rango de 80.52% a 89.20% de digestibilidad proteínica *in vitro* en galletas con harina de mijo germinado y cacahuate bambara. Chavez-Murillo y col (2021) reportaron porcentajes de digestibilidad de 75.26% a 87.43% en galletas de trigo-avena adicionadas con frijol negro, garbanzo, lenteja y haba procesadas térmicamente y sin procesar en una proporción 50:50. Las galletas con mayor porcentaje de digestibilidad eran las que estaban adicionadas con harinas de leguminosas procesadas térmicamente (82.41%–87.43%), resultado que podría estar relacionado con la disponibilidad de la proteína después del procesamiento térmico.

5. Compuestos antinutricionales

En el **Cuadro 5** se muestra el contenido de compuestos antinutricionales de la Galleta de avena sin adicionar (GA) y Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extruido (GAFE). No se detectaron inhibidores de tripsina en las galletas evaluadas en este estudio. En

el caso de GAFE, HFAE tenía cantidades bajas de inhibidores de tripsina en comparación con HFAC causadas por el proceso de extrusión, por lo que el procesamiento térmico (horneado) que se aplicó para la elaboración de galletas terminó por disminuir en su totalidad su contenido. Además, puede atribuirse a que la avena carece de este tipo de compuestos.

En el contenido de ácido fítico, se detectó en GAC en cantidades menores (67.11 μg equivalentes de fitato de sodio/g), mientras que en GA y GAFE se encontró por debajo del límite de detección. La ausencia de este compuesto en las formulaciones desarrolladas es una ventaja nutricional clave; debido a su conocida capacidad para quelar minerales esenciales, la reducción o eliminación del ácido fítico previene la formación de complejos insolubles, mejorando significativamente la biodisponibilidad de estos micronutrientes en el producto final.

Respecto al contenido de saponinas, se obtuvieron valores de 1.649 mg ED/100g de muestra seca en GA y 1.311 mg ED/100g de muestra seca en GAFE. Estos resultados pueden atribuirse a que la avena es una fuente natural de saponinas, al contener saponinas esteroideas bisdesmosídicas, avenacósidos A y B, y 26-desglucoavenacósido A monodesmosídico en sus hojas y granos (Bljakhina y col., 2023).

Por otro lado, la adición de HFAE en GAFE pudo influir en la reducción del contenido de estos compuestos, lo cual podría deberse a un efecto de dilución o a una interacción con otros componentes de la matriz alimentaria. También se puede destacar que el contenido de saponinas en la avena que se utilizó para la elaboración de galletas es superior (2.249 mg ED/100g de muestra seca) al obtenido en HFAE (0.320 mg ED/100g de muestra seca). A pesar de su detección en el producto final, sus valores podrían considerarse por debajo del umbral de preocupación toxicológica, al ser inferiores al 0,1 % del peso seco. Se ha reportado que, a bajas

concentraciones, las saponinas tienen efectos benéficos en el organismo, como antioxidantes, hipocolesterolémicos y antimicrobianos.

No se detectaron lectinas en las galletas analizadas, lo cual refuerza la hipótesis de que el tratamiento térmico puede ser eficaz para inactivar lectinas, conocidas por su capacidad de resistir la digestión y afectar la integridad intestinal al consumirse sin procesar o mal procesadas. La ausencia de lectinas en la formulación que contiene frijol sugiere que el doble procesamiento (extrusión y horneado) aplicado fue adecuado para su eliminación al ser proteínas termolábiles.

En general, la incorporación de HFAE en la formulación de galletas (GAFE) representa una alternativa nutricional segura y eficiente. Los resultados presentados en el **Cuadro 4** indican que el proceso de extrusión disminuyó los contenidos de inhibidores de tripsina, saponinas y lectinas en comparación con su contraparte sin procesar (HFAC). Al incorporarse en la galleta, se obtuvieron valores indetectables en inhibidores de tripsina, lectinas y ácido fítico, lo que podría significar que puede dar como resultado una galleta con alta digestibilidad, ya que estos compuestos pueden interferir en la digestión. Asimismo, GAFE fue la galleta con menor contenido de saponinas entre las galletas analizadas, sugiriendo que la combinación avena-frijol extrudido puede mejorar el perfil nutricional del alimento, reduciendo factores que habitualmente pueden limitar la biodisponibilidad de nutrientes.

6. Análisis sensorial

El análisis sensorial juega un papel crucial en la industria alimentaria, ya que es una herramienta esencial para el desarrollo del producto, el control de calidad y la investigación de mercado. En el **Cuadro 6** se muestra la evaluación sensorial de la Galleta de avena sin adicionar (GA) y la Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE). La evaluación sensorial se realizó mediante una escala hedónica de 9 puntos (9 = Me gusta

Cuadro 6. Evaluación sensorial de las galletas

Parámetro	MUESTRA		
	GA	GAFE	GAC
Olor	5.5	7.0	8.0
Apariencia	6.0	7.0	8.0
Sabor	5.0	6.0	8.0
Textura	6.0	7.0	8.0
Aceptabilidad General	5.0	6.5	8.0

Los valores se determinaron con una escala hedónica de 9 puntos. Los resultados se expresaron como puntuaciones medianas de 50 evaluaciones. **GA**= Galleta de avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado extrudido. **GAC** = Galleta de avena comercial.

demasiado y 1 = Me disgusta demasiado), y se evaluaron parámetros como el olor, el sabor, la textura, la apariencia y la aceptabilidad general.

En cuanto al olor, GAC, empleada como referencia de mercado, obtuvo un puntaje de “Me gusta mucho” (8). Entre los productos desarrollados, la galleta con harina de frijol extrudido (GAFE) mostró la mayor aceptación con una calificación de “Me gusta moderadamente” (7), mientras que la galleta de avena (GA) registró la menor preferencia con una puntuación de “No me gusta ni me disgusta” (5.5). Respecto a la apariencia y textura, GAFE obtuvo una puntuación de “Me gusta moderadamente” (7). Este resultado es favorable, ya que superó la calificación de “Me gusta ligeramente” (6) otorgada a GA, lo que sugiere que la incorporación de HFAE impactó de manera positiva en la percepción de los atributos físicos del producto.

Respecto al sabor, GAFE también superó en aceptación a GA, siendo evaluada con un “Me gusta ligeramente” (6). Dado que ambas galletas comparten la misma base de formulación, la mejora en el sabor se atribuye a la adición de la harina de leguminosa. Este fenómeno está estrechamente relacionado con el procesamiento térmico previo del frijol, dado que las altas temperaturas inducen la reacción de Maillard, generando compuestos volátiles que aportan notas sensoriales más agradables para el consumidor (Ali y col., 2024). Por otra parte, la muestra de referencia GAC se posicionó con el puntaje más alto; esto puede explicarse por su naturaleza comercial, la cual suele incluir ingredientes y aditivos formulados específicamente para maximizar la palatabilidad.

Aunque GAC fue la galleta con mayor aceptabilidad por parte de los participantes del análisis sensorial con un puntaje de “Me gusta mucho” (8), GAFE logró mantener una buena aceptabilidad global, sugiriendo que la adición de harina de frijol extrudido tuvo un efecto complementario positivo sobre las características sensoriales encontrándose en el rango de “Me

gusta ligeramente”. Esto demuestra que, a pesar de las modificaciones en color, sabor y aroma asociadas al frijol y al proceso de extrusión, la formulación GAFE mantiene iguales o mayores atributos sensoriales agradables al consumidor.

En un estudio similar, Folorunso y col (2025) elaboraron galletas de trigo enriquecidas con frijol rojo cocido en distintos porcentajes (20%, 40% y 50%). Tras la evaluación sensorial mediante una escala hedónica de 9 puntos, las tres formulaciones obtuvieron calificaciones promedio de 6 “Me gusta ligeramente” en atributos como apariencia, sabor, textura, sabor y aceptabilidad general. Estos hallazgos confirman que la incorporación de harinas de leguminosas en productos como galletas, permite mantener una buena aceptabilidad sensorial, cumpliendo simultáneamente con el objetivo de mejorar el perfil nutricional para los consumidores, sugiriendo que la adición de HFAE no tuvo un impacto en las propiedades físicas de la galleta.

7. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos etanólicos

En el **Cuadro 7** se muestra el contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante por el ensayo colorimétrico de ABTS de los extractos etanólicos de las galletas. En el contenido de compuestos fenólicos totales no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las muestras, obteniendo valores de 95.43 mg EAG/100 g muestra seca en GA y 98.05 mg EAG/100 g muestra seca en GAFE. Aunque no se observaron diferencias significativas, se puede destacar que las galletas GA y GAFE, a pesar de ser galletas elaboradas de una forma más artesanal, presentan cantidades comparables de compuestos fenólicos con GAC, que es una galleta comercial y puede contener ingredientes que pueden potenciar esta cualidad. Esta tendencia es similar a las galletas reportadas por Chatziharalambous y col. (2023),

Cuadro 7. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos etanólicos de galletas

Parámetro	MUESTRA		
	GA	GAFE	GAC
Compuestos Fenólicos Totales ¹	95.43±12.62 ^a	98.05±7.08 ^a	103.74±5.64
Actividad Antioxidante (ABTS) ²	513.9±26.9 ^a	501.3±31.4 ^a	427.3±29.4

Los valores se representan con medias \pm la desviación estándar de tres réplicas. Letras minúsculas diferentes en superíndice indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). **GA**= Galleta de Avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de Avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC**= Galleta de Avena Comercial (se utilizó como valor de referencia).

¹mg EAG/100 g muestra seca

² μ mol ET/100 g muestra seca

donde elaboraron galletas a base de trigo adicionando distintos porcentajes de harina de garbanzo (20%, 30%, 40%, 50% 60% y 80%). Se reportó que al adicionar 20% y 30% de harina de garbanzo no había diferencias significativas en comparación con el control que era una galleta de trigo, llegando a la conclusión que se necesita adicionar más del 60% de la harina de leguminosa para observar un aumento significativo.

En la actividad antioxidante, se obtuvieron valores de 513.9 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ de muestra seca y 501.3 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ de muestra seca en GAFE. La actividad antioxidante puede estar atribuida a las materias primas que se utilizaron como la avena, la cual está conformada por antioxidantes como los compuestos polifenólicos, flavonoides, esteroles y avenatramidas, los cuales le dan la capacidad antioxidante y otras funcionalidades, como la capacidad antiinflamatoria (Alemayehu y col., 2023). Por otro lado, el frijol también se caracteriza por su contenido de compuestos antioxidantes como flavonoides, taninos y antocianinas. También se ha reportado que los compuestos presentes en el frijol son potentes antioxidantes contra los radicales hidroxilo y peroxilo, además de que pueden sobrevivir la digestión gastrointestinal y llegar al colon, donde pueden ejercer su efecto antioxidante gracias a procesos de fermentación que ocurren dentro de la microbiota intestinal (Rochín-Medina y col., 2022).

El hecho que tanto GAFE hayan tenido mayor actividad antioxidante que GAC podría indicar que, a pesar de ser una galleta elaborada de una forma más artesanal y sin la adición de conservadores que pueden ayudar a prolongar su vida útil, está galleta posee antioxidantes naturales de origen vegetal, provenientes de la avena y del frijol, que podrían prevenir los procesos oxidativos e impedir la proliferación microbiológica, aumentando la longevidad de los productos y preservando su calidad general (Petcu y col., 2023) . Además, la actividad

antioxidante posee un función protectora contra el estrés oxidativo, factor crítico en el desarrollo de enfermedades como diabetes, hipertensión y cáncer.

C. Caracterización proteínica de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

1. Perfil de proteínas SDS-PAGE de harinas y galletas

En la **Figura 7** se presenta el perfil de proteínas de SDS-PAGE de la harina de frijol crudo (HFAC), extrudido (HFAE) y harina de avena (HA) (A), y galleta de avena comercial (GAC), galleta de avena (GA) y galleta de avena adicionada con frijol extruido (GAFE) con sus respectivas FS y FI (<10 kDa) (B). Como se observa en la **Figura 7A**, tanto HFAC y HFAE presentaron bandas entre 150 kDa y 15 kDa, las cuales podrían corresponder a proteínas como leguminas, faseolinas tipo α , faseolinas tipo β , isolectinas e inhibidores de α -amilasa, proteínas características en el frijol. Aunque se observaron similitudes en el tipo de proteínas detectadas en ambas muestras, en HFAE se observan bandas de menor intensidad, como las faseolinas tipo α (38.8-48.9 kDa) y las faseolinas tipo β (25 kDa y 26.1 kDa). La disminución en la intensidad de las bandas se puede atribuir a que algunas proteínas del frijol son termosensibles y al aplicar altas temperaturas ($T=137^{\circ}\text{C}$) durante el proceso de extrusión, estas se pueden degradar o interaccionar con otras proteínas formando nuevos complejos proteicos. El perfil de proteínas observado en este gel es similar al reportado por Sánchez-Velázquez y col. (2021) en donde caracterizaron diversas variedades de frijol comparando entre granos sin procesar, extrudidos, escaldados y hervidos. En el caso de HA, se observan bandas entre 65.9 kDa y 22 kDa, que podrían corresponder a proteínas como globulinas, albúminas y aveninas. En la **Figura 6B** se

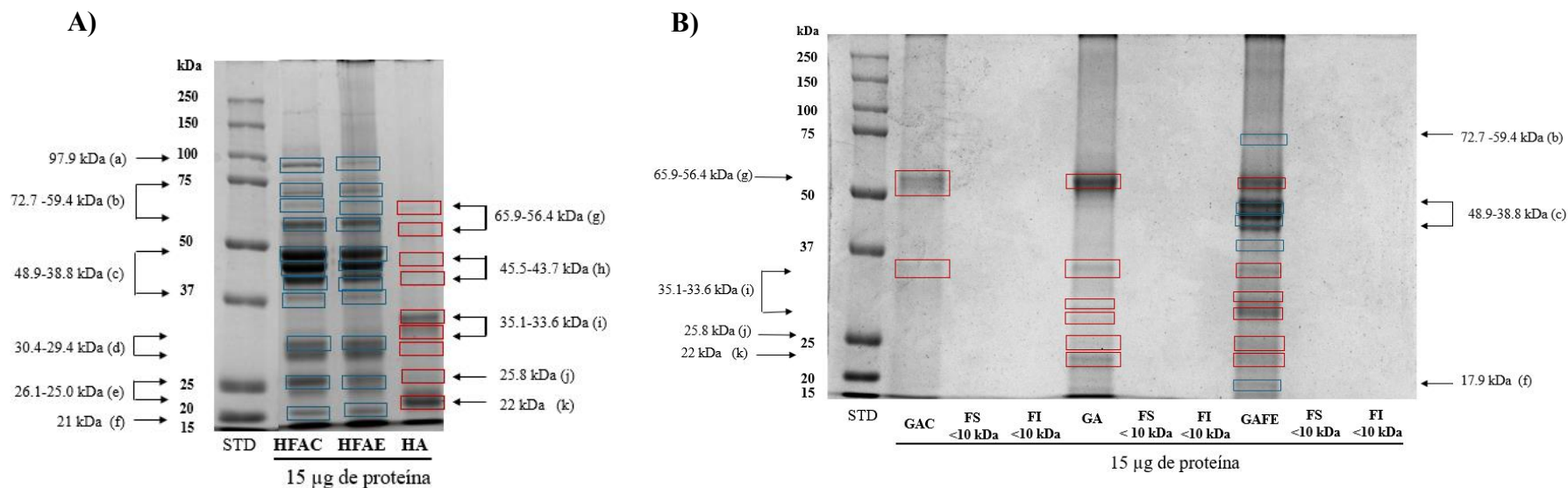


Figura 7. Perfil de proteínas SDS-PAGE de harinas (A) y galletas con sus respectivas fracciones digeridas solubles e insolubles de 10 kDa (B). **STD**= estándar de peso molecular (250-10 kDa). **FS**= fracción digerida soluble. **FI**= fracción digerida insoluble. **HFAC**= Harina de frijol azufrado higuera crudo, **HFAE**= Harina de frijol azufrado higuera extrudido, **HA**= Harina de avena. **GAC**= Galleta de avena comercial. **GA**= Galleta de avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. (a) Leguminas (b), faseolinas (c), faseolinas tipo α (d) e isolectinas. (e) faseolinas tipo β , (f) inhibidores de α -amilasa, (g) 7s globulinas, (h) albuminas, (i) β -globulinas, (j) aveninas, (k) α -globulinas. Bandas de color azul señalan proteínas de frijol. Las bandas de color rojo señalan proteínas de avena.

muestra el perfil proteico de las galletas evaluadas en este estudio, con sus respectivas fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa). En GAC se observan bandas con mayor intensidad mayores a 50 kDa, que de acuerdo con lo que se ha reportado en literatura, podrían corresponder a proteínas como 7s globulinas. Asimismo, se observan bandas de menor intensidad cuya intensidad coincide con β -globulinas. En el caso de GA, también se detectaron bandas de alta intensidad por encima de 50 kDa, atribuibles a 7s globulinas, lo cual coincide con el patrón observado en GAC. Cabe destacar que esta banda detectada en ambas galletas se relaciona con la banda observada en HA en la Figura 6A, sugiriendo que dichas proteínas se mantienen presentes incluso después del procesamiento en galletas. También se observan bandas de β -globulinas, aveninas y α -globulinas, que son proteínas presentes en HA.

En GAFE se observó un perfil de proteínas más diverso en comparación con las otras dos galletas. Al igual que en GA, se observan bandas que por sus pesos podrían corresponder a proteínas como 7s globulinas, β -globulinas y aveninas. Al ser una galleta adicionada con harina de frijol, se pueden observar bandas con pesos alrededor de 40-45 kDa las cuales pueden ser atribuibles a faseolinas tipo α . Estas bandas fueron observadas en HFAC y HFAE.

2. Proteína soluble (PS) y cuantificación de péptidos de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

En el **Cuadro 8** se muestra el contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones digeridas insolubles y solubles de la Galleta de avena sin adicionar (GA) y Galleta de Avena adicionada con frijol azufrado higuera extruido (GAFE). El contenido de PS no varió significativamente entre las galletas antes de la digestión, obteniendo valores entre 17.72 y 18.64 mg/mL, respectivamente.

Cuadro 8. Contenido de proteína soluble y péptidos de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

	MUESTRA		
	GA	GAFE	GAC
Proteína Soluble (mg/mL)			
Sin digerir	17.72±0.96 ^a	18.64±1.356 ^a	18.69±0.82
FS (<10 kDa)	177.52±4.78 ^a	166.54±11.31 ^a	149.59±4.33
FI (< 10 kDa)	88.45±6.32 ^a	85.98±4.18 ^a	62.89±1.49
Péptidos (mg/mL)			
Sin digerir	ND	ND	ND
FS (<10 kDa)	128.33±10.07 ^b	208.33±14.57 ^a	103.67±4.59
FI (< 10 kDa)	53.83±2.47 ^b	67.59±5.89 ^a	36.58±3.01

Los valores se representan con medias \pm la desviación estándar de tres réplicas. Letras minúsculas diferentes en superíndice indican diferencia estadística t-student ($p \leq 0.05$). **FS**= Fracción digerida soluble. **FI**=Fracción digerida insoluble. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC**= Galleta de Avena Comercial (se utilizó como valor de referencia). **ND**= No detectado.

Después de la simulación gastrointestinal, los valores de PS incrementaron significativamente ($p \leq 0.05$) en ambas fracciones, lo cual puede estar relacionado con la formación de péptidos de menor peso durante la digestión gracias a enzimas como pepsina y pancreatina (Sandoval-Sicairos y col., 2021). Los valores más altos se observaron en las fracciones digeridas solubles (FS) de GA y GAFE, con 177.52 y 166.54 mg/mL, superiores a los observados en GAC, de 149.69 mg/mL. Este comportamiento también se observó en las fracciones digeridas insolubles (FI), donde los valores más altos de PS se observaron en GA y GAFE, con 88.45 y 85.98 mg/mL, en comparación con GAC, que obtuvo 62.89 mg/mL. Estas tendencias pueden estar relacionadas con la formación de péptidos de menor peso molecular durante la digestión, gracias a las enzimas digestivas (Sandoval-Sicairos y col., 2021).

En el contenido de péptidos, durante la simulación gastrointestinal, se generaron péptidos en las galletas evaluadas en este estudio. En GA se obtuvo un valor de 128.33 mg/mL en la FS, mientras que en la FI se obtuvo un valor de 53.83 mg/mL. GAFE es la muestra que libera la mayor cantidad de péptidos en ambas fracciones, con valores de 208.33 mg/mL en la FS y 67.59 mg/mL en la FI.

El hecho de que GAFE tenga mayor contenido de péptidos en ambas fracciones puede estar relacionado con la adición de frijol extrudido. Los procesamientos térmicos, como la cocción y la extrusión, son capaces de inducir la desnaturalización de las proteínas y la formación de agregados de proteínas desplegadas, lo que puede generar una mayor digestibilidad de estas macromoléculas y producción de aminoácidos y péptidos de menor peso que podrían permeabilizar fácilmente durante la digestión. Paralelamente, durante el procesamiento se da la disminución de compuestos antinutricionales, como los inhibidores de

tripsina, que pueden interferir en la digestión de las proteínas y al disminuir su contenido, puede aumentar su digestibilidad (Milán-Noris y col., 2018).

D. Compuestos fenólicos totales (CFT) y actividad antioxidante (AAOX) de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

En el **Cuadro 9** se muestran las concentraciones de compuestos fenólicos totales (CFT) de fracciones digeridas insolubles y solubles de la Galleta de avena sin adicionar (GA) y la Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extruido (GAFE) con sus respectivas fracciones digeridas insolubles (FI) y solubles (FS) (<10 kDa). Los valores de CFT incrementaron después de la simulación gastrointestinal para las galletas evaluadas, donde se observó mayor incremento en la fracción soluble con respecto a la fracción insoluble. Este comportamiento puede deberse a que la digestión gastrointestinal origina cambios en la estructura de estos compuestos por el contacto con fluidos digestivos, el pH y las enzimas digestivas, lo que favorece su incremento y los hace más bioaccesibles para ejercer diversas actividades biológicas (Morales y col., 2022).

Entre las galletas evaluadas en este estudio, la galleta que presentó mayor contenido de CFT después de la simulación gastrointestinal fue GAFE, incrementando su contenido en un 310.2% en la fracción soluble con un valor de 1041.3 mg EAG/100 g y 180% en la fracción insoluble con un valor de 710.6 mg EAG/100 g en comparación con la galleta antes de digerir (253.78 mg EAG/100 g).

En el estudio de Li y col. (2022) se reportó aumento en CFT en distintas variedades de vigna después de la digestión, lo cual puede estar relacionado con interacciones entre los carbohidratos y los compuestos fenólicos, que podrían reducirse por debajo de entornos de pH

Cuadro 9. Contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

	MUESTRA		
	GA	GAFE	GAC
Fenólicos Totales (EAG/ 100 g)			
Sin digerir	222.11±15.28 ^b	253.78±6.38 ^a	191.28±6.87
FS (<10 kDa)	985.4±79.9 ^a	1041.3±47.7 ^a	832.9±29.4
FI (< 10 kDa)	565.4±46.4 ^b	710.6±46.5 ^a	423.78±11.39
Actividad Antioxidante (µmol ET/ 100 g)			
Sin digerir	1087.1±94.8 ^b	1690.7±116.9 ^a	911±100.3
FS (<10 kDa)	8047±37.57 ^a	8055±37 ^a	7762.14±199
FI (< 10 kDa)	6796.67±167 ^a	7034.76±174 ^a	5573.3±115.5

Los valores se presentan como medias ± desviación estándar. **GA**= Galleta de avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC** = Galleta de avena comercial (se utilizó como valor de referencia). EAG/100 g = moles equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra. µmol ET/ 100 g= micromoles equivalentes de trolox por 100 gramos. **FS**= Fracción digerida soluble, **FI**= Fracción digerida insoluble.

neutro y la acción de enzimas como amilasa, pancreatina y lipasa, en conjunto con sales biliares, podría permitir la transferencia y la biodisponibilidad de estos compuestos.

La actividad antioxidante (AAOX) de las galletas con sus respectivas fracciones digeridas se presenta en el **Cuadro 9**. Antes de la digestión, las galletas obtuvieron valores de 1087.1 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en GA y 1690 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$ en GAFE. La AAOX aumentó significativamente después de la simulación gastrointestinal en las galletas evaluadas en este estudio, siendo la fracción digerida soluble con mayor actividad antioxidante.

En el caso de GA, el aumento después de la digestión fue del 640.2 % (8047 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) en la fracción digerida soluble y 525.2% (6796.67 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) en la fracción digerida insoluble, mientras que en GAFE el incremento fue de 376.6% (8055 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) en la fracción digerida soluble y 316.3% (7034.76 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$) en la fracción digerida insoluble. Los valores obtenidos podrían indicar que el proceso digestivo potencia la capacidad de las galletas para neutralizar radicales libres, liberando compuestos que no eran detectables en la matriz sólida antes de digerir. Además, esta actividad puede estar relacionada con el contenido de CFT liberados durante la simulación gastrointestinal (**Cuadro 9**), y la posible presencia de péptidos (**Cuadro 8**) y aminoácidos con potencial antioxidante, los cuales podrían interactuar con células y desencadenar respuestas antioxidantes al influir en las vías de señalización celular que regulan la expresión de las enzimas antioxidantes (Olt y col., 2025).

Los compuestos fenólicos pueden interactuar con las proteínas, dando lugar a nuevos complejos, tanto solubles como insolubles, que podrían influir en su bioactividad, además de alterar la capacidad reductora, la digestibilidad y la biodisponibilidad de ambos componentes (de Morais y col., 2020).

En la literatura se han reportado análisis con matrices alimentarias similares a las de este estudio. Rochetti y col (2024) evaluaron la AAOX por el método de ABTS en fracciones

digeridas de hamburguesas elaboradas con mezcla de carne y diversos insectos como gusano de la harina, grillo y langosta migratoria, donde las hamburguesas adicionadas con harina de estos insectos mostraron mayores valores de AAOX después de la digestión en comparación con el control que era una hamburguesa con carne sin adicionar harina de alguno de estos insectos. Gallego y col (2020) elaboraron pastas de diferentes leguminosas como soja, lenteja y guisante con un procesamiento térmico que fue la cocción , en las que se observó un incremento de AAOX en las muestras después de la fase gástrica, lo cual se relaciona con la acción de las enzimas gastrointestinales que provocan la descomposición de proteínas y péptidos, la liberación de aminoácidos y compuestos fenólicos , y la exposición de grupos internos, que pueden afectar su cantidad, tamaño y características fisicoquímicas, influyendo en la capacidad antioxidante.

E. Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y proteína soluble de galletas

El índice de bioaccesibilidad (IB) refleja la fracción potencial para ser absorbida y puede estar disponible para funciones biológicas. La absorción intestinal de compuestos bioactivos, como péptidos y compuestos fenólicos, puede variar en función de la matriz alimentaria.

En el **Cuadro 10** se muestran los índices de recuperación y bioaccesibilidad de las galletas evaluadas en este estudio. Después de la simulación gastrointestinal, se obtuvieron índices de recuperación de 1356.4% en GAFE y 1402.7 % en GA en el contenido de proteína soluble en el digerido total.

Cuadro 10. Índices de recuperación y bioaccesibilidad en proteína soluble, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de galletas

Muestra	Proteína soluble		Fenólicos Totales		Actividad Antioxidante	
	%IR	%IB	%IR	%IB	%IR	%IB
GA	1402.7±127.9 ^a	66.69±1.06 ^a	649.8±49.7 ^a	63.48±3.76 ^a	1259.51±12.48 ^a	54.63±0.67 ^a
GAFE	1356.4±27.6 ^a	65.93±1.13 ^a	690±22.7 ^a	59.46±0.50 ^b	891.32±48.28 ^b	53.50±0.53 ^b
GAC	1090.5±84.5	70.39±0.39	657.4±23.7	66.27±0.51	1414.88±86.44	57.81±0.419

Los valores se representan como medias ± desviación estándar. Las letras minúsculas diferentes indican una diferencia significativa t-student ($p \leq 0.05$) entre las muestras. **IB**= Índice de accesibilidad. **IR**= Índice de recuperación. **GA**= Galleta de avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC**= Galleta de avena comercial (Se utilizó como valor de referencia).

La adición de frijol en la galleta no tuvo un impacto al no presentar diferencias significativas con GA, pero ambas mostraron mayores índices de recuperación en comparación con GAC (1090.5%), mientras que los índices de bioaccesibilidad fueron de 65.93% en GAFE y 66.69% en GA, lo que indicaría el porcentaje de péptidos que podrían absorberse en la circulación sistémica. Regalado-Elenes (2025) evaluaron la bioaccesibilidad de botanas funcionales de maíz azul con caseína, donde se reportaron índices de recuperación entre 777% y 2535% en proteína soluble, indicando que el proceso de digestión favorece la liberación de proteínas que se encontraban retenidas en la matriz de la botana, incrementando su disponibilidad potencial para absorción intestinal.

Los índices de recuperación de compuestos fenólicos después de la digestión gastrointestinal fueron de 649.8 % en GA y 690% en GAFE, sin diferencias significativas entre las muestras. Se obtuvieron índices de bioaccesibilidad de 63.48% en GA y 59.46% en GAFE, indicando que más del 50% de los compuestos fenólicos liberados durante la digestión de la muestra pueden llegar al torrente sanguíneo, ejerciendo su efecto bioactivo beneficioso sobre el organismo. Esto podría deberse a que estos compuestos pasaron por una serie de cambios que podrían haber impactado su absorción, como modificaciones de su estructura química, aumentos o disminuciones de la solubilidad e interacciones con otros compuestos. El porcentaje restante serían compuestos que se encuentran en fracción disponible para el colón (fracción digerida insoluble), donde pueden ser metabolizados por las bacterias colónicas, transformando los polifenoles de la dieta en compuestos fenólicos simples, que pueden dar lugar a metabolitos más activos biológicamente (Morales y col., 2022; Sánchez-Gutierrez y col., 2025). Entre las muestras analizadas, GAFE que la obtuvo menor índice de bioaccesibilidad (59.46%), lo que significaría que alrededor del 40% de los compuestos fenólicos liberados irían hacia el colon.

En la actividad antioxidante, los índices de recuperación presentaron valores de 891% en GAFE y 1259.51% en GA, mientras que los índices de bioaccesibilidad fueron de 53.50% en GAFE y 54.65% en GA. Al igual que en CFT, GAFE es la muestra con el menor índice de bioaccesibilidad, pero su elevado índice de recuperación podría sugerir que una fracción importante de los compuestos permanece potencialmente disponible para procesos posteriores, como la fermentación colónica, además de estar relacionado con bioactividades como antiinflamatorias y antimicrobianas. En conjunto, los resultados sugieren que GAFE se comporta como una matriz con alta capacidad de liberación de compuestos bioactivos, los cuales, aunque presentan una bioaccesibilidad moderada en el intestino delgado en comparación con las otras dos galletas, podrían ejercer efectos biológicos relevantes a nivel colónico.

F. Efecto antiinflamatorio de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

1. Viabilidad Celular

En la **Figura 8** se muestra la viabilidad celular de las fracciones insolubles (<10 kDa) de la Galleta de avena comercial (GAC), Galleta de Avena sin adicionar (GA) y Galleta de avena adicionada con frijol extrudido (GAFE), las cuales fueron evaluadas en su concentración máxima (4 mg/mL). Ninguna de las muestras evaluadas redujo su viabilidad por debajo del 90% con respecto al control, por lo que se podría considerar que las fracciones digeridas a una concentración de 4 mg/mL no son citotóxicas.

2. Actividad Antiinflamatoria

En la **Figura 9** se muestra la actividad antiinflamatoria de las fracciones digeridas insolubles (FI) y solubles (FS) de las galletas. Sin embargo, en la fracción digerida soluble (<10

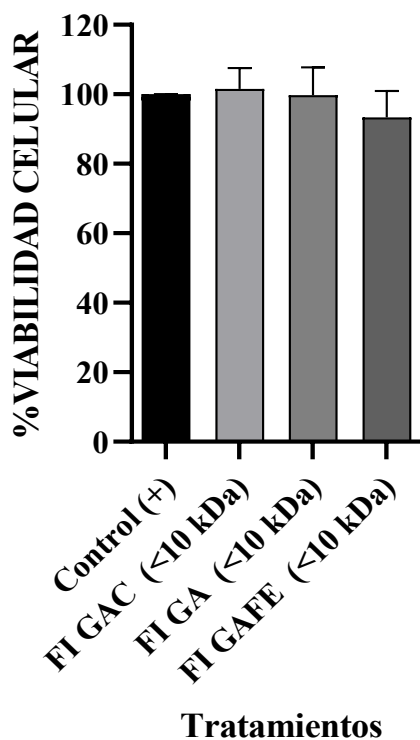


Figura 8. Viabilidad celular de las fracciones digeridas insolubles (FI) (<10 kDa) de la galleta de avena comercial (GAC), galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE)

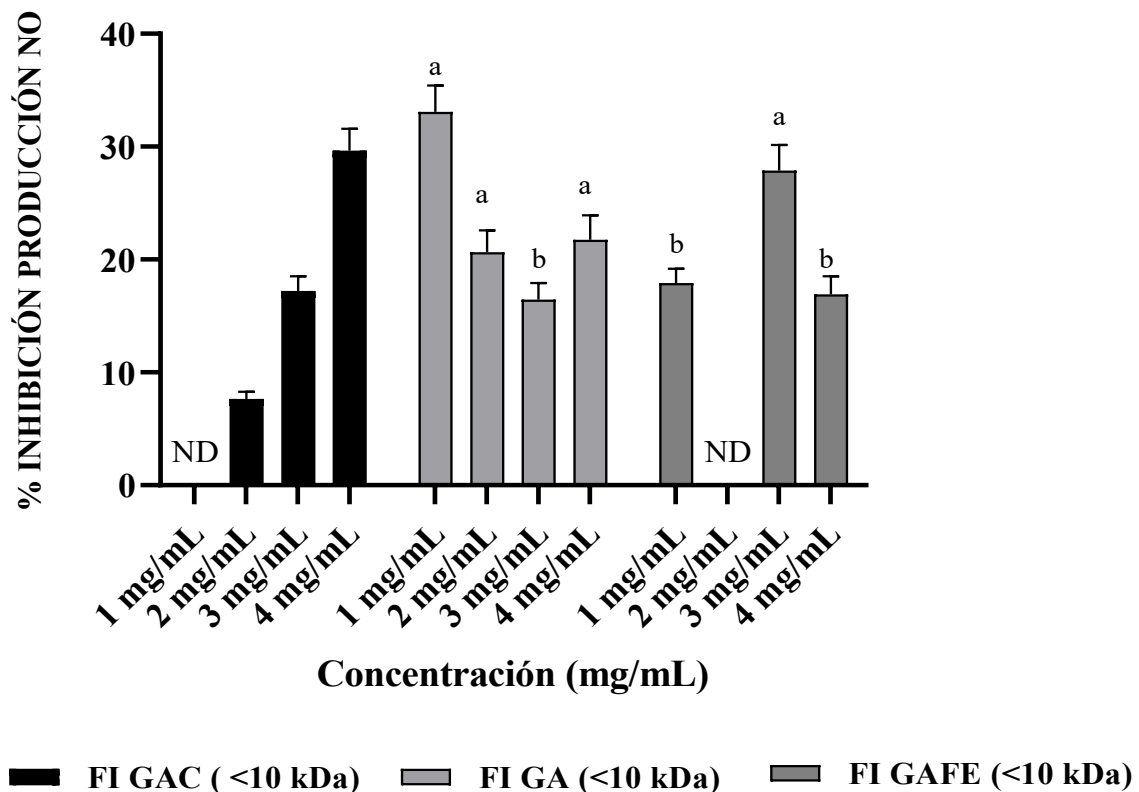


Figura 9. Efecto antiinflamatorio de Fracciones digeridas insolubles (FI) (10 kDa) de la Galleta de avena sin adicionar (GA) y Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE). Galleta de avena comercial (GAC) se utilizó como valor de referencia. Las barras representan la media \pm la desviación estándar de 6 réplicas. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas t-student ($p \leq 0.05$) entre tratamientos a la misma dosis. ND= no detectado.

kDa) de las tres galletas no se mostró actividad inhibitoria, por lo que se necesitan más estudios para saber más sobre las interacciones en los compuestos presentes en esta fracción, como probar con concentraciones más altas o con una fracción que contenga compuestos de mayor peso molecular.

La muestra que presentó los mayores porcentajes de inhibición en la producción de NO estadísticamente significativos ($p \leq 0.05$) en comparación al resto de las muestras y las diferentes dosis fue la fracción digerida insoluble de GA, mostrando mayor porcentaje de inhibición en la concentración de 1 mg/mL con un 33% de inhibición de producción de NO. Posteriormente, la actividad va disminuyendo a las concentraciones de 2 y 3 mg/mL, lo que indica un comportamiento de tipo campana (hormesis).

En el caso de GAFE, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 17%, significativamente menor ($p \leq 0.05$) al observado en GA. No mostró inhibición detectable a 2 mg/mL, pero presentó un incremento significativo a 3 mg/mL, con un 27% de inhibición, el valor máximo en esta muestra. A 4 mg/mL, la inhibición disminuye nuevamente a 16%, comportamiento que también sugiere una relación dosis–respuesta no lineal. Estos resultados podrían indicar que la incorporación de frijol extrudido genera actividad antiinflamatoria, pero su liberación o estabilidad dependería de condiciones específicas.

La elevada actividad observada en GA a bajas concentraciones sugiere la presencia de compuestos bioactivos de la avena con potencial antiinflamatorio. En la literatura se ha reportado que metabolitos como aveninas, avenacosidos y avenatramidas actúan de manera sinérgica para mejorar la eficacia antiinflamatoria general al dirigirse a distintas vías inflamatorias (Lee y col., 2025). Complementariamente, los β -glucanos de la avena ejercen actividades inmunomoduladoras al estimular la secreción de citocinas antiinflamatorias, mientras inhiben simultáneamente los mediadores proinflamatorios (Żyła y col., 2021).

Por otro lado, la actividad observada en GAFE a 3 mg/mL resalta la importancia de la adición de frijol extrudido. Según Oseguera-Toledo y col (2011), la hidrólisis de proteínas de *Phaseolus vulgaris* por proteasas puede generar péptidos bioactivos capaces de inhibir la producción de NO. Adicionalmente, los compuestos fenólicos presentes en el frijol, como los flavonoides y las antocianinas, contribuyen a atenuar la respuesta de los macrófagos mediante la inhibición de la expresión de genes proinflamatorios, sin citotoxicidad (Ganesan y Xu, 2017).

Por otro lado, Pérez-Hernández y col (2021) evaluaron la actividad de polifenoles en distintas variedades de frijol, donde variedades como Negro Jamapa mostraron un descenso moderado de expresión de IL6, IL1 β e iNOS en macrófagos expuestos a los extractos, mientras que variedades como Azufrado, que es el mismo que se utilizó para la elaboración de GAFE, indujeron IL1 β , IL6 y HO-1, activando simultáneamente vías proinflamatorias.

El hecho de que GAFE requiera una dosis mayor para alcanzar una inhibición significativa podría atribuirse a la complejidad de la matriz alimentaria, donde pueden darse interacciones entre los compuestos del frijol y de la avena, que podrían modular la tasa de liberación de estos agentes antiinflamatorios durante la digestión intestinal.

G. Actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de galletas.

La actividad antimicrobiana de fracciones digeridas insolubles y solubles (<10 kDa) de la galleta de avena sin adicionar (GA) y la Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE) se evaluó en tres concentraciones: 4, 8 y 10 mg/mL durante de 3.5 horas (37 °C) en bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y gram negativas (*Escherichia coli*) y se comparó el efecto de los tratamientos evaluados contra el control sin

tratamiento. Asimismo, se utilizó gentamicina (100 µg/mL) como control positivo de inhibición de crecimiento.

En la **Figura 10** se muestra la actividad antimicrobiana en *Escherichia coli* en las fracciones digeridas solubles e insolubles. En la fracción digerida insoluble (<10 kDa) (**Figura 10 A**), los porcentajes de crecimiento bacteriano oscilaron entre 38.84 y 63.66%. Para la muestra GA, los porcentajes de crecimiento fueron de 53.56% a 4 mg/mL, 53.31% a 8 mg/mL y 38.84% a 10 mg/mL, sin observarse una tendencia dosis-dependiente clara. Por su parte, la muestra GAFE presentó porcentajes de crecimiento de 63.66% a 4 mg/mL, 50.48% a 8 mg/mL y 44.81% a 10 mg/mL. En este caso, se observó una tendencia dosis-dependiente, ya que el incremento en la concentración de la muestra se asoció con una disminución del crecimiento bacteriano. La actividad observada en esta galleta podría sugerir que la incorporación de harina de frijol extrudido favoreció la liberación de compuestos bioactivos después de la digestión. Incluso, la tendencia dosis-dependiente que se observó en GAFE sugiere que algunos compuestos derivados del frijol actúan de manera sinérgica con compuestos que se encuentran en la avena, potenciando la capacidad inhibitoria de la formulación sin afectar negativamente sus propiedades biológicas frente a *E. coli*.

Las fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) obtenidas de las formulaciones experimentales mostraron una actividad antimicrobiana comparable a la observada para GAC (52.70% a 4 mg/mL, 44.81% a 8 mg/mL y 37.92% a 10 mg/mL). Incluso, a ciertas concentraciones, algunos tratamientos presentaron porcentajes similares a los de la referencia comercial, lo que sugiere que la incorporación de los ingredientes funcionales no afectó negativamente la capacidad inhibitoria de las muestras. Estos resultados indican que las

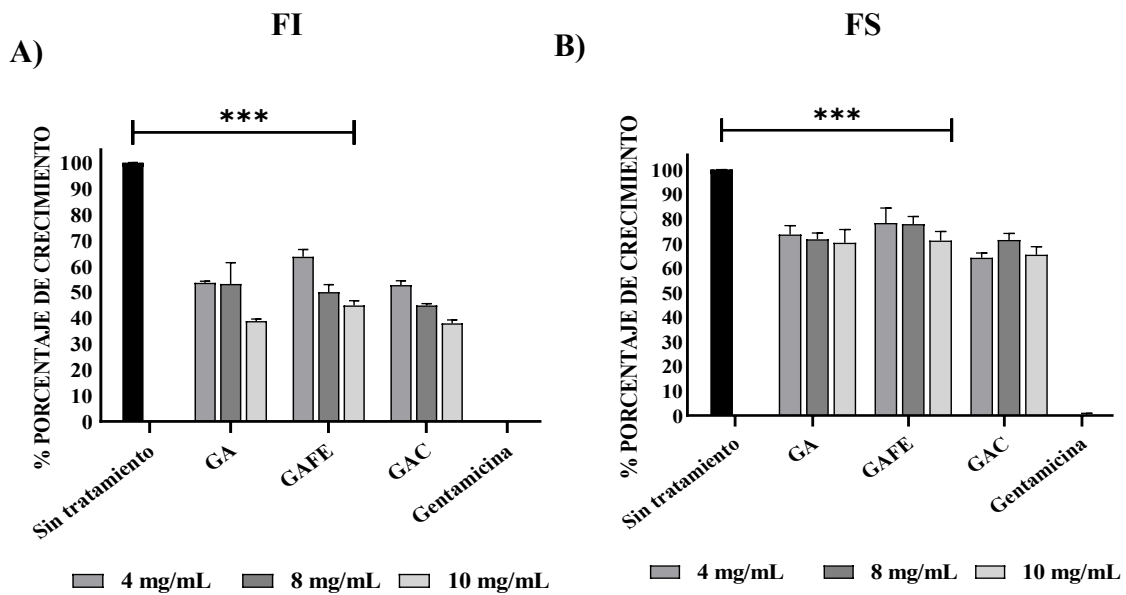


Figura 10. Actividad antimicrobiana de (A) fracción digerida insolubles (<10 kDa) y (B) fracción digerida solubles (<10 kDa) de galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE) contra *Escherichia coli* ATCC 25922. La galleta de avena comercial (GAC) se manejó como muestra de referencia. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Los datos se presentan como la media \pm desviación estándar. Se aplicó la prueba post hoc de Dunnett posterior a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. * indica diferencia estadística $p < 0.01$. ** indica diferencia estadística $p < 0.05$. *** indica diferencia estadística $p < 0.001$ respecto al control sin tratamiento. FI= fracción digerida insoluble (< 10 kDa). FS= fracción digerida soluble (<10 kDa).

formulaciones evaluadas conservaron una actividad antimicrobiana similar a la del producto de referencia.

En contraste, la fracción digerida soluble (<10 kDa) (**Figura 10 B**) se presentó un efecto inhibitorio más limitado. En este caso, se observó una reducción generalizada del crecimiento bacteriano de apenas el 30% en comparación con el control sin tratamiento (manteniendo un crecimiento cercano al 70%). Para la muestra GA, los porcentajes de crecimiento fueron de 73.64% a 4 mg/mL, 71.67% a 8 mg/mL y 70.25% a 10 mg/mL. Por su parte, la muestra GAFE presentó porcentajes de 78.32% a 4 mg/mL, 77.82% a 8 mg/mL y 71.17% a 10 mg/mL.

Los resultados en ambas fracciones sugieren que los compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana presentes en las formulaciones podrían encontrarse asociados a moléculas de menor peso molecular o a estructuras menos solubles generadas durante la digestión, las cuales conservaron una mayor capacidad para inhibir el crecimiento de *E. coli*.

En la **Figura 11** se muestra la actividad antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* las fracciones digeridas solubles e insolubles. En la fracción digerida soluble (<10 kDa) (**Figura 11 A**), se mostraron inhibiciones de crecimiento hasta del 50% en comparación con el control sin tratamiento. En GA, se obtuvieron porcentajes de crecimiento de 63.15% a 4 mg/mL, 52.05% a 8 mg/mL y 49.87% a 10 mg/mL, observándose una tendencia dosis-dependiente. Por su parte, GAFE mostró un efecto inhibitorio menor al observado en GA, con porcentajes crecimiento bacteriano de 77.57% a 4 mg/mL, 72.99% a 8 mg/mL y 59.43% a 10 mg/mL.

A pesar de que GA mostró una mayor capacidad inhibitoria, la incorporación de frijol azufrado higuera extrudido en GAFE permitió mantener una respuesta antimicrobiana

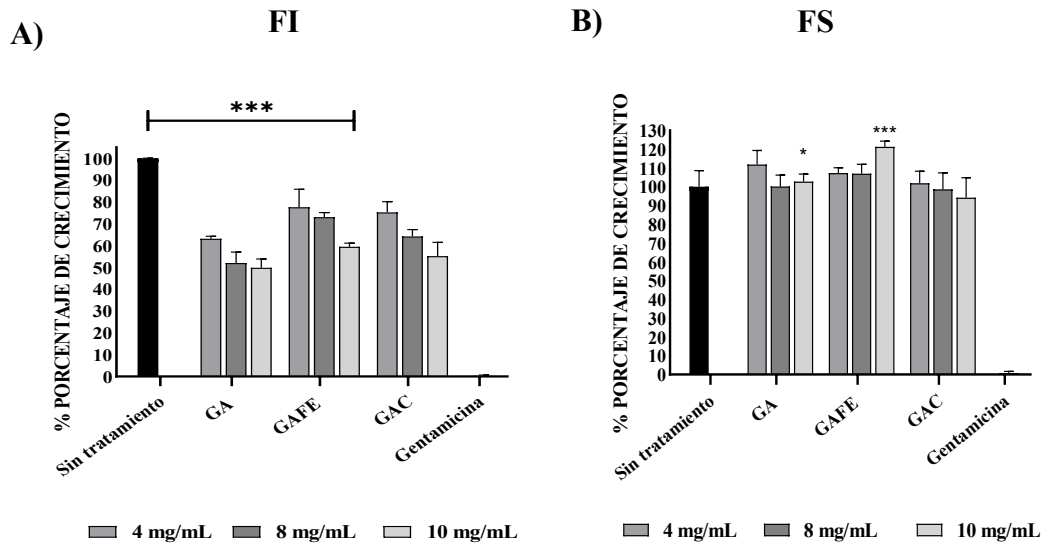


Figura 11. Actividad antimicrobiana de (A) fracción digerida insoluble y (B) fracción digerida soluble de la galleta de avena sin adicionar (GA) y galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido (GAFE) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La galleta de avena comercial (GAC) se manejó como muestra de referencia. Los datos se presentan como media \pm desviación estándar. Se aplicó la prueba post hoc de Dunnett, posterior a un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. * indica diferencia estadística $P \leq 0.05$. ** indica diferencia estadística $P \leq 0.01$. *** indica diferencia estadística $P \leq 0.001$ respecto al control sin tratamiento. FI= fracción digerida insoluble (< 10 kDa). FS= fracción digerida soluble (<10 kDa).

apreciable, particularmente a la concentración más alta evaluada (10 mg/mL), donde el crecimiento bacteriano se redujo a 59.43%. Estos resultados sugieren que la adición de frijol no eliminó la actividad antimicrobiana de la formulación y podría contribuir al efecto inhibitorio observado, especialmente a concentraciones elevadas.

En el caso de la fracción digerida soluble (<10 kDa) (**Figura 11 B**), no se observó una disminución significativa del crecimiento de *S.aureus*, lo que indica una menor presencia o efectividad de los compuestos antimicrobianos en las concentraciones evaluadas.

La actividad antimicrobiana contra *S.aureus* se concentró principalmente en la fracción insoluble obtenida tras la digestión, mientras que la fracción soluble mostró un efecto limitado. Aunque ambas fracciones contenían compuestos de menor peso molecular, la fracción digerida insoluble podría concentrar polifenoles ligados a la fibra, péptidos y otros metabolitos generados que no se solubilizaron, generando interacciones podrían proteger a los compuestos bioactivos frente a la degradación digestiva y favorecer su capacidad para alterar la integridad de la membrana bacteriana.

S. aureus es ampliamente conocido por colonizar la piel y las fosas nasales, pero también puede encontrarse en el tracto gastrointestinal con potencial para generar infecciones (Liu y col., 2024). Aunque la fracción digerida insoluble no alcanzó el nivel de inhibición de crecimiento bacteriano observado en la gentamicina, los resultados sugieren que contiene compuestos bioactivos con capacidad para limitar el crecimiento bacteriano. Debido a que esta fracción estaría disponible para alcanzar el colon, resulta de interés investigar si dichos compuestos pudieran mantener su actividad biológica en esta región del tracto gastrointestinal y contribuir a modular el crecimiento de microorganismos potencialmente patógenos. No obstante, se requieren estudios adicionales para comprobar este posible efecto en condiciones fisiológicas.

El potencial antimicrobiano en las fracciones de ambas galletas puede estar relacionado con la liberación de compuestos bioactivos como péptidos, compuestos fenólicos y otros metabolitos, como las saponinas, durante la simulación gastrointestinal. Las proteínas de cereales y leguminosas están constituidas por secuencias aminoacídicas que, tras la digestión gastrointestinal, pueden liberar péptidos con propiedades antimicrobianas. El mecanismo de acción de los péptidos antimicrobianos incluye interacciones con la membrana celular del microorganismo, lo que puede provocar la alteración de las membranas microbianas y la inhibición de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos (Fan y col.,2022). Entre los aminoácidos frecuentemente asociados con la actividad antimicrobiana destacan arginina y triptófano, aminoácidos presentes en el frijol y en la avena, que son aminoácidos que pueden tener un efecto notable en la región de interfaz de la bicapa lipídica y conferir carga peptídica e interacciones de enlace de hidrógeno, propiedades esenciales para interactuar con el abundante componente aniónico de la membrana bacteriana (Huan y col., 2020).

En la literatura se ha reportado la actividad de hidrolizados en los que pueden prevalecer péptidos bioactivos con potencial antimicrobiano en algunas variedades de frijol. Ariza-Ortega y col (2014) reportaron que fracciones de 3-10 kDa obtenidas de diversas variedades de frijol (frijol negro, azufrado higuera y pinto saltillo) tienen actividad antimicrobiana determinada por la inhibición del crecimiento. Bojorquez-Balam y col (2013) observaron una actividad similar en hidrolizados de *Phaseolus lunatus*, mostrando actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Shigella flexneri*.

Con relación a los compuestos fenólicos, se ha reportado que pueden modular positivamente la composición y función microbiana colónica, ejerciendo un efecto prebiótico, y una actividad antimicrobiana al inhibir bacterias patógenas como *E.coli* (Narduzzi y col.,

2022). Los compuestos fenólicos presentes en matrices vegetales, como frijol y avena, suelen estar asociados con actividad antimicrobiana mediante mecanismos que incluyen alteración de la permeabilidad de la membrana celular, inactivación de enzimas bacterianas y sistemas de señalización microbiana. Debido a su estructura aromática con grupos hidroxilo, estos compuestos son capaces de interactuar con la superficie celular y funciones fisiológicas de bacterias grampositivas (*S.aureus*) y gramnegativas (*E.coli*) (Lobiuc y col., 2023).

Adicionalmente, tanto el frijol como la avena también son fuentes de saponinas. El extremo hidrofóbico de las saponinas se une a las proteínas de la membrana a través de enlaces de grupos polares, mientras que los grupos no polares se unen a los lípidos, originando daños en la membrana y liberación de componentes celulares cruciales, como proteínas, ácidos nucleicos y nucleótidos, impidiendo que las bacterias se adhieran a las células huéspedes (Kurniatri y col., 2024).

En conjunto, estos resultados respaldan el potencial de las galletas elaboradas con frijol y avena como alimentos funcionales con actividad antimicrobiana, capaces de liberar compuestos bioactivos durante la digestión gastrointestinal, lo que podría contribuir a la modulación de la microbiota intestinal y a la inhibición de microorganismos patógenos.

H. Actividad antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas.

El parásito protozoario intestinal *Giardia duodenalis* infecta cada año a un gran número de personas en todo el mundo. Se considera que la infección por *Giardia* tiene un efecto negativo en el crecimiento de las células epiteliales intestinales y causa giardiasis, una enfermedad de gran relevancia para la salud pública mundial. Los casos asintomáticos son frecuentes; sin embargo, después de la fase de incubación, los individuos infectados pueden experimentar

varios síntomas, que incluyen diarrea, distensión abdominal, dolor epigástrico, náuseas y vómitos (Santaniello y col., 2026)

En este contexto, las matrices alimentarias derivadas de cereales y leguminosas pueden liberar, durante la digestión gastrointestinal, péptidos, compuestos fenólicos y otros metabolitos con posible actividad inhibitoria sobre este parásito. Por ello, evaluar la bioactividad generada tras la digestión de estos alimentos resulta relevante para comprender su potencial como agentes funcionales frente a *Giardia duodenalis*.

En el **Cuadro 11** se muestran los porcentajes de inhibición de crecimiento de *Giardia duodenalis* obtenidos a partir de las fracciones digeridas insolubles de las galletas a diferentes concentraciones 50–1000 µg/mL. En general, se observó un incremento de la inhibición del parásito a medida que aumentaba la concentración del extracto, lo que evidencia una relación dosis–respuesta. En concentraciones bajas (50 µg/mL), GA y GAFE mostraron porcentajes de inhibición de 7.61% y 7.15%, superiores al observado en GAC que fue de 2.27%.

En la concentración más alta (1000 µg/mL), GAFE presenta mayor porcentaje de inhibición del parásito que fue de 52.45%, siendo significativamente superior ($p \leq 0.05$) a GA que obtuvo un valor de 44.55 %, similar al que se observó en GAC que fue de 47.70%.

El resultado observado en GAFE puede estar relacionado con un efecto potenciador derivado de la incorporación de frijol extrudido en la galleta de avena y se podría asociar con una mayor liberación de compuestos bioactivos durante la digestión. Los péptidos liberados durante la digestión pueden tener bioactividad antiparasitaria, al alterar la integridad de la membrana e inducir la lisis osmótica celular. Algunos péptidos que se encuentran activos en la membrana pueden modificar la fluidez de la bicapa lipídica, lo cual afectaría la funcionalidad de las proteínas asociadas a esta estructura (Giovati y col., 2018).

Cuadro 11. Actividad antiparasitaria de fracciones digeridas insolubles (<10 kDa) de galletas

% Inhibición de crecimiento de <i>Giardia duodenalis</i>			
Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	GA	GAFE	GAC
50	7.61 \pm 0.81 ^a	7.15 \pm 0.46 ^a	2.27 \pm 0.24
100	16.36 \pm 1.88 ^a	14.48 \pm 1.33 ^a	12.28 \pm 1.10
500	28.99 \pm 2.21 ^a	33.28 \pm 3.15 ^a	30.56 \pm 2.21
1000	44.55 \pm 0.34 ^b	52.45 \pm 1.52 ^a	47.70 \pm 2.42

Los valores se representan con medias \pm la desviación estándar de tres réplicas independientes. Letras minúsculas diferentes indican una diferencia significativa t- student ($p \leq 0.05$) entre las muestras para la misma concentración. **GA**= Galleta de avena sin adicionar. **GAFE**= Galleta de avena adicionada con frijol azufrado higuera extrudido. **GAC**= Galleta de avena comercial (se utilizó como valor de referencia)

Un ejemplo son las defensinas, conocidas por su estabilidad estructural y su acción sobre las membranas celulares, que son proteínas de bajo peso molecular capaces de resistir la degradación por enzimas digestivas.

Estudios previos han demostrado que defensinas específicas del frijol, como PvD1, pueden inhibir la proliferación de protozoarios al provocar fragmentación citoplasmática, formación de múltiples vacuolas y permeabilización de la membrana celular (do Nascimento y col., 2015).

Además de la fracción proteica, los compuestos fenólicos liberados durante el proceso digestivo también podrían influir en la actividad antiparasitaria observada, debido a su capacidad para comprometer la viabilidad de los trofozoítos de *Giardia*. Compuestos fenólicos como el ácido ferúlico, presente tanto en la avena como en el frijol, poseen una alta afinidad por las bicapas lipídicas del parásito; al interactuar con esta estructura pueden alterar su composición y su funcionamiento. Asimismo, se ha propuesto que estos compuestos pueden interferir con las proteínas de la membrana, lo que podría alterar su transportabilidad e inhibir funciones fisiológicas en el organismo (Palomo-Ligas y col.,2023). Además, estos metabolitos pueden actuar sobre múltiples procesos celulares, alterando vías metabólicas como la producción de energía mediante la inhibición de síntesis de ATP dentro del trofozoíto, lo que podría inducir la apoptosis o muerte celular programada (Alawfi y col.,2024).

Las saponinas también presentan efectos antiparasitarios, ya que pueden formar complejos con el colesterol presente en las membranas celulares, lo que podría causar lisis y muerte posterior (Timilsena y col., 2023).

Por otra parte, el procesamiento previo del frijol mediante extrusión podría aumentar la susceptibilidad de la matriz alimentaria a la digestión enzimática, incrementando la

bioaccesibilidad de compuestos bioactivos tras la simulación gastrointestinal. Esto podría explicar el mayor efecto inhibitorio observado en GAFE en altas concentraciones.

Estos resultados respaldan el potencial de productos derivados de cereales y leguminosas como matrices alimentarias capaces de aportar beneficios para la salud más allá de la nutrición básica, al liberar compuestos con actividad antimicrobiana después de la digestión. La actividad observada sugiere que la incorporación de frijol extrudido en galletas de avena representa una estrategia viable para el desarrollo de alimentos funcionales con potencial antiparasitario.

IX. CONCLUSIONES

1. El procesamiento aplicado al frijol azufrado de higuera disminuyó el contenido de lípidos. Sin embargo, no tuvo un impacto significativo en el contenido de proteínas, cenizas y carbohidratos. Además, disminuyó el contenido de compuestos antinutricionales y aumentó las propiedades tecnofuncionales destacando el índice en absorción en agua.
2. La adición de frijol extrudido en galletas potenció el contenido nutricional al aumentar el contenido de proteínas y minerales, y disminuir el contenido de lípidos y carbohidratos. Además, mejoró ciertas propiedades tecnofuncionales, como la absorción en agua, sin comprometer otras características, como la solubilidad y la absorción de aceite, lo que puede indicar una mejor textura y aceptación del producto final.
3. En la evaluación sensorial, GAFE presentó valores significativamente mayores que GA en los atributos sensoriales, especialmente en sabor, textura y aceptabilidad general. Estos resultados podrían indicar que el proceso de extrusión del frijol favorece el desarrollo de compuestos de sabor más aceptables y de una textura más agradable, al reducir las notas indeseables asociadas al frijol crudo.
4. La simulación gastrointestinal hidrolizó las proteínas de mayor peso molecular presentes en las galletas, generando hidrolizados proteicos de menor peso molecular, que pueden ser más fáciles de absorber en el tracto gastrointestinal. En la galleta adicionada con frijol azufrado extruido se identificaron proteínas derivadas tanto del frijol como de la avena, lo que podría favorecer la complementación proteica y mejorar así la calidad proteica del producto final.

5. Durante la simulación gastrointestinal se liberaron compuestos fenólicos y péptidos que pueden potenciar actividades biológicas, como las antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y antiparasitarias. Se necesitarían estudios adicionales para identificar más compuestos que podrían estar influyendo en estas actividades y sus posibles mecanismos de acción.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Aguiar LM, Cazarin CBB. 2021. In vitro and in vivo methods to predict carbohydrate bioaccessibility. *Current Opinion in Food Science* 42:69-75.
- Alvarado-Ramos K, Bravo-Nunez Á, Halimi C, Maillot M, Icard-Vernière C, Forti C, Preite C, Ferrari L, Sala T, Losa A, Cominelli E, Sparvoli F, Camilli E, Lisciani S, Marconi S, Georgé S, Mouquet-Rivier C, Kunert K, Reboul E. 2024. Improving the antinutritional profiles of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) moderately impacts carotenoid bioaccessibility but not mineral solubility. *Scientific Reports* 14.
- Amengual J. 2019. Bioactive Properties of Carotenoids in Human Health. *Nutrients* 11(10).
- Anderson RA, Conway, H.F., Pfeifer V.F., Griffin E.L. . 1969. Roll and extrusion-cooking of grain sorghum grits. *Cereal Science Today* 14:372-381.
- AOAC. 2005. International Official Methods of Analysis. 15 ed.
- Aparicio Vizuet A, Ortega Anta RM. 2016. Efectos del consumo del beta-glucano de la avena sobre el colesterol sanguíneo: una revisión. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética* [serie en línea]. 20:127-139. Disponible en http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S217451452016000200008&rm=iso.
- Aslan T, Isik. 2024. Chemical, physical and sensory properties of gluten-free potato crackers supplemented with cowpea, faba bean and mung bean flours. *Latin American Applied Research* 54:11-20.
- Asledottir T, Vegarud GE, Picariello G, Mamone G, Lea TE, Roseth A, Ferranti P, Devold TG. 2023. Bioactive peptides identified in pea and faba bean after in vitro digestion with human gastrointestinal enzymes. *Journal of Functional Foods* 102:1-10.

- Bagchi S, Oniku AE, Topping K, Mamhoud ZN, Paget TA. 2012. Programmed cell death in *Giardia*. *Parasitology* 139(7):894-903.
- Calderón de la Barca AM, Ochoa JL, Valencia ME. 1985. Effect of the Extraction of a Hemagglutinin on the Nutritive Value of *Amaranthus leucocarpus* Seeds. *Journal of Food Science* 50:1700-1702.
- Calero V, Rodrigues PM, Dias T, Ainla A, Vilaça A, Pastrana L, Xavier M, Gonçalves C. 2024. A miniaturised semi-dynamic in-vitro model of human digestion. *Scientific Reports* 14:1-11.
- Cárdenas-Castro AP, Pérez-Jiménez J, Bello-Pérez LA, Tovar J, Sáyago-Ayerdi SG. 2020. Bioaccessibility of phenolic compounds in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) after in vitro gastrointestinal digestion: A comparison of two cooking procedures. *Cereal Chemistry* 97:670-680.
- Cheng YF, Bhat R. 2016. Functional, physicochemical and sensory properties of novel cookies produced by utilizing underutilized jering (*Pithecellobium jiringa* Jack.) legume flour. *Food Bioscience* 14:54-61.
- Choudhary N, Hamid A, Singh B, Khandy I, Sofi P, Bhat M, Mir R. 2018. Insight into the origin of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in the state of Jammu and Kashmir of north-western Himalayas. *Genetic Resources and Crop Evolution* 65.
- Conti MV, Guzzetti L, Panzeri D, De Giuseppe R, Coccetti P, Labra M, Cena H. 2021. Bioactive compounds in legumes: Implications for sustainable nutrition and health in the elderly population. *Trends in Food Science & Technology* 117:139-147.
- Deng J, Li Y, Yuan Y, Yin F, Chao J, Huang J, Liu Z, Wang K, Zhu M. 2023a. Secondary Metabolites from the Genus *Eurotium* and Their Biological Activities. *Foods* 12(24):1-32.

- Deng J, Li Y, Yuan Y, Yin F, Chao J, Huang J, Liu Z, Wang K, Zhu M. 2023b. Secondary Metabolites from the Genus *Eurotium* and Their Biological Activities. *Foods* 12(24):4452.
- DGSIAP. 2026. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Dirección General del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/ (consultado el 5 de marzo de 2026).
- Domínguez-Avila JA, Villa-Rodriguez JA, Montiel-Herrera M, Pacheco-Ordaz R, Roopchand DE, Venema K, González-Aguilar GA. 2021. Phenolic Compounds Promote Diversity of Gut Microbiota and Maintain Colonic Health. *Digestive diseases and sciences* 66(10):3270-3289.
- Escobedo A, Mojica L. 2021. Pulse-based snacks as functional foods: Processing challenges and biological potential. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20(5):4678-4702.
- Faienza MF, Giardinelli S, Annicchiarico A, Chiarito M, Barile B, Corbo F, Brunetti G. 2024. Nutraceuticals and Functional Foods: A Comprehensive Review of Their Role in Bone Health. *International Journal of Molecular Science* 25(11):5873.
- FAOSTAT. 2026. Valor de producción agrícola. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data>. (Consultado el 2 de enero de 2026).
- Fan H, Liu H, Zhang Y, Zhang S, Liu T, Wang D. 2022. Review on plant-derived bioactive peptides: biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods* 2(2):143-159.
- Ganesan K, Xu B. 2017. Polyphenol-Rich Dry Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and Their Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences* 18:1-26.

- Garcia D, Shaw RJ. 2017. AMPK: Mechanisms of Cellular Energy Sensing and Restoration of Metabolic Balance. *Molecular Cell* 66(6):789-800.
- Gonzalez De Mejia E, Valadez-Vega MDC, Reynoso-Camacho R, Loarca-Pina G. 2005. Tannins, Trypsin Inhibitors and Lectin Cytotoxicity in Tepary (*Phaseolus acutifolius*) and Common (*Phaseolus vulgaris*) Beans. *Plant Foods for Human Nutrition* 60(3):137-145.
- Gu R, Gao B, Wang Z, Yang M, Dai J, Wang Y, Tian Y, Tao L. 2025. Plant-Derived Antimicrobial Peptides: Mechanism of Action, Safety and Integrated Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 73:27161-27176. 10.1021/acs.jafc.5c06949
- Holopainen-Mantila U, Vanhatalo S, Lehtinen P, Sozer N. 2024. Oats as a source of nutritious alternative protein. *Journal of Cereal Science* 116:1-7.
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chemistry* 51(3):376–382.
- Kim I-S, Hwang C-W, Yang W-S, Kim C-H. 2021. Multiple Antioxidative and Bioactive Molecules of Oats (*Avena sativa L.*) in Human Health. *Antioxidants* 10:1-20.
- King J, Leong SY, Alpos M, Johnson C, McLeod S, Peng M, Sutton K, Oey I. 2024. Role of food processing and incorporating legumes in food products to increase protein intake and enhance satiety. *Trends in Food Science & Technology* 147:104466.
- Kiran BS, Bashir O, Pawase PA, Dash KK, Amin T, Shams R, Shaikh AM, Béla K. 2025. A review of in-vitro digestibility models on diverse foods in various segments of human digestive tract. *Discover Food* 5:1-24.

- Kotha RR, Finley JW, Luthria DL. 2020. Determination of Soluble Mono, Di, and Oligosaccharide Content in 23 Dry Beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68:6412-6419.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259):680-685.
- Lan T, Dong Y, Jiang L, Zhang Y, Xiaonan S. 2024. Analytical approaches for assessing protein structure in protein-rich food: A comprehensive review. *Food Chemistry* 22:1-14.
- Le A, Parks S, Nguyen M, Roach P. 2018. Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. *Technologies [serie en línea]*. 6(3):84. Disponible.
- Lee PS, Hu J, Sang S. 2025. Phytochemical-Rich Germinated Oats as a Novel Functional Food To Attenuate Gut Inflammation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 73(25):15706-15716.
- Lippolis T, Cofano M, Caponio GR, De Nunzio V, Notarnicola M. 2023. Bioaccessibility and Bioavailability of Diet Polyphenols and Their Modulation of Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences* 24(4):1-17.
- Liu K. 2019. Soybean Trypsin Inhibitor Assay: Further Improvement of the Standard Method Approved and Reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 96(6):635-645.
- Liu A, Garrett S, Hong W, Zhang J. 2024. Staphylococcus aureus Infections and Human Intestinal Microbiota. *Pathogens* 13(4):1-16.
- Lobiuc A, Pavăl N-E, Mangalagiu II, Gheorghiiță R, Teliban G-C, Amăriucăi-Mantu D, Stoleru V. 2023. Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules* 28:1-16.

- Manzoor MF, Ali A, Ain HBU, Kausar S, Khalil AA, Aadil RM, Zeng X-A. 2024. Bioaccessibility mechanisms, fortification strategies, processing impact on bioavailability, and therapeutic potentials of minerals in cereals. *Future Foods* 10:1-17.
- Marcia-Fuentes JA, Santos Aleman ROA, Franklin., Corilla Flores D, Ventura Roman A, Martín-Vertedor D, Montero-Fernández I. 2026. Functional foods: A review of foods ingredient and their health benefits. *Food and Humanity* 6:1-18.
- Marcos J, Carriço R, Sousa MJ, Palma ML, Pereira P, Nunes MC, Nicolai M. 2023. Effect of Grape Pomace Flour in Savory Crackers: Technological, Nutritional and Sensory Properties. *Foods* 12(7):1392.
- Milán-Noris AK, Gutiérrez-Urbe JA, Santacruz A, Serna-Saldívar SO, Martínez-Villaluenga C. 2018. Peptides and isoflavones in gastrointestinal digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Food Chemistry* 268:66-76.
- Morales D, Iriondo-DeHond A, Fernández-Tomé S. 2025. Application of the INFOGEST 2.0 standardized method to study the behavior of phenolic compounds throughout gastrointestinal digestion. *Food Chemistry* 492:1-18.
- Nicole TZH, Nichelle TS, Elizabeth TE, Yuliarti O. 2021. Formulation of functional crackers enriched with fermented soybean (tempeh) paste: rheological and microstructural properties. *Future Foods* 4:1-9.
- Ohanenye IC, Ekezie F-GC, Sarteshnizi RA, Boachie RT, Emenike CU, Sun X, Nwachukwu ID, Udenigwe CC. 2022. Legume Seed Protein Digestibility as Influenced by Traditional and Emerging Physical Processing Technologies. *Foods* 11(15):2299.

- Olt V, Báez J, Curbelo R, Boido E, Dellacassa E, Medrano A, Fernández-Fernández AM. 2025. Gastrointestinal Digestion Impact on Phenolics and Bioactivity of Tannat Grape Pomace Biscuits. *Molecules* 30(15):1-17.
- Ortega N, Macià A, Romero M-P, Reguant J, Motilva M-J. 2011. Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model. *Food Chemistry* 124(1):65-71.
- Oseguera-Toledo ME, Gonzalez de Mejia E, Amaya-Llano SL. 2015. Hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris L.*) proteins hydrolyzed by alcalase and bromelain produced bioactive peptide fractions that inhibit targets of type-2 diabetes and oxidative stress. *Food Research International* 76:839-851.
- Osuna-Gallardo E, Cuevas-Rodriguez E-O, Sepúlveda-García C, Reyes Moreno C, León-López L, Han R, Hernandez Alvarez AJ. 2023. Impact of Cooking and Extrusion Processing on Nutritional, Antinutritional, and Techno-Functional Characteristics of Indigenous Bean (*Phaseolus coccineus*). *ACS Food Science & Technology* 3:1-19.
- Palomo-Ligas L, Vargas Villanueva J, Garza-Ontiveros M, Gutierrez-Gutierrez F, Godina R, Campos-Múzquiz L, Flores-Gallegos AC, Rodriguez R, Nery-Flores S. 2023. New Alternatives of Treatment Against Intestinal Parasite Infection. *Antimicrobials in Pharmaceutical and Medicinal Research*. p. 203-239.
- Parkhomenko Y, Vovk A, Protasova Z. 2020. Vitamin B1 and the pyruvate dehydrogenase complex. *Molecular Nutrition*. p. 185-206.
- Pradhan D, McCarthy B, Stapleton K, Jaiswal S, Jaiswal AK. 2023. Fruit and vegetable wastes for nutraceuticals, functional foods, and speciality chemicals. En: Mandavgane SA, Chakravarty I, Jaiswal AK, editores. *Fruit and Vegetable Waste Utilization and Sustainability*. Academic Press. p. 21-41.

- Punia S, Dhull SB, Sandhu KS, Kaur M, Purewal SS. 2020. Kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) starch: A review. *Legume Science* 2(3):e52.
- Retno I. 2021. Bioactive Peptides from Legumes and Their Bioavailability. En: Jose CJ-L, Alfonso C, editores. Legumes Research. Rijeka: IntechOpen.
- Reyes-Bautista Raúl F-SJdJ, Ángel X-OL. 2024. Péptidos bioactivos derivados de las semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *CienciaUAT* 19(1):182-209.
- Rizzello CG, Tagliacruzchi D, Babini E, Sefora Rutella G, Taneyo Saa DL, Gianotti A. 2016. Bioactive peptides from vegetable food matrices: Research trends and novel biotechnologies for synthesis and recovery. *Journal of Functional Foods* 27:549-569.
- Saeed SMG, Ali SA, Naz J, Mirza M, Elkhadragey MF, Yehia HM, Giuffrè AM. 2023. Technofunctional, antioxidants, microstructural, and sensory characteristics of biscuits as affected by fat replacer using roasted and germinated chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Food Properties* 26(1):2055-2077.
- Sánchez-Gutiérrez M, Gómez-García R, Carrasco E, Rodríguez A, Pintado M. 2025. Bioactive Potential of Olive Leaf By-Product Throughout In Vitro Gastrointestinal Digestion. *Foods* 14:1-16.
- Sánchez A, Vázquez A. 2017. Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety* 1(1):29-46.
- Santos E, Marques G, Lino-Neto T. 2020. *Phaseolus vulgaris* L. as a functional food for aging protection. *Academic Press*. 289-295 p.

- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Academic Press*. 152-178 p.
- Sood V, Sanadya S, Kumar S, Chand S, Kapoor R. 2022. Health benefits of oat (*Avena sativa*) and nutritional improvement through plant breeding interventions. *Crop and Pasture Science* 74:993-1013.
- Tas AA, Shah AU. 2021. The replacement of cereals by legumes in extruded snack foods: Science, technology and challenges. *Trends in Food Science & Technology* 116:701-711.
- Timilsena YP, Phosanam A, Stockmann R. 2023. Perspectives on Saponins: Food Functionality and Applications. *International Journal of Molecular Sciences* 24(17):1-22.
- Vaintraub IA, Lapteva NA. 1988. Colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Analytical Biochemistry* 175(1):227-230.
- Vlaicu PA, Untea AE, Varzaru I, Saracila M, Oancea AG. 2023. Designing Nutrition for Health—Incorporating Dietary By-Products into Poultry Feeds to Create Functional Foods with Insights into Health Benefits, Risks, Bioactive Compounds, Food Component Functionality and Safety Regulations. *Foods* 12(21):4001.
- Weldeyohanis Gebremariam F, Tadesse Melaku E, Sundramurthy VP, Woldemichael Woldemariam H. 2024. Development of functional cookies form wheat-pumpkin seed based composite flour. *Heliyon* 10(2):1-18.
- Yang Z, Xie C, Bao Y, Liu F, Wang H, Wang Y. 2023. Oat: Current state and challenges in plant-based food applications. *Trends in Food Science & Technology* 134:56-71.

- Yousefian M, Shakour N, Hosseinzadeh H, Hayes AW, Hadizadeh F, Karimi G. 2019. The natural phenolic compounds as modulators of NADPH oxidases in hypertension. *Phytomedicine* 55:200-213.
- Zhang G, Zhang Y, Zheng B, Zeng H, Zheng Y. 2026. Dynamic in vitro gastrointestinal simulation resolves digestion-induced structural transitions of retrograded lotus seed starch. *International Journal of Biological Macromolecules* 337.
- Zhang Z, Liu C, Wu S, Ma T. 2023. The Non-Nutritional Factor Types, Mechanisms of Action and Passivation Methods in Food Processing of Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A Systematic Review. *Foods* 12(19):1-19.

XI. ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
α	Alfa
β	Beta
Δ	Cambio
AAOX	Actividad Antioxidante
Abs	Absorbancia
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
A_w	Actividad de agua
BAPNA	α -N-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilina
bs	Base seca
CaCl ₂	Cloruro de Calcio
CFT	Compuestos fenólicos totales
CO ₂	Dióxido de Carbono

DIPV	Digestibilidad proteica <i>in vitro</i>
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
EtOH	Etanol
FeCl ₃	Cloruro de Hierro (III)
FI	Fracción Digerida Insoluble
FS	Fracción Digerida Soluble
g	Gramos
GA	Galleta de Avena sin Adicionar
GAC	Galleta de Avena Comercial
GAFE	Galleta de Avena adicionada con Frijol Extrudido
H ₂ O	Agua
H ₂ SO ₄	Ácido sulfurico
HCl	Ácido clorhídrico
h	Horas
IAA	Índice de Absorción en Agua
IAAC	Índice de Absorción en Aceite

HA	Harina de Avena
HFAC	Harina de Frijol Azufrado-Higuera Crudo
HFAE	Harina de Frijol Azufrado-Higuera Extrudido
IB	Índice de bioaccesibilidad
IR	Índice de recuperación
ISA	Índice de Solubilidad en Agua
kDa	Kilodalton
RAW 264.7	Línea celular de macrófagos murinos derivada de ratón BALB/c
LDL	Lipoproteína de baja densidad
M	Molar
m/z	Relación masa/carga
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros

mmHg	Milímetros de mercurio
μM	Micromolar
$\mu\text{g/g}$	Microgramos por gramo
$\mu\text{g EAG/g}$	Microgramos equivalentes de ácido gálico por gramo
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
N	Normal
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetros
NO	Óxido Nítrico
N°	Número
pH	Potencial de hidrógeno
PBS	Buffer de fosfato salino
PS	Proteína soluble
rpm	Revoluciones por minuto
SGD	Simulación Digestión Gastrointestinal

TE	Temperatura
UAH	Actividad hemaglutinante
UIT	Unidades de inhibidores de tripsina
v/v	Volumen por volumen
VT	Velocidad de tornillo
xg	Por gravedad

XII. ANEXOS

Cuadro 12. Composición proximal, fisicoquímica, tecnofuncional y antinutricional de harina de avena

Composición proximal (%)	HA
	Harina de avena
Proteína	16.06±0.96
Lípidos	5.93±0.062
Cenizas	1.8±0.031
Carbohidratos	76.31±0.926
Propiedades fisicoquímicas	
Color	
L*	83.87±1.69
a*	1.47±0.11
b*	9.06±0.39
ΔE	11.07±0.42
Actividad en agua	0.400±0.004
pH	6.4±0.00
Composición tecnofuncional	
Índice de absorción en agua ¹	2.323±0.048
Índice de solubilidad en agua ²	3.615±0.192
Índice de absorción en Aceite ³	2.212±0.123

Composición antinutricional

Inhibidores de tripsina ⁴	ND
Saponinas ⁵	2.249±0.110 ³
Ácido fítico ⁶	1269.3±45.1 ⁴
Lectinas ⁷	ND

¹g gel/g muestra seca

²g de solidos/ 100g muestra seca

³ml de aceite absorbido/ g de muestra seca

⁴UIT/mg

⁵µg equivalentes de fitato de sodio/g

⁶ mgED/100 g muestra seca

⁷unidades de actividad hemaglutinante/ g muestra seca

ND= no detectado

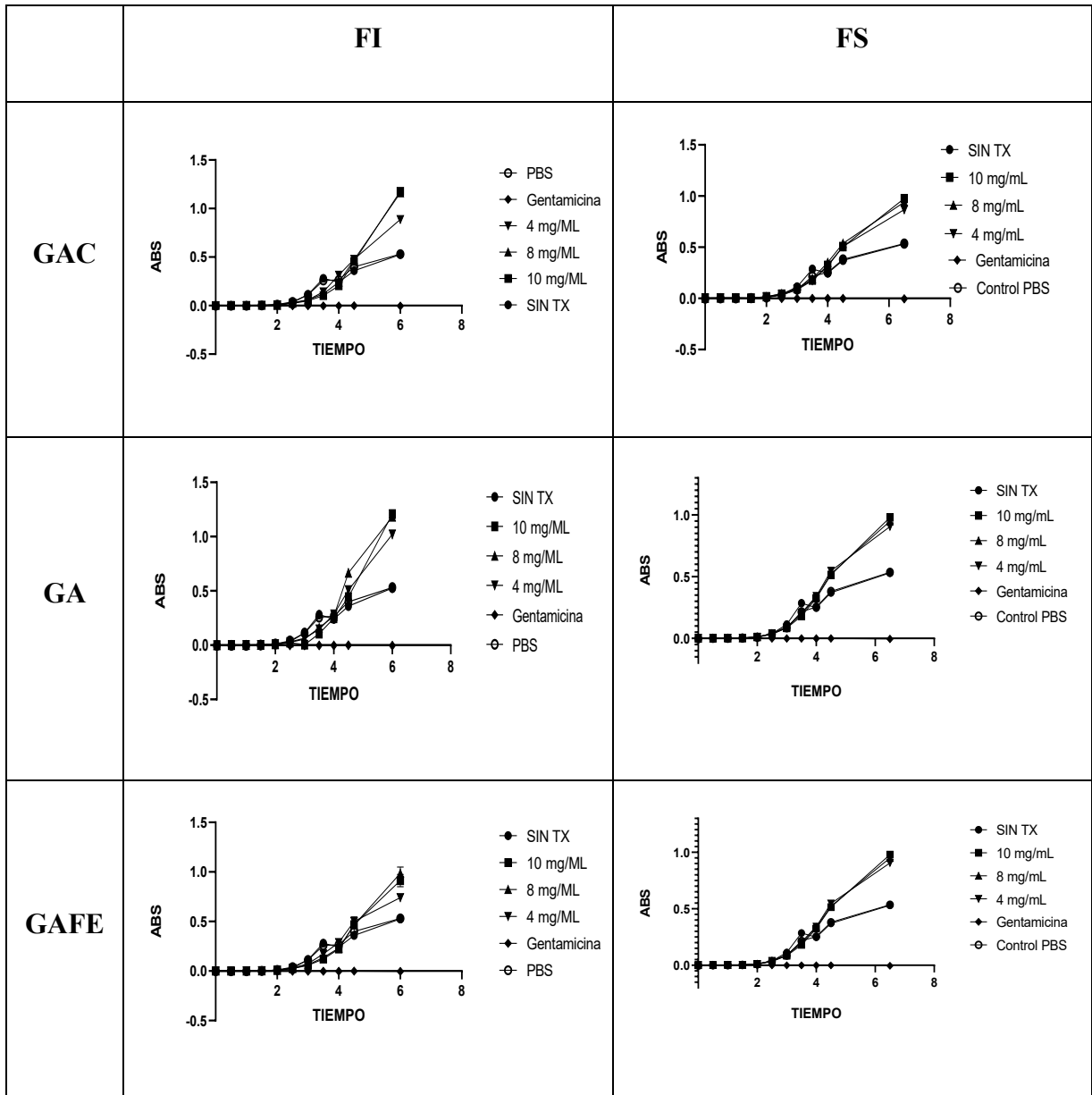
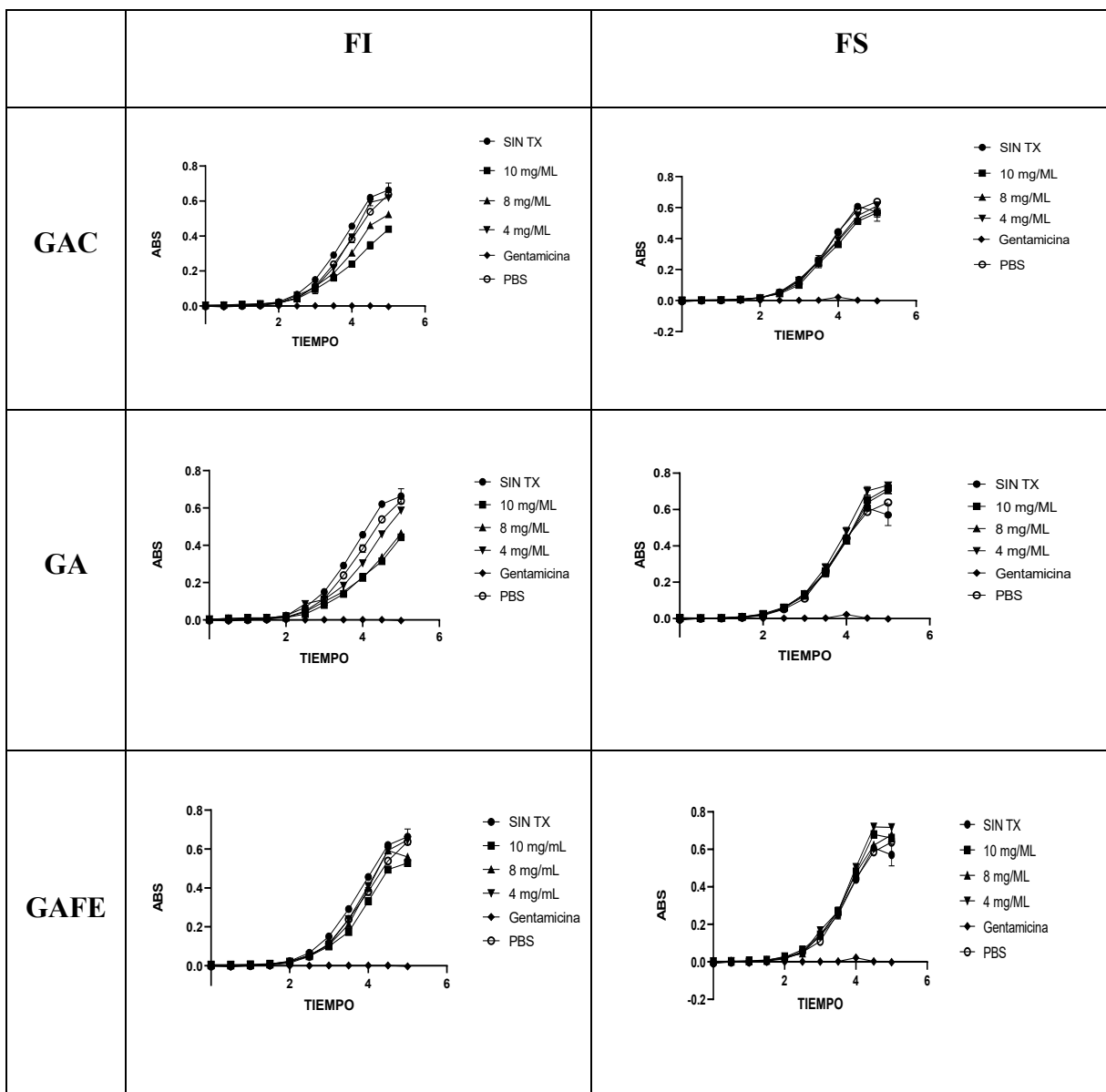


Figura 12. Curvas de crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922 de las fracciones insolubles (FI) y solubles (FS) de las muestras GAC, GA y GAFE evaluadas a diferentes concentraciones (4, 8 y 10 mg/mL). La absorbancia (ABS) fue monitoreada en función al tiempo y comparada con los controles PBS, gentamicina y sin tratamiento (SIN TX). GAC= Galleta de avena

comercial. GA= Galleta de avena sin adicionar. GAFE= Galleta de avena adicionada con frijol



extrudido.

Figura 13. Curvas de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de las fracciones insolubles (FI) y solubles (FS) de las muestras GAC, GA y GAFE evaluadas a diferentes concentraciones (4, 8 y 10 mg/mL). La absorbancia (ABS) fue monitoreada en función al tiempo

y comparada con los controles PBS, gentamicina y sin tratamiento (SIN TX). GAC= Galleta de avena comercial. GA= Galleta de avena sin adicionar. GAFE= Galleta de avena adicionada con frijol extrudido.

Cuadro 13. Unidades formadoras de colonias de *E. coli* y *S. Aureus* en los tratamientos evaluados (GAC, GA y GAFE) en distintas concentraciones (4, 8 y 10 mg/mL).

BACTERIA	Sin tratamiento	TRATAMIENTO	4 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL	Gentamicina
<i>E. coli</i>	1×10 ¹¹ UFC/mL	GAC	1×10 ⁸ UFC/mL	3×10 ⁷ UFC/mL	1×10 ⁷ UFC/mL	0 UFC/mL
		GA	4×10 ¹⁰ UFC/mL	2×10 ⁷ UFC/mL	1×10 ⁷ UFC/mL	
		GAFE	—	5×10 ⁹ UFC/mL	8×10 ⁷ UFC/mL	
<i>S. aureus</i>	4×10 ⁷ UFC/mL	GAC	5×10 ⁷ UFC/mL	2×10 ⁷ UFC/mL	2×10 ⁵ UFC/mL	0 UFC/mL
		GA	2×10 ⁶ UFC/mL	2×10 ⁵ UFC/mL	4×10 ⁵ UFC/mL	
		GAFE	11×10 ¹⁰ UFC/mL	7×10 ⁹ UFC/mL	6×10 ⁷ UFC/mL	

GAC= Galleta de Avena Comercial, GA=Galleta de Avena sin Adicionar, GAFE=Galleta de Avena adicionada con Frijol Extrudido.
 UFC/mL= Unidades Formadoras de Colonias/ Mililitro Nota: la concentración de 4 mg/mL de GAFE en *E.coli* se encuentra vacía porque no se pudo realizar el conteo de la placa.

